

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JULY LIMA SILVA

**EFICÁCIA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Syzygium aromaticum* E
Croton argyrophyllus E AS SUAS DILUIÇÕES COM TÉCNICAS
HOMEOPÁTICAS SOBRE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* IN
VITRO**

Cruz das Almas - Bahia
Maio 2021

JULY LIMA SILVA

**EFICÁCIA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Syzygium aromaticum* E
Croton argyrophyllus E AS SUAS DILUIÇÕES COM TÉCNICAS
HOMEOPÁTICAS SOBRE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* **IN
VITRO****

Trabalho de conclusão submetido ao Colegiado de Graduação de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Médico Veterinário.

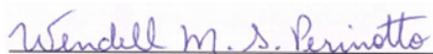
Orientador: Prof. Dr. Wendell Marcelo de Souza Perinotto

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA CENTRO
DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS COLEGIADO
DE MEDICINA VETERINÁRIA

COMISSÃO EXAMINADORA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

JULY LIMA SILVA

EFICÁCIA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Syzygium aromaticum* E *Croton argyrophyllus* E AS SUAS
DILUIÇÕES COM TÉCNICAS HOMEOPÁTICAS SOBRE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* IN
VITRO



Prof. Dr. Wendell Marcelo de Souza Perinotto
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof. Dra. Franceli da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof. Dra. Cintia Armond
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Cruz das Almas, BA, 12 de maio de 2021

AGRADECIMENTOS

Tenho muito a agradecer a todos aqueles que fazem o meu propósito ter sentido e ser muito mais belo. Obrigado por todo apoio, incentivo, paciência, vibrações com as conquistas e permanência nos momentos difíceis.

Agradeço e dedico este trabalho à minha família, em especial a minha avó Marlene Oliveira Lima, a minha mãe Maria Cristina Oliveira Lima e ao meu irmão Jayme Argollo de Albuquerque Lima Neto, obrigada por sempre me guiarem e apoiarem os meus sonhos.

Agradeço à Juliana Catelli e Laiza Garrido, amigas de longa data que mesmo longe sempre estiveram comigo e aos amigos que a vida me apresentou ao longo desses anos de graduação, em especial às minhas queridas Agne Estrela de Araújo, Alexandra Bispo da Cruz, Diana Damásio Cabral e Rebeca Santos Evangelista, meu muito obrigado a todas, pois cada uma ao seu jeito único e particular sempre esteve presente, me apoiando, incentivando, estudando por horas ou participando das melhores memórias que poderia ter/viver.

Aos funcionários técnicos e aos terceirizados do Núcleo de Apoio, da Fazenda Experimental (principalmente aos do setor de gado de leite) e do Hospital Universitário de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia de todos os setores, em especial ao técnico Roque Antônio Menezes Santos, o nosso “Bereguedê”, pelo qual tenho grande estima.

À equipe do Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LPDP) do HUMV, os quais sempre tornaram meus dias mais animados, obrigado por todo auxílio para realização do trabalho, pelas horas dedicadas à coleta dos carrapatos, pela colaboração, o apoio moral e emocional, todos os anos de estágio valeram a pena.

À equipe do Projeto do qual este trabalho de conclusão de curso é um dos frutos, visto que o apoio, o empenho e a solicitude de cada um dos envolvidos contribuíram significativamente para meu desenvolvimento pessoal e profissional. Obrigada à Profa. Dra. Cintia Armond, Profa. Dra. Franceli da Silva, George William da Cruz Neves e Prof. Dr. Wendell Marcelo de Souza Perinotto.

Aos meus professores/mestres de graduação, que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação acadêmica e reafirmação de valores.

Agradeço ao meu querido mestre, orientador e professor, Dr. Wendell Marcelo de Souza Perinotto, pois o amor e respeito que o mesmo transmite pela profissão fazem dele referência de profissional e de ser humano. Agradeço por toda sua paciência, pelos puxões de orelha quando necessários, por todas as oportunidades de aprendizado, os conhecimentos compartilhados, a confiança depositada em mim e a amizade que foi construída.

Aos servidores e terceirizados da Agência de Defesa Agropecuária da Bahia – ADAB, sempre prestativos e muito acolhedores. Agradeço à minha querida supervisora Monna Lisa de Almeida Cruz, por toda confiança, pelo aprendizado, pela amizade, gentileza e pelos dias em que pude estar em sua companhia. Aos fiscais estaduais do departamento de inspeção Gregório Lopes, Maria Ivani Santana, Isabela Barros, à gerente Selma Maria de Oliveira pela troca de conhecimentos, pela confiança e amizade, sou extremamente grata por me passarem tanta segurança.

Ao apoio e suporte das instituições fomentadoras: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

RESUMO

O parasitismo pelo carrapato dos bovinos, *Rhipicephalus microplus*, causa prejuízos que ultrapassam três bilhões de dólares anuais à pecuária brasileira em virtude de danos diretos e indiretos. O controle deste ectoparasito é feito quase que exclusivamente a base de carrapaticidas químicos, os quais quando utilizados de maneira excessiva e inadequada, ocasionam poluição ambiental, contaminação de mamíferos, incluindo o ser humano e, além disso, acelera a seleção de cepas resistentes. Por esses motivos, métodos inovadores para o controle de *R. microplus* estão ganhando destaque, dentre eles o uso de óleos essenciais. Porém, para a extração desses compostos são necessárias grandes quantidades de biomassa. Havendo assim a necessidade de associar métodos de ultra diluição almejando a inovação e viabilidade de uso dos óleos essenciais. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade acaricida *in vitro* dos óleos essenciais do Cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) e Cassutinga (*Croton argyrophyllus*) nas concentrações de 20, 40 e 80 mg/mL, e das preparações homeopáticas dos respectivos óleos essenciais nas dinamizações de 6 CH, 12 CH e 30 CH, sobre o carrapato *R. microplus*. Para avaliar a ação acaricida foram realizados os testes de pacote de larvas e o teste de imersão de teleóginas, tanto com os óleos essenciais quanto com seus produtos homeopatizados. O óleo essencial de *S. aromaticum* ocasionou 100% de mortalidade tanto na concentração de 20 mg/mL quanto no seu preparado homeopatizado na dinamização 6 CH para larvas, e obteve um percentual de controle de 88,0% para as teleóginas tratadas com óleo essencial na concentração de 40 mg/mL, as ultradiluições homeopatizadas aplicadas em fêmeas obtiveram resultados que variaram de 25,6% a -4,5%, não sendo expressivos. Os resultados obtidos em todos os tratamentos realizados com *C. argyrophyllus* em larvas e em fêmeas ingurgitadas não foram significativos, demonstrando baixa atividade acaricida. Assim, conclui-se que o óleo essencial de *S. aromaticum* apresenta ação acaricida sobre larvas e adultos e demonstrou eficácia também na dinamização homeopática 6CH sobre larvas de *R. microplus* e além disso, pode ser utilizado como fonte de moléculas para a síntese de novos acaricidas..

Palavras-Chave: carrapato dos bovinos, homeopatia, inovação

ABSTRACT

Parasitism by the cattle tick, *Rhipicephalus microplus*, causes losses that exceed three billion dollars a year to Brazilian livestock due to direct and indirect damages. The control of this ectoparasite is done almost exclusively on the basis of chemical ticks, which when used in an excessive and inadequate manner, cause environmental pollution, contamination of mammals, including humans and, in addition, accelerates the selection of resistant strains. For these reasons, innovative methods for the control of *R. microplus* are gaining prominence, among them the use of essential oils. However, the extraction of these compounds requires large amounts of biomass. Therefore, is the need to associate ultra dilution methods aiming the innovation and viability of essential oils use. Thus, the objective of the present study was to evaluate the in vitro acaricidal activity of the essential oils of Clove of India (*Syzygium aromaticum*) and Cassutinga (*Croton argyrophyllus*) in concentrations of 20, 40 and 80 mg/mL, and of the homeopathic preparations of the respective essential oils in the dynamizations of 6 CH, 12 CH and 30 CH, on the *R. microplus* tick. In order to evaluate the acaricidal action, the larvae package tests were carried out with both essential oils and their homeopathized products, and the adult immersion test, however, the latter was performed only with essential oils, in concentrations of 20 and 40 mg / ml. The essential oil of *S. aromaticum* caused 100% mortality both in the concentration of 20 mg / mL and in its homeopathized preparation in the dynamization of 6 CH for larvae, and obtained a control percentage of 88.0% for females treated with essential oil. at a concentration of 40 mg / mL, the homeopathized ultradilutions applied in females obtained results ranging from 25.6% to -4.5%, not being expressive. The results obtained in all treatments performed with *C. argyrophyllus* on larvae and engorged females were not significant, showing low acaricidal activity. Thus, we conclude that the essential oil of *S. aromaticum* was effective in treatments with essential oil on larvae and adults and showed efficacy in the homeopathic dynamization 6CH on larvae of *R. microplus* has the potential to be used to control the tick *R. microplus*, and furthermore, can be used as a source of molecules for the synthesis of new acaricides.

Keywords: cattle tick, homeopathy, innovation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Representação do aparelho bucal hexagonal de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* contendo quelíceras, palpos e hipostômio.....21
- Figura 2 – Representação do ciclo biológico do *Rhipicephalus (B.) microplus*, ilustrando a fase de vida livre e a fase de vida parasitária.....22
- Figura 3 – Distribuição da resistência aos acaricidas em *Rhipicephalus microplus* no Brasil.....25
- Figura 4 – Indivíduos susceptíveis (azuis) para um produto no início (esquerda) do processo de seleção química da população de carrapatos. Posteriormente ocorrendo a seleção (eliminação dos azuis) e o aumento da frequência de indivíduos resistentes (marrons), até a falha total de eficácia (direita).....26
- Figura 5 – Representação de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr & LM Perry, fotos da árvore (a), folhas (b), frutos (c) e botões florais secos (d).....29
- Figura 6 – Representação da imersão de teleóginas de *R. microplus* nos tratamentos (a) e retirada de excesso de líquido, acondicionamento, numeração e fixação das teleóginas em placas de Petri (b).....34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Média \pm Desvio padrão do percentual de mortalidade de larvas (%) de *Rhipicephalus microplus* tratadas com diferentes concentrações dos óleos essenciais e ultradiluições com princípios homeopáticos de *Syzygium aromaticum* e *Croton argyrophyllus* em Teste do Pacote de Larvas.....37
- Tabela 2 – Média \pm Desvio padrão do peso inicial das fêmeas ingurgitadas (g), peso da massa de ovos (g), índice de produção de ovos (IPO%) e percentual de eclosão de larvas (%) de *Rhipicephalus microplus* tratadas com diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Croton argyrophyllus* e *Syzygium aromaticum* em condições laboratoriais (27 ± 1 °C e U.R. $\geq 80\%$).....43
- Tabela 3 – Média \pm Desvio padrão do peso inicial das fêmeas ingurgitadas (mg), peso da massa de ovos (mg), índice de produção de ovos (IPO%) e percentual de eclosão de larvas (%) de *Rhipicephalus microplus* tratadas com diferentes potências das ultradiluições com princípios homeopáticos dos óleos essenciais das plantas *Syzygium aromaticum* e *Croton argyrophyllus* em condições laboratoriais (27 ± 1 °C e U.R. $\geq 80\%$).....44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% – Percentual de eclosão das larvas

%C – Percentual de Controle

%IPO – Índice de produção de ovos

AIT – Adult Immersion Test (Teste de imersão de adultos)

ANOVA – Análise de Variância

BOD – *Biochemical Oxygen Demand* (Demanda Bioquímica de Oxigênio)

BT – *Bacillus thuringiensis*

CCAAB – Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas

CEUA – Comissão de Ética na Utilização de Animais

CH – Centesimal Hahnemanniano

cm – Centímetro

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FOB – *Free on Board* (Livre a bordo)

g – Grama

HD – Hospedeiro Definitivo

HI – Hospedeiro Intermediário

HUMV – Hospital Universitário de Medicina Veterinária

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LPDP – Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias

LPT – Larval packet test (Teste de pacote com larvas)

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

mg/mL – Miligrama por mililitro

NCBI – *National Center for Biotechnology Information* (*Centro Nacional de Informação Biotecnológica*)

NEPs – Nematoides Entomopatogênicos

O.E. – Óleos Essenciais

RE – Reprodução Estimada

TPB – Tristeza Parasitária Bovina

U.R – Umidade Relativa

UFRB – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

UHD – *Ultra High Dilution* (Diluição Ultra-molecular)

US\$ – Dólar Americano

LISTA DE SÍMBOLOS

– – Subtração

% – Porcentagem

* – Asterisco

± – Mais ou menos

≥ – Maior ou igual que

® – Registered trademark (Marca Registrada)

°C – Graus Celsius

H₂O – Água

x – Multiplicação

α – Alfa

β – Beta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	JUSTIFICATIVA.....	17
3	OBJETIVOS	19
3.1	Objetivo Geral	19
3.2	Objetivos Específicos	19
4	REVISÃO DE LITERATURA	20
4.1	CARRAPATO <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	20
4.1.1	Características morfológicas	20
4.1.2	Ciclo Biológico	21
4.1.3	Controle	23
4.1.4	Resistência aos acaricidas sintéticos	24
5	PLANTAS MEDICINAIS	27
5.1	METABOLISMO VEGETAL	27
5.2	ÓLEOS ESSENCIAIS	27
5.3	ULTRADILUIÇÕES COM PRINCÍPIOS HOMEOPÁTICOS	28
5.4	<i>Syzygium aromaticum</i> (CRAVO DA ÍNDIA).....	29
5.5	<i>Croton argyrophyllus</i> (CASSUTINGA).....	31
6	MATERIAL E MÉTODOS	32
6.1	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	32
6.2	OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	32
6.3	ELABORAÇÃO DOS PREPARADOS A PARTIR DE TÉCNICAS HOMEOPÁTICAS	32
6.4	OBTENÇÃO DOS CARRAPATOS E LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS	33
6.5	TESTE DE PACOTE DE LARVAS (LPT).....	33
6.6	TESTE DE IMERSÃO DE FÊMEAS (AIT).....	34

6.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	36
7	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
8	CONCLUSÃO	44
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
	REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

Os carrapatos são artrópodes hematófagos obrigatórios, que parasitam hospedeiros vertebrados de diversas classes (anfíbios, aves, mamíferos, répteis), estando presente em áreas tropicais e subtropicais de diversas partes do planeta Terra. A fauna de carrapatos existentes no Brasil até a presente data é composta por 74 espécies pertencentes às famílias Argasidae e Ixodidae (ANDREOTTI; GARCIA; KOLLER, 2019; MARTINS et al., 2019).

