

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DO CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

BRUNA ANDRESSA DA SILVA

**ATIVIDADE *IN VITRO* DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS
MEDICINAIS EM CARRAPATO BOVINO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**SANTA HELENA
2019**

BRUNA ANDRESSA DA SILVA

**ATIVIDADE *IN VITRO* DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS
MEDICINAIS EM CARRAPATO BOVINO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado ao Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Biólogo.

Orientador: Prof. Magnos Fernando Ziech

Coorientadora: Prof. Dejjane Santos Alves

**SANTA HELENA
2019**

TERMO DE APROVAÇÃO

BRUNA ANDRESSA DA SILVA

ATIVIDADE *IN VITRO* DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS MEDICINAIS EM CARRAPATO BOVINO

Este trabalho de conclusão de curso foi apresentado no dia 18 de Junho de 2019, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas, outorgado pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O aluno foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

BANCA EXAMINADORA:

DAIAN GUILHERME PINTO DE OLIVEIRA
UTFPR

CARLA CRISTIANE VOLZ

MAGNOS FERNANDO ZIECH
Orientador – UTFPR

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e a felicidade de viver a cada dia buscando o conhecimento e a verdade. Em seguida agradeço a minha família, amigos, professores e todos aqueles que contribuíram de uma forma ou de outra para que este sonho seja realizado. Agradeço de coração aos meus orientadores Magnos e DeJane pelo acompanhamento, correções e toda a ajuda, aos técnicos de laboratório, professores pelo conhecimento adquirido e ao meu namorado pelas inúmeras horas de acompanhamento e paciência. A todos o meu mais sincero agradecimento.

RESUMO

SILVA, Bruna Andressa. **Atividade *in vitro* de óleos essenciais de plantas medicinais em carrapato bovino.** 2019. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas), Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Santa Helena, 2019.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade *in vitro* dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus*, *Tagetes patula*, *Artemisia absinthium* e *Lippia alba*, sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. No mês de fevereiro de 2019 foram selecionadas propriedades rurais que trabalham com bovinos leiteiros na região Oeste do Paraná para serem empregadas como fonte de *R. (B.) microplus*. Paralelamente, foram coletadas as plantas para obtenção dos óleos essenciais no Horto de Plantas Medicinais do Refúgio Biológico de Santa Helena. Os carrapatos foram coletados manualmente e encaminhados ao laboratório de Zoologia da UTFPR – Câmpus Santa Helena para a condução do bioensaio. Para a realização do bioensaio as teleóginas foram submetidas aos tratamentos empregando-se o método de imersão. Como testemunha negativa foi empregado acetona ao passo que a testemunha positiva constitui de amitraz®. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com 6 tratamentos e 30 repetições, sendo cada repetição constituída por uma teleógina. Após a aplicação dos tratamentos, os carrapatos foram fixados individualmente em placas de petri com auxílio de fita dupla face e acondicionados em BOD com temperatura constante de 28°C e umidade relativa do ar entre 70 e 80%. Passados 7 dias da aplicação dos tratamentos, realizou-se a avaliação do número de carrapatos mortos e a pesagem dos ovos. Os óleos essenciais avaliados no presente trabalho não causaram aumento na mortalidade e redução no peso dos ovos de *R. (B.) microplus*.

Palavras chave: Bovinos. Inseticidas botânicos. Teleógina.

ABSTRACT

SILVA, Bruna Andressa. **Atividade *in vitro* de óleos essenciais de plantas medicinais em carrapato bovino.** 2019. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas), Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Santa Helena, 2019.

