

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS DOIS VIZINHOS
CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

JACKELINE DALL AGNOL DE LIMA

**PRODUTOS BIOLÓGICOS E NATURAIS À BASE DE PLANTAS SOBRE
CARRAPATOS *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini 1887)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS
2016

JACKELINE DALL AGNOL DE LIMA

**PRODUTOS BIOLÓGICOS E NATURAIS À BASE DE PLANTAS SOBRE
CARRAPATOS *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini 1887)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de Zootecnista.

Orientador: Prof. Dr. Everton R. Lozano da Silva
Coorientador: Prof. Ms. Valter Oshiro Vilela

DOIS VIZINHOS

2016



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Dois Vizinhos
Gerência de Ensino e Pesquisa
Curso de Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO

TCC

PRODUTOS ALTERNATIVOS NATURAIS SOBRE CARRAPATOS *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*

Autor (a): Jackeline Dall Agnol de Lima

Orientador: Prof. Dr. Everton R. Lozano da Silva

Coorientador: Prof. Ms. Valter Oshiro Vilela

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADO em de de 2016.

Profº. Ms. Valter Oshiro Vilela

Profª. Dr.Samara Ernandes

Profº. Dr. (Orientador) Everton Ricardi Lozano da Silva

Ao meu avô e meus pais pela confiança em mim depositada e pelo imensurável amor em todas as etapas da minha vida. Eternamente grata.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e iluminação divina.

Ao meu avô que me ensinou os primeiros passos e me guiou sempre que necessitei. A ele meu imensurável amor e gratidão por ter compartilhado sua infinita sabedoria e por me guiar nas decisões da vida.

A minha mãe, mulher admirável e meu mundo. Agradeço por estar sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida, principalmente nos mais difíceis. E por ser porto seguro. Que além da vida deixou bater minhas asas e seguir meu caminho. Minha inspiração para sempre seguir em frente.

Ao meu pai, meu protetor, pela sua sabedoria e confiança em mim, és meu norte, meu amor mais sublime e sincero a ti.

Ao meu irmão – amigo por ser meu espelho a quem busco conforto e inspiração para minha vida, meu fiel amigo que esta sempre ao meu lado. Minha fonte de sabedoria profissional e pessoal.

A minha irmã, que me ensinou o caminho do conhecimento, pelo seu exemplo de perseverança e força de vontade, minha amiga e minha escoteira.

A minha amiga Laura que sempre esteve ao meu lado, compartilhando nossas conversas e conhecimentos, pelos momentos de tristeza a alegria que passamos juntas e por ser esta pessoa mais que única e especial em minha vida.

A minha amiga irmã Maryana, que me ensinou a ter serenidade em momentos conflituosos, agradeço pela convivência e confiança que estabelecemos durante a graduação e que sempre esteve comigo quando mais necessitei de ajuda, é uma das amigas que não interessa aonde ambas estarão, jamais vamos deixar de conversar sobre os seriados americanos, os sotaques britânicos e a filosofia da vida. Grata.

Ao meu primeiro orientador de iniciação científica, amigo e professor Dr. Everton Lozano, o qual sempre exaltei como exemplo de professor e orientador e por ser meu Pai científico durante os quatro anos de graduação. Obrigada por me acolher e compartilhar seu exímio conhecimento e por me apresentar o quão maravilhoso é a área da entomologia aplicada e o controle biológico.

Ao meu mais que Tutor, professor Dr. Douglas Sampaio Henrique, pai de graduação, meu muito obrigado pelas infinitas conversas e conselhos e por ter acreditado em meu potencial.

Ao Prof^o Ms. Valter Oshiro Vilela por acreditar em minhas ideias malucas e dar suporte científico para concretiza-las.

A Prof^a Michele Potrich, pelo amor efetivo que demonstrou em todos os anos de convivência, pelas conversas irônicas amáveis. És exemplo de mulher, amiga, mãe e acima de tudo pelos ensinamento sobre a vida e como ser uma mulher de classe nos momentos mais peculiares da vida.

Aos amigos do Laboratório de Controle Biológico, Fernando Sanagiotto, Matheus Padilha, Lísia Lima, Aline Mara, Sidinei Dallacort, Darlin Ramos, Mayara Devide, Flávia G. Tedesco pelos momentos de convivência e conhecimento compartilhado, pelas conversar e festas juntos.

Aos professores e colaboradores da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos, que sempre estiveram dispostos em auxiliar quando necessário.

RESUMO

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ácaro ectoparasita de interesse em sanidade animal, pois está envolvido tanto na transmissão de importantes doenças provocadas por protozoários, vírus e riquetsias, como na produção de danos diretos pela espoliação de sangue, produção de alergias e lesões cutâneas. Medidas de controle menos agressivas aos animais e ao ambiente e que possam controlar o referido ectoparasita são necessárias. O controle biológico por meio de fungos entomopatogênicos e a utilização de produtos à base de plantas, como os produtos comerciais e óleos essenciais podem ser estratégias viáveis para o controle de *R. (B). microplus* nas diferentes fases de vida. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de fungos entomopatogênicos, produtos alternativos naturais comerciais à base de plantas e óleos essenciais sobre ovos e larvas de *R. (B). microplus*. Para a obtenção dos ovos, as fêmeas ingurgitadas foram coletadas de animais livres da aplicação de carrapaticidas e identificadas por meio das características morfológicas da espécie. Os fungos comerciais utilizados foram *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, na concentração de 1×10^8 conídios mL⁻¹ por grama. Os produtos comerciais utilizados foram Azamax[®], Base Nim[®], respectivamente nas concentrações 12g/L (1,2% m/m), 0,12 % p/p, e Piretro[®] 11g/L (1,25g de piretrina pura), concentrações recomendadas para outras pragas e ácaros de interesse agrônomico. O óleo essencial de pitanga, *Eugenia uniflora*, foi avaliado nas concentrações: 0; 0,31; 0,62; 1,25; 2,5; 5; 10%. Para os experimentos com ovos, estes foram imersos nas suspensões dos produtos avaliados, utilizando-se oito repetições com 30 ovos em cada repetição. Para larvas os produtos foram pulverizados, utilizando-se oito repetições com 20 larvas cada. Em ambos experimentos foi utilizado como testemunha água mineral esterilizada. Após a aplicação dos tratamentos os bioensaios foram acondicionados em câmara climatizada à temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $65 \pm 10\%$. Para os bioensaios com ovos foi avaliado o percentual de eclosão das larvas após os 30 dias da aplicação dos produtos. Para larvas a avaliação foi diária, durante 21 dias, quantificando-se o número de indivíduos mortos. Nas avaliações sobre os ovos, verificou-se que *M. anisopliae* e *B. bassiana* reduziram o percentual de eclosão, com respectivamente 2,5% e 4,58%, diferindo significativamente da testemunha (85,41%). Da mesma forma, o percentual de eclosão nos tratamentos com os produtos alternativos comerciais Azamax[®] (54,16), Base Nim[®] (40,83%) e Piretro[®] (69,16%) foi reduzido, diferindo significativamente da testemunha (92,91%). Com relação ao óleo essencial de *E.uniflora*, as concentrações de 0,62 % e 5% reduziram significativamente o percentual de eclosão em relação a testemunha, para 18,11% e 38,75%, respectivamente. Com relação as larvas, os percentuais de mortalidade causados pelos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana*, foram respectivamente de 91,87% e 84,37%, diferindo significativamente da Testemunha (53,12%). Os percentuais de mortalidade causados pelos produtos alternativos Azamax[®] (73,12%), Base Nim[®] (83,75%) e Piretro (66,25%) diferiram significativamente da testemunha (10,00%). E para as diferentes concentrações de *E. uniflora* (0,62%), (1,25%), (2,5%), (5%) e (10,00%), os percentuais de mortalidade larval foram respectivamente de 46,87%, 63,75%, 85,00%, 96,25% e 91,25%, diferindo significativamente da testemunha (16,37%). Diante do exposto, os agentes de controle avaliados apresentam potencial como alternativa de controle de *R.(B). microplus*, tanto na fase de ovo, quanto na fase de larva. Entretanto, há a necessidade de estudos complementares para avaliar os efeitos desses agentes de controle em condições de campo.

Palavras-chave: Controle de Carrapatos, controle biológico, controle alternativo.

ABSTRAC

The *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick is an ectoparasite mite of interest in animal health, as it is involved in the transmission of important diseases caused by protozoa, viruses and rickettsia, as well as in the production of direct damages due to blood spillage, allergy production and injury Cutaneous. Control measures less aggressive to animals and the environment and that can control said ectoparasite are necessary. Biological control through entomopathogenic fungi and the use of herbal products such as commercial products and essential oils may be viable strategies for the control of *R. (B). Microplus* in different phases of life. In this sense, the objective of this work was to evaluate the effect of entomopathogenic fungi, alternative commercial products based on plants and essential oils on eggs and larvae of *R. (B). Microplus*. To obtain the eggs, the engorged females were collected from animals free of the application of carrapaticides and identified through the morphological characteristics of the species. The commercial fungi used were *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*, at the concentration of 1×10^8 conidia mL⁻¹ per gram. The commercial products used were Azamax[®], Base Nim[®], respectively at concentrations 12g / L (1.2% w / w), 0.12% w / w and Pyrethro 11g / L (1.25g pure pyrethrin). Concentrations recommended for other pests and mites of agronomic interest. The essential oil of pitanga, *Eugenia uniflora*, was evaluated at concentrations: 0; 0.31; 0.62; 1.25; 2.5; 5; 10%. For the experiments with eggs, these were immersed in the suspensions of the evaluated products, using eight repetitions with 30 eggs in each repetition. For larvae the products were pulverized using eight replicates with 20 larvae each. In both experiments, sterilized mineral water was used as the control. After application of the treatments, the bioassays were conditioned in an air-conditioned room at a temperature of $28 \pm 2^\circ\text{C}$, relative humidity of $65 \pm 10\%$. For the bioassays with eggs the percentage of hatching of the larvae was evaluated after 30 days of application of the products. For larvae the evaluation was daily, during 21 days, quantifying the number of individuals killed. In the evaluations on eggs, it was verified that *M. anisopliae* and *B. bassiana* reduced the hatching percentage, with respectively 2.5% and 4.58%, differing significantly from the control (85.41%). Likewise, the percentage of hatching in the treatments with alternative commercial products Azamax[®] (54,16), Base Nim[®] (40,83%) and Piretro (69,16%) was reduced, differing significantly from the control (92, 91%). With respect to *E.uniflora* essential oil, concentrations of 0.62% and 5% significantly reduced the hatching percentage in relation to the control, to 18.11% and 38.75%, respectively. Regarding larvae, the percentages of mortality caused by *M. anisopliae* and *B. bassiana* were 91.87% and

84.37%, differing significantly from Witness (53.12%), respectively. The percentages of mortality caused by the alternative products Azamax[®] (73.12%), Base Nim[®] (83.75%) and Piretro (66.25%) differed significantly from the control group (10.00%). And for the different concentrations of *E. uniflora* (0.62%), (1.25%), (2.5%), (5%) and (10,00%), the percentages of larval mortality were respectively 46.87%, 63.75%, 85.00%, 96.25% and 91.25%, differing significantly from the control (16.37%). Considering the above, the control agents evaluated have potential as an alternative to control *R. (B). microplus*, both in the egg phase and in the larval stage. However, there is a need for further studies to evaluate the effects of these control agents under field conditions.

Key words: Tick control, biological control, entomopathogenic fungi, essential oil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Caracterização morfológica e estrutural de *R.(B.) microplus*: 1A – Morfologia de *R.(B.) microplus* macho em vista dorsal. 1B – Morfologia do aparelho bucal de *R.(B.) microplus*. 1C Morfologia *R.(B.) microplus* vista ventral.....17

Figura 2: Fotomicrografia da superfície de um couro bovino. A seta indica o tecido recomposto originado da lesão causada pelo hipostômio de *Boophilus microplus*. Aumento = 10x.....20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Percentual médio (\pm EP) de eclosão acumulada de *R. (B.) microplus*, causada por fungos entomopatogênicos, produtos alternativos naturais comerciais e óleo essencial de *Eugenia uniflora* em diferentes concentrações.....33

Tabela 2: Percentual médio (\pm EP) de mortalidade larval ao longo do tempo e acumulada, de *R. (B.) microplus*, causada por fungos entomopatogênicos, produtos alternativos naturais comerciais e óleo essencial de *Eugenia uniflora*, em diferentes concentrações.....39

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	13
2.0 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Taxonomia, ecologia e biologia de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	16
2.2 Danos e prejuízos causados por <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> a bovinocultura ...	19
2.3 Controle de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	21
2.3.1 Controle químico com acaricidas	21
2.3.2 Controle biológico com microrganismos e controle alternativo com produtos de origem vegetal.....	23
2.3.2.1 Controle Biológico com Microrganismos	24
2.3.3 Controle alternativo com produtos naturais comerciais	26
2.3.4 Controle alternativo com óleo essencial de plantas.....	27
3.0 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 Obtenção de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	29
3.2 Obtenção dos produtos alternativos.....	29
3.3 Avaliação dos produtos alternativos naturais e fungos entomopatogênicos sobre ovos de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	30
3.4 Avaliação dos produtos alternativos naturais e fungos entomopatogênicos sobre larvas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	30
3.5 Análise Estatística	31
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1 Avaliação dos produtos alternativos naturais e fungos entomopatogênicos sobre ovos de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	32
4.2 Avaliação dos produtos alternativos naturais e fungos entomopatogênicos sobre larvas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	37
CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1.INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se na produção animal, sobretudo no setor alimentício, tanto na produção de carne, leite e seus derivados, como na exportação de couro. De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em todo o Brasil, no 2º trimestre de 2015, foram abatidas 7,63 milhões de cabeças de bovinos sob algum tipo de serviço de inspeção sanitária. No 2º trimestre de 2015, os curtumes investigados pela Pesquisa Trimestral do Couro – aqueles que curtem pelo menos 5.000 unidades inteiras de couro cru bovino por ano – declararam ter recebido 8,09 milhões de peças inteiras de couro cru de bovino. Os estados que possuem arrecadação expressiva de couro, para customizar são Mato Grosso, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Sul, Pará, Goiás, Paraná (MAPA, 2015).