Dentre os gêneros de ixodídeos encontrados no país, a espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, popularmente conhecida como carrapato dos bovinos, é considerada um dos principais parasitos da bovinocultura, em vista de seu potencial impacto econômico, seja ocasionando perdas diretas ou indiretas para o setor agropecuário (BRASIL, 2020a).

Por sua relevância, buscam-se maneiras mais efetivas para o controle do *R. microplus*, visto que atualmente a principal estratégia para controle baseia-se no uso de acaricidas químicos (organofosforados, piretroides amidinas, fenilpirazoles, lactonas macrocíclicas e benzoilfenilureia). Entretanto, decorrente do uso indiscriminado houve o favorecimento para acelerar o surgimento de populações de carrapatos resistentes a muitas bases químicas no Brasil (YESSINOU et al., 2016b; ANDREOTTI; GARCIA; KOLLER, 2019).

Sob esta perspectiva, métodos de controle inovadores tem ganhado destaque, como por exemplo, vacinas, controle biológico utilizando *Bacillus thuringiensis* - BT, fungos e nematoides entomopatogênicos, modificadores de crescimento, animais transgênicos, compostos vegetais, e preparados homeopáticos (de la FUENTE; ESTRADA-PEÑA, 2019; FEDER et al. 2019; BRASIL, 2020).

A utilização de extratos vegetais na formulação de bioinseticidas é uma inovação que vem sendo estudada e várias pesquisas tem demonstrado atividade acaricida presentes em diversas espécies, como por exemplo, a utilização do óleo

essencial de *Syzygium aromaticum*, hidrolato e composto majoritário isolado (Eugenol), cuja atividade acaricida sobre estádios do carrapato *R. microplus* já foi demonstrada (FERREIRA et al., 2018). Bem como o uso do óleo essencial, extratos e formulações de diversas espécies do gênero *Croton* (*C. sphaerogynus* (RIGHI et al., 2013); *C. conduplicatus* Kunth, *C. pulegioidorus* Baill., *C. growioides* Baill. (CASTRO et al., 2019)) demonstraram potencial ação carrapaticida sobre diferentes estádios de *R. microplus* e ação dos extratos hidroalcoólicos de *C. heliotropiifolius* sobre *Dermacentor nitens* (TENÓRIO, 2017).

Todavia, para a extração dos óleos essenciais são necessárias grandes quantidades de biomassa o que muitas vezes requer o desenvolvimento da cadeia produtiva da espécie, que pode ser oneroso e inviabilizar o uso dos O.E.. Com intuito de minimizar isso, e aperfeiçoar o aproveitamento de biomassa, ao associar técnicas de manejo e metodologias afins, tais como, associar a extração do óleo essencial ao preparo de ultra diluições pode ser inovador e viável. Estudos têm demonstrado que preparados homeopáticos de extratos vegetais apresentam resultados satisfatórios no controle de carrapatos (AURNHEIMER et al., 2012).

A partir do que foi exposto sentiu-se crescente demanda referente ao controle de carrapatos com métodos sustentáveis e inovadores, de custo reduzido e baixo impacto ambiental. Nesta perspectiva, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade acaricida *in vitro* dos óleos essenciais de Cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) e Cassutinga (*Croton argyrophyllus*), e de suas ultradiluições com princípios homeopáticos em diferentes potências para o controle de *R. microplus*.

2 JUSTIFICATIVA

O carrapato *Rhipicephalus microplus*, caracteriza-se por ser um ectoparasito de ampla distribuição geográfica afetando rebanhos bovinos de leite e corte, ocasionando perdas aos pecuaristas.

Dentre as perdas diretas podem ser citadas àquelas relacionadas ao hospedeiro, como a espoliação sanguínea levando a anemia, perda de nutrientes e redução de apetite, reduzindo assim a produtividade do animal. Como danos indiretos tem-se a transmissão de patógenos (protozoários *Babesia* spp., e a rickettsia *Anaplasma marginale*) do complexo da Tristeza Parasitária Bovina (TPB), que além de ocasionar severas consequências no desenvolvimento do animal podem ocasionar morte em poucos dias (Le GALL; KLAFKE; TORRES, 2018).

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa calcula em R\$ 9 bilhões por ano os prejuízos causados por este ectoparasito, estando incluso neste valor custos com medicações, perda de peso e morte de animais decorrentes da TPB. Infelizmente há previsão de que essas perdas aumentem em decorrência da crescente resistência aos acaricidas químicos disponíveis, que são utilizados como forma de eleição para o controle dos carrapatos (ANDREOTTI; GARCIA; KOLLER, 2019).

O descarte do leite devido à presença de resíduos de produtos químicos utilizados no combate ao carrapato é corriqueiro, proporcionando ainda mais prejuízos ao produtor. Tendo em vista a prospecção do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA que projeta um crescimento na produção de leite passando de 35,4 bilhões de litros em 2020 para valores próximos de 47,7 bilhões de litros em 2030, atrelado à decisão da China pela importação de queijo do Brasil, é de interesse dos produtores formas alternativas de controle que permitam um menor período de carência para comercialização do leite (BRASIL, 2020b).

Neste contexto, a utilização de compostos vegetais como os óleos essenciais e dinamizações e formulações desses são metodologias inovadoras que

vêm sendo estudadas para elaboração de biopesticidas. O uso de compostos obtidos de plantas no controle de parasitos pode servir como ferramenta terapêutica, tendo em vista que são obtidos por meio de recursos renováveis, são rapidamente degradáveis, sem custos elevados e que permitem ampla chance de utilização (LAPA et al., 2004; FERREIRA et.al., 2018).

O uso de produtos homeopáticos promove diminuição no nível das infestações ao invés de erradicar os parasitos, sendo essa característica importante para manter o equilíbrio imunológico frente aos patógenos transmitidos por *R. microplus*, evitando surtos nos rebanhos, além de ganhos na produção de carne e leite (ANDRADE e CASALI, 2011; MORAIS, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade acaricida *in vitro* dos óleos essenciais de Cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) e Cassutinga (*Croton argyrophyllus*), e de suas ultras diluições em diferentes dinamizações para o controle de *Rhipicephalus microplus*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho objetivaram:

- Avaliar a ação acaricida *in vitro* de diferentes concentrações dos óleos essenciais das plantas *S. aromaticum* e *C. argyrophyllus* sobre larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.
- Verificar a ação acaricida *in vitro* de diferentes dinamizações das ultras diluições dos óleos essenciais das plantas *S. aromaticum* e *C. argyrophyllus* sobre larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 CARRAPATO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Popularmente conhecido como “carrapato dos bovinos”, *R. microplus* distribui-se mundialmente estando presente em áreas tropicais e subtropicais (MATHISON e PRITT, 2014). É considerado um dos principais ectoparasitos da bovinocultura, pois em altas cargas parasitárias diminui consideravelmente a produção de leite e carne, causando elevadas perdas econômicas (GRISI et al., 2014)

Inicialmente classificado como *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1888 in GUGLIELMONE; PETNEY; ROBBINS, 2020), e reclassificado por Murrel e Barker (2003). De acordo com o *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) este parasito pertence ao Reino Metazoa, Filo Arthropoda, Classe Arachnida, Subclasse Acari, Superordem Parasitiformes, Ordem Ixodida, Superfamília Ixodoidea, Família Ixodidae, Subfamília Rhipicephalinae, Gênero *Rhipicephalus*, Subgênero *Boophilus*, Espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (NCBI: txid6941).

4.1.1 Características morfológicas

Dentre as características morfológicas de *R. microplus* destaca-se a presença de olhos, ausência de festões e sulcos anais, em seu pequeno corpo há estigmas arredondados ou ovais e apresenta escudo não ornamentado. O aparelho bucal (gnatossoma ou capítulo) possui formato hexagonal, sendo este aparelho constituído por base do capítulo com rostro (hipostômio + quelíceras) e palpos curtos. O hipostômio é mais longo do que os palpos e o último segmento dos palpos faz uma aba na junção com o segundo segmento (Figura 1) (AHID, 2010; MONTEIRO, 2017).

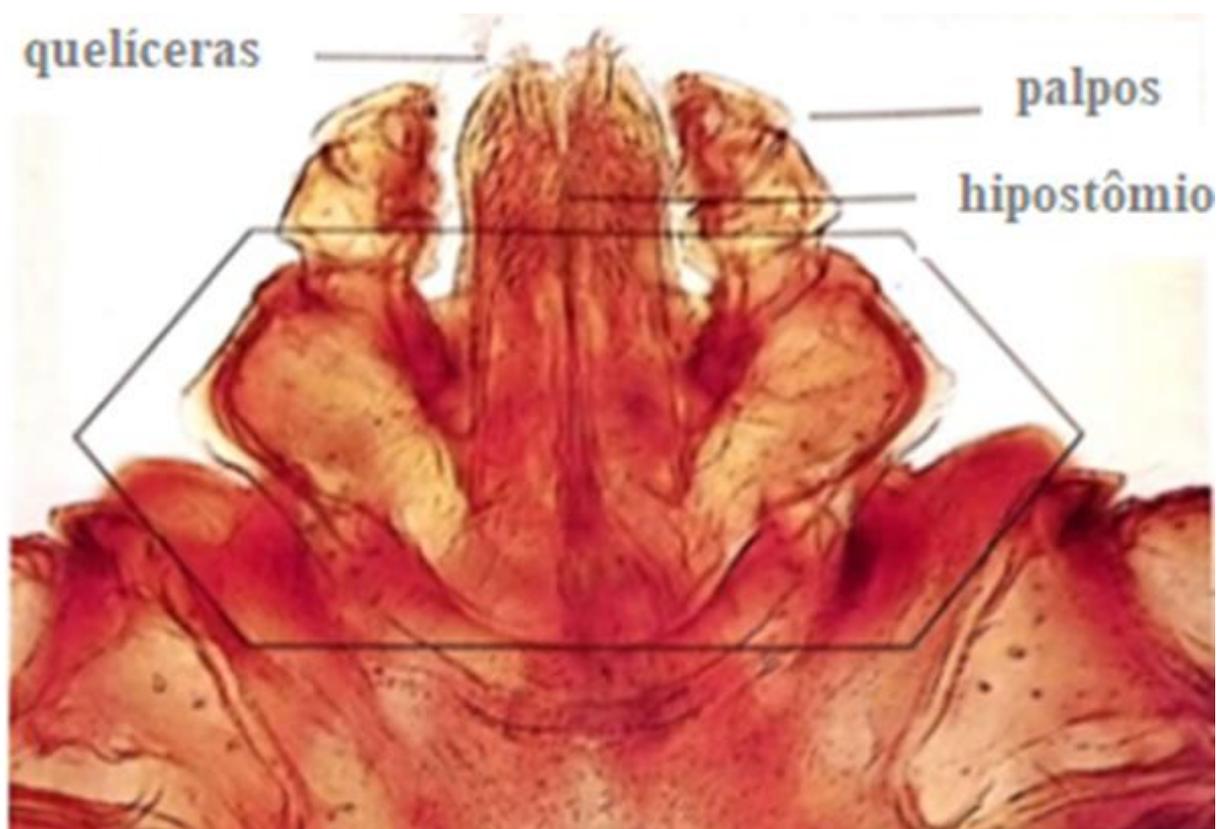


Figura 1: Representação do aparelho bucal hexagonal de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* contendo quelíceras, palpos e hipostômio.

Fonte: Adaptado de MONTEIRO, 2017

Estruturalmente, as larvas de *R. microplus* apresentam três pares de patas enquanto que ninfas e adultos apresentam quatro pares de patas. Há dimorfismo sexual evidente, no qual, o carrapato macho possui escudo dorsal completo, dois pares de placas adanais, além de uma proeminência em ponta aguda, também denominada prolongamento caudal. As fêmeas possuem escudo dorsal incompleto, são maiores do que os machos e, quando ingurgitadas, tendem a aumentar sua dimensão corporal consideravelmente (AHID, 2010; MONTEIRO, 2017).