The objective of the present study was to evaluate the *in vitro* efficacy of the essential oils of *Cymbopogon winterianus*, *Tagetes patula*, *Artemisia absinthium* and *Lippia alba* on *Boophilus microplus* teleogynes. At the beginning of 2019 (February) rural properties were selected that working with dairy cattle in the western region of Paraná to be used as source of *R. (B) microplus*. At the same time, the plants were collected to obtain the essential oils in the Garden of Medicinal Plants of the Biological Refuge of Santa Helena. The ticks were collected manually and sent to the UTFPR - Campus Santa Helena Zoology laboratory for conducting the bioassay. In order to perform the bioassay, the teleogynes were submitted to the treatments using the immersion method. As a negative control, acetone was used whereas the positive control consisted of amitraz®. The experimental design was completely randomized with 6 treatments and 30 replicates, each replicate consisting of a telegyn. After application of the treatments, the ticks were individually fixed in petri dishes with double-sided tape and conditioned in BOD with a constant temperature of 28°C and relative humidity of 70-80%. Seven days after the treatments were applied, the number of dead ticks and eggs weighing were evaluated. The essential oils evaluated in the present study did not cause an increase in mortality and reduction in egg weight of *R. (B) microplus*.

Keywords: Cattle. Botanical insecticide. Ticks.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	10
2.1	OBJETIVOS GERAIS	10
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3	REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1	Carrapato bovino, <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	11
3.2	Plantas com atividade carrapaticida	12
3.3	<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt (Poaceae)	13
3.4	<i>Tagetes patula</i> L. (Asteraceae)	13
3.5	<i>Artemisia absinthium</i> (Asteraceae)	14
3.6	<i>Lippia alba</i> (Verbenaceae)	15
4	MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1	Obtenção dos carrapatos	16
4.2	Obtenção dos óleos essenciais	16
4.3	Screening da atividade carrapacida de óleos essenciais	17
5	RESULTADOS	18
6	DISCUSSÃO	19
7	CONCLUSÕES	21
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	21
9	REFERÊNCIAS	22

1 INTRODUÇÃO

O carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Ixodida: Ixodidae) é também popularmente conhecido como carrapato-duro, pois contém um escudo esclerotizado. Os adultos apresentam dimorfismo sexual, sendo observado que nos machos o escudo cobre por completo a porção dorsal, ao passo que nas fêmeas cobre apenas a metade da porção dorsal. O ciclo de vida desses carrapatos consiste nas fases de ovo, larva, ninfa e adulto (FLETCHMANN, 1990).

Esse aracnídeo é o parasita externo de maior impacto econômico nos rebanhos bovinos brasileiros (GRISI et al. 2002). Na região sul do País, o clima subtropical é favorável para o seu desenvolvimento, tornando o parasitismo pelo carrapato uma patologia de caráter endêmico. *R. (B.) microplus* possui grande importância devido às perdas econômicas que causa, tais como baixa na produtividade da pecuária leiteira; e na produção de couro e carne (CORDOVÉS, 1997).

O carrapato pode trazer diversos prejuízos econômicos e na saúde do bovino, pois sua picada pode causar consequências como: perda de sangue e irritabilidade. Além disso, pode atuar na veiculação de patógenos (RAYNAL et al., 2015). Dessa forma, é necessário o uso de pesticidas químicos sintéticos para controle e tratamento dos bovinos, o que afeta negativamente produtividade do animal e os custos do proprietário (CAMPOS et al., 2012). Já foi estimado que as perdas no Brasil por esse parasita chegam a quase 1 bilhão de dólares por ano, gastando-se cerca de R\$ 800 milhões em produtos químicos para controle do mesmo (MARTINEZ; SILVA; MACHADO, 2004).

O controle de *R. (B.) microplus* é baseado principalmente na utilização de acaricidas químicos sintéticos (CAMPOS et al., 2012). Entretanto, o uso indiscriminado desses pesticidas leva a redução de sua eficácia (OLIVEIRA; AZEVEDO, 2002). Vários mecanismos podem estar envolvidos na resistência dos artrópodes a pesticidas como, por exemplo, a capacidade fisiológica de desintoxicar ou tolerar substâncias tóxicas, sendo que algumas enzimas e proteínas ajudam neste processo de desintoxicação (LE GALL; KLAFKE; TORRES, 2018). Outro malefício decorrente do uso indiscriminado de pesticidas sintéticos é a presença de resíduos no leite (OLIVEIRA; AZEVEDO, 2002).