A qualidade do couro bovino é diretamente influenciada pela presença de injúrias, o que reduz seu valor comercial. O carrapato comum dos bovinos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* apresenta importância à pecuária nacional em virtude das perdas econômicas que causa aos produtores (GRISI et al., 2002).

O carrapato *R. (B.) microplus* é um ácaro ectoparasita, de interesse em sanidade animal, pois está envolvido tanto na transmissão de importantes doenças provocadas por protozoários, vírus e riquetsias, como na produção de danos diretos pela espoliação de sangue, produção de alergias e lesões cutâneas (VERÍSSIMO, 2013). De acordo com Grisi et al. (2014), o parasitismo por carrapato é um dos principais problemas na bovinocultura leiteira no Brasil, resultando em perdas significativas ao setor. Ainda, segundo os autores, em 2014 os prejuízos econômicos causados pelo carrapato bovino no Brasil foram estimados em cerca de 3,24 bilhões de dólares.

No Brasil o controle de *R. (B.) microplus* baseia-se na aplicação de carrapaticidas, em sua maioria de forma indiscriminada, sem o conhecimento prévio dos aspectos bioecológicos relacionados ao ciclo de vida do carrapato. Isto tem contribuído para a seleção de populações de carrapatos resistentes aos diversos princípios ativos utilizados comercialmente (PEREIRA et al., 2008). Além disso, tem-se os riscos de contaminação ambiental e à saúde humana, por meio do consumo dos produtos finais de origem animal, como por exemplo, carne e leite contaminados (RIBEIRO et al., 2011).

Nesse contexto, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas e estratégias de controle de carrapatos alternativos ao controle químico e que sejam menos agressivas ao meio ambiente, aos animais e ao homem. O controle alternativo com produtos naturais e o controle biológico com fungos entomopatogênicos podem ser estratégias eficientes e viáveis para o controle do referido ácaro, configurando-se como promissores para o controle destes, como evidenciado em trabalho de Broglio Micheletti et al (2009) com extratos alcoólicos sobre fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*.

Os produtos naturais à base de plantas (extratos e óleos essenciais) são compostos originários dos metabólitos secundários das plantas que possuem diferentes compostos químicos, os quais segundo Steffens (2010) agem na defesa da planta contra o ataque de patógenos e insetos, conferindo as plantas a sobrevivência no ecossistema. Nesse contexto, tais produtos naturais podem apresentar diferentes efeitos sobre os carrapatos em diferentes fases da vida.

A utilização de plantas para o controle de pragas vem sendo cada vez mais estudada, pois são mais seguras para humanos, animais de produção e meio ambiente. No Brasil, tais estudos se destacam devido à biodiversidade de plantas com ação inseticida (POTENZA et al., 2006).

As plantas podem ser processadas de diversas formas para serem utilizadas no controle de pragas, como pó, extratos aquosos, extratos alcoólicos ou óleos brutos ou óleos essenciais, sendo estes últimos os que apresentam maior concentração dos metabólitos secundários presentes nas plantas, que são responsáveis pela ação inseticida e acaricida (SIQUEIRA, 2012).

O extrato de plantas contém substâncias que podem agir sinergicamente, além de possuir propriedades como a adstringência, bactericidas, estimulantes, fungicidas, fungistáticas, inonoestimulantes e inseticidas (TUREK; STINTZING, 2013).

Dentre os inseticidas de origem vegetal, os óleos essenciais apresentam –se como líquidos voláteis. Podem conter de 20 – 60 componentes em diferentes concentrações e possuem dois ou três, componentes presentes em concentrações relativamente elevadas (20 – 70). Geralmente os componentes majoritários determinam as propriedades biológicas dos óleos essenciais (BAKKALI et al., 2008). A composição química dos óleos essenciais para Knaak; Fiuza (2010) varia de acordo com o clima, estação do ano, condições geográficas, época de colheita e as técnicas de destilação empregadas.

Neste contexto o mecanismo de ação dos óleos essenciais nos artrópodes sugere-se por meio do contato, interagindo com o tegumento do inseto agindo em enzimas digestivas e neurológicas, ocorrendo o rápido aparecimento de sinais tóxicos (KNAAK; FIUZA, 2010).

Com relação ao controle biológico, a utilização de microrganismos, como os fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, tem se configurado como uma estratégia viável e promissora para o controle de insetos-praga de interesse agrícola. Tais fungos também tem se mostrado promissores tanto para o controle de artrópodes de importância médica, como *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* Scholte et al (2007) e *Triatoma infestans* Luz, Rodrigues e Rocha (2012), e artrópodes de interesse veterinário como o carrapato *Amblyomma cajennense* LOPES et al (2007); (D'ALESSANDRO, 2012).

Considerando-se o potencial de controle apresentado por produtos à base de plantas e fungos entomopatogênicos, são necessários estudos para avaliar o efeito de produtos já comercializados para o controle de diferentes espécies de pragas sobre as diferentes fases de vida de *R. (B.) microplus*. Além disso, destaca-se a importância da pesquisa por novos princípios ativos como os óleos essenciais, visando o controle da referida praga.

Neste sentido o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de fungos entomopatogênicos, produtos alternativos naturais comerciais à base de plantas e óleos essenciais sobre ovos e larvas de *R.(B.) microplus*.

2.0 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Taxonomia, ecologia e biologia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Canestrini, 1887) é um ectoparasita conhecido como carrapato do boi. Etimologicamente, *Boophilus*, de origem grega, significa “amigo do boi” e a palavra *microplus*, de origem latina significa menor. Dessa forma, sua expressão taxonômica, *Boophilus microplus* significa, “menor amigo-do-boi” (PEREIRA, 1982; GONZÁLES, 2002).

Segundo Flechtmann (1990):

R. microplus pertence ao filo – Arthropoda Von Siebold e Slannius, 1845; Subfilo – Chelicerata Heymons, 1901; Classe – Aracnida Lamarck, 1802; Subclasse – Acari Leach, 1817; Ordem – Parasitiformes Renter 1909; Subordem – Metastigmata, Canestrini, 1891 Ixodides Leach, 1815; Família – Ixodidae Murray, 1887 e Gênero – *Boophilus* Canestrini, 1887.

Como nos demais acarinos, o corpo dos carrapatos é dividido em gnatossoma e idiossoma. No gnatossoma há um par de palpos (órgãos sensoriais), um par de quelíceras (especializadas para cortar), além do órgão denominado de hipostômino (recoberto por dentes para fixação) (Figura 1A). No idiossoma é encontrado, dorsalmente, a presença de um escudo, vezes ornamentado vezes não. Em larvas, ninfas e fêmeas o escudo recobre a porção inferior anterior do idiossoma (Figura 1B) e, nos machos este escudo estende-se por toda a superfície dorsal (Figura 1C). Em torno da borda posterior do idiossoma, em algumas espécies, podem ser observadas áreas retangulares delimitando sulcos, denominados festões. Ventralmente encontram-se as inserções das patas, sulcos e as aberturas genitais e anal. Em algumas espécies, nos machos, também são encontradas placas quitinosas, lateralmente ao ânus, denominadas placas adanais. Já os peritremas, que são as aberturas do sistema respiratório, situam-se lateralmente atrás do quarto par de coxas (OLIVEIRA, 2001).

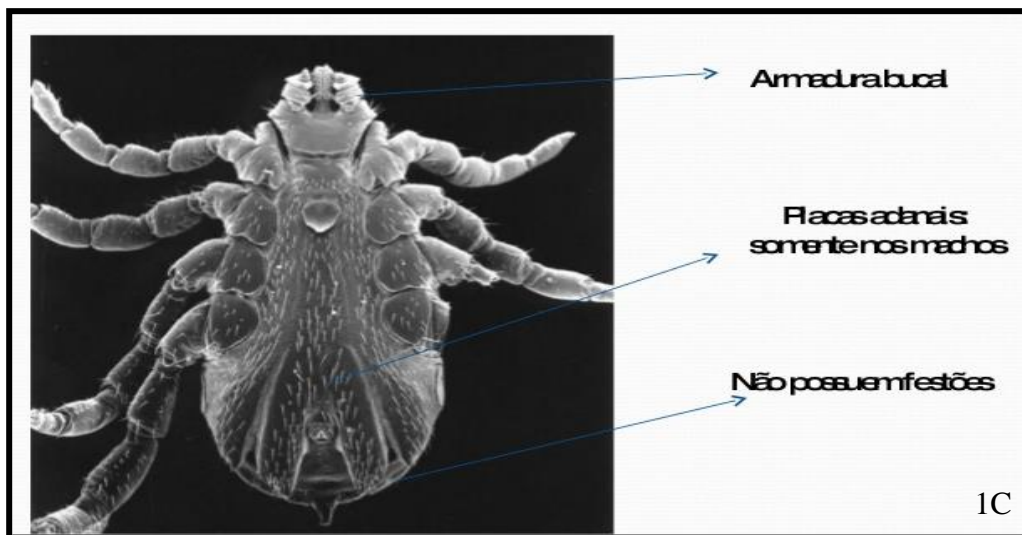
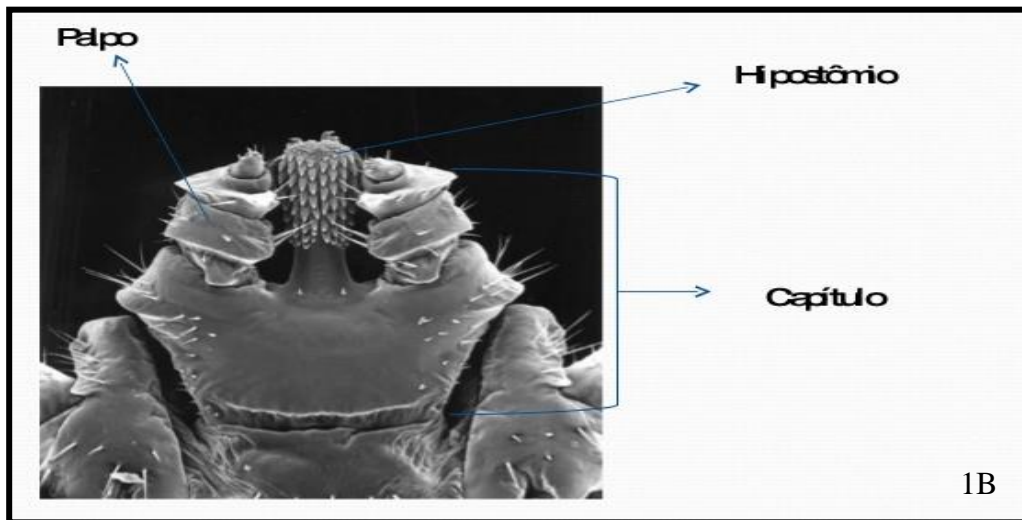
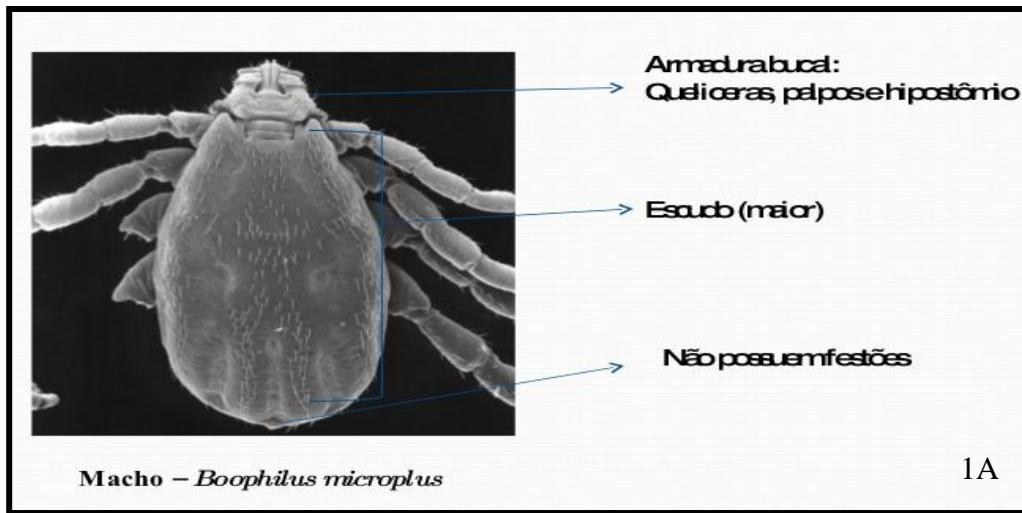


Figura 1 –Caracterização morfológica e estrutural de *R.(B.) microplus*: 1A – Morfologia de *R.(B.) microplus* macho em vista dorsal. 1B – Morfologia do aparelho bucal de *R.(B.) microplus*. 1C Morfologia *R.(B.) microplus* vista ventral.

Fonte: OLIVEIRA, 2001.

Os ectoparasitas da família Ixodidae possuem o hábito de fixar-se por períodos sazonais nos seus hospedeiros nos quais se alimentam de sangue (SEQUEIRA; OLIVEIRA, 2001).

As condições ambientais consideradas ideais para a postura são temperatura em torno de 27°C e umidade relativa do ar acima de 75%. Temperaturas elevadas podem causar a dissecação dos carrapatos no ambiente, enquanto abaixo dos 15°C inviabilizam sua proliferação devido ao retardo evolutivo dos ovos (NUÑES et al., 1982; GONZÁLES., 1993; FURLONG, 2005).