4.1.2 Ciclo Biológico

Este ixodídeo apresenta predileção em parasitar bovinos e é uma espécie de ciclo de vida classificado como monoxeno, ou seja, para que ocorra o seu desenvolvimento todos os três estágios (larva, ninfa e adulto) alimentam-se e realizam as mudas em apenas um hospedeiro, sendo assim, *R. microplus* infesta diretamente seu hospedeiro definitivo (HD) sem necessitar de um hospedeiro intermediário (HI).

O ciclo biológico pode ser dividido em duas fases, a fase parasitária que tem início quando as larvas infestantes fixam-se no hospedeiro, se alimentam e mudam para ninfa que após a alimentação sofrem a ecdise para adultos (machos e fêmeas), esses então realizam a cópula e após a fecundação as fêmeas se ingurgitam completamente de sangue e se desprendem do corpo do bovino, os machos podem permanecer nos hospedeiros e copular com outras fêmeas. A outra fase, é denominada não parasitária ou de vida livre que se inicia com a queda das fêmeas ingurgitadas (teleóginas) na pastagem, onde metabolizam o sangue e iniciam a oviposição, sendo a postura em média de 3000 ovos por fêmea. Após o período de incubação, desses ovos eclodem as larvas, que após o enrijecimento da cutícula se tornam infestantes e aptas para iniciar um novo ciclo parasitário (Figura 2) (ANDREOTTI; GARCIA; KOLLER, 2019).

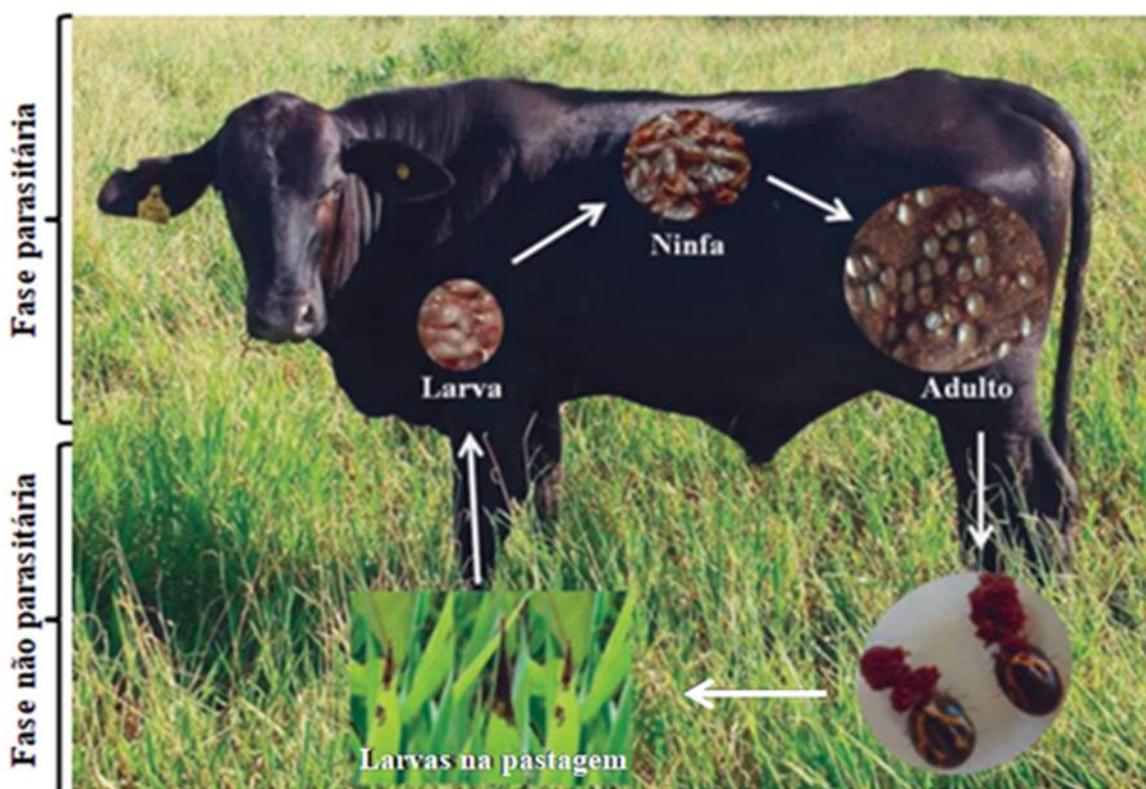


Figura 2 : Representação do Ciclo biológico de *Rhipicephalus microplus*, ilustrando a fase de vida livre e a fase de vida parasitária.

Fonte: Adaptado de ANDREOTTI; GARCIA; KOLLER, 2019 Fotos: Vinicius da Silva Rodrigues

4.1.3 Controle

O controle desse ectoparasito é um desafio considerável para pecuaristas, pesquisadores e demais interessados. Estima-se que apenas 5% da população de *R. microplus* encontra-se parasitando os bovinos (CAMPOS et al., 2008), o que dificulta o combate visto que a maior parte das ações mitigatórias são destinadas à fase parasitária (ANDREOTTI; GARCIA; KOLLER, 2019), demonstrando a importância de estudos para desenvolvimento de formas para controle das formas não parasitárias ou metodologias que contribuam para a quebra do ciclo em ambas as fases.

As ferramentas para controle do carrapato podem englobar as técnicas de manejo, o uso de tratamentos em períodos específicos (controle estratégico), os métodos inovadores como o uso de fungos e nematoides entomopatogênicos (NEPs), vacinas, toxina *Bacillus thuringiensis* - BT, e metabólitos de plantas (FEDER et al. 2019; de la FUENTE; ESTRADA-PEÑA, 2019) ou ainda a utilização de fórmulas sintéticas como organofosforados, carbamatos, amidinas, piretroides, fenilpirazoles, lactonas macrocíclicas e benzoilfenilureias (MENDES et al., 2013; YESSINOU et al., 2016b), sendo as fórmulas sintéticas as ferramentas mais utilizadas.

Dentre os métodos de controle biológico podem-se citar alguns organismos que possuem capacidade de ocasionar patogenia sobre um hospedeiro, ditos entomopatogênicos, os quais tem sido aplicados sobre *R. microplus*. As espécies de fungos *Metarhizium anisopliae* s.l. e *Beauveria bassiana* (CAMARGO et al., 2016; PERINOTTO et al., 2017; SANTI et al., 2018), assim como os NEPs do gênero *Heterorhabditis* (MONTEIRO, 2014) tem potencial aplicação sobre este ixodídeo.

Referente ao uso das vacinas, a TickGard® (retirada do mercado em 2010) e a Gavac® (cubana), elaboradas a partir da Bm86, uma proteína da membrana intestinal de *R. microplus* apresentaram eficiência estimada em 50% no Brasil, visando a otimização de resultados, utilizando a mesma proteína, entretanto uma técnica que difere da utilizada nas outras vacinas elaboradas a partir da Bm86, a SBm7462® desenvolvida na Universidade Federal de Viçosa mostrou resultados positivos em testes preliminares de imunoproteção tendo eficiência >80%. Diversos

grupos de pesquisa tem identificado potenciais candidatos a antígenos vacinais, com isso, espera-se que em breve outras vacinas estejam disponíveis comercialmente (SCHETTERS et al., 2016; CUNHA et al., 2019; de la FUENTE; ESTRADA-PEÑA, 2019; GIACHETTO, 2019)

A bactéria Gram positiva *B. thuringiensis* é capaz de produzir Cry, Cyt, Vip, e S- camada, essas proteínas desempenham diversas atividades biológicas (inseticida, acaricida, entre outras) com diferentes modos de ação. Em estudos Fernández – Ruvalcada et al., (2010) demonstram atividade acaricida de *B. thuringiensis* sobre estirpes de *R. microplus* resistentes a organofosforados, piretróides e amidinas, onde o percentual de mortalidade varia de 60,37 – 95,8%. Lormendez e colaboradores (2019), ao empregar a proteína de camada S da estirpe GP543 de *B. thuringiensis* em fêmeas de *R. microplus* obtêm uma taxa de mortalidade de 75% e inibição da eclosão dos ovos de 80 - 92%.

Os metabólitos de plantas são amplamente utilizados em diversas apresentações, seja como óleo essencial, hidrolato, extratos hidroetanólicos, compostos isolados, diversas formulações e as ultradiluições com princípios homeopáticos. Resultados promissores foram alcançados em estudos que buscam elucidar seus potenciais usos para controle de *R. microplus* (ALVAREZ et al., 2008; AURNHEIMER et al., 2012; FERREIRA et.al., 2018)

Dentre as formulações acaricidas à base de plantas no mercado, tem-se o NeemAzal, que é formulado a partir de *Azadirachta indica* contendo azadiractina, salanina e nimbina utilizadas contra carrapatos, ácaros, piolhos, pulgas e insetos (LIMA de SOUZA et al., 2017), Anozom formulado de *Annona squamosa* e possui como composto bioativo contra carrapatos, ácaros e sarna o squamocin (JAIN; SATAPATHY; PANDEY, 2020).

4.1.4 Resistência aos acaricidas sintéticos

O controle químico é amplamente utilizado em todo o mundo ainda que haja ressalvas no que se diz respeito à preocupação pública em termos de resíduos na carne e no leite e a poluição ambiental (SHOWLER, 2017). Como resultado do uso

frequente e de forma indiscriminada ao longo dos anos, houve a potencialização do surgimento de parasitos resistentes aos carrapaticidas químicos, tendo em vista o número restrito de formulações eficazes disponíveis comercialmente.

Populações de ixodídeos resistentes ou com múltipla resistência a bases carrapaticidas foram identificadas no Brasil, a Figura 3 ilustra a resistência acumulada para organofosforados (OF), piretroides sintéticos (SP), amidinas (AM), lactonas macrocíclicas (LM), fipronil, fluazuron, associações entre organofosforados e piretroides (OF+SP) e amidinas e organofosforados (AM+OF).



Figura 3: Distribuição da resistência aos acaricidas em *Rhipicephalus microplus* no Brasil

Fonte: Adaptado de HIGA et al., 2015.

Klafke et. al (2017) relatam que populações na região sul do país foram resistentes a cipermetrina, amitraz, clorpirifós (organofosforado), ivermectina e fipronil, algumas estirpes utilizadas apresentaram múltipla resistência a pelo menos três classes e $\frac{1}{4}$ das populações foi resistente às cinco bases químicas supracitadas, sendo estes resultados alarmantes, considerando que não existem novas drogas com um novo modo de ação disponível no mercado para controlar carrapatos multirresistentes.

A resistência desencadeada ao longo do tempo pode estar atrelada a fatores genéticos, potencialmente pela transmissão de alelos de resistência às gerações subsequentes de parasitos, que tornam-se menos susceptíveis aos produtos químicos corriqueiramente utilizados (JAIN; SATAPATHY; PANDEY, 2020), exemplificando este fato, na figura 4, da esquerda para a direita tem-se uma população de indivíduos susceptíveis (azuis) a um tratamento no início do processo de seleção química da população de carrapatos, demonstrando eficácia do produto sobre estes. Ao decorrer de exposições das gerações futuras ao mesmo tratamento ocorre a seleção (eliminação dos azuis) e o aumento da frequência de indivíduos resistentes (marrons), até a falha total de eficácia.

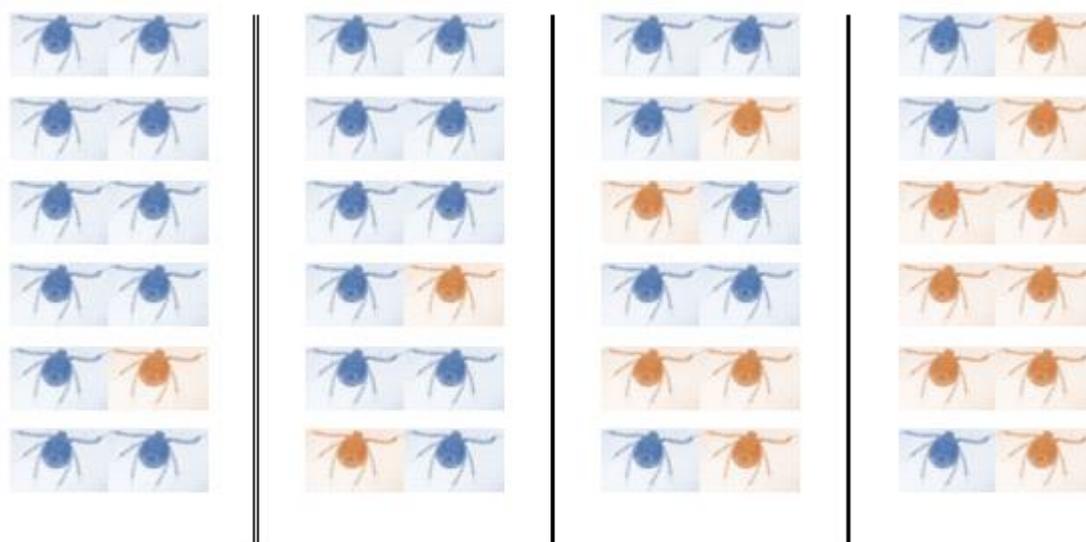


Figura 4: Indivíduos susceptíveis (azuis) para um produto no início (esquerda) do processo de seleção química da população de carrapatos. Posteriormente ocorrendo a seleção (eliminação dos azuis) e o aumento da frequência de indivíduos resistentes (marrons), até a falha total de eficácia (direita).

Fonte: BRASIL (MAPA), 2020.