Diante desse cenário torna-se evidente a necessidade de pesquisas por novas moléculas as quais possam vir a serem empregadas para o controle de *R. (B.) microplus*. Assim, produtos do metabolismo secundário de plantas apresentam-se bastante promissores.

Em toda a natureza, as plantas estão expostas a inúmeros inimigos naturais, os quais constituem um fator causador de estresse nas plantas. Para se proteger, as plantas produzem compostos chamados de metabólitos secundários. Essas substâncias não estão diretamente envolvidas no crescimento e desenvolvimento das plantas, mas atuam na defesa contra fungos, vírus, insetos, bactérias, nematoides e herbívoros (RIBEIRO; CARVALHO, 2010).

Dentre os metabólitos secundários produzidos por plantas destacam-se os constituintes dos óleos essenciais, que podem ser definidos como substâncias voláteis, hidrofóbicas, contendo até 20 átomos de carbono (OLIVEIRA; CARVALHO; ALVES, 2017). Óleos essenciais têm sido utilizados como bactericidas, fungicidas, inseticidas e cosméticos (CHAGAS et al., 2016). São inúmeros os relatos da atividade acaricida de óleos essenciais para *R. (B.) microplus* como o de Castro et al. (2018) que utilizaram óleo essencial de *Mesosphaerum suaveolens*, *Ocimum gratissimum* e *Alpinia zerumbet*, todos os óleos essenciais testados neste estudo exibiram atividade anti-carrapato significativa. Ao passo que Figueiredo et al. (2018) avaliou o óleo de *Ocotea elegans* em larvas e fêmeas adultas de *R. (B.) microplus* e constatou que o óleo essencial proveniente das folhas possui efeito acaricida significativo sobre fêmeas ingurgitadas e repelência larval para carrapatos.

Entre as famílias botânicas conhecidas pela produção de óleos essenciais com atividade pesticida podem-se mencionar as famílias Poaceae, Asteraceae e Verbenaceae. Na família Poaceae destaca-se o gênero *Cymbopogon*, que engloba cerca de 180 espécies e subespécies de gramíneas aromáticas com importância na indústria de cosméticos (RODRIGUES et al., 2013). Estudos relataram que os óleos essenciais provenientes de plantas desse gênero, possuem atividade repelente e inseticida (TORRES et al., 2012). Em se tratando da família Asteraceae, a qual é composta por mais de 500 espécies em todo o mundo, pode-se destacar o gênero *Artemisia* composto por plantas aromáticas, conhecidas por possuírem efeitos microbiano e antiprotozoários (SEIXAS, 2017). E o gênero *Tagetes* também da família Asteraceae, conhecida popularmente como cravo de defunto possui mais 50 espécies, a mesma já vem sendo estudada por apresentar ação eficiente contra nematoides

(CARVALHO MOREIRA; FERREIRA, 2015). Pertencente a família Verbenaceae, destaca-se a espécie *Lippia alba* que é um arbusto aromático cujo aroma é predominante de óleos essenciais que varia sua quantidade de acordo com a época do ano, localização e clima (CORRÊA, 1992; MATOS, 1998; TAVARES et al., 2005).

No que se refere ao modo de ação, os metabólitos presentes nos óleos essenciais podem apresentar atividade para artrópodes devido a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE); modulação em canais mediados pelo ácido gama-aminobutírico (GABA) e ação no sistema octopaminérgico (JANKOWSKA et al., 2018).