O *Rhipicephalus Boophilus microplus* possui duas fases, sendo a fase parasitária e a fase livre (NUÑES et al., 1982; GONZÁLES, 1993; GONZÁLES, 1995; FURLONG, 2005). A fase livre compreende o período em que o carrapato se encontra no ambiente e realiza a oviposição e, conseqüentemente ocorre à eclosão das larvas. A teleógina (fêmea ingurgitada de sangue) ao se desprender do corpo do animal e cair no solo, tende a buscar lugares protegidos da incidência direta da luz solar, e de preferência faz a oviposição em solos úmidos, período denominado de pré – postura, com duração de cerca de três dias. Cada teleógina tem potencial para ovipositar cerca de 2000 a 3000 ovos na fase reprodutiva GONZÁLES (1993). A eclosão das larvas ocorre em aproximadamente 18 a 30 dias após a postura, em condições de temperatura de 28°C e umidade relativa em torno de 85% (VERÍSSIMO,1991). As larvas recém eclodidas, após um período de amadurecimento, que dura em torno de seis dias, encontram-se prontas para migrar para as pontas das pastagens, formando colônias nas partes mais altas das folhas, com preferência para as horas mais amenas do dia (NUÑES et al., 1982; GONZÁLES, 1993; FURLONG, 2005), posição estratégica para que possam infestar os animais que passarem pelo local.

Conforme Sonenshine (1991) as larvas são atraídas pelo odor, pelo sombreamento, pelas vibrações, pelo estímulo visual e pela concentração de gás carbônico do hospedeiro, preferencialmente o bovino, podendo acometer e infestar outras espécies de animais silvestres e domésticos.

As larvas infestantes quando se fixam no hospedeiro (fase parasitária) procuram por regiões corporais mais propícias ao seu desenvolvimento, como a região posterior da coxa, perineal e perivulval (VERÍSSIMO, 1991). De acordo com Gonzáles (1993); Furlong (2005) há a preferência por estas regiões, pois a espessura da pele é mais fina, a temperatura corporal é mais elevada e há maior vascularização.

A fase de vida parasitária inicia-se após a fixação da larva no hospedeiro, quando começa seu período de repasto. Nesta fase, o carrapato é pouco afetado pelas condições ambientais (RIEK, 1965). Mas, mesmo assim, ele procura regiões do animal onde a temperatura varia de 31° a 38° C (DOUBLE; KEMP, 1979). As larvas alimentam-se com restos de tecidos mortos e sangue, preferencialmente de plasma. Somente nos momentos que precedem o rápido ingurgitamento das ninfas e das fêmeas, é que o sangue se torna o principal constituinte alimentar (BENNETT, 1975).

A partir do 17° dia que se segue à infestação, com o repasto sanguíneo, mudanças de características físicas e de fases de vida ocorrem, permitindo a diferenciação sexual e o acasalamento entre machos e fêmeas (LONDT, 1972).

As fêmeas semi-ingurgitadas chamam-se partenóginas, entre o 17° e o 35° dia após a infestação, estas se alimentam até se transformarem em teleóginas ao redor de dois a três dias, quando caem ao solo e procuram um local favorável à embriogênese (úmido e escuro) para proteger os ovos da baixa umidade e das altas temperaturas, retornando ao ciclo de vida livre dos carrapatos (GONZÁLES, 1995).

A fêmea de *R. (B.) microplus* durante os seis primeiros dias de repasto sanguíneo ingere apenas 3,8 µL de sangue, porém, nos momentos que antecedem a sua queda (12 a 24 horas), esta ingestão atinge valores em torno de 300-500 µL TATCHELL et al (1982), podendo aumentar o seu peso em até 200 vezes (KEMP et al., 1982).

De maneira geral, a fase livre de *R. (B.) microplus* compreende um período médio de 120 dias, enquanto a fase parasitária possui um período médio de 21 dias. Conhecer estes aspectos é de extrema importância para a elaboração, compreensão e execução de um programa de controle estratégico (GONZÁLES, 1995).

2.2 Danos e prejuízos causados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a bovinocultura

O Brasil possui um dos maiores rebanhos comercial do mundo e lidera o mercado da exportação mundial como maior produtor de carne bovina (USDA, 2014), gerando um faturamento de aproximadamente 6,5 bilhões de dólares em 2013 (ABIIEC, 2014). No período de janeiro a agosto de 2015 o faturamento foi de 2.917.797 bilhões de dólares (ABIIEC, 2015).

O Brasil está em quarto lugar no ranking mundial de produção de leite, com um volume de 35.174 bilhões de litros em 2014, avanço de 2,7% em relação a 2013. O valor bruto da produção de leite ficou estimado em aproximadamente R\$ 40 bilhões e a produção em 36 bilhões de litros em 2015, um aumento de quase 3% em relação a 2014 (Sociedade Nacional de Agricultura, 2015).

Os números acima evidenciam a importância da bovinocultura de corte e de leite para a agropecuária brasileira. De acordo com Arboitte et al (2004), as perdas causadas por ectoparasitas que causam severas infestações nos animais de produção são um dos principais entraves da cadeia produtiva.

Os danos econômicos que o ectoparasita, carrapato-do-boi, *R.(B.) microplus* causa na pecuária brasileira estão relacionados com a redução na produção de leite e carne, assim como os danos no couro causados por reações inflamatórias onde o carrapato faz a fixação e transmissão de doenças (CATTO; ANDREOTTI; KOLLER, 2010).

Estima-se que os prejuízos causados por esta espécie *R.(B.) microplus*, esta em torno de 3,24 bilhões de dólares anuais. (LOPES, 2015).

De caráter irreversível, as lesões tornam-se evidentes no processo de tingimento do couro (Figura 2), sendo um impasse para as possibilidades de utilização desta matéria – prima no mercado de produtos.

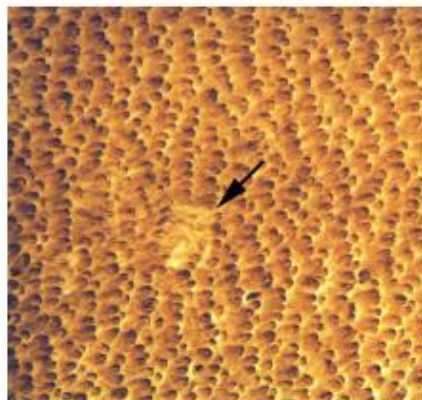


Figura 2 – Fotomicrografia da superfície de um couro bovino. A seta indica o tecido recomposto originado da lesão causada pelo hipostômio de *Boophilus microplus*. Aumento = 10x.

Fonte: VERÍSSIMO (1991).

As perdas que o carrapato *R. (B.) microplus* provoca podem ser consideradas diretas e indiretas. Dentre elas as diretas, perda de peso dos animais acometidos por infestações e de produção de leite, além da redução de fertilidade das fêmeas e desvalorização do couro. Com relação às perdas indiretas está os gastos com aquisição de produtos para o controle do carrapato, a fabricação de vacinas e mão de obra de profissionais envolvidos no controle (GRISI et al.,2002).

Para animais com características produtivas para a produção de leite, como a raça holandesa, estudos foram desenvolvidos por Jonsson; Masschoss (1998) e, segundo os autores, cada fêmea teleógina foi responsável pelo decréscimo de 8,9 mL na produção de leite e de 1 grama de peso corpóreo ao dia.

Além disso, esses ectoparasitas são vetores de doenças que acometem os animais, como a *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*, causadores de tristeza parasitária bovina (TPB) (RIBEIRO, 1989; REGITANO et al., 2006). De acordo com Lemos (1998) TBP refere-se a um complexo de enfermidades que causa vários efeitos nos animais como anemia, hipertemia, anorexia icterícia e, em alguns casos pode ocorrer à morte do animal.

2.3 Controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Entre os métodos de controle de *R.(B.) microplus* destacam-se as vacinas, acaricidas químicos, rotação de pastagem, homeopatia, controle biológico através da utilização de bactérias, fungos e nematoides entomopatogênicos (VERISSÍMO, 2015).

2.3.1 Controle químico com acaricidas

A partir de 1896, para o controle de carrapatos em bovinos, a aplicação de acaricidas passou a ser de uso comum no cotidiano, com a utilização do principio ativo arsênico. Porém, com a seleção de populações resistentes de *R.(B.) microplus* e demais carrapatos da família Ixodidae, incentivou-se a aplicação e utilização de novas moléculas, resultando na disponibilização de um grande número de produtos disponíveis no mercado (ANDREOTTI, 2010).

Os carrapaticidas possuem classificação em famílias ou grupos químicos, bem como a forma de ação do produto sobre o ectoparasita, que podem ser por contato ou sistêmico. Os produtos cuja forma de ação se dá por contato, são aplicados por meio de pulverização, imersão ou *pour on*. Na forma de produção que a ação é através de contato é necessário o contato do produto com o carrapato através dos orifícios naturais, cutícula, ocorrendo à intoxicação e posterior a morte (CATTO; ANDREOTTI; KOLLER, 2010).

Os carrapaticidas sistêmicos possuem aplicação via subcutânea ou intramuscular por meio de injeções e aplicação sobre o dorso lombar do bovino. A intoxicação ocorre através dos princípios ativos metabolizados pelo organismo e distribuição por todo o corpo do animal, atingindo os carrapatos por meio da circulação sanguínea, alimentação e ingurgitação (CATTO; ANDREOTTI; KOLLER, 2010).

Dentre os grupos de acaricidas químicos sintéticos, destacam-se inicialmente os organofosforados, carrapaticida comercial mais antigo utilizado em bovinos. Estes apresentam um baixo poder residual quando utilizado sozinho, porém o seu controle é potencializado quando em associação com piretroides (FURLONG et al., 2007).

Em busca de novos produtos com poder residual elevado, a indústria química desenvolveu o grupo de carrapaticidas à base de piretroides sintéticos, como Deltametrina, Cipermetrina e Alfametrina. Entretanto, esse maior poder residual favoreceu a sobrevivência de indivíduos naturalmente tolerantes e o desenvolvimento da resistência nas populações de carrapatos (FURLONG, J, MARTINS, JR e PRATA, M.C.A, 2007).

Os carrapaticidas do grupo denominado fenilpirazóis possuem atuação semelhante a avermectinas, atuando sobre determinada substância no sistema nervoso de *R. (B). microplus*, paralisando-os. Porém tem como desvantagem um longo período de carência, comprometendo o uso em animais em lactação e em animais em período próximo ao abate. Sua forma de aplicação é via *pour on*, e o princípio ativo desse grupo é denominado fipronil (FURLONG, J, MARTINS, JR e PRATA, M.C.A, 2007).

Outra classe de carrapaticidas são os sistêmicos, como os produtos denominados Lactonas que proporcionaram uma grande revolução a partir da década de 1980 no mercado dos antiparasitários, devido ao maior poder residual que outros produtos e por controlar de forma eficiente vermes e bernes, dentre esta classe se destacam as avermectinas são subdivididas em seus cinco subgrupos (abamectina, ivermectina, doramectina, eprinomectina e selamectina) e a moxidectina. A forma de ação após a aplicação é através do bloqueio da transmissão dos impulsos nervosos nos carrapatos, assim a morte ocorre por paralização. São

aplicados na forma injetável ou *pour on*, e, após metabolizados pelo organismo, chegam à circulação sanguínea (sistêmicos). Têm a grande desvantagem de não poderem ser utilizados nos animais em lactação, ou nos animais de corte, por pelo menos 30 dias antes do abate, em função do nível de resíduos que permanece no leite e na carne FURLONG, J, MARTINS, JR e PRATA, M.C.A, 2007).

Já os produtos Benzofenilureas, com atuação na inibição de crescimento, possuem a capacidade de inibir a produção de quitina, sendo esta o maior componente da cutícula do carrapato. Apresenta como subfamílias utilizadas no controle do carrapato o fluazuron e diflubenzuron. Completamente diferentes de todos os carrapaticidas já citados, as benzofenilureias não permitem que os carrapatos mudem de fase e cresçam, além de impedir que as larvas eclodam dos ovos, controlando a população de carrapatos na pastagem FURLONG, J, MARTINS, JR e PRATA, M.C.A, 2007).

A aplicação intensiva dos produtos químicos e sintéticos para o controle populacional do *R (B). microplus* acarreta a seleção de populações resistentes. Os mecanismos mais utilizados de resistência são: redução da taxa de penetração do produto, armazenamento e eliminação do produto, mudanças no metabolismo (CATTO; ANDREOTTI; KOLLER, 2010).

2.3.2 Controle biológico com microrganismos e controle alternativo com produtos de origem vegetal

O controle biológico consiste na regulação populacional, seja de plantas ou animais, por inimigos naturais, que são os agentes bióticos de mortalidade. Envolve o mecanismo da densidade recíproca (ou densidade-dependente), o qual atua de tal forma que uma população é regulada por outra população (PARRA et al., 2002). De acordo com Gallo et al (2002), o controle biológico de pragas deve ser entendido com uma ferramenta do Manejo Integrado de Pragas (MIP), ou seja, ser utilizado em conjunto ou simultaneamente a outras estratégias de controle e jamais ser considerado isoladamente e não uma técnica definitiva no controle agroecológico de pragas.

De acordo com Parra (2016), a utilização de controle biológico na agricultura no país e no exterior tem aumentado entre 15% e 20% ao ano e atualmente esse setor já movimentava U\$\$ 17 bilhões, com 26 empresas no Brasil comercializando e produzindo

microrganismos para controle biológico. Esse número, porém, é insuficiente para atender a um eventual aumento abrupto da demanda por controle biológico pelos agricultores no país.

De acordo com a estratégia de utilização, o controle biológico é dividido em três tipos: Controle Biológico Natural, Controle Biológico Clássico e Controle Biológico Aplicado. Entretanto, ressalta-se que o mesmo agente de controle biológico pode estar envolvido em mais de uma forma de controle biológico, dependendo da forma de sua utilização (SIMONATO, 2013).