5 PLANTAS MEDICINAIS

O emprego de plantas medicinais é descrito como um recurso terapêutico popular desde a antiguidade para o tratamento de enfermidades humanas e veterinárias (BATISTA et al., 2017). As substâncias bioativas com intuito de defesa contra micro-organismos, insetos e herbívoros que muitas dessas plantas apresentam são resultantes da metabolização de compostos orgânicos (CASANOVA; COSTA, 2017).

5.1 METABOLISMO VEGETAL

Para que haja o crescimento e desenvolvimento da planta ocorrem os mais diversos e complexos processos bioquímicos em seu interior, os quais juntos compõem o metabolismo vegetal, o qual pode ser dividido em geral ou primário e metabolismo secundário, sendo o primário responsável pelas macromoléculas essenciais ao crescimento, desenvolvimento, reprodução e são utilizadas como precursoras dos metabólitos secundários (ALMEIDA, 2017).

O metabolismo secundário é o responsável pela produção de substâncias bioativas para interação da planta com o meio ambiente, podendo ocasionar a atração de polinizadores, mecanismos de defesa contra predadores, entre outras reações. Este metabolismo por sua vez possui importância comercial em diversas áreas, com ênfase à fitoterapia, nutracêutica e aplicações industriais na área da saúde pública (CASANOVA; COSTA, 2017).

5.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (O.E.) podem ser definidos como produtos voláteis de origem vegetal, os quais se apresentam de maneira isolada ou misturados. Podendo ser obtidos por processos físicos através de diversos protocolos de extração, por exemplo, a destilação por arraste com vapor de água, as técnicas de hidrodestilação, a agitação sólido-líquido, a extração de fluido pressurizado, a

extração ultrassônica ou outro método adequado (ANVISA, 2007a; COSTA et al., 2015).

Estes produtos voláteis de origem vegetal podem ser submetidos a tratamento físico desde que esses tratamentos não resultem em quaisquer alterações significativas na sua composição. Tendo isso em vista, os mesmos podem sofrer modificações através dos processos de filtração, decantação e centrifugação, por exemplo (ISO, 2013).

A composição desses óleos essenciais pode ser diversificada, podendo possuir em média de 20 a 60 constituintes em concentrações variáveis, sendo que, apenas dois ou três componentes (apresentando um percentual de 20 - 70%), chamados de compostos majoritários (BAKKALI et al., 2008). Algumas substâncias bioativas presentes em diversos espécimes possuem potencial ação carrapaticida. Em estudos conduzidos por Castro et al. (2018), com os O.E.s de *Mesosphaerum suaveolens*, *Ocimum gratissimum* e *Alpinia zerumbet* demonstrou-se que os três obtiveram alta eficácia sobre teleóginas de *R. microplus*.

Dentre algumas classes a que pertencem os compostos presentes nos óleos, destacam-se os terpenoides e os fenilpropanóides (SALMAN et al., 2020). Ainda de acordo com os mesmos autores, a quantidade, a presença e/ou ausência de algum constituinte nos óleos essenciais pode estar relacionada a fatores como, por exemplo, local de ocorrência do espécime, estação do ano, horário de colheita, estágio de desenvolvimento da planta e método utilizado para extração.

5.3 ULTRADILUIÇÕES COM PRINCÍPIOS HOMEOPÁTICOS

No Brasil, a partir do ano de 2000, a Homeopatia foi reconhecida como especialidade pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (BRASIL, 2006), e ao longo do tempo tem contribuído em diversos trabalhos elaborados com vistas ao tratamento das patologias animais. A terapêutica homeopática baseia-se em quatro princípios fundamentais, sendo estes a Lei da semelhança, a Experimentação no indivíduo sadio, o Remédio único, o *Simillimum* e a Dose mínima (TEIXEIRA, 2010)..

As ultradiluições também denominadas como diluição ultra molecular ou *ultra high dilution* (UHD) são obtidas a partir de um ativo, por exemplo, o óleo essencial o qual é diluído sucessivamente em um insumo inerte em proporção definida e constante, sendo submetido a alguma forma de agitação ritmada com finalidade preventiva ou curativa a serem administradas conforme a terapêutica homeopática (ANVISA, 2007b; BRASIL, 2019).

De acordo com estudos prévios, tratamentos com produtos formulados com os princípios da homeopatia, não ocasionam a erradicação da população de parasitos, porém, diminuem as infestações em número significativo, não prejudiciais à saúde do hospedeiro além de promover ganhos na produção, visto que não deixa resíduos tóxicos na carne e leite (ANDRADE e CASALI, 2011; MORAIS, 2014).

Por exemplo, em dinamização homeopática, na sexta centesimal hahnemanniana (6 CH), extratos de princípios ativos da planta medicinal arruda (*Ruta graveolens*) foram utilizados com sucesso no controle do número de teleógenas de *R. microplus*, atingindo 81,81% de controle de eclodibilidade dos ovos, o que torna o produto aceito para comercialização, de acordo com as normas dos Órgãos Governamentais (AURNHEIMER et al., 2012).

5.4 *Syzygium aromaticum* (CRAVO DA ÍNDIA)

Syzygium aromaticum (L.) Merr & LM Perry, popularmente denominado craveiro-da-índia é uma árvore que pode alcançar 12 metros de altura, tem folhas grandes e ovais e possui um ciclo de vida longo, ou seja, perene pertencente à família *Myrtaceae*, sendo uma das espécies do gênero *Syzygium* cultivadas para finalidades comerciais e as regiões Sul e Baixo Sul da Bahia destacam-se na produção dessa especiaria, tornando a Bahia um dos estados com a maior produção no Brasil (FROHLICH et al., 2018). Na figura 3 pode ser visualizada a árvore (a), folhas (b), frutos (c) e botões florais secos (d) de *S. aromaticum* (AFFONSO et al., 2012; SOH;PARNELL, 2015; GOMES et al., 2018; SANTOLIN, 2019).



Figura 5: Representação de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr & LM Perry, fotos da árvore (a), folhas (b), frutos (c) e botões florais secos (d)

Fonte: Adaptado de AFFONSO, 2012 Fotos: Raphael da Silva Affonso

O óleo essencial extraído de *S. aromaticum* pode ser obtido de suas folhas, talos, botões aromáticos e raízes, onde o sabor, aroma e a caracterização química de cada óleo podem ser afetados de acordo com a parte da planta empregada, todavia, em todos há quantidades significativas de eugenol. Foram descritos como outros constituintes majoritários de seus óleos essenciais, acetato de eugenol, β -cariofileno, α -humuleno. Dentre as atividades farmacológicas que o O.E. possui, destacam-se os efeitos antibacteriano, nematocida, acaricida, herbicida, inseticida, carrapaticida, entre outras (KASAI; SHIRAO; IKEGAMI-KAWAI, 2015; KAUR; KAUSHAL, 2019).

A potencial atividade carrapaticida foi demonstrada por diversos pesquisadores em diferentes bioensaios com concentrações e formulações variadas (ALVAREZ et al., 2008; MONTEIRO et al., 2012; SANTOS et al., 2012; FERREIRA et al., 2018) podendo citar, por exemplo os resultados de Coêlho et al. (2019) que em estudos com formulações a 2% de *S. aromaticum* aplicadas sobre teleóginas de *R.*

microplus alcançaram percentual de mortalidade de 100% e 97,09% de atividade ovarioestática. Yessinou e colaboradores (2016a) aplicando o O.E. na concentração de 10mg/ml obtiveram 90,3% de mortalidade de teleóginas e 100% de redução da eclodibilidade.

5.5 *Croton argyrophyllus* (CASSUTINGA)

Croton argyrophyllus Kunth, popularmente denominada como cassutinga, cassetinga, casatinga-branca, velame, marmeleiro branco, dentre outras sinonímias pertencente à família Euphorbiaceae e ao gênero *Croton*, é uma espécie arbustiva podendo chegar a cinco metros de altura, facilmente identificada a campo em decorrência da coloração prateada na face inferior (abaxial) de suas folhas, sendo endêmica do Nordeste do Brasil (CRUZ, 2016; BRITO et al., 2018).

Em estudo realizado por Brito et al. (2018) que tinha por objetivo auxiliar na caracterização fitoquímica de duas espécies do gênero *Croton*, foram identificados na composição volátil do O.E. de *C. argyrophyllus* 51 componentes, sendo os sesquiterpenos biciclogermacreno, espathulenol, cariofileno e o monoterpene β -pineno identificados como constituintes majoritários. *C. argyrophyllus* possui propriedades inseticidas, antimicrobianas, antioxidantes, bem como atividade leishmanicida e atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* (CRUZ, 2016; CRUZ et al., 2017; SOUTO et al., 2020).

Não foi verificada na literatura corrente trabalhos com *C. argyrophyllus* sobre carrapatos, no entanto, outras espécies do gênero *Croton* são conhecidas por conterem alguns compostos inseticidas e acaricidas, dentre eles destacam-se as catequinas, galocatequinas, diterpenos e os sesquiterpenos. Dentre suas aplicações, diversas espécies demonstraram potencial ação carrapaticida sobre diferentes estádios de *R. microplus* (*C. sphaerogynus* (RIGHI et al., 2013); *C. conduplicatus* Kunth, *C. pulegioides* Baill., *C. growioides* Baill. (CASTRO et al., 2019)). Tenório et al. (2017) demonstram efeito de *C. heliotropiifolius* sobre *Dermacentor nitens*, Essa espécie de *Croton* possui dentre seus componentes majoritários limoneno, α -pineno e cariofileno.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Para realização da coleta das teleóginas e dos bioensaios utilizando larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* este projeto foi submetido à Comissão de Ética na Utilização de Animais – CEUA da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), e aprovado sob número de protocolo 23007.009601/2018-51.

6.2 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais utilizados foram extraídos no Bloco de Laboratórios “L”, no laboratório de Fitoquímica da UFRB, seguindo a metodologia utilizada por Simões et al. (2003), através do processo de hidrodestilação, por meio de arraste pelo vapor d’água, utilizando o aparelho *Clevenger* até obtenção dos óleos essenciais, os quais foram recolhidos e acondicionados em frascos de vidro em geladeira.

As matérias primas utilizadas para obtenção dos óleos essenciais utilizados neste trabalho foram as inflorescências secas de *S. aromaticum* e as partes aéreas (folhas e flores) para extração do O.E. de *C. argyrophyllus*.

6.3 ELABORAÇÃO DOS PREPARADOS A PARTIR DE TÉCNICAS HOMEOPÁTICAS

Os preparados diluídos dos óleos essenciais utilizados no presente trabalho foram elaborados no laboratório M1 de Olericultura do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da UFRB a partir de técnicas que utilizam princípios homeopáticos. O procedimento do preparo utilizou o método Centesimal Hahnemanniano (CH), de acordo a recomendações da Farmacopeia Homeopática Brasileira (2011) e as potências dos preparados obtidos foram 6CH, 12CH e 30CH. O processo de sucussão foi realizado no dinamizador tipo braço mecânico modelo DENISE 10-50 (AUTIC).

6.4 OBTENÇÃO DOS CARRAPATOS E LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Para realização dos bioensaios as fêmeas ingurgitadas ou teleóginas de *R. microplus* foram obtidas através de infestação natural em bovinos mantidos na Fazenda Experimental da UFRB, sem contato prévio com carrapaticidas químicos por no mínimo 40 dias. As fêmeas ingurgitadas foram coletadas e levadas ao Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LPDP) do Hospital Universitário de Medicina Veterinária (HUMV) da UFRB, lavadas em água corrente, imersas em solução de hipoclorito de sódio a 1% para assepsia da cutícula e secas em papel toalha.

Algumas destas fêmeas permaneceram acondicionadas em placas de Petri e mantidas em câmara climatizada com temperatura de 27 ± 1 °C e umidade relativa $\geq 80\%$ para a obtenção de ovos e larvas que foram utilizadas para o teste de pacote de larvas (LPT – *Larval Packet Test*); enquanto outras foram divididas em grupos com peso homogêneo e submetidas aos tratamentos pertinentes (Teste de imersão de fêmeas (AIT - *Adult Immersion Test*)).

O experimento foi realizado no LPDP onde as larvas e teleóginas foram expostas aos tratamentos. Para a manutenção da ovipostura das teleóginas, eclosão dos ovos e crescimento das larvas foi utilizada uma estufa incubadora BOD (Biochemical Oxygen Demand – Demanda Bioquímica de Oxigênio), originalmente concebida para incubar testes de longa duração, existente no Laboratório “M1” de Olericultura do CCAAB da UFRB.

6.5 TESTE DE PACOTE DE LARVAS (LPT)

Para a realização do LPT utilizou-se a metodologia adaptada por Monteiro et al. (2012), onde aproximadamente 100 larvas de *R. microplus* foram colocadas em cada envelope de papel filtro medindo 6 x 6 cm, fechados com pregadores (binder clips), e impregnados com os tratamentos, os quais consistiram em óleos essenciais na concentração de 20mg/mL emulsificados com Tween 20 a 20mg/mL tendo como veículo água destilada, os preparados desses óleos essenciais diluídos nas

potências 6 CH, 12 CH e 30 CH, além dos dois grupos controles sendo um água destilada e Tween 20 a 20mg/mL e o outro álcool 70°, totalizando dez grupos.

Após a aplicação os pacotes de larvas foram mantidos em estufa incubadora BOD climatizada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ com umidade relativa superior a 80%. A leitura sucedeu-se 24 horas após a impregnação e teve como objetivo contabilizar as larvas vivas e mortas, a contagem foi realizada manualmente. Cada grupo avaliado continha seis envelopes, ou seja, seis unidades experimentais para cada tratamento determinado.