Assim, esse trabalho tem como objetivo avaliar a ação dos óleos essenciais de plantas medicinais das famílias Poaceae, Asteraceae e Verbenaceae para *R. (B.) microplus*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade de óleos essenciais provenientes de *C. winterianus*, *T. patula*, *A. absinthium* e *L. alba* em fêmeas ingurgitadas de carrapato bovino *R. (B.) microplus* por testes de imersão em adultos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a atividade de óleos essenciais provenientes de *C. winterianus*, *T. patula*, *A. absinthium* e *L. alba* para teleóginas de *R. (B.) microplus*.
- Verificar se os óleos essenciais afetam negativamente a postura das teleóginas de *R. (B.) microplus*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Carrapato bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

O carrapato bovino *R. (B.) microplus* é o transmissor de diversos agentes patológicos. Entre os patógenos pode-se destacar a Tristeza Parasitária Bovina, a qual causa duas enfermidades conhecidas: a babesiose, determinadas pelos protozoários *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*, e a anaplasmose, causada por *Anaplasma marginale*. Ambas as doenças causam grandes prejuízos aos animais, tais como perda de produtividade, e geralmente ocorre em países tropicais e sub tropicais pelas condições climáticas favoráveis (NARDONI et al., 2018).

As doenças que o carrapato transmite aos bovinos oneram os custos de produção. Destaca-se ainda que o principal método de controle é baseado no uso de pesticidas químicos sintéticos, os quais podem selecionar populações de carrapatos resistentes (ADENUBI et al., 2016)

Pode-se citar ainda que alguns pesticidas podem persistir no ambiente e no tecido dos bovinos, causando impacto sobre os predadores da cadeia alimentar. Devido os problemas, tais como contaminação ambiental e resistência do carrapato à produtos químicos, tem-se desenvolvido vários estudos para o controle deste parasita, com vistas à reduzir a utilização de pesticidas químicos sintéticos (ADENUBI et al., 2016).

Durante algum tempo a erradicação do carrapato foi um método recomendado, entretanto atualmente não é mais uma prática recomendada, pela dificuldade em sua implementação, associada à possibilidade de seleção de populações resistentes (GONÇALVES, 2000). Mesmo com a utilização de acaricidas sintéticos em conjunto com outras estratégias de controle, a presença destes produtos na propriedade e a sua frequente utilização no rebanho são potenciais fontes de contaminação dos animais e, em consequência, do leite e da carne oriundos destes rebanhos (CHAGAS et al., 2003). Estudos que quantifiquem a permanência desses princípios ativos e de suas consequências quando ingeridos pelos humanos são escassos.

Os efeitos agressivos dos pesticidas químicos sintéticos no homem e no meio ambiente faz com que aumente a procura por métodos de controle de baixo impacto

ambiental. Nesse contexto, óleos essenciais apresentam-se bastante promissores, pois é possível que a presença de mais de um ingrediente ativo, com modo de ação às vezes diferente, o que retarda a seleção de populações resistentes. Além disso, os óleos essenciais são facilmente degradados no meio ambiente, colaborando para a redução de resíduos na carne e no leite (MORALES; GARCÍA, 2000). Como forma de redução do impacto ambiental e financeiro do uso de acaricidas sintéticos, Castrejón et al. (2003) sugerem que se somem métodos de controle biológico como o uso de plantas com propriedades anticarrapaticida.

3.2 Plantas com atividade carrapaticida

Utilizar produtos naturais na cura de enfermidades é um hábito muito antigo. O ser humano desde a antiguidade aprendeu a diferenciar as plantas comestíveis das tóxicas, passando de geração em geração estes ensinamentos (RIBEIRO; CARVALHO, 2010)

Nos últimos tempos foi possível um melhor entendimento sobre a composição e efeitos terapêuticos das plantas, através do desenvolvimento tecnológico e científico, destacando a importância de cada espécie vegetal para a produção de fármacos (RIBEIRO; CARVALHO, 2010).

Nesse contexto, o Brasil é considerado o país com maior número de espécies vegetais do mundo, porém os estudos sobre a atividade terapêutica das plantas são escassos (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002 apud CAMPOS *et al.*, 2012). As plantas possuem o metabolismo secundário, que é responsável pela produção de variados tipos de compostos que podem apresentar ação pesticida. Além disso, os pesticidas botânicos apresentam normalmente baixo custo, não intoxicam os seres humanos e diminuem o impacto ambiental (MOREIRA et al., 2007; BAGAVAN et al., 2009 apud CAMPOS *et al.*, 2012).