Entende-se por controle biológico natural a população de inimigos que ocorrem naturalmente no ambiente. São muito importantes em programas de manejo de pragas, pois são responsáveis pela mortalidade natural no agroecossistema e, conseqüentemente, pela manutenção de um nível de equilíbrio das pragas (PARRA et al., 2002).

O controle biológico clássico refere-se à exploração, introdução, criação, liberação, estabelecimento e colonização de inimigos naturais de pragas de uma região para outra ou mesmo de um país para outro, com o objetivo de reduzir o nível populacional de um determinado organismo indesejável (PARRA et al., 2002). Já o controle biológico aplicado refere-se a liberações inundativas de parasitoides ou predadores, após a criação massal em laboratório, visando a redução rápida da população praga para seu nível de equilíbrio. Neste tipo de controle não se espera o estabelecimento dos indivíduos liberados nas áreas visadas. (PARRA et al., 2002) Existem vários casos de sucesso com o controle biológico aplicado, sendo frequente, as liberações de *Trichogramma spp.*, de forma inundativa, em diversos países (PARRA et al., 2002)

2.3.2.1 Controle Biológico com Microrganismos

Dentre as formas de controle biológico, destaca-se o controle biológico com microrganismos, processo que envolve vírus, fungos e bactérias, protozoários e nematoides, denominados entomopatogênicos

Os entomopatógenos são importantes como agentes na redução da população de pragas, uma vez que ocorrem naturalmente no ambiente e podem ser introduzidos ou aplicados (ALVES et al., 2001).

Os fungos entomopatogênicos têm como hospedeiros primários, hemíptera (afídeos, moscas-brancas), ortóptera (gafanhotos), dípteras (moscas), coleópteras (besouros),

Lepidoptera (lagartas), tisanópteros (tripés) e ácaros. Possuem largo espectro de ação, capazes de colonizar diversas espécies de insetos e ácaros e de causar, com frequência, epizootias em condições naturais (ALVES et al., 2008). Esses patógenos também se diferem de outros grupos por ter a capacidade de infectar todos os estádios de desenvolvimento dos hospedeiros (ALVES et al., 2008).

O modo de ação dos fungos sobre os insetos ocorre por penetração em diversas vias, principalmente através da cutícula ou pele (tegumento). Uma vez dentro dos insetos, os fungos multiplicam - se rapidamente por todo o corpo. E a morte é causada pela destruição dos tecidos e, ocasionalmente, pelas toxinas produzidas pelos fungos. Os fungos entomopatogênicos frequentemente emergem do corpo dos insetos, produzem esporos que, quando espalhados pelo vento, chuva ou contato com outros insetos, podem causar uma epizootia (VALICENTE, 2009).

Os insetos infectados param de alimentar e tomam-se mais lentos. Estes morrem relativamente rápido, às vezes em uma posição ereta, mas ainda presos na folha ou no ramo. Isto pode ser observado em locais mais elevados ou concentrados na borda das culturas. O corpo do inseto morto pode ser firme e de consistência emborrachada ou de aparência oca. Várias vezes observam-se insetos mortos de cor creme, verde, avermelhada ou marrom, em consequência do crescimento do fungo, quer seja envolvendo o corpo do hospedeiro, quer seja saindo das juntas dos segmentos do corpo. Os esporos fúngicos, que podem ser transportados pelo vento e pela água, devem entrar em contato com o hospedeiro para causar infecção (VALICENTE, 2009).

De acordo com Valicente (2009) fungos entomopatogênicos com especificidade para artrópodes são pertencentes a quatro gêneros: *Beauveria*, *Metarhizium*, *Lecanicillium* (= *Verticillium*) e *Isaria* (= *Paecilomyces*), sendo as espécies *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *L. lecanii* (= *V. lecanii*), *Isaria farinosa* (= *P. farinosus*) e *I. fumosorosea* (= *P. fumosoroseus*) patogênicas tanto para insetos quanto para ácaros e carrapatos (CHANDLER et al., 2000; FERNANDES; BITTENCOURT, 2008).

Segundo Garcia, Monteiro e Szabó (2004), em trabalho desenvolvido com o intuito de verificar a forma de penetração do fungo *M. anisopliae* em carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806), que a maior parte dos conídios germinou em até 18h após a inoculação e que o fungo penetrou no ácaro através do tegumento 48h após a infecção. Ainda, segundo os autores, após a penetração, o fungo invadiu o corpo do

hospedeiro promovendo uma colonização difusa, sem preferência aparente por tecidos específicos. A morte do hospedeiro ocorreu entre 96 e 120h pós-infecção, e a esporulação do patógeno sobre o cadáver do ácaro iniciou-se em torno de 120 a 144 h pós-infecção. Tais resultados evidenciam o potencial de *M. anisopliae*, um fungo entomopatogênico, como agente de controle para carrapatos.

Em trabalho de campo, o fungo *M. anisopliae* foi aplicado por aspersão, na concentração de $8,0 \times 10^8$ conídios/mL e espalhante adesivo Tween 80 a sobre bovinos, para o controle de *R.(B) microplus*. Após avaliação durante 28 dias constatou-se que 33% de mortalidade de carrapatos, sendo o índice de produção de ovos e índice nutricional reduzidos somente em um curto período após o tratamento (THIAGO,BAHIENSE et al., 2007).

2.3.3 Controle alternativo com produtos naturais comerciais

A utilização de plantas com fins medicinais, assim como seu emprego como pesticida na agropecuária, são hábitos comuns e arraigados na cultura popular de todo o mundo (ROEL, 2001).

As plantas podem ser uma alternativa para o controle e para o manejo da resistência de *R. (B) microplus*, por apresentarem atividade ectoparasita com diferentes modos de ação (PEREZ et al.,2007). Estas apresentam diversos compostos, em diferentes concentrações, oriundos de diferentes rotas metabólicas e apresentam efeito sinérgico (YENES et al., 2001). De acordo com Gallo et al (2002) essas características configuram em vantagens na utilização de inseticidas botânicos, pois há menor probabilidade de desenvolvimento de resistência do inseto.

No Brasil, dentre os fitoterápicos já estudados para o controle do carrapato destaca-se o óleo de eucalipto, sobre o carrapato, que possui como princípio ativo o citronelal responsável pela ação acaricida (CHAGAS et al., 2002).

Outro produto que pode ser utilizado e adquirido pelos produtores brasileiros é o óleo de nim, *Azadirachta indica*, que possui como princípio ativo a azadiracina, um tetranortriterpenóide limonoide que causa distúrbios fisiológicos e controla muitas espécies de

artrópodes, atuando como repelente e na diminuição da postura por apresentar ação ovicida (SAITO, 2004).

Segundo Alves et al (2014) tendo como objetivo avaliar a eficiência acaricida, in vitro, do extrato etanólico das folhas de *Eucalyptus sp.* sobre teleóginas e larvas de *R. (B.) microplus*. Utilizaram as concentrações de extrato etanólico diluído em 5,0; 2,0; 1,0; 0,1%, água destilada e etanol P.A., como controles negativos, foram utilizados Deltamatrina 2,5% e Amitraz 12,5%, como controles positivos, tanto para testes sobre fêmeas ingurgitadas, quanto para suas larvas. Observou-se eficácia média de 97,45% e 68,5% no controle sobre fêmeas ingurgitadas e larvas, respectivamente, com concentração do extrato em 5,0%. Este estudo demonstrou que o extrato etanólico de *Eucalyptus sp.* apresenta eficácia acaricida in vitro

Estudos desenvolvidos com óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus Stapf*) com o objetivo de avaliar o efeito in vitro e in vivo, sobre o carrapato dos bovinos [*R. (B.) microplus*]. Na experimentação in vitro foi utilizado um grupo controle negativo e oito concentrações do óleo de capim-limão (0,5; 1; 2; 5; 10; 20; 50; 100%), em fêmeas ingurgitadas do carrapato. A eficácia de controle foi de 0; 20; 39; 99,5; 100; 100; 100; 100 e 100%, respectivamente. Para a experimentação in vivo foram constituídos três grupos (controle negativo, óleo de capim limão a 2,0% - nível estimado mediante análise de regressão, correspondendo a 95% de eficácia de controle do carrapato da pesquisa in vitro e amitraz a 0,025%), com dezoito vacas da raça Holandesa. Antes (média dos dias -3, -2, -1) e após a aplicação do produto (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 e 21 dias), foram contadas fêmeas ingurgitadas do carrapato. A eficácia de controle foi de 0; 54 e 74,5%, respectivamente, 21 dias após o tratamento. Após a aplicação dos tratamentos (controle negativo x tratamento fitoterápico), foram avaliadas as variáveis fisiológicas: frequência cardíaca, respiratória, temperatura do globo ocular e temperatura da pele; os resultados foram similares entre os tratamentos (AGNOLIN; OLIVO e PARRA, 2014)

2.3.4 Controle alternativo com óleo essencial de plantas

Tecnicamente os óleos essenciais são denominados líquidos oleosos voláteis, fortemente aromáticos, extraídos de plantas. Seus principais constituintes são os monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), alguns diterpenos (C20), além de outros compostos alifáticos com baixo peso molecular. A ocorrência destes compostos é elaborada

por diferentes rotas metabólicas, sendo que a distribuição é específica à algumas famílias, gêneros ou espécies de plantas. Dependendo da família botânica, os óleos podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, como pêlos glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, e bolsas lisígenas ou esquizolisígenas. O estoque destes óleos ocorre em diversos órgãos, como flores, folhas, frutos, cascas do caule entre outros (DORMAN; DEANS, 2000; ARAÚJO et al., 2001; SIMÕES; SPITZER, 2004).

Os extratos de nim, em especial o ingrediente mais ativo (azadiractina), responsável por inibir a alimentação dos insetos, afetam o desenvolvimento das larvas, reduzem a fecundidade e fertilidade dos adultos, alteram o comportamento e causam diversas anomalias nas células e na fisiologia dos insetos, redução na eclosão, mortalidade de larvas e adultos (MARTINEZ, 2001; SHMUTTERER, 1998; SHMUTTERER, 1990).

Os óleos essenciais tem um grande espectro de modos de ação sobre insetos e ácaros – praga incluindo repelência, inibição da motilidade e respiração, redução do crescimento e fecundidade, rompimento da cutícula e efeito sobre ciclos bioquímicos dos artrópodes como na octopamina (ISMAN,2000; ENAM,2001; COPPING; MENN,2000).

Em trabalho desenvolvido por Santos et al. (2008), os autores avaliaram o efeito *in vitro* do extrato aquoso, extrato hidroalcoólico, extrato hidroalcoólico concentrado e óleo essencial de citronela (*Cymbopogon wynterianus*), sendo o óleo avaliado nas concentrações (3,12; 6,25; 12,5; 25; 50 e 100%) sobre larvas e teleóginas de *R. (B.) microplus*. A sensibilidade das teleóginas aos extratos foi testada utilizando-se o Teste de Drummond (biocarrapaticidograma) e de acordo com autores, os resultados indicaram que a citronela tem ação acaricida, principalmente, quando utilizada na forma de óleo essencial, pois a partir da concentração de 12,5% foi capaz de causar 100% de mortalidade larval.

3.0 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos (UTFPR-DV) e no Laboratório de Entomologia da Epagri (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina), localizada em Videira - SC.

3.1 Obtenção de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* foram obtidas a partir de animais infestados em propriedades do Município de Dois Vizinhos – PR e na Unidade Experimental de Ensino e Pesquisa (UNEPE) de bovino de leite da UTFPR-DV. Os animais nos quais foram realizadas as coletas se encontravam livres de tratamento com acaricidas por, no mínimo, 30 dias. Após coleta os carrapatos foram conduzidos ao laboratório de Controle Biológico onde foi realizada a classificação quanto à espécie e limpeza com água destilada das mesmas. Os carrapatos foram identificados por meio das características morfológicas da espécie, verificando-se os itens de base do capítulo hexagonal, rostro curto, escudo dorsal não ornamentado, coxa do primeiro par de patas com duas projeções pouco nítidas e verificação, se macho com 4 placas adanais e prolongamento caudal. Posteriormente os carrapatos foram colocados em placas de Petri e alocados em câmara climatizada à temperatura de 28 ± 2 °C e umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas, onde foram mantidos até a realização dos experimentos.

3.2 Obtenção dos produtos alternativos

Os fungos comerciais *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, foram utilizados na concentração de 1×10^8 conídios/mL⁻¹ para o preparo das soluções. Os produtos comerciais utilizados foram Azamax[®], Base Nim[®] respectivamente nas concentrações 12g/L (1,2% m/m), 0,12 % p/p, e Piretro 11g/L (1,25g de piretrina pura) para outras pragas e ácaros de interesse agrônomo. O óleo essencial de pitanga, *Eugenia uniflora*, obtido da empresa Garden City - São Paulo, sendo este extraído por destilação por arraste de vapor., foi utilizado nas concentrações: 0; 0,31; 0,62; 1,25; 2,5; 5; 10%.

3.3 Avaliação dos produtos alternativos naturais e fungos entomopatogênicos sobre ovos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Os fungos entomopatogênicos, os produtos naturais comerciais e o óleo essencial foram avaliados sobre ovos de *R. (B.) microplus* climatizados à temperatura de 28 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas, por um período de cinco dias, para a realização da oviposição. Os ovos foram coletados e separados com auxílio de uma espátula e inseridos em placas de Petri, em grupos de 30 ovos cada placa.