6.6 TESTE DE IMERSÃO DE FÊMEAS (AIT)

Para a realização do AIT utilizou-se uma adaptação da metodologia descrita por Drummund et al. (1973), onde após a separação em grupos contendo 8 fêmeas realizou-se a pesagem dessas teleóginas, as quais foram imersas por cinco minutos nos tratamentos, posteriormente retiradas, colocadas sob um papel absorvente para retirar o excesso de líquido (a) e então acondicionadas em placas de Petri, onde foram numeradas em sentido horário e permaneceram fixadas dorsalmente com esparadrapo (b) (Figura 6). Após a fixação elas foram mantidas em estufa climatizada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ com umidade relativa superior a 80%, durante o período da ovoposição.

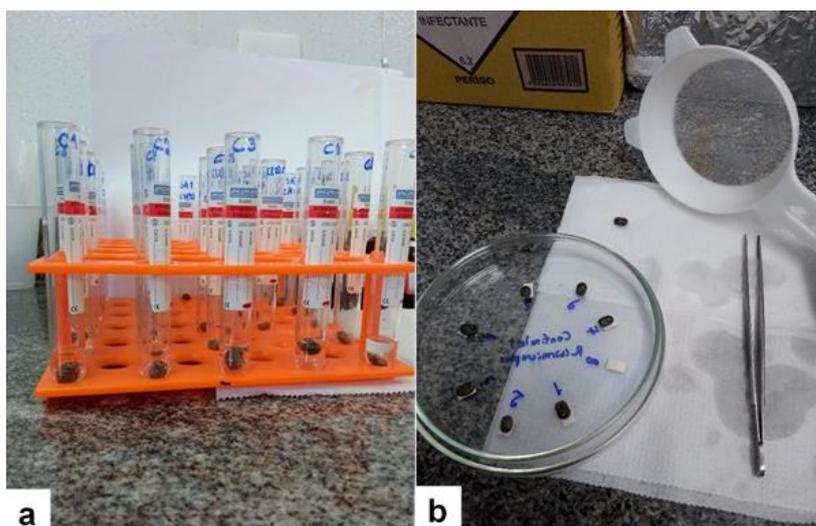


Figura 6: Representação da imersão de teleóginas de *R. microplus* nos tratamentos (a) e retirada de excesso de líquido, acondicionamento, numeração e fixação das teleóginas em placas de Petri (b).

Fonte: Acervo pessoal, 2019.

Os tratamentos consistiram em óleos essenciais nas concentrações de 80 mg/mL e 40 mg/mL emulsificados com Tween 20 a 20 mg/mL tendo como veículo água destilada, os preparados desses óleos diluídos nas potências 6 CH, 12 CH e 30 CH, além de três grupos controles, um composto por água destilada e Tween 20 a 20 mg/mL, um contendo água destilada a outro contendo apenas álcool 70°, sendo os dois últimos grupos citados utilizados como controle para os preparados ultra diluídos dos óleos, totalizando treze grupos.

A partir do início da postura foi feito acompanhamento periódico das teleóginas dos treze tratamentos avaliados, sendo verificado o peso da massa de ovos de cada fêmea até findar a ovoposição. Os ovos de cada fêmea foram alocados em frascos de vidro vedados com algodão hidrofílico (sendo estes frascos identificados com o número da fêmea e a qual tratamento pertencia) e posteriormente foi avaliado percentual de eclosão das larvas por meio da visualização em microscópio estereoscópio.

Todos os dados obtidos (média e desvio padrão do peso inicial das fêmeas ingurgitadas (g), peso da massa de ovos (g), índice de produção de ovos (IPO%) e percentual de eclosão de larvas (%)) foram aplicados nas fórmulas descritas por Drummund *et al.* (1973), para obtenção do Percentual de Controle.

O índice de produção de ovos (%IPO) foi obtido de acordo com a equação:

$$\%IPO = \frac{\text{peso da massa de ovos (g)}}{\text{peso inicial das fêmeas ingurgitadas (g)}} \times 100$$

O percentual de controle dos tratamentos foi calculado através das equações:

Reprodução Estimada (RE)

$$RE = \frac{\text{peso da massa de ovos (g)}}{\text{peso inicial das fêmeas ingurgitadas (g)}} \times \text{percentual de eclosão} \times 20.000$$

Percentual de Controle (%C)

$$\%C = \frac{(\text{RE grupo controle} - \text{RE grupo tratado})}{\text{RE grupo controle}} \times 100$$

6.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Com o software *Instat* 3.0 analisou-se os dados e as médias dos tratamentos foram comparadas segundo a análise de variância (ANOVA) que levou em consideração 5% de significância ($p \geq 0,05$), seguida pelo teste de Tukey, com exceção dos casos de dados não paramétricos que foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na realização dos bioensaios referentes ao LPT, o percentual de mortalidade das larvas tratadas com óleos essenciais de *S. aromaticum* e *C. argyrophyllus* na concentração de 20 mg/mL foram de 100 e 6,66%, respectivamente. O grupo controle H₂O + Tween 20 obteve percentual de mortalidade de 1,45% (Tabela 1).

Nos grupos tratados com as ultradiluições com princípios homeopáticos, apenas *S. aromaticum* na dinamização 6CH apresentou atividade acaricida alcançando 100% de mortalidade, os demais grupos acarretaram baixos níveis de mortalidade, bem como as ultradiluições de *C. argyrophyllus* nas dinamizações 6CH, 12CH e 30CH (Tabela 1).

Tabela 1 - Média \pm Desvio padrão do percentual de mortalidade de larvas (%) de *Rhipicephalus microplus* tratadas com diferentes concentrações dos óleos essenciais e ultradiluições com princípios homeopáticos de *Syzygium aromaticum* e *Croton argyrophyllus* em Teste do Pacote de Larvas

	Mortalidade de larvas (%)
Controle H₂O + Tween	1,45 \pm 0,01a
Controle Álcool 70%	2,72 \pm 0,03a
<i>Syzygium aromaticum</i> 20 mg/mL	100 \pm 0c
<i>Croton argyrophyllus</i> 20 mg/mL	6,66 \pm 0,04ab
<i>Syzygium aromaticum</i> 6CH	100 \pm 0c
<i>Syzygium aromaticum</i> 12CH	9,40 \pm 0,05b
<i>Syzygium aromaticum</i> 30CH	3,21 \pm 0,03a
<i>Croton argyrophyllus</i> 6CH	2,48 \pm 0,04a
<i>Croton argyrophyllus</i> 12CH	9,97 \pm 0,04b
<i>Croton argyrophyllus</i> 30CH	0,49 \pm 0,01a

(*) Letra igual minúscula na mesma coluna indica que não houve diferença significativa a 5% de significância ($p \geq 0,05$).

O LTP é um teste extremamente relevante para averiguar a ação acaricida sobre carrapatos, sendo indicado como teste preliminar ou de triagem (MONTEIRO et al, 2012). Os resultados obtidos para as larvas tratadas com o óleo essencial de *S. aromaticum* na concentração de 20 mg/mL (100%) obteve o mesmo resultado que Ferreira et al. (2018) encontrou em larvas tratadas com O.E. diluído em soluções hidroetanólicas nas concentrações de 5,10 e 20 mg/mL e em formulações contendo O.E. nas concentrações de 5,10 e 20 mg/mL.

Referente aos resultados obtidos nas ultradiluições com princípios homeopáticos do O.E. de *S. aromaticum* em diferentes dinamizações nas avaliações efetuadas 24 horas após a aplicação dos tratamentos, foi verificada ação acaricida significativa na diluição 6CH, podendo estar atrelada à capacidade dessa diluição conseguir preservar suas propriedades filoterápicas quando em contato com as larvas do parasito. O O. E. ultradiluido na dinamização 6CH, provavelmente, proporcionou potência na substância medicinal adequada, portanto, resultou em um efeito biológico demonstrando eficiência da potencia com o ser vivo em estudo, validando-se por meio da inibição e/ou quebra do ciclo de vida, visto que as larvas estão presentes em ambas as fases do ciclo de vida o mesmo teria ação sobre um grande percentual da população de parasitos.

.Com relação aos tratamentos tanto com o O. E. de *C. argyrophyllus* na concentração de 20 mg/mL quanto com as ultradiluições, não foram observados resultados satisfatórios sobre larvas de *R. microplus*, demonstrando baixa ação acaricida dessa planta.

Entender a biologia da fase não parasitária de *R. microplus* contribui significativamente para o desenvolvimento de métodos mais eficientes para controlá-lo ainda em fase larvar. Cruz e colaboradores, (2020) relatam cinco gerações anuais de *R. microplus*, uma a mais do que é usualmente observado em estudos em condições laboratoriais e em campo. Isto sugere adaptação gradual as mudanças ambientais e climáticas na fase não parasitária, que pode ainda acelerar o desenvolvimento da resistência ao controle químico. A eficácia de metabólitos de plantas sobre esta fase torna-os potenciais candidatos para desenvolvimento de formulações larvicidas com enfoque sobre a fase não parasitária.

O potencial do óleo de *S. aromaticum* para ser utilizado como método inovador no controle do carrapato dos bovinos, pode ser explicado pela presença do eugenol em 70 a 95% da sua composição (FERRÃO, 1993; MAZZAFERA, 2003) um composto volátil, que possui, dentre outras ações, uma comprovada ação inseticida, antibacteriana e também carrapaticida (SANTOS et al., 2012). Bioensaios realizados por Ferreira et al. (2018), demonstraram efetividade do Eugenol como

composto isolado ou presente em formulações utilizando O.E. de *S. aromaticum* em diferentes concentrações reafirmando seu potencial acaricida.

O mecanismo de ação do eugenol sobre os artrópodes provavelmente pode ser atribuído à sua interação com o tegumento do ixodídeo agindo em suas enzimas (digestivas e neurológicas) ocasionando a inibição da enzima Acetilcolinesterase – AchE que é responsável pela hidrólise da acetilcolina nas sinapses colinérgicas, o que culmina com a paralisia, entre outros sintomas podendo ocasionar a morte do artrópode. Em teleóginas ele poderia impactar a sobrevivência e vitalidade, podendo influenciar no processo da oviposição (FERREIRA, 2016; COELHO et al., 2019).

A ação sobre a AchE também é descrita em organofosforados e carbamatos (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2006; SPINOSA; GÓRNIK; PALERMO NETO, 2008). Associado a este mecanismo, os O.E. poderiam levar o parasito a morte pelo estresse hídrico ou asfixia, através de efeitos mecânicos simultâneos devido à natureza hidrofóbica dos O.E.s (ELLSE; WALL, 2014).

O efeito acaricida apresentado pelo O.E. de *S. aromaticum* também pode estar relacionado à toxicidade dos componentes eugenol (fenilpropeno) e acetato de eugenila (fenilpropanóide). Em estudo realizado por Cansian e colaboradores (2017) em *Artemia salina* visando testar a toxicidade do O.E. de cravo da Índia e um de seus derivados o acetato de eugenila demonstraram que ambos possuem toxicidade frente ao microcrustáceo e o acetato de eugenila apresentou uma toxicidade cinco vezes superior quando comparado ao O.E..

Campos et al. (2012) relataram que, apesar de algumas vezes o efeito acaricida ser atribuído aos constituintes isolados em maior quantidade no óleo essencial que são os componentes majoritários, a atividade do componente principal pode ser modulada por outros compostos que estão presentes em menor quantidade, havendo assim relações sinérgicas entre os constituintes.

No teste de imersão de fêmeas após as avaliações das médias do peso inicial das fêmeas imersas, verificou-se que as fêmeas foram divididas em grupos homogêneos, pois não houve diferença significativa entre os grupos ($P >$

0,05). Portanto, todos os resultados sobre este estágio de vida do carrapato aqui apresentados podem ser atribuídos aos respectivos tratamentos.

A partir dos dados do peso da massa de ovos (g), índice de produção de ovos (IPO%) e percentual de eclosão de larvas (%), foram calculados os percentuais de controle das teleóginas. Similarmente aos resultados encontrados com larvas, os melhores resultados sobre fêmeas adultas foram obtidos com os tratamentos utilizando o óleo essencial de *S. aromaticum* (Tabela 2).

O percentual de controle obtido com o tratamento *S. aromaticum* 40 mg/mL demonstrou relevância (88%), o qual aproxima-se do limite mínimo indicativo de eficiência (95%), percentual exigido segundo legislação brasileira - MAPA para atividade acaricida (BRASIL,1997). Yessinou e colaboradores (2016a) aplicando o O.E. na concentração de 10mg/ml obtiveram 90,3% de mortalidade de teleóginas e 100% de redução da eclodibilidade.

Santos et al. (2012), encontraram resultados acima de 97,1% e 99,4% de eficiência para o controle de teleóginas de *R. microplus*. utilizando O. E. de *S. aromaticum* nas concentrações de 2,5% e 5%, o resultado dos mesmos assemelhou-se aos reportados por Alvarez et al. (2008), onde verificou-se que as partes apolares dos extratos hidroalcoólicos de *S. aromaticum* ocasionaram maiores taxas de mortalidade de teleóginas (100%), eficácia no percentual de ovoposição de 19% eficácia na redução do percentual de eclosão (75,93%) e não foi avaliada a eficácia no percentual de controle.

As diferenças de percentual de controle supõe-se estar atreladas as diferenças metodológicas (época do ano, região de realização do estudo, populações de *R. microplus* utilizadas, número de unidades experimentais) e formulações utilizadas (concentrações, veículo para dissolução do O.E., tipo de extração do O.E.), tendo em vista que os resultados de Yessinou et al. (2016a) (90,3%) na concentração de 10mg/ml e utilizando a mesma solução (água destilada + Tween 20) veículo na formulação foram mais próximos do percentual (88%) encontrado no presente estudo.

Enquanto que nas formulações utilizadas por Santos et al. (2012), a solução veículo para o O. E. continha 40% de acetona e 60% de água destilada, obtendo resultados de 97,1-99,4% para o controle de teleóginas. Alvarez et al. (2008) utilizaram as partes apolares do extrato hidroalcoólico bruto de *S. aromaticum* obtendo como resultado 100% de mortalidade de teleóginas e redução do percentual de eclosão (75,93%). Estes resultados corroboram com as suposições apresentadas.

Essa diferença observada nos diferentes estudos pode ser devida a composição química dos óleos essenciais que pode sofrer influências levando-se em consideração fatores como local de ocorrência do espécime, estação do ano, horário de colheita, em que estágio de crescimento a planta se encontra, qual método foi utilizado para extração do óleo essencial (SALMAN et al., 2020).

O grupo da concentração 40 mg/mL obteve um peso de massa de ovos elevado, o que se justifica por ser uma resposta do organismo à agressão, é um fenômeno de perpetuação da espécie, tendo em vista que muitas teleóginas morrem antes mesmo de encontrar seus hospedeiros, estando sujeitas à predação e a condições climáticas adversas. Visando compensar a restrição e vulnerabilidade imposta à fase de vida livre do seu ciclo biológico, as fêmeas ingurgitadas depositam no ambiente milhares de ovos, dos quais, em geral, eclodem a maior parte das larvas (CRUZ et al., 2020).

O óleo de *S. aromaticum* nesta concentração ainda promoveu redução significativa no índice de produção de ovos e no percentual de eclosão de larvas (Tabela 2). O tratamento realizado com *S. aromaticum* 80 mg/mL como percentual de controle obteve 51,2%, valor abaixo do recomendado, no entanto, demonstra atividade acaricida e alguma interferência sobre o índice de produção de ovos e percentual de eclosão das larvas.

No que se refere aos resultados obtidos com o tratamento *C. argyrophyllus* na concentração de 40 mg/mL o mesmo não obteve um bom percentual de controle (0,5%), enquanto a concentração 80 mg/mL obteve um percentual de controle negativo, visto que este tratamento possuiu um peso de massa de ovos (0,1586),

índice de produção de ovos (58,27) e percentual de eclosão de larvas (97,8) superior ao do grupo controle Tween 20. Assim sendo, não foi eficaz sobre a vida reprodutiva das teleóginas não sendo capaz de inibir a postura de ovos nem a eclosão das larvas (Tabela 2).

Os grupos nos quais foram aplicadas as ultradiluições com princípios homeopáticos de *S. aromaticum* nas dinamizações 6CH, 12CH e 30CH obtiveram valores variando de -4,5% a 25,6% como percentual de controle: Para *C. argyrophyllus* nas dinamizações 6CH, 12CH e 30CH os resultados variaram de -14,5% a 18,3%. Assim sendo, as ultradiluições de ambos os O.E. não possuíram atividade acaricida significativa sobre as fêmeas ingurgitadas (Tabela 3).

Considerando-se que a ultra diluição de *S. aromaticum* na dinamização 6CH ocasionou mortalidade de 100% para larvas e provavelmente conseguiu preservar suas propriedades bioativas, considerando-se ainda que os tratamentos com os óleos nas concentrações 40 e 80 mg/mL demonstram atividade acaricida e alguma inferência sobre o índice de produção de ovos e percentual de eclosão das larvas. Infere-se que o percentual de controle das teleóginas (25,6%) pode ter sido influenciado por características como por exemplo a constituição da cutícula (carapaça) das fêmeas.

O carrapato possui duas camadas cuticulares, a epicutícula que seria a parte mais externa, fina, flexível e lipossolúvel, e a procutícula que seria mais interna e espessa. A epicutícula é observada em *R. microplus* somente a partir da ecdise da ninfa, portanto, nas fêmeas ingurgitadas expostas aos tratamentos é necessário que primeiro ocorra a dissolução da epicutícula para que o tratamento penetre nas camadas mais polares da cutícula, constituídas de proteínas hidrossolúveis. Quanto mais lipossolúvel se apresente o produto a ser aplicado sobre o carrapato (O.E., por exemplo), maior será a facilidade inicial que encontrará para penetrar a cutícula das teleóginas (GIGLIOTI, 2010; AGUIAR, 2020).

Tabela 2 - Média \pm Desvio padrão do peso inicial das fêmeas ingurgitadas (g), peso da massa de ovos (g), índice de produção de ovos (IPO%) e percentual de eclosão de larvas (%) de *Rhipicephalus (B.) microplus* tratadas com diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Croton argyrophyllus* e *Syzygium aromaticum* em condições laboratoriais (27 ± 1 °C e U.R. $\geq 80\%$).

Tratamentos	Peso das fêmeas ingurgitadas antes da postura (g)	Peso da massa de ovos (g)	Índice de produção de ovos (%)	Percentual de Eclosão de larvas (%)	Percentual de Controle
Controle Tween 20	0,1898 \pm 0,06a	0,0756 \pm 0,05ab	45,60 \pm 5,60ab	95,5 \pm 7,8ab	-
<i>Syzygium aromaticum</i> 40 mg/mL	0,1887 \pm 0,05a	0,2901 \pm 0,05ab	17,09 \pm 21,86a	29,0 \pm 41,4c	88
<i>Syzygium aromaticum</i> 80 mg/mL	0,1889 \pm 0,05a	0,1094 \pm 0,05b	38,21 \pm 9,03ab	46,4 \pm 44,6b	51,2
<i>Croton argyrophyllus</i> 40 mg/mL	0,1878 \pm 0,05a	0,0971 \pm 0,04a	43,65 \pm 18,08b	86,4 \pm 34,9ab	0,5
<i>Croton argyrophyllus</i> 80 mg/mL	0,1882 \pm 0,05a	0,1586 \pm 0,03ab	58,27 \pm 17,90ab	97,8 \pm 3,6a	-47,2

(*) Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa a 5% de significância ($p \geq 0,05$)

Tabela 3 - Média \pm Desvio padrão do peso inicial das fêmeas ingurgitadas (mg), peso da massa de ovos (mg), índice de produção de ovos (IPO%) e percentual de eclosão de larvas (%) de *Rhipicephalus microplus* tratadas com diferentes potências das ultradiluições com princípios homeopáticos dos óleos essenciais das plantas *Syzygium aromaticum* e *Croton argyrophyllus* em condições laboratoriais (27 ± 1 °C e U.R. $\geq 80\%$).

Tratamentos	Peso das fêmeas ingurgitadas antes da postura (g)	Peso da massa de ovos (g)	Índice de produção de ovos (%)	Percentual de Eclosão de larvas (%)	Percentual de Controle
Controle álcool 70%	0,2246 \pm 0,05a	0,1178 \pm 0,03a	52 \pm 2,37a	97,63 \pm 5,29a	-
Controle H ₂ O	0,2210 \pm 0,06a	0,1191 \pm 0,04a	54 \pm 4,06a	98,75 \pm 1,75a	-
<i>Syzygium aromaticum</i> 6CH	0,2296 \pm 0,06a	0,0999 \pm 0,05a	45 \pm 17,83a	87,50 \pm 27,73a	25,6
<i>Syzygium aromaticum</i> 12CH	0,2238 \pm 0,03a	0,1162 \pm 0,02a	52 \pm 3,62a	94,13 \pm 6,83a	4,5
<i>Syzygium aromaticum</i> 30CH	0,2221 \pm 0,07a	0,1212 \pm 0,05a	54 \pm 4,57a	98,00 \pm 5,26a	-4,5
<i>Croton argyrophyllus</i> 6CH	0,2197 \pm 0,04a	0,1068 \pm 0,02a	49 \pm 8,53a	97,50 \pm 7,07a	10,9
<i>Croton argyrophyllus</i> 12CH	0,2235 \pm 0,06a	0,1054 \pm 0,03a	47 \pm 5,24a	95,25 \pm 8,01a	-14,5
<i>Croton argyrophyllus</i> 30CH	0,2242 \pm 0,05a	0,0954 \pm 0,04a	45 \pm 18,82a	95,57 \pm 9,25a	18,3

(*) Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa a 5% de significância ($p \geq 0,05$)

Ainda que *C. argyrophyllus* possua propriedades inseticidas, antimicrobianas, antioxidantes, atividade leishmanicida e atividade larvicida sobre *Ae. aegypti* (CRUZ, 2016; CRUZ et al., 2017; SOUTO et al., 2020), quando aplicados sobre larvas e teleóginas de *R. microplus* não proporcionaram atividade acaricida significativa no presente trabalho. No entanto, algumas espécies do gênero *Croton* já demonstraram atividade acaricida em pesquisas de diversos autores (RIGHI et al., 2013; TENÓRIO et al., 2017; CASTRO et al., 2019) essas diferenças podem ser atribuídas as diferenças na composição dos constituintes presentes em seus O.E.s.

Brito et al. (2018), identificaram na composição volátil dos O.E.s de *C. argyrophyllus* e *C. heliotropiifolius* 60 constituintes. Os sesquiterpenos biciclogermacreno, espathulenol, cariofileno e o monoterpene β -pineno foram identificados como constituintes majoritários de *C. argyrophyllus* enquanto limoneno, α -pineno, cariofileno, biciclogermacreno e γ -terpineno apresentaram-se como constituintes majoritários do *C. heliotropiifolius*. Ao serem comparados os constituintes, nota-se que *C. heliotropiifolius* também apresenta os compostos majoritários de *C. argyrophyllus* em proporções menores e *C. argyrophyllus* não possui limoneno além de apresentar percentual inferior de α -pineno e γ -terpineno.

Croton heliotropiifolius apresentou eficácia no controle (68,12 - 100%) e sobre a vida reprodutiva das teleóginas do ixodídeo *Dermacentor nitens* (TENÓRIO et al., 2017). *C. pulegioidorus* quando aplicado sobre larvas e teleóginas de *R. microplus* obtiveram eficácia máxima de controle (100%), que foi atribuído a presença de *p*-cimeno, ao qual já havia sido atribuído possível efeito sobre diferentes estágios do carrapato em estudos com outras espécies (CASTRO et al., 2019). *C. argyrophyllus* possui *p*-cimeno, entretanto em uma proporção consideravelmente inferior.

Tendo em vista os dados expostos, supõe-se que *C. argyrophyllus* quando aplicado sobre as larvas e fêmeas ingurgitadas não obteve um bom percentual de controle por possuir os constituintes ativos em quantidades irrisórias para promoção de atividade acaricida, além de poder sofrer interferências das relações de sinergia e inibição que alguns constituintes podem infligir sobre outros (CAMPOS et al., 2012).

8 CONCLUSÃO

A utilização de óleo essencial de *S. aromaticum* apresentou ação acaricida para larvas e teleóginas de *R. microplus*. Sendo assim, um potencial candidato ao desenvolvimento de formulações no controle desse ixodídeo.

A ultra diluição com princípios homeopáticos formulada a partir do óleo essencial de *S. aromaticum* na dinamização 6CH é capaz de proporcionar índices de controle sobre as larvas do carrapato, demonstrando atividade larvicida *in vitro*.

A ultra diluição com princípios homeopáticos formulada a partir do óleo essencial de *S. aromaticum* na dinamização 6CH estima-se ser economicamente viável e mais acessível.

A utilização do O.E. de *C. argyrophyllus* e suas ultra diluições em diferentes concentrações e potências sobre as larvas e teleóginas de *R. microplus* não proporcionaram atividade acaricida significativa *in vitro*.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Resultados promissores com óleo essencial de *Syzygium aromaticum* em diferentes concentrações e suas ultras diluições com princípios homeopáticos foram observados no presente trabalho tornando-os candidatos ao desenvolvimento de formulações, com seus óleos essenciais ou fornecendo biomoléculas com propriedades acaricidas, voltadas especialmente para a fase de vida não parasitária do carrapato, enquadrando-o como potencial método inovador ao uso de formulações sintéticas. Diversas espécies do gênero *Croton* demonstraram potencial ação carrapaticida sobre diferentes estádios de *R. microplus*, entretanto, *Croton argyrophyllus* não demonstrou atividade acaricida satisfatória. Sendo assim sugere-se que seriam válidos mais estudos *in vitro* e *in vivo* para avaliação de potencial ação de *S. aromaticum* em outras formulações, inclusive formulações associadas a outras espécies do gênero *Croton*, além da realização de estudos com os hidrolatos e extratos hidroalcoólicos. Propõe-se ainda que deva ser considerado realização de novos estudos com modificações nos veículos das formulações e acréscimo do teste de imersão de larvas, para averiguar se haverá um percentual de controle superior aos encontrados no presente trabalho.