Para os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* e os produtos naturais comerciais, as suspensões nas concentrações estabelecidas foram aplicadas via pulverização em um volume de 1 mL sobre 30 ovos de *R. (B.) microplus*, em copos plásticos com capacidade de volume 50 mL. Para os produtos naturais comerciais e o óleo essencial foram utilizados os mesmos procedimentos, porém, as suspensões foram pulverizadas (1 mL) utilizando-se um aerógrafo acoplado a uma bomba à vácuo com pressão constante de $1,2 \text{ kgf/cm}^2$. Após a aplicação dos produtos, ovos foram acondicionados em copos plásticos com capacidade de 50 mL e acondicionados em câmara climatizada nas mesmas condições descritas acima. Cada tratamento foi composto por oito repetições com 30 ovos cada. Tanto para fungos, quanto para os produtos naturais comerciais e o óleo essencial a testemunha utilizada foi água mineral. A variável avaliada foi o percentual de eclosão após o período de 28 a 30 dias, quantificando o número de larvas viáveis que eclodiram.

3.4 Avaliação dos produtos alternativos naturais e fungos entomopatogênicos sobre larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Os fungos, os produtos naturais comerciais e o óleo essencial foram aplicados sobre larvas de *R. (B.) microplus*. Para tal, larvas eclodidas dos ovos das fêmeas ingurgitadas coletadas a campo foram separadas com o auxílio de um pincel com hastes flexível e alocadas em grupos de 20 larvas, em placas de Petri. Os procedimentos para a aplicação dos tratamentos, o delineamento experimental e as condições de acondicionamento foram os mesmos descritos para os experimentos com ovos. A avaliação foi realizada às 12 horas e, diariamente, durante 21 dias, quantificando-se o número de indivíduos mortos.

3.5 Análise Estatística

Em todos os experimentos, os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk utilizando-se o programa Assistat 7.7 Beta[®] e, quando necessário, transformados em Arcoseno (Asen (Raiz (x/100))). Os dados transformados foram submetidos à análise de variância (teste F), pelo teste de Kruskal Wallis, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico. Assistat 7.7 Beta[®] (SILVA, 2014).

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação dos produtos alternativos naturais e fungos entomopatogênicos sobre ovos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Verificou-se que os percentuais de eclosão acumulada de larvas de *R. (B.) microplus*, nos tratamentos com os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* foram respectivamente de 2,50% e 4,58%, diferindo significativamente da testemunha (85,41%) (Tabela 1).

Com relação aos produtos naturais comerciais, todos reduziram o percentual de eclosão de larvas de *R. (B.) microplus*, diferindo significativamente da testemunha (92,91%) e, os produtos Azamax[®] (54,16%) e Base Nim[®] (40,83%) não diferiram entre si. (Tabela 1).

Já para as diferentes concentrações de *E.uniflora* avaliadas, verificou-se redução significativa nos percentuais de eclosão acumulada de larvas de *R. (B.) microplus* quando comparadas à testemunha (98,39%), sendo que a de 0,62% causou a maior redução de eclosão (18,11%). (Tabela 1).

Tabela 1: Percentual médio (\pm EP) de eclosão acumulada de *R. (B.) microplus*, causada por fungos entomopatogênicos, produtos alternativos naturais comerciais e óleo essencial de *Eugenia uniflora* em diferentes concentrações.

* Fungos	
Tratamentos	% Eclosão
Testemunha	85,41 \pm 10,67a
<i>Beauveria bassiana</i>	4,58 \pm 0,57 b
<i>Metarhizium. anisopliae</i>	2,50 \pm 2,06 b
CV %	19,33
*Produtos Alternativos Naturais Comerciais	
Tratamento	% Eclosão
Testemunha	92,91 \pm 11,61a
Azamax [®]	54,16 \pm 6,77c
Base Nim [®]	40,83 \pm 5,10c
Piretro	69,16 \pm 8,64b
CV %	20,26
**Concentrações de <i>E.uniflora</i>	
Tratamento	% Eclosão
0%	98,39 \pm 12,29 a
0,31%	73,75 \pm 9,21 b
0,62%	18,11 \pm 6,4 c
1,25%	72,08 \pm 9,01b
2,5%	39,58 \pm 4,94 d
5%	38,75 \pm 4,84 d
10%	39,58 \pm 4,94 d
p	>0,05

*Dados de distribuição normal – estatística paramétrica (Teste F) e médias comparadas por Tukey a 5% de probabilidade.

** Dados de distribuição não paramétrica. Os dados transformados foram submetidos à análise de variância (teste F), pelo teste de Kruskal Wallis, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Legenda: CV = coeficiente de variação; P= p valor

Os fungos entomopatogênicos penetram no hospedeiro via tegumento, diferenciando-se de outros grupos de patógenos, que só entram no inseto por via oral. A etapa de penetração ocorre por uma combinação de degradação enzimática e pressão mecânica. Esta pressão é facilitada pelas enzimas, que propiciam a entrada do fungo e o metabolismo do tubo germinativo no hospedeiro. Algumas enzimas podem estar correlacionadas com a agressividade de certos fungos para determinados hospedeiros, porém, a morte do inseto é ocasionada por uma série de eventos (ALVES, 1998).

Neste sentido, ressalta-se a importância da compreensão da forma de penetração dos fungos em seus hospedeiros, visando à adequação das formulações, a fim de promover a infecção dos vários estádios do carrapato no ambiente Bittencourt et al. (1999), incluindo na fase de ovo, como observado neste estudo.

No cenário do controle biológico, o fungo *M. anisopliae* tem mostrado ser um promissor agente no controle de artrópodes, dentre os quais os carrapatos, que foram amplamente estudados em ensaios de laboratório e comprovada sua eficiência no controle para várias espécies, como *Rhipicephalus sanguineus*, *Anocentor nitens*, *Amblyomma variegatum*, *Amblyomma cajennense* (KAAYA, G.P.; MWANGI, E.N.; OUNA, E.A,1996; MONTEIRO et al., 1998; BITTENCOURT et al., 1999; BITTENCOURT, 2000; PAIÃO, J.C.V.; MONTEIRO, A.C.; KRONKA, S.N.; GARCIA, M. V.; MONTEIRO, A. C.; SZABÓ, M.P.J,2004; LOPES et al., 2007).

Com relação ao percentual de eclosão das larvas, Prette et al. (2005) apresentam resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho. Com o objetivo de avaliar a ação dos isolados JAB 07, CB 7 e AM 9 do fungo *B. bassiana* sobre ovos, larvas e ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus*, os autores avaliaram as concentrações de 10^8 e 10^7 conídios/mL⁻¹. Os isolados do fungo, aplicados nas diferentes concentrações de esporos, causaram redução no percentual de eclosão de larvas oriundas de ovos infectados (0,7 a 12,1% de eclosão), sendo que os isolados não diferiram significativamente entre si. Os autores ainda destacam que as concentrações de conídios não diferiram ($p>0,05$) quanto à capacidade de redução do percentual de ecdise de ninfas, mas evidenciou-se intensa atividade patogênica do fungo.

Um dos principais produtos à base de fungos utilizados no Brasil é formulado a partir de *M. anisopliae* sensu lato (s.l.) e, é conhecido como Metarril WP[®] (MAPA nº6605 – Itaforte Industrial Bio-Produtos Agro-Florestais LTDA), sendo classificado como inseticida biológico e possui ação comprovada sobre *Mahanarva fimbriolata* STAL, 1854 (Hemiptera: Cercopidae) (cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar), *Diatraea saccharalis*, Fabricius, 1794 (Crambidae: Lepidoptera) (broca da cana-de-açúcar), *Amblyomma cajennense* Fabricius, 1787(Acari: Ixodidae) entre outros artrópodes (LOPES et al, 2007).

Em trabalho desenvolvido pelos autores Perinotto, Wendell Marcelo de Souza et al. (2013) determinaram a eficácia, in vitro, de Metarril WP[®], em diferentes formulações, sobre ovos, larvas de *Dermacentor nitens* Neumann,1897 (Acari: Ixodidae) Segundos os autores, as formulações utilizando óleo mineral diferiram significativamente das suspensões aquosas, sendo eficientes, independente da concentração de conídios utilizada, com valores do percentual de eclosão das larvas variando de 7,6 a 0%, nas concentrações de 10^7 e 10^8

conídios/mL, respectivamente. Já as suspensões aquosas influenciaram pouco sobre este parâmetro, demonstrando percentuais de eclosão entre 94,7 % e 88,8% nas concentrações de 10^7 e 10^8 conídios/mL, respectivamente.

Diante do exposto, ambos os fungos, *M. anisopliae* e *B. bassiana*, apresentaram efeito negativo sobre ovos, reduzindo o percentual de eclosão de larvas de *R.(B.) microplus*, configurando-se como uma alternativa viável para o controle do referido parasita. Os dados obtidos corroboram com pesquisas científicas comprovadas, possibilitando a utilização dos fungos como uma alternativa de controle de redução populacional de *R.(B.) microplus* em pastagens para os sistemas de bovinocultura de corte e bovinocultura de leite, sendo que este tipo de controle é mais seguro aos bovinos, ao homem e também ao meio ambiente. Além disso, *M. anisopliae* e *B. bassiana* podem ser associados com outras estratégias de controle de *R.(B.) microplus*, tornando mais eficiente o manejo do parasita.

Com relação às plantas, dentre as que apresentam potencial inseticida e podem ser utilizadas no controle alternativo, destaca-se a família Meliaceae, as quais são as mais exploradas por possuírem compostos secundários que são encontrados em todas as partes da planta, principalmente nas folhas, frutos e sementes (MARTINEZ, 2002; AGUIAR-MENEZES, 2005).

O nim, *Azadirachta indica* A. Juss é a espécie botânica atualmente mais estudada e classificada como um pesticida de alta eficiência e baixo efeito residual (MARTINEZ, 2002; AGUIAR-MENEZES, 2005). O princípio ativo azadirachtina, contido no nim, pode tornar-se importante no controle de pragas, pois tem largo espectro de ação, é compatível com outras formas de manejo, não tem ação fitotóxica, é praticamente atóxica ao homem e não agride o meio ambiente (MARTINEZ, 2002).

Extratos orgânicos hexânicos e alcoólicos de *Azadirachta indica* foram utilizados para o controle de algumas espécies de carrapatos como *Hyalomma anatolicum excavatum* Koch (Acarina: Ixodidae), *Amblyomma americanum* L. (Acarina: Ixodidae) e *Dermacentor variabilis* Say (Acarina: Ixodidae) (ABDEL-SHAIFY; ZAYED, 2002; SANTOS et al., 2006).

Já em trabalho realizado por Broglio-Micheletti, S.M.F. et al. (2010), com a utilização de extratos orgânicos (hexânicos e etanólico) e óleos emulsionáveis I e II de nim à 2% (peso/volume). Os autores avaliaram o percentual de mortalidade das fêmeas, de eclosão das larvas e a eficiência dos extratos e dos óleos emulsionáveis. por meio do teste de imersão em fêmeas ingurgitadas de *R.(B.) microplus*, por meio de teste de imersão. As avaliações foram feitas a partir do terceiro dia da montagem do bioensaio, onde foram registradas, a cada três e quatro dias até as primeiras eclosões larvais, a mortalidade das fêmeas, e o percentual de

eclodibilidade (14 dias após a última pesagem da massa de ovos). Os resultados obtidos para a avaliação de mortalidade das fêmeas de *R.(B.) microplus*, foi de 96% para o óleo emulsionável I e extrato hexano, diferindo significativamente do óleo emulsionável II 48,00%, e da testemunha 24,00%. Já para o percentual de eclosão das larvas, o extrato hexano foi o único que diferiu significativamente dos demais tratamentos (40,00%). Em relação à eficiência dos produtos extratos orgânicos (hexânicos e etanólico) e óleos emulsionáveis I e II de nim, o extrato hexano apresentou eficiência de $(73,20 \pm 18,77\%)$, sendo estatisticamente igual ao óleo emulsionável I $(65,60 \pm 11,01\%)$, diferindo dos demais tratamentos. Com base nos resultados, obtidos pelos autores, os tratamentos com o extrato hexano e óleo emulsionável I de nim, em concentração á 2%, possuem significativo potencial no controle do carrapato bovino, nos primeiros dias após a aplicação dos tratamentos.

Os principais metabólitos secundários presentes nos produtos alternativos naturais comerciais utilizados neste trabalho são a azadiractina, piretrinas e rotenona. A planta nim fornece uma grande variedade de metabólicos secundários, bem como seu principal produto o óleo de nim é extraído da semente, este possui em sua composição elementos ativos, dentre eles os o limonoide azadiractina. Esta substância atua na inibição da vitelogenina durante a ovogênese de artrópodes (JONSSON; PIPER, 2007), podendo ter relação intrínseca com a redução de eclosão em *R. (B.) microplus*.

Os principais componentes químicos da planta nim são pertencentes à classe de triterpenos (limonoide ou tetranortriterpenóide azadiractina), componente que apresenta potencial para controle de insetos e parasitas (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005). Estudos indicam que os compostos apresentam diferentes mecanismos e sítios de ação (KOUL, O; M.B. ISMAN 1991), causando efeito antialimentar, efeito na regulação de crescimento, além de efeitos na reprodução (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005). Quando o limonoide possui ação direta sobre o organismo alvo, atua inibindo a motilidade por efeitos citotóxicos (MARTINEZ; VAN, 2001).

Já com relação as piretrinas, presentes nas flores de crisântemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium* e *Chrysanthemum cineum* (Asteraceae), este composto atua nos insetos causando paralisia tanto via contato quanto ingestão, pois liga –se aos canais de sódio das células nervosas mantendo – os abertos, causando a hiperexcitabilidade, interrompendo a transmissão do impulso nervoso (MOREIRA et al., 2006) .