REFERÊNCIAS

- AFFONSO, R. da S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANCA, T. C. C.. Chemical and Biological Aspects of the Essential Oil of Indian Cloves. **Revista Virtual de Química**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20120012>.
- AGUIAR, Jackeline de Paula Santana de Andrade.. PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ENZIMAS QUITINOLÍTICAS PRODUZIDAS PELO FUNGO *Trichoderma asperellum* E SUA APLICAÇÃO NO BIOCONTROLE DO CARRAPATO *Rhipicephalus microplus* E DO INSETO *Aedes aegypti*. 2020. 47f. **Dissertação** (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2020.
- AHID, S. M. M.. **Apostila Didática em Entomologia Veterinária**/ Sílvia Maria Mendes Ahid. - Mossoró: UFERSA, 2010.
- ALMEIDA, D. F. L. S.. Estudo das vias metabólicas das plantas na síntese de pigmentos naturais. 2017. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de ciências da Saúde. Universidade Fernando Pessoa. Porto, Portugal.
- ALVAREZ, V.; LOAIZA, J.; BONILLA, R.; BARRIOS, M., Control *in vitro* de garrapatas (*Boophilus microplus*; Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales. **Revista de Biología Tropical**, v. 56, p. 291-302, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442008000100021&lng=en&nrm=iso>
- ANDRADE, F. M. C.; CASALI, V. W. D.. Homeopatia, agroecologia e sustentabilidade. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 6, n. 1, p. 49-56, 2011.
- ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; KOLLER, W. W. (ed.). **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Brasília, Df: Embrapa: Embrapa, 2019. 240 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/194263/1/Carrapatos-na-cadeia-produtiva-de-bovinos.pdf>. Acesso em: 08 jan. 2020.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada- **RDC Nº 2**, DE 15 DE JANEIRO DE 2007a. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2007/rdc0002_15_01_2007.html>
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada- **RDC Nº 26** DE 30 DE MARÇO DE 2007b. Disponível em: <<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=107176>>
- AURNHEIMER, R. C. M.; DA COSTA PEREIRA, M. A. V.; VITA, G.F.; DAMAS, S. L..Eficácia *in vitro* de *ruta graveolens*, nas formas fitoterápica e homeopática, para o controle de carrapatos. **Ars Veterinaria**, v. 28, n. 2, p. 122-127. 2012. ISSN 2175-0106. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/ars/article/view/11898>>.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M.. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008. Disponível em:
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691507004541>>

BARROS, J. C.; GARCIA, M. V.; ANDREOTTI, R.. Óleo essencial de *Tagetes minuta* como fitoterápico no controle dos carrapatos. In: ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; KOLLER, W. W. (ed.). **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Brasília: Embrapa, 2019. p. 169-180. Disponível em:
<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/194263/1/Carrapatos-na-cadeia-produtiva-de-bovinos.pdf>>.

BATISTA, F. T.; LACERDA, G. D.; SILVA, J. R. S.; RODRIGUES, L. P. T.; FEITOSA, T. P.; MUSTAFA, V. S.. O uso de plantas medicinais na medicina veterinária – riscos e benefícios. **REVET - Revista Científica do Curso de Medicina Veterinária**, v.4, n. 2, p.62-74, 2017. Disponível em:
<<http://revista.faciplac.edu.br/index.php/Revet/article/download/337/181>>.

BRASIL. Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo. Departamento de Apoio Técnico e Educação Permanente. Comissão Assessora de Homeopatia. **Homeopatia**. Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo. – São Paulo: Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo, 2019. 3ª ed. Disponível em: <<http://www.crfsp.org.br/images/cartilhas/homeopatia.pdf> > Acesso em: 15 fev. 2021

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Projeções Do Agronegócio Brasil 2019/20 a 2029/30 - Projeções de Longo Prazo**. 2020b. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio/projecoes-do-agronegocio_2019_20-a-2029_30.pdf/@download/file/PROJEC%CC%A7O%CC%81ES%20DO%20AGRO-NEGO%CC%81CIO_2019-20%20a%202029-30.pdf

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n. 48 de 12 de maio de 1997. Regulamento técnico para licenciamento e/ou renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário. **Diário Oficial da União [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 maio 1997. Seção 1.p.10165.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Avaliação seletiva de bovinos para o controle do carrapato *Rhipicephalus microplus***. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Inovação, Desenvolvimento Rural e Irrigação. – Brasília: MAPA, 2020a. Disponível em:
<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/arquivos-publicacoes-bem-estar-animal/CARRAPATOS2.pdf>

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Nº 971, de 03 de Maio de 2006. 2006. Disponível em:
https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971_03_05_2006.html

BRITO, S. S. S.; SILVA, F.; MALHEIRO, R.; BAPTISTA, P.; PEREIRA, J. A.. *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth: Phytochemical characterization and bioactive properties. **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 308-315, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.044>.

CAMARGO, M. G ; NOGUEIRA, M. R. S.; MARCIANO, A. F.; PERINOTTO, W. M. S.; COUTINHO-RODRIGUES, C. J. B.; SCOTT, F. B.; ANGELO, I. C.; PRATA, M. C. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.. *Metarhizium anisopliae* for controlling *Rhipicephalus microplus* ticks under field conditions. **Veterinary Parasitology**, v. 223, p. 38-42. 2016. DOI: [10.1016/j.vetpar.2016.04.014](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.04.014).

CAMPOS, M. P.; LABRUNA, M. B.. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Cap. 3. In: CAMPOS, M. P.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J.; KLAFKE, G. M. (Eds.). **Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência**. Medicina Veterinária, São Paulo, 2008.

CAMPOS, R.N.S.; BACCI, L.; ARAÚJO, A.P.A.; BLANK, A.F.; ARRIGONI-BLANK, M.F. ; SANTOS, G.R.A. ; RÖNER, M.N.B.. ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS MEDICINAIS E AROMÁTICAS NO CONTROLE DO CARRAPATO *RHIPICEPHALUS MICROPLUS*. **Archivos de Zootecnia**, n. 61 , p. 67-78. 2012. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49558825006>

CANSIAN, R. L., VANIN, A. B., ORLANDO, T., PIAZZA, S. P., PUTON, B. M. S., CARDOSO, R. I., GONÇALVES, I. L., HONAISSER, T. C., PAROUL, N., OLIVEIRA, D.. Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 77, n. 1, p. 155-161, Mar. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.12215>.

CASANOVA, L. M.; COSTA, S. S.. Interações sinérgicas em produtos naturais: potencial terapêutico e desafios. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, 2017. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v9n2a09.pdf>.

CASTRO, K. N. C.; CANUTO, K. M.; BRITO, E. S.; COSTA-JÚNIOR, L.M.; ANDRADE, I. M.; MAGALHÃES, J. A.; BARROS, D. M. A. B. In vitro efficacy of essential oils with different concentrations of 1,8-cineole against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. Jaboticabal , v. 27, n. 2, p. 203-210, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1984-296120180015>.

CASTRO, K. N. C.; CHAGAS, A. C. S.; COSTA-JÚNIOR, L. M.; CANUTO, K. M.; BRITO, E.S.; RODRIGUES, T. H. S.; ANDRADE, I.M.. Acaricidal potential of volatile oils from *Croton* species on *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.29, p. 811-815.2019. ISSN 0102-695X, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.09.001>.

COELHO, M. D.G.; BARBOSA, L. F. M.; FRANCO, T. F.; ALMEIDA, K. S.; AKISUE, G.. Controle do ectoparasita de bovinos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, através do uso de óleo essencial do Cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) e óleo

de Neem (*Azadirachta indica*). **Revista Agrária Acadêmica**. v. 2, n.4, p. 203 – 210. 2019. DOI: 10.32406/v2n42019/203-210/agrariacad

COSTA-MACHADO, A. R. M.; FREITAS, L. A. P. de; MENDIOLA, J. A.; IBÁÑEZ, E.. “*Copaifera langsdorffii* supercritical fluid extraction: Chemical and functional characterization by LC/MS and in vitro assays” **Journal of Supercritical Fluids**, v.100, p.86-96, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2015.02.028>.

Croton argyrophyllus in Ficha de Espécies do Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira (SiBBR). Disponível em: <https://ferramentas.sibbr.gov.br/ficha/bin/view/especie/croton_argyrophyllus>. Acesso em 22-02-2021.

CRUZ, B.C.; MENDES, A. F. L. ; MACIEL, W. G.; DOS SANTOS, I. B.; GOMES, L. V. C.; FELIPPELLI, G.; TEIXEIRA, W. F. P.; FERREIRA, L. L.; SOARES, V. E.; LOPES, W. D. Z.; DA COSTA, A. J.; OLIVEIRA, G. P.. Biological parameters for *Rhipicephalus microplus* in the field and laboratory and estimation of its annual number of generations in a tropical region. **Parasitology Research**. 119, 2421–2430.2020. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06758-5>

CRUZ, R. C. D. da.. Avaliação do potencial inseticida das folhas de *Croton argyrophyllus* (Euphorbiaceae) sobre o *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e toxicológica sobre *Mus musculus* (Rodentia: Muridae). 2016. 61 f. **Dissertação** (Mestrado), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2016. Disponível em: <http://www2.uesb.br/ppg/ppgca/wp-content/uploads/2017/11/Disserta%C3%A7%C3%A3o-PPGCA-R%C3%B4mulo-Cruz-pdf.pdf>. Acesso em: 24 jan. 2021.

CRUZ, R. C. D.; SILVA, S. L. C. E.; SOUZA, I. A.; GUALBERTO, S. A.; CARVALHO, K. S.; SANTOS, F. R.; CARVALHO, M. G.. Toxicological Evaluation of Essential Oil From the Leaves of *Croton argyrophyllus* (Euphorbiaceae) on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and *Mus musculus* (Rodentia: Muridae), **Journal of Medical Entomology**, v. 54, n. 4, p 985–993. 2017. DOI:<https://doi.org/10.1093/jme/tjw239>

CUNHA, R. C.; CABRAL, B. T. C.; LEITE F. P. L; ANDREOTTI, R.. Vacinas contra o carrapato-do-boi no Brasil. In: ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; KOLLER, W. W. (ed.). **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Brasília: Embrapa, 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1107154/vacinas-contra-o-carrapato-do-boi-no-brasil>>. Acesso em: 28 jan. 2021.

DE LA FUENTE, J.; ESTRADA-PEÑA, A.. Why New Vaccines for the Control of Ectoparasite Vectors Have Not Been Registered and Commercialized?. **Vaccines**. v. 7, n. 75, 2019. Disponível em:< <https://www.mdpi.com/2076-393X/7/3/75/htm>> Acesso em: 15 jan. 2021 <https://doi.org/10.3390/vaccines7030075>

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

ELLSE, L.; WALL, R.. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: A review. **Medical and Veterinary Entomology**. v. 28, n. 3, p. 233-243. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/mve.12033>

FARMACOPEIA Homeopática Brasileira. 3.ed. Brasília: Comissão da Farmacopeia Brasileira, 2011. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/farmacopeiabrasileira/conteudo/3a_edicao.pdf>. Acesso em 01 fev. 2020

FEDER, D.; GONZALEZ, M. S.; MELLO, C. B.; SANTOS, M. G.; ROCHA, L.; KELECOM, A.; FOLLY, E.. Exploring the Insecticide and Acaricide Potential of Development Regulators obtained from Restinga vegetation from Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 1, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201920180381>.

FERNÁNDEZ-RUVALCABA, M.; PEÑA-CHORA, G.; ROMO-MARTÍNEZ, A.; HERNÁNDEZ-VELÁZQUEZ, V.; DE LA PARRA, A. B.; DE LA ROSA, D. P.. Evaluation of *Bacillus thuringiensis* pathogenicity for a strain of the tick, *Rhipicephalus microplus*, resistant to chemical pesticides, **Journal of Insect Science**.v. 10. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1673/031.010.14146>

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

FERREIRA, F. M.. Atividade acaricida do eugenol, do óleo essencial e do hidrolato de *Syzygium aromaticum* (Myrtaceae) frente a espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). 2016. 73 f. **Dissertação** (Mestrado acadêmico) Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/4559>

FERREIRA, F.M.; DELMONTE, C.C.; NOVATO, T.L.P.; MONTEIRO, C.M.O.; DAEMON, E.; VILELA, F.M.P.; AMARAL, M.P.H.. Acaricidal activity of essential oil of *Syzygium aromaticum*, hydrolate and eugenol formulated or free on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus*. **Medical and Veterinary Entomology** v. 32, p.41-47. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/mve.12259>

FROHLICH, P. C.; SANTOS, K. A.; CARDOZO-FILHO, L.; SILVA, E. A.. OBTENÇÃO DO EXTRATO DAS FOLHAS DE CRAVO DA ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*) COM CO₂ SUPERCRÍTICO E ADIÇÃO DOS COSSOLVENTES ETANOL E ACETATO DE ETILA. **Revista Ensaios Pioneiros**. v. 2, n.1, p. 20-31. 2018. DOI: <https://doi.org/10.24933/rep.v2i1.125>

GIACHETTO, P. F.. Transcriptoma do carrapato dos bovinos. In: ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; KOLLER, W. W. (ed.). **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Brasília: Embrapa, 2019. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1107162/1/Transcriptomadocarrapatosdosbovinos.pdf>>. Acesso em: 28 jan. 2021.

GIGLIOTI, Rodrigo. EFEITO DE EXTRATOS DE SEMENTES DE NIM (*Azadirachta indica*) SOBRE FÊMEAS INGURGITADAS E LARVAS DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE). 2010. 55f. **Dissertação**

(Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.

GOMES, P. R. B.; MOUCHREK FILHO V. E.; RABÊLO W. F.; do NASCIMENTO A. A.; LOUZEIRO, H. C.; LYRA, W. S.; FONTENELE, M. A.. Caracterização química e citotoxicidade do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). **Revista Colombiana de Ciências Químico - Farmacéuticas**, Bogotá , v. 47, n. 1, p. 37-52, 2018. DOI: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v47n1.70657>.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; de BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; de LEÓN, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S.. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 23, n. 2, p.150-156. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612014042>.

HIGA, L. O. S.; GARCIA, M. V.; BARROS, J. C.; KOLLER, W. W.; ANDREOTTI, R. Acaricide resistance status of the *Rhipicephalus microplus* in Brazil: a literature overview. **Medicine Chemistry**, v. 5, 2015. 326-333 p. DOI: <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0444.1000281>

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção animal no acumulado de 2020. 2020. (In: **Indicadores IBGE: Estatística da Produção Pecuária**, p. 38-43). Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp_2020_4tri.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2021.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Aromatic natural raw materials – Vocabulary. **ISO 9235:2013** Disponível em: <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-2:v1:en>> Acesso em: 10 mar. 2021.

JAIN, P.; SATAPATHY, T.; PANDEY, R. K.. *Rhipicephalus microplus*: A parasite threatening cattle health and consequences of herbal acaricides for upliftment of livelihood of cattle rearing communities in Chhattisgarh, **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**.v. 26. 2020. ISSN 1878-8181. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101611>.

KASAI, H.; SHIRAO, M.; IKEGAMI-KAWAI, M.. Analysis of volatile compounds of clove (*Syzygium aromaticum*) buds as influenced by growth phase and investigation of antioxidant activity of clove extracts. **Flavour and Fragrance Journal**. v.31, n.2, p. 178–184. 2015. DOI:10.1002/ffj.3299

KAUR, K.; KAUSHAL, S.. Phytochemistry and pharmacological aspects of *Syzygium aromaticum*: A review. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v.8, n.1,p. 398 - 406, 2019. Disponível em: <<https://www.phytojournal.com/archives/?year=2019&vol=8&issue=1&ArticleId=6762&si=false>> Acesso em: 05 fev. 2021.

KLAFKE, G.; WEBSTER, A.; AGNOL, B. D.; PRADEL, E.; SILVA, J.; de La CANAL, L. H.; BECKER, M.; OSÓRIO, M. F.; MANSSON, M.; BARRETO, R.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSINI, V. B.; DOS SANTOS, J.; RECK, J.; MARTINS, J. R.. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus*

from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**. v. 8, n. 1, p. 73-80. 2017. ISSN 1877-959X. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.09.019>.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; GODINHO, R. O. M. L. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L.; PETROVICK, P. R.. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFSC; Florianópolis: UFRGS, 2004. p. 247-262

LE GALL, V.L.; KLAFKE, G.M.; TORRES, T.T.. Detoxification mechanisms involved in ivermectin resistance in the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Scientific Reports**. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30907-7>

LIMA DE SOUZA, J.R.; REMEDIO, R.N.; ARNOSTI, A.; ABREU, R.M.M.; CAMARGO-MATHIAS, M.I.. The effects of neem oil (*Azadirachta indica* a. Juss) enriched with different concentrations of azadirachtin on the integument of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: ixodidae) females. **Microscopy Research and Technique**, v. 80, n. 8, p. 838-844. 2017. DOI:10.1002/jemt.22871.

LORMENDEZ, C.C.; FERNANDEZ-RUVALCABA, M.; ADAMES-MANCEBO, M.; HERNANDEZ-VELAZQUEZ, V. M.; ZUÑIGA-NAVARRETE, F.; FLORES-RAMIREZ, G.; LINA-GARCIA, L.; PEÑA-CHORA, G.. Mass production of a S-layer protein of *Bacillus thuringiensis* and its toxicity to the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Scientific Reports** 9, 17586. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53854-3>

MARTINS, T. F.; LUZ, H. R.; MUÑOZ-LEAL, S.; RAMIREZ, D. G.; MILANELO, L.; MARQUES, S.; SANCHES, T.C.; ONOFRIO, V. C.; ACOSTA, I. DA C.L.; BENATTI, H. R.; MATURANO, R.; OLIVEIRA, P. B. DE; ALBUQUERQUE, G. R.; MARCILI, A.; FLAUSINO, W.; SILVEIRA, L. F.; MCINTOSH, D.; FACCINI, J. L. H.; LABRUNA, M. B.. A new species of *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) associated with monkeys and passerines of the Atlantic rainforest biome, Southeastern Brazil, **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 6. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.07.003>.

MATHISON B. A.; PRITT B. S.. Laboratory identification of arthropod ectoparasites. **Clinical Microbiology Reviews**. v.27, n.1, p.48-67, 2014. DOI:10.1128/CMR.00008-13

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

MENDES M. C.; DUARTE F. C.; MARTINS J. R.; KLAFKE G. M.; FIORINI L. C.; BARROS A.T. M. D.. Characterization of the pyrethroid resistance profile of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* populations from the states of Rio Grande do Sul and Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22 n. 3, p.379-384, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612013000300010>> Acesso em: 14 de dez. 2020.

MONTEIRO, C. M. O. Controle de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) com nematoides entomopatogênicos: aplicação em formulação inseto cadáver e compatibilidade com outros agentes de controle. 2014. 199 p. (**Dissertação**). Programa de pós-graduação em Ciências Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

MONTEIRO, C.M.; MATURANO, R.; DAEMON, E.; CATUNDA-JUNIOR, F. E. A.; CALMON, F.; SENRA, T. S.; FAZA, A.; CARVALHO, M. G.. Acaricidal activity of eugenol on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari. **Parasitology Research**, [s.l.], v. 111, n. 3, p.1295-1300, 24 maio 2012. Springer Science and Business Media LLC. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-012-2964-0>.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**. São Paulo: Roca, 2017. 368p.

MORAIS, Pedro Gilberto Silva de. Homeopatia no controle de carrapatos *Rhipicephalus microplus* em bovinos mestiços leiteiros. 2014. 39 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Biologia, Faculdade de Medicina Veterinária de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

MORE: Mecanismo online para referências, versão 2.0. Florianópolis: UFSC Rexlab, 2013. Disponível em: <http://www.more.ufsc.br/>.

MURRELL, A.; BARKER, S. C. Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, v. 56, n. 1, 2003. 169-172 p. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/8931661_Synonymy_of_Boophilus_Curtice_1891_with_Rhipicephalus_Koch_1844_Acari_Ixodidae>. Acesso em 13 jan. 2021.

National Center for Biotechnology Information (NCBI-ID: 6941; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=6941>) dos Estados Unidos da América.

PERINOTTO, W. M. S. ; ANGELO, I. C. ; GOLO, P. S. ; CAMARGO, M. G. ; QUINELATO, SIMONE ; SA, F. A. ; COUTINHO-RODRIGUES, C. J. B. ; MARCIANO, A. F. ; MONTEIRO, C. M. O. ; BITTENCOURT, V. R. E. P. . In vitro pathogenicity of different *Metarhizium anisopliae* s.l. isolates in oil formulations against *Rhipicephalus microplus*. **Biocontrol Science and Technology** , v. 27, p. 338/1360-0478-347, 2017. DOI: 10.1080/09583157.2017.1289151

RIGHI, A.A.; MOTTA, L.B.; KLAFKE, G.M.; POHL, P.C.; FURLAN, C.M.; SANTOS, D.Y.A.C.; SALATINO, M.L.F.; NEGRI, G.; LABRUNA, M.B.; SALATINO, A.. Chemical composition and efficacy of dichloromethane extract of *Croton sphaerogynus* Baill. (Euphorbiaceae) against the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: ixodidae). **Veterinary Parasitology**. 192 (1–3), p. 292–295. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.11.005>

Rhipicephalus microplus Canestrini, 1888 in GUGLIELMONE, A. A.; PETNEY, T. N.; ROBBINS, R. G.. Ixodidae (Acari: Ixodoidea): descriptions and redescriptions of all known species from 1758 to December 31, 2019. 2020. Plazi.org taxonomic

treatments database. Checklist dataset <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4871.1.1> accessed via GBIF.org on 2021-04-27.

SALMAN, M.; ABBAS, R. Z.; ISRAR, M.; ABBAS, A.; MEHMOOD, K.; KHAN, M. K.; SINDHU, Z. D.; HUSSAIN, R.; SALEEMI, M. K.; SHAH, S.. Repellent and acaricidal activity of essential oils and their components against *Rhipicephalus* ticks in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 283, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109178>

SANTI, L.; COUTINHO-RODRIGUES, C. J. B.; BERGER, M.; KLEIN, L.A.S.; SOUZA, E.M.; ROSA, R.L.; GUIMARAES, J.; YATES, J.R.; PERINOTTO, W. M. S.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; BEYS da SILVA, W. O.. Secretomic analysis of *Beauveria bassiana* related to cattle tick, *Rhipicephalus microplus*, infection. **Folia Microbiologica**, v. 63, p. 1-12. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12223-018-0659-3>

SANTOLIN, Leandro. Síntese enzimática do acetato de eugenila a partir do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). 2019. 81 f. **Dissertação** (Mestrado em Processos Químicos e Biotecnológicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2019. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/4495>

SANTOS, A.V.; OLIVEIRA, R.A.; ALBUQUERQUE, G.R..The *in vitro* effect of neem extract (*Azadirachta indica*) and clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) in the *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 34, p.111–115, 2012. Disponível em: <http://rbmv.org/index.php/BJVM/article/view/702/564> Acesso em 13 fev.. 2021.

SCHETTERS, T.; BISHOP, R.; CRAMPTON, M.; KOPÁČEK, P.; LEW-TABOR, A.; MARITZ-OLIVIER, C.; MILLER, R.; MOSQUEDA, J.; PATARROYO, J.; RODRIGUEZ-VALLE, M.; SCOLES, G. A.; DE LA FUENTE, J.. Cattle tick vaccine researchers join forces in CATVAC. **Parasites Vectors** 9, 105 (2016). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1386-8>

SHOWLER A. T.. Botanically based repellent and insecticidal effects against horn flies and stable flies (Diptera: Muscidae). **Journal of Integrated Pest Management**. v. 8, n.1, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/jipm/pmx010> Acesso em: 10 jan. 2021.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTEZ, L. A.; PETROVICK, P. R.. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 5ª ed., Porto Alegre – Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2003.

SOH, W.K.; PARNELL, J.. A revision of *Syzygium* Gaertn. (Myrtaceae) in Indochina (Cambodia, Laos and Vietnam), **Adansonia**, v.37, n.2, p.179-275, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5252/a2015n2a1>

SOUTO, E.B.; SEVERINO, P.; MARQUES, C.; ANDRADE, L.N.; DURAZZO, A.; LUCARINI, M.; ATANASOV, A.G.; EL MAIMOUNI, S.; NOVELLINO, E.; SANTINI, A. *Croton argyrophyllus* Kunth Essential Oil-Loaded Solid Lipid Nanoparticles: Evaluation of Release Profile, Antioxidant Activity and Cytotoxicity in a

Neuroblastoma Cell Line. **Sustainability** 2020, 12, 7697. DOI: <https://doi.org/10.3390/su12187697>

SPINOSA, H. S.; GÓRNIAC, S. L.; BERNARDI, M. M.. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 4. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2006. 897 p. ISBN 9788527711807

SPINOSA, H. S.; GÓRNIAC, S. L.; PALERMO NETO, J.. Toxicologia aplicada à medicina veterinária. Barueri: **Manole**, 2008. xvii, 942 p. ISBN 978-85-204-2257-1 (enc.)

TEIXEIRA, M. Z. Homeopatia nas doenças epidêmicas: conceitos, evidências e propostas. **Revista de Homeopatia**, v. 73, n. 29, p. 36–56, 2010.

TENÓRIO, Rodrigo Ferreira Lima. Atividade biológica “*in vitro*” de extratos de *Commiphora leptophloeos* (Mart.) JB Gillett, *Ziziphus joazeiro* Mart., *Croton heliotropiifolius* Kunth, *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & Grimes e *Eugenia uniflora* L. contra ixodídeos, culicídeos e nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. 2017. 110 f. **Tese** (Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

YESSINOU, R. E.; ADINCI, J.; SESSOU, P.; ADEHAN, S.; TONOUWEHA, A.; AKPO, Y.; ADOLIGBE, C.; ASSOGBA, M. N.; KOUTINHOIN, B.; YOUSSEAO, A. K. I.; FAROUGOU, S.. In vitro acaricidal effect of *Syzygium aromaticum* and *Cymbopogon citratus* essential oils on engorged female of cattle tick *Rhipicephalus microplus* in Benin. **Scientific Journal of Veterinary Advance**. v. 5, p.80-86. 2016a. ISSN 2322-1879 DOI: 10.14196/sjva.v5i3.2155

YESSINOU, R.E.; AKPO, Y.; ADOLIGBE, C.; ADINCI, J.; ASSOGBA, M. N.; KOUTINHOIN, B.; KARIM, I. Y. A.; FAROUGOU, S..Resistance of tick *Rhipicephalus microplus* to acaricides and control strategies. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 4, p. 408– 414. 2016b. Disponível em: <https://www.entomoljournal.com/archives/?year=2016&vol=4&issue=6&ArticleId=1367> Acesso em: 20 fev. 2021