De acordo Reigart e Roberts (1999); Cox (2002) outro componente químico que possui efeito sobre artrópodes é a rotenona. Este elemento causa efeito tóxico inicialmente

nos músculos e nervos, cessando rapidamente a alimentação dos insetos e causando sua morte algumas horas ou dias após a exposição. A rotenona é um potente inibidor da respiração celular bloqueando a cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias por ligar-se ao NADH:Q oxireductase (Complexo I) e impedindo a oxidação do NADH₂ Moreira et al., 2006 (apud Lummen, 1998; Glynne-Jones, 2001; Klaassen & Watkins III, 2003; Tada-Oikawa, 2003).

4.2 Avaliação dos produtos alternativos naturais e fungos entomopatogênicos sobre larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Verificou-se que os percentuais de mortalidade acumulada de larvas de *R. (B.) microplus*, nos tratamentos *M. anisopliae* e *B. bassiana* foram respectivamente de 91,87% e 84,37%, diferindo significativamente da testemunha (53,12%), com respectiva eficiência de controle de 82,68% e 66,66% (Tabela 2), indicando o potencial destes fungos para o controle de larvas.

Já os percentuais de mortalidade larval avaliado dentro do tempo de 0 – 7 dias, o único fungo que causou mortalidade significativamente diferente da testemunha (20,00%) foi *M. anisopliae* (62,50%). Já no período de 8 – 14 dias, os percentuais de mortalidade causados pelos fungos não diferiram do percentual de mortalidade da testemunha e, no tempo de 15 – 21 dias ocorreu maior mortalidade no tratamento testemunha, visto que era o tratamento com maior quantidade de indivíduos vivos (Tabela 2).

Ao se analisar a mortalidade entre os tempos, o fungo *M. anisopliae*, no período de 0-7 dias foi o único tratamento em que o percentual de mortalidade (62,80%) diferiu significativamente dos demais tempos (Tabela 2).

De maneira geral, embora ambos os fungos apresentem efeito acaricida e potencial para a utilização no controle de *R. (B.) microplus*, *M. anisopliae* age de forma mais rápida, no período de 0-8 dias (Tabela 2).

Com relação aos produtos alternativos naturais comerciais, verificou-se que todos os produtos testados reduziram o percentual de mortalidade de larvas acumulada de *R. (B.) microplus*, diferindo significativamente da testemunha (10,00%), com respectivos percentuais de eficiência de (70,13%), (81,94%) e (62,50%) respectivamente para Azamax[®], Base Nim[®], Piretro (Tabela 2).

Quando analisados dentro dos tempos, os percentuais de mortalidade larval avaliados dentro do tempo de 0–7 dias e 15-21 dias diferiram significativamente da testemunha para todos os produtos naturais comerciais. Já no tempo de 8-14 dias os percentuais de mortalidade não diferiram da testemunha (Tabela 2).

Na avaliação entre tempos, destacam-se os produtos Azamax[®] (46,87%) e Piretro (35,00%), com percentuais de mortalidade larval, no período de 0-7 dias, superior aos demais tempos. Já para o produto Base Nim[®], não verificou-se diferença significativa no percentual de mortalidade entre os diferentes tempos de avaliação (Tabela 2).

Na avaliação das diferentes concentrações de *E. uniflora* sobre larvas de *R. (B.) microplus* verificou-se que nas concentrações de 2,5%, 5% e 10%, o óleo causou respectivos percentuais de mortalidade de mortalidade de 81,95%, 95,48 e 89,47, diferindo da testemunha (Tabela 2). Com relação aos percentuais de mortalidade larval na avaliação dentro dos tempos, verificou-se que nos três períodos avaliados, as concentrações de 2,5%, 5% e 10% causaram mortalidade superior, diferindo significativamente da testemunha (Tabela 2). Já na análise entre os tempos, de maneira geral os percentuais de mortalidade foram semelhantes, exceto na concentração de 5%, na qual os percentuais de mortalidade nos tempos de 0-7 dias (40,00%) e 8-14 dias (36,25%) foram maiores e diferiram significativamente do tempo de 15-21 dias (20,00) (Tabela 2).

Tabela 2: Percentual médio (\pm EP) de mortalidade larval ao longo do tempo e acumulada, de *R. (B.) microplus*, causada por fungos entomopatogênicos, produtos alternativos naturais comerciais e óleo essencial de *Eugenia uniflora*, em diferentes concentrações.

** Fungos						
Tratamentos	0 - 7 dias	8 - 14 dias	15 - 21 dias	p	Acumulada	Eficiência(%)*
Testemunha	20 \pm 3,77bA	15,62 \pm 1,47bA	17,50 \pm 2,11 abA	>0,05	53,12 \pm 4,00 b	0,00
<i>Beauveria bassiana</i>	36,88 \pm 4,52 abA	25,62 \pm 3,33 aAB	21,87 \pm 2,48 aB	>0,05	84,37 \pm 5,21 a	66,66
<i>Metarhizium anisopliae</i>	62,50 \pm 5,43 aA	20,63 \pm 2,58 abB	8,75 \pm 2,06 bB	>0,05	91,87 \pm 3,65 a	82,68
p	>0,05	>0,05	>0,05		>0,05	
**Produtos Alternativos Naturais Comerciais						
Tratamentos	0 - 7 dias	8 - 14 dias	15 - 21 dias	p	Acumulada	Eficiência %
Testemunha	6,25 \pm 1,56bA	2,50 \pm 1,33baB	1,25 \pm 1,25 bB	>0,05	10,00 \pm 2,31 b	0,00
Azamax	46,87 \pm 4,99 aA	16,25 \pm 2,63 aB	10,00 \pm 2,31 baB	>0,05	73,12 \pm 3,12 a	70,13
Basenim	35,62 \pm 3,33 aA	25,62 \pm 3,33 aBA	22,50 \pm 2,11 aB	>0,05	83,75 \pm 2,95 a	81,94
Piretro	35,00 \pm 1,63 aA	15,62 \pm 4,67baB	15,62 \pm 4,67 aB	>0,05	66,25 \pm 3,23 a	62,5
p	>0,05	>0,05	>0,05		>0,05	
**Concentrações de <i>E.uniflora</i>						
Tratamentos	0 - 7 dias	8 - 14 dias	15 - 21 dias	p	Acumulada	Eficiência %
0%	8,12 \pm 2,09 cA	1,25 \pm 0,82cB	1,25 \pm 1,25cB	>0,05	16,37 \pm 4,81 c	0,00
0,31%	11,25 \pm 1,25cA	11,87 \pm 2,82cbA	8,12 \pm 2,48cbA	>0,05	31,25 \pm 3,63 c	17,3
0,62%	13,12 \pm 1,31cbA	20,00 \pm 2,31cbaA	13,75 \pm 4,30cbaA	>0,05	46,87 \pm 4,11cb	36,21
1,25%	20 \pm 4,00 cbaA	19,37 \pm 2,39 cbaA	23,12 \pm 3,65baA	>0,05	63,75 \pm 2,63 cba	56,39
2,50%	33,12 \pm 4,00baA	25,62 \pm 3,46baA	26,25 \pm 2,95aA	>0,05	85,00 \pm 4,11ba	81,95
5%	40,00 \pm 1,63 aA	36,25 \pm 2,05aA	20,00 \pm 2,50baB	>0,05	96,25 \pm 1,56a	95,48
10%	33,12 \pm 4,32baA	35,00 \pm 3,89aA	22,50 \pm 2,83baA	>0,05	91,25 \pm 2,79ba	89,47
p	>0,05	>0,05	>0,05		>0,05	

** Dados de distribuição não paramétrica. Os dados transformados foram submetidos à análise de variância (teste F), pelo teste de Kruskal Wallis, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Mortalidade corrigida determinada pela fórmula de Schneider-Orelli (1947), na qual: $MC\% = \left(\frac{\text{Mortal.}(\%) \text{ em T} - \text{Mortal.}(\%) \text{ em C}}{100 - \text{Mortal.}(\%) \text{ em C}} \right) * 100$, onde: MC(%) = mortalidade corrigida; C = mortalidade da testemunha e T

= mortalidade nas concentrações. Para esse cálculo, foi utilizado como mortalidade no controle o maior valor entre as mortalidades constatada no grupo controle.

Legenda: P= p valor

Fungos patogênicos a invertebrados têm ampla importância como reguladores naturais de insetos (ALVES 1998). A morte do inseto ocorre em média oito dias após a inoculação dos fungos, por causa da produção de micotoxinas, mudanças patológicas na hemocele, ação histolítica, bloqueio do aparelho digestivo, em razão do crescimento vegetativo e de outros danos físicos, em decorrência do crescimento do micélio e do início do processo de esporulação do fungo e rápida disseminação pelo vento (ALVES, 1998).

Mais de 700 espécies de fungos entomopatogênicos estão descritas no mundo, sendo que pelo menos 90 gêneros, ocorrem naturalmente no Brasil (ROY et al., 2006, SOZA-GOMEZ et al., 2010). Dentre os fungos mais estudados estão os do gênero *Metarhizium*, *Beauveria* e *Paecilomyces* (ROCHA et al., 2012).

Em geral, ovos e larvas são as fases mais suscetíveis à infecção fúngica. Espécies e linhagens de fungos entomopatogênicos, no entanto, podem apresentar variação de virulência para as diferentes espécies e estágios de carrapatos (FERNANDES; BITTENCOURT, 2008).

A atividade de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em condições de laboratório foi avaliada sobre carrapatos, porém o maior número de estudos foi feito com *R.(B.) microplus* (FERNANDES; BITTENCOURT, 2008).

Com relação ao fungo *M. anisopliae* em sua forma comercial, Perinotto, Wendell Marcelo de Souza et al. (2013), determinaram a eficácia *in vitro* de Metarril WP® sobre larvas e fêmeas semi ingurgitadas de *D. nitens*. O percentual de mortalidade foi analisado a cada três dias até o nono dia após o tratamento das larvas e foi possível observar que tanto as suspensões aquosas quanto as formulações oleosas do produto foram eficazes, causando mortalidade das larvas. Para a concentração de 10^8 conídios/mL, os percentuais de mortalidade aos 03 dias e 09 dias foram de 99,20% e 100,00% respectivamente, resultados semelhantes aos observados no presente estudo para o fungo *M. anisopliae*.

Em trabalhos conduzidos por Vieira (2013) foi constatado que as concentrações exercem influência na mortalidade de *R.(B.) microplus*, sendo que nas concentrações de 10^6 , 10^7 e 10^8 conídios/mL, a mortalidade foi de 100% sobre os ácaros testados.

Em trabalho mais recente, Melo et al (2016), avaliaram a patogenicidade *in vitro* dos isolados 319 e E9 do fungo *M. anisopliae*, em diferentes concentrações, em ensaios biológicos com fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas. De acordo com os autores, o percentual de mortalidade no ensaio com larvas foi de 63% para a concentração (10^6), e 96% na concentração de (10^8). Para o percentual de eclosão constataram que para os isolados 319 e E9 ocorreu uma diminuição da média, a medida que a concentração fúngica foi aumentando.

De maneira geral, os estudos sobre a utilização de *M. anisopliae* e a *B. bassiana* para o controle de *R.(B.) microplus* demonstram resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho para larvas. É interessante ressaltar que os fungos podem ser utilizados em estratégias de controle de *R.(B.) microplus*, pois *M. anisopliae* apresenta efeito acaricida em um período curto (0- 7 dias). Já *B. bassiana* pode ter sua aplicação administrada juntamente com *M. anisopliae*, ao modo que o período de ação do fungo sobre a larva de *R.(B.) microplus*, perdura em longo prazo sobre o referido parasita. Estes resultados permitem possibilidades ao produtor a fim de reduzir a população de larvas inicialmente na pastagem e ainda ter a disponibilidade de ação do fungo sobre a larva por um período mais longo. Pesquisas comprovam que a utilização de *M. anisopliae* atua no controle biológico de *Deois flavopicta* (cigarrinha - da – pastagem). Desta forma, a utilização do fungo em pastagens pode ser benéfica para ambos os controles de modo a contribuir para reduzir a população larval de *R.(B.) microplus*, em instares jovens na pastagem de *R.(B.) microplus*, viabilizando assim o controle nos sistemas de produção da pecuária, além de reduzir custos efetivos com mão de obra para controle tanto para praga agrícola, quanto do parasita.

De forma a ampliar o leque de opções a pecuaristas e produtores rurais, estudos utilizando plantas tem sido testados no controle do carrapato, como opção de redução da utilização de produtos acaricidas sintéticos. Dentre as plantas utilizadas destaca-se o Nim (*Azadirachta indica*) (AGNOLI,2009; MARTINEZ VELAZQUEZ et al., 2011; NOGUEIRA et al.; 2014).

Na Índia *Azadirachta indica* vem sendo utilizada para o controle de insetos, e no decorrer dos anos, os princípios ativos foram extraídos e comercializados para o controle de 200 espécies de insetos. A azadiractina atua interferindo no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos, impedindo o desenvolvimento na fase larval (VIEGAS JR, 2003). Ainda segundo Aguiar-Menezes (2005), a azadiractina inibe a biossíntese do hormônio protoracicotrópico (PTTH) e, como consequência, não ocorre a biossíntese de outros hormônios, o que impossibilita a troca de tegumento (ecdise) e também inibe a maturação dos ovos.

Broglia - Micheletti et al. (2010) avaliaram o percentual de eclosão e mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* submetidas a extratos e óleos emulsionáveis de nim e solvente (DMSO). Segundo os autores a mortalidade variou de 20% a 96%, alcançando valor superior para óleo emulsionável I e extrato da semente (hexano), que foram os tratamentos mais promissores.

No âmbito dos inseticidas naturais, Azamax[®] possui como princípio ativo a azadiractina, pertencente à classe de inseticida natural do grupo dos tetranortriterpenóide. Possui recomendação para controle de pragas agrícolas como ácaro – rajado (*Tetranychus urticae*) e atua na ação de produção de ecdisteroides, afetando a ecdise e causando deformidades em insetos. (AGUIAR-MENEZES, 2005).

Em trabalhos desenvolvidos com Azamax[®] sobre o ácaro rajado (*T. urticae*) com o objetivo de avaliar a mortalidade de adultos. O produto foi testado nas concentrações de 0,3; 0,5; 0,7 e 1,0% do produto comercial e uma testemunha com água destilada. A coleta de dados foi após 24; 48; 72; 96 e 120 h. A mortalidade máxima causada pelo uso de formulações à base de nim chegou a 56,3% após 72 h da pulverização, para Azamax[®]. Ao final do experimento, 120 horas, foi observada mortalidade de 75,7% para o Azamax[®]. A mortalidade acumulada observada para o ácaro-rajado foi de 89,7%, na concentração de 0,5% do produto (SCHLESENER, 2013).

Em estudos fitoquímicos de folhas de *E. uniflora* foi registrada a presença de substâncias como antraquinonas, esteroides, fenóis, heterosídeos flavonoides, heterosídeos 22 saponínicos, taninos e triterpenos (PANIZZA, 1998; FIUZA et al., 2008). O óleo essencial de folhas de *E. uniflora* têm revelado ação acaricida contra o ácaro rajado *T. urticae* (Koch) (NEVES et al., 2009), o que também foi evidenciado neste trabalho.

Com relação à família Myrtaceae, estudos com as plantas desta família estão sendo realizados visando o controle de carrapatos. Em trabalho desenvolvido por Alves Holando (2014) com a utilização de extrato etanólico de *Eucalyptus sp.*, com o objetivo de avaliar a eclosão larval e a eficiência do extrato etanólico de *Eucalyptus sp.*, os resultados obtidos demonstram que para o percentual de eclosão ocorreu redução de 4,49% e a eficiência do produto foi de 97,45%, na concentração de 5%. Neste trabalho na concentração de 5% de óleo essencial de *E. uniflora*, a eficiência foi de 95,48% em larvas *R.(B.) microplus*.

Dentre as plantas com propriedades inseticidas, a citronela (*Cymbopogon wynterianus*) tem se destacado, pois tem sido descrita na literatura como inibidora de fungos (DIKSHIT; HUSAIN, 1984; SARBHOY, 1978) e de nematódeos (SANGWIN, 1985), além da comprovada eficiência no controle de insetos, como a mosca-do-chifre (ALVES-BRANCO, 2000). Além disso, alguns estudos comprovam a atividade acaricida desta planta sobre *R. (B.) microplus* Martins, J. R. S.; Furlong, J.; Leite, R. C. (2006); Olivo et al, (2008), evidenciando o potencial de extratos de plantas no controle de acarinos.

Neste contexto Santos et al (2015) avaliaram o efeito *in vitro* do extrato aquoso, extrato hidroalcoólico, extrato hidroalcoólico concentrado e óleo essencial de citronela, *C.*

wynterianus sobre larvas e teleóginas de *R. (B.) microplus*. Os resultados indicaram que a citronela tem ação acaricida, principalmente, quando utilizada na forma de óleo essencial, pois a partir da concentração de 12,5% foi capaz de causar 100% de mortalidade larval e, a 25% demonstrou índice de eficiência de 100% no teste com teleóginas.

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciaram diferenças significativas no percentual de mortalidade larvas de *R. (B.) microplus* através da utilização de produtos alternativos naturais comerciais e o óleo essencial de *E. uniflora*. Neste contexto é importante salientar que quando trabalha –se com possíveis alternativas de controle de ectoparasitas busca –se a redução do crescimento populacional, sendo nas fases de ovo, larval e adulto, por meio dos efeitos fisiológicos, bioquímicos sobre o *R. (B.) microplus*.

Uma vez que os produtos alternativos naturais comerciais apresentaram resultados significativos sobre *R. (B.) microplus*, principalmente sobre a fase larval, ressalta –se que os mesmos podem ser uma alternativa ao produtor. Estes podem ser aplicados nas pastagens, pois possuem registro para controle de pragas agrícolas à campo. Esta alternativa de controle poderia reduzir a proliferação *R. (B.) microplus* na fase larval, diminuindo a aplicação de acaricidas químicos para o controle de adultos de *R. (B.) microplus* em bovinos.

As pastagens propiciam um ambiente favorável para a postura das teleóginas, além de ser um ambiente ideal para a incubação dos ovos e posterior eclosão devido ao micro – clima que as espécies forrageiras formam. Assim, ao eclodirem, as larvas procuram seus hospedeiros para o repasto sanguíneo. Desde modo uma possibilidade de manejo para o controle deste ectoparasita seria a utilização de óleo essencial de *E. uniflora* nas áreas infestadas, pois o referido óleo apresentou redução para eclosão e mortalidade significativa para larvas, configurando – se como uma alternativa viável para a utilização na pastagem, pois permite a redução de proliferação em ambas as fases de *R. (B.) microplus*.

Entretanto para que tal possibilidade seja válida, são necessários estudos, com ênfase á campo, com o intuito de verificar a eficiência desses agentes e ainda, ressalta-se a importância de estudos sobre os possíveis efeitos destes quando aplicados sobre bovinos ou caso ocorra a ingestão da pastagem pelos animais.

Outra alternativa a ser pesquisada e estudada refere – se à compatibilidade de fungos entomopatogênicos com produtos alternativos naturais comerciais e óleo essencial de *E. uniflora* pois os mesmos apresentaram resultados significativos em distintos períodos do ciclo de *R. (B.) microplus* contribuindo para que estes agentes de controle possam agir sobre as fases mais sensíveis do ectoparasita em campo.

Os métodos de controle avaliados neste trabalho podem vir a ser utilizados pelos produtores rurais, aliando –se a outros manejos já estabelecidos na propriedade para o controle de *R. (B.) microplus*, reduzindo as aplicações sucessivas de acaricidas químicos sobre os animais, meio ambiente e ao ser humano.

CONCLUSÃO

Todos os agentes de controle avaliados reduziram o percentual de eclosão de larvas *(R.) (B.) microplus*.

Os fungos e os produtos Azamax[®] , Base Nim[®] e óleo de *E. uniflora* nas concentrações 2,5%, 5% e 10%, apresentaram efeito acaricida sobre larvas de *(R.) (B.) microplus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIEC – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Rebanho Bovino Brasileiro**. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/download/Jan-Dez-2014.pdf>>. Acesso em: 25 de outubro de 2015.
- ABIEC – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Rebanho Bovino Brasileiro**. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/download/jan-out2015.pdf>. Acesso em: 25 de outubro de 2015.
- ABDEL-SHAFY, S.; ZAYED, A. A. In vitro acaricidal effect of plant extract of neem seed oil (*Azadirachta indica*) on egg, immature, and adult stages of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Ixodoidea: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, v. 106, n. 1, p. 89-96, 2002.
- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: Alves, S.B. (Ed.), *Controle microbiano de insetos*. FEALQ: Piracicaba, 1998. p.289–382.
- ALVES, Ricardo Holanda et al. Efeito do extrato etanólico de *Eucalyptus* sp. sobre fêmeas ingurgitadas e larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Boletim Informativo Geum**, Piauí, v. 5, n. 2, p.94-99, jun. 2014.
- ALVES R.T., Oliveira M.A.S., Bateman R.P., Prior C. e Leather S.R. Espalhamento e eficiência de uma formulação de fungo à base de óleo adjuvante emulsionável. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Cerrados, Planaltina**, n. 6, p.1-14, 2001.
- ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; VIEIRA, S.A.; TAMAI, M.A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ; o (Ed). *Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios*. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.69-110.
- ALVE S.S.B.; *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba, FEALQ, 1998. 1163p.
- AGNOLIN, C.A. Óleo de citronela no controle de ectoparasitas de bovinos. Santa Maria, RS, 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria.
- AGNOLIN, C.A; OLIVO, C.J.; PARRA, C. L. C. Efeito do óleo de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf) no controle do carrapato dos bovinos. **Rev. Bras. Pl. Med., Campinas**, Santa Maria, v. 16, n. 1, p.77-82, mar. 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br>>. Acesso em: 24 set. 2016.
- AGUIAR-MENEZES, E. L. **Inseticidas Botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58 p. (Documentos, 205).
- ANDREOTTI, R. Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil. *Documentos Embrapa Gado de Corte, Campo Grande*, n.180, dez. 2010.
- ARBOITTE, M.Z. et al. Composição Física da Carcaça, Qualidade da Carne e c Conteúdo de Colesterol no Músculo Longíssimus dorsi de Novilhas 5/8 Nelore – 3/8 Charolês, Terminados em Confinamento e Abatidos em Diferentes Estádios de Maturidade. *Revista Brasileira de Zootecnia* 33 (4), 959 – 968, 2004.

ALVES-BRANCO, F. P. J.; PINHEIRO, A. C.; SAPPER, M. F. M. Controle dos principais ectoparasitos e endoparasitos em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. Série Documentos, Embrapa Pecuária Sul, n.18, 2000.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano mais pecuária**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/Publicacao_v2.pdf. Acesso em 18 outubro de 2015.

BAKKALI,F.; AVERBECK,S.; AVERBECK,D.;IODAOMAR,M. Biological effects of essential oil: a review. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford,v.46,n.2, p. 446 – 475, Sept.2008.

BENNETT, G. F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarida Ixodidae), influence of tick size on egg production. *Acarologia*, Paris, v. 16, n. 1, p. 52-61, 1975.

BITTENCOURT V.R.E.P., Menezes G.C.R., Mascarenhas A.G. & Monteiro S.G. Ação dos fungos *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 e *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 sobre larvas do carrapato *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Dia*, 23:3- 4, 1999.

BITTENCOURT V.R.E.P., Mascarenhas A.G., Menezes G.C.R. & Monteiro S.G. Ação *in vitro* do *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre ovos do carrapato *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae). **Rev. Bras. Med. Vet.**, 22:248-251, 2000.

BITTENCOURT, V. R. E. P.; MASCARENHAS, A. G.; FACCINI, J. L. H. Mecanismo de penetração do fungo *Metarhizium anisopliae* no carrapato *Boophilus microplus*, em condições experimentais. **Revista Ciência Rural**, v. 29, p. 351-354, 1999.

BROGLIO – MICHELETTI, S.M.E. et al. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Rev. Bras.Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v.18,n.4, p. 44- 48, out – dez. 2009.

BROGLIO-MICHELETTI, Sônia Maria Forti et al. Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 1, p.44-48, mar. 2010.

CATTO, J.B.; ANDREOTTI, R.; KOLLER, W.W. Atualização sobre o Controle Estratégico do Carrapato-do-boi. Comunicado Técnico Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, v.123, ago. 2010.

CHAGAS, A. C. S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.; FORTES, I. C. P. Efeito acaricida de *Eucalyptus* em *Boophilus microplus*: óleos essenciais e concentrados emulsionáveis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**: São Paulo, v. 39, n. 5, p. 247-53, 2002.

CHANDLER D.Davidson G, Pell JK, Ball BV, SHAW.K, Sunderland KD.2000. Fungal biocontrol of Acari. **Biocontrol Sci Technol** 10: 357 – 384.

COSTA, F.B.; VASCONCELOS, P.S.S.; SILVA, A.M.M.; BRANDÃO, V.M.; SILVA, I.A.; TEIXEIRA, W.C.; GUERRA, R.M.S.N.; SANTOS, A.C.G. Eficácia de fitoterápicos em

fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, provenientes da mesorregião oeste do maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. Jaboticabal, v.17, n.1, p.83-86, 2008.

COX, C. Pyrethrins/Pyrethrum. *Journal of Pesticide Reform*, 22: 14-20, 2002.

DIKSHIT, A.; HUSAIN, A. Antifungal action of some essential oils against animal pathogens. *Fitoterapia*, v. 55, n. 3, p. 171-176, 1984.

DOUBE, B. M.; KEMP, D. H. The influence of temperature, relative humidity and host factors on the attachment and survival of *Boophilus microplus* (Canestrini) larvae to skin slices. *Int. J. Parasitol., Oxford*, v. 9, p. 449-454, 1979. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0020-7519\(79\)90048-1](http://dx.doi.org/10.1016/0020-7519(79)90048-1)

DORMAN H.J.D. & Deans S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial active of plant volatile oils. *J. Applied Microbiol.*, 88:308-316, 2000.

D'ALESSANDRO, Walmirton Bezerra. **POTENCIAL DE FUNGOS PARA COMBATE DE CARRAPATOS VETORES DA FEBRE MACULOSA**. 2012. 75 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Tropical, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2012. Disponível em: <<https://posstrictosensu.iptsp.ufg.br>>. Acesso em: 05 out. 2016.

FERNANDES, E.K.K, BITTENCOURT, V.R.E.P. Entomopathogenic fungi against South American tick species. *Exp. Appl. Acarol.*46,71 - 93,2008

FURLONG, J.; MARTINS, J.R.; PRATA, M.C.A. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? *A Hora Veterinária*, Porto Alegre, v.27, n.159, p.26-32, 2007.

FURLONG, J. (ed.). Carrapato: problemas e soluções. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p. 65, 2005.

FLECHTMANN, C. H. W. Ácaros de importância médico- veterinária. 2. ed. São Paulo: Nobel,1990. p. 197.

GARCIA, M. V.; MONTEIRO, A. C.; SZABÓ, M. P. J. Colonização e lesão em fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* causadas pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1513-1518, Set/Out, 2004.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. v. 10, 920p

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R.; BARROS, A. T.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H.; LEÓN, A. A.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Rev. Bras. Parasitol Vet.** vol.23 n.2 Jaboticabal Apr./June 2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612014042>>.

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

- GONZÁLES, J. C. O controle do carrapato do boi. Porto Alegre: Edição do Autor, 80p, 1993.
- GONZÁLES, J. C. O controle do carrapato do boi. 2. ed. Porto Alegre: Sulina, 235 p, 1995.
- GONZÁLES, J. C. O carrapato dos bovinos *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): revisão histórica e conceitual. *A Hora Veterinária*, Porto Alegre, v. 21, n. 125, p. 23- 28, 2002.
- ISMAN MB 2000. Pesticides based on plant essential oils for management of plant pests and diseases. **Korea Forest Res Inst** 19: 603-608.
- JONSSON, N.N., MATSCHOSS, A.L. Attitudes and practices of Queensland dairy farmers to the control of the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Australian Veterinary Journal*, v. 76, p. 746-751, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9862066>>. Acesso em: 23 ago. 2014.
- JONSSON, N.N. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. **Veterinary Parasitology** ., v.78, p.65-77,1998
- JONSSON, N. N.; PIPER, E. K. Integrated control programs for ticks on cattle. Queensland: The University of Queensland, 2007. 163 p.
- KAAYA, G.P.; MWANGI, E.N.; OUNA, E.A. Prospects for biological control of livestock ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* and *Amblyomma variegatum*, using the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 67, n. 3, p. 15-20, 1996.
- KAAYA, G.P.; GODWIN, S. Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. *Experimental and applied Acarology*, v.24, p.913-926. 2000.
- KEMP, D. H.; STONE, B. F.; BINNINGTON, K. C. Tick attachment and feeding-role of the mouthparts, feeding apparatus, salivary gland secretions, and the host response. In:
- LEMOS, A.A. Principais enfermidades de bovinos de Corte do Mato Grosso do Sul. Reconhecimento e diagnóstico. Campo Grande. M.S: [s.n.], 1998. p. 358-365.
- LOPES RB, Alves SB, Padulla LFL, Perez CA 2007. Eficiência de formulações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* para o controle de ninfas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787). **Rev Bras Parasitol Vet** 16: 27-31.
- LOPES R.B., Alves S.B., Padulla L.F.L. & Pérez C.A. Eficiência de formulações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* para o controle de ninfas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 16:27- 31, 2007.
- LOPES, Welber. **CONTROLE ESTRATÉGICO DO CARRAPATO BOVINO**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em: 25 ago. 2016.
- LONDT, J. G. H.; WHITEHEAD, G. B. Ecological studies of larval ticks in South Africa (Acarina: Ixodidae). *Parasitology*, London, v. 65, p. 469-490, 1972. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/S0031182000044097>>.

LUZ, Christian; RODRIGUES, Juscelino; ROCHA, Luiz F.n.. Diatomaceous earth and oil enhance effectiveness of *Metarhizium anisopliae* against *Triatoma infestans*. **Acta Tropica**, [s.l.], v. 122, n. 1, p.29-35, abr. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.11.014>.

MARTINS, J. R. S.; FURLONG, J.; LEITE, R. C. Controle de carrapatos. In: BARROS-BATTESTI, D. M. B.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (Org). **Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical**. Um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Instituto Butantam, 2006. p. 145-153.

MARTINEZ, S. S. **O Nim, *Azadiractina indica***: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: IAPAR, 2002. 142 p.

MELLO, Valéria de. **Desenvolvimento e avaliação in vitro da eficácia de carrapaticida de formulações de contato á base dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus*, *Syzygium aromaticum* e *Rosmarinus officinalis***. 2014. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.ufjf.br>>. Acesso em: 7 out. 2016.

MONTEIRO S.G., Carneiro M.E., Bittencourt V.R.E.P. & Daemon, E.. Efeito do isolado 986 do fungo *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill sobre fêmeas ingurgitadas de *Anocentor nitens* Neumann, 1897 (Acari: Ixodidae). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, 50:673-676, 1998.

MOREIRA, M. D.; PIKANÇO, M. C.; SILVA, M. E.; MORENO, S. C.; MARTINS, J. C. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Ed.). Controle alternativo de pragas e doenças. Viçosa: Epamig/CTZM. 2006. v.1, p. 89-120.

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

NUÑES et al., 1982; GONZÁLES, 1993; FURLONG, 2005). garrapata comum del ganado vacuno. Buenos Aires: **Hemisferio Sur**, 184p, 1982.

OLIVO, C. J. et al. Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 406-410, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000200018>

PAIÃO, J.C.V.; MONTEIRO, A.C.; KRONKA, S.N. Susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) to isolates of the fungus *Beauveria bassiana*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v.17, p.245-251, 2001.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. 2002. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p.

PARRA, José Roberto Postali et al. Desafios da Pesquisa em Controle Biológico na Agricultura. São Paulo: Fapesp, 2016. P&B. Disponível em:<<http://www.fapesp.br/eventos/cb>>. Acesso em: 29 fev. 2016.

PERINOTTO, Wendell Marcelo de Souza et al. CONTROLE DE *Dermacentor nitens* UTILIZANDO UMA FORMULAÇÃO COMERCIAL A BASE DE *Metarhizium anisopliae*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Seropédica, v. 2, n. 35, p.35-42, dez. 2013.

PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J.; KLAFKE, G. M. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: biologia, controle e resistência. São Paulo: MedVet, 169p, 2008.

PEREZ, Carlos Alberto et al. CARRAPATOS DO GÊNERO *Amblyomma* (ACARI: IXODIDAE) E SUAS RELAÇÕES COM OS HOSPEDEIROS EM ÁREA ENDÊMICA PARA FEBRE MACULOSA NO ESTADO DE SÃO PAULO. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 4, n. 17, p.210-217, jun. 2008. Disponível em: <<https://www.researchgate.net>>. Acesso em: 14 set. 2016.

PEREIRA, M. C. *Boophilus microplus*: revisão taxonômica e morfológica. Rio de Janeiro: Químico Divisão Veterinária, 167p, 1982.

PRETTE, N.; MONTEIRO, A.C.; GARCIA, M.V.; SOARES, V.E. Patogenicidade de isolados de *Beauveria bassiana* para ovos, larvas e ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.35, p.855-861, 2005.

RIBEIRO, J.M.C. Role of saliva in tick/host interactions. **Experimental and Applied Acarology**, 7(1). 15 – 20.1989.

RIBEIRO, V. L. S.; SANTOS, J. C.; MARTINS, J. R. S.; SCHRIPEMA, J.; SIQUEIRA, I. R.; POSER, G. L.; APEL, M. A. Acaricidal properties of the essential oil and precocene II obtained from *Caleaserrata* (Asteraceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, v. 189, n. 1, p. 195-198, 2011.

REGITANO, L.C. A et al. **Avaliação da resistência de bovinos de diferentes grupos genéticos ao carrapato e á babesiose**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Pecuária Sudeste, n.9.2006.

REIGART, J.R.; ROBERTS, J.R. Biologicals and insecticides of biological origin In: REIGART, J.R.; ROBERTS, J.R. Recognition and management of pesticide poisonings. National Pesticide Information Center (NPIC). 1999. http://npic.orst.edu/RMPP/rmpp_ch7.pdf. Acessado em 15 de março de 2005.

RIEK, R. F. The cattle tick and fever: public address. *Aust. Vet. J.*, Victoria, v. 41, n. 7, p. 211-215, 1965. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1965.tb01839>>.

ROEL, A.R. **Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável**. Interações: Rev Int Desenvol Local, 2001; vol (1): 43-50.

ROCHA, R. B.; MELO, E. A. S. F.; SANTOS, O. O; BITTENCOURT. M. A. L. Compatibilidade e efeito de produtos comerciais à base de nim e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Metamasius hemipterus* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Magistra*, Cruz das Almas-BA, v. 24, número especial, p. 39-51, dez. 2012.

SAITO, Maria L.; POTT, Arnildo; FERRAZ, José M.G.; et al. Avaliação de Plantas com Atividade Deterrente Alimentar em Spodoptera frugiperda (J.E.Smith) e Anticarsia gemmatalis Hubner. Pesticidas: **R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 14, p.1-10, 2004

SANTOS, A. C. G. et al. Uso de extrato de nim no controle de acariase por *Myobia musculi* Schranck (Acari: Miobidae) e *Myocoptes musculus* Koch (Acari: Listerophoridae) em Camundongos (*Mus musculus* var. *albina* L.). **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 2, p. 269-272, 2006.

SANGWIN, N. K. Nematicidal activity of essential oils of Cymbopogon grasses. *Nematológica*, v. 31, n. 1, p. 93-99, 1985.

SEQUEIRA, T.C. G. de Oliveira. AMARANTE, A.F.do T. Parasitologia animal: animais de produção. Rio de Janeiro: EPUB, 2001, p.158.

STEFFENS, Andréia Hoeltz. **ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS POR DESTILAÇÃO POR ARRASTE A VAPOR EM ESCALA LABORATORIAL E INDUSTRIAL**. 2010. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Licenciatura Plena em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010. Disponível em: <<http://tede2.pucrs.br>>. Acesso em: 08 ago. 2016.

SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFSC, 2004.

SIMONATO, J; GRIGOLLI, J.F.J; OLIVEIRA De .H. N. Tecnologia e Produção: Soja 2013/2014. p 179 -193.

SOUZA, Edson Jesus de; REIS, Rosana Colatino Soares; BITTENCOURT, Vânia Rita Elias Pinheiro. Efeito do contato dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* na ecdise ninfal de *Amblyomma cajennense*. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, [s.l.], v. 6, n. 2, p.84-87, 1999. Editora Cubo Multimidia. <http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2015.141>.

SCHMUTTERER H (1998) Some arthropod pests and a semi-parasitic plant attacking neem (*Azadirachta indica*) in Kenya. *Anz Schädlingskde, Pflanzenschutz, Umweltschutz* 71: 36-38.

SONENSHINE, D.E. The midgut In: SONENSHINE, D.E. *Biology of ticks*. Editora, Oxford University Press. New York, 1991,v.1, p. 159-185.

SOSA-GÓMEZ DR, López LCC, Humber RA 2010. Overview of arthropod-associated fungi from Argentina and Brazil. *Mycopathol* 170:61-76.

SARBHOY, A. K. Efficacy of some essential oils and their constituents on few ubiquitous molds. *Zentralblatt fur Bakteriologie Naturwiss*, v. 133, n. 7-8, p. 723-725, 1978.

SCHRANK, Augusto ; VAINSTEIN, Marilene Henning . *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon* (Oxford), p. 1-10, 2010.

SIQUEIRA, Eloibiso Schadeck. **Atividade inseticida de extratos de *Eugenia uniflora* (L.) (Myrtales: Myrtaceae) obtidos por diferentes métodos de extração sobre *Brevicoryne brassicae*(L.) (Hemiptera: Aphididae)**.2012. 36f. Trabalho de Conclusão de Curso

(Especialização em controle biológico) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois vizinhos, 2012.

SILVA, F. **Assistat 7.7. Software Estatístico**. A. S. Campina Grande. Paraíba. 2014.
SINDIAVIPAR. Sindicato das Indústrias de Produtos Avícolas do Estado do Paraná. Líder mundial em exportação da carne de frango, Brasil embarca o produto para mais de 150 países. Curitiba, 2015. Disponível em: <
<http://www.sindiavipar.com.br/index.php?modulo=5&acao=detalhe&cod=166325>>. Acesso em: 10 set. 2016.

SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA. MAPA – Ministério da Pecuária e Abastecimento. Disponível <http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2014/02/governo-quer-aumentar-producao-de-leite-em-40-em-10-anos>. Acesso em 05 de outubro de 2015.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from neem tree. Azaliracha indica. Annual Review of Entomology, v.35, p.271-97, 1990.

USDA – United States Department of Agriculture,. USDA Foreign Agricultural Service. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/>. Acesso em 10 de outubro de 2014.

VALICENTE, Fernando Hercos. **Controle biológico de pragas com entomopatógenos**. 2009. Disponível em: <ile:///C:/Users/Acer/Downloads/Controle-biologico (2).pdf>. Acesso em: 09 jul. 2016.

VERÍSSIMO, C.J.; Controle biológico do carrapato do boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no Brasil / *Biological control of the cattle tick Rhipicephalus (Boophilus) microplus in Brazil* / Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CR MV-SP / Continuous Education Journal in Veterinary Medicine and Zootechny of CR MV-SP. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 11, n. 1 (2013), p. 14 – 23, 2013.

VERÍSSIMO, C. J. Resistência e suscetibilidade de bovinos leiteiros mestiços ao carrapato *Boophilus microplus*. Jaboticabal: UNESP, 1991, 165 p. Dissertação (mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

VERÍSSIMO, C.J.; KATIKI, L.M. Alternativas de Controle do Carrapato-do-boi na pecuária leiteira. In: VERÍSSIMO, CJ (Org.). Resistência e Controle do Carrapato-do-boi. Nova Odessa : Instituto de Zootecnia, 2015.

VERRÍSSIMO, C.J.; Controle biológico do carrapato do boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no Brasil / *Biological control of the cattle tick Rhipicephalus (Boophilus) microplus in Brazil* / Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Continuous Education Journal in Veterinary Medicine and Zootechny of CRMV-SP. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 11, n. 1 (2013), p. 14 – 23, 2013.

VIEIRA, Anelize Webster de Maura. **Efeito do fungo *Metarhizium anisopliae* em associação ou não a acaricida sobre cepa do carrapato *Rhipicephalus microplus* resistente a acaricidas: ensaios em laboratório e a campo**. 2013. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

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

TATCHELL JUNIOR,. Biochemical and Physiological Studies of Certain Ticks (Ixodoidea). In: TATCHELL JUNIOR,. **Physiology of Ticks: Current Themes in Tropical Science**. Oxford: Pergamon Press, 1982. Cap. 39. p. 345-350.

THIAGO C. BAHIENSE et al. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CONTROLE BIOLÓGICO DO *Metarhizium anisopliae* SOBRE *Boophilus microplus* EM TESTE DE ESTÁBULO. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Seropédica, v. 4, n. 16, p.243-245, jul. 2007.