Algumas plantas possuem atividade pesticida, ou seja, podem causar efeitos sobre os artrópodes, tais como inibição de oviposição, repelência, inibição do desenvolvimento, deformação, mortalidade em diversas fases e infertilidade (ROEL, 2001). Várias plantas, tais como *Azadirachta*, *Cymbopogon nardo*, *Lavandula angustifolia*, *Tetradenia riparia*, *Petiveria alliacea*, *Piper aduncum*, *Eucalyptus*

citriodora, *Ocimum basilicum*, *Calea serrata*, *Nicotiana tabacum*, entre outras, estão sendo pesquisadas com relação à atividade carrapaticida (CAMPOS *et al.*, 2012).

Os óleos essenciais de *Bursera graveolense* e *Schinus molle*, por exemplo, são usados tradicionalmente pela medicina indígena equatoriana como inseticidas e apresentam resultados promissores no combate do carrapato bovino *R. (B.) microplus* (REY-VALEIRÓN *et al.*, 2017).

3.3 *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae)

Conhecida popularmente como capim citronela. É usada como repelente e possui ação inseticida devido à existência de compostos, tais como o citronelal, o qual bloqueia os receptores de octopamina, responsáveis pela neurotransmissão e neuromodulação (AGNOLIN *et al.*, 2014).

Essa espécie é cultivada em regiões tropicais e subtropicais, e é indicada para o controle de insetos, suas folhas frescas podem ser usadas como repelente. Essas propriedades se dão pela presença de substâncias voláteis em suas folhas. Estudos feitos com o óleo presente nas folhas demonstram uma considerável ação como inseticida e carrapaticida (RAJA, 2000).

A citronela apresenta uma mistura de substâncias voláteis em suas folhas, tais como o citronelol, eugenol, geraniol, elemol e limoneno, os quais pertencem ao grupo químico dos monoterpenos.

O rendimento médio de extração do óleo essencial da citronela é de aproximadamente 0,5%, empregando-se os principais métodos de extração. O óleo de citronela, de forma isolada ou combinada com produtos sintéticos, contribui para o controle do carrapato bovino. Estudos revelam a eficácia contra larvas e teleóginas de carrapatos bovinos na utilização de óleo puro ou diluído em etanol. Relatos também afirmam a eficácia de 90% de inibição de postura e morte de teleóginas ingurgitadas (TORRES *et al.*, 2012).

3.4 *Tagetes patula* L. (Asteraceae)

Tagetes patula L., conhecida popularmente como cravo-de-defunto, é cultivada como planta ornamental em todo o mundo. Trata-se de uma espécie

originária do México, e que foi introduzida no Brasil há muitos anos, onde conseguiu se manter pelo clima perfeito que aqui encontrou. É uma planta de fácil cultivo, que pode ser usada como decoração por conta das suas cores atrativas (ZACHÉ, 2009).

Como o cravo-de-defunto é de fácil aquisição no Brasil e por possuir uma imagem atrativa, vem sendo conduzidos estudos sobre seu óleo essencial. Alguns desses estudos objetivam analisar se o óleo possui atividade inseticida. Já foi constatado, por exemplo, que o gênero *Tagetes* possui ação inseticida, pois apresenta efeitos tóxicos em mosquitos (RESTELLO; MENEGATT; MOSSI, 2009).

A espécie *T. patula* produz metabolitos secundários que são de grande importância na interação da planta com o meio ambiente. Estes metabólitos já foram descritos nas folhas, flores e frutos e destaca-se ainda que apresentam propriedades inseticidas e antimicrobianas (ANDREOTTI *et al.*, 2014).

Pode-se mencionar como exemplo o trabalho de Vidal *et al.* (2008), os quais constataram que o óleo essencial das folhas da *T. patula* causou ação tóxica em larvas e pupas de *Aedes aegypti*. No mesmo sentido, Signorini (2015) avaliou o efeito do óleo essencial de *T. patula* no manejo de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) em cultivos orgânicos, esse autor sugeriu a viabilidade desse óleo essencial.

3.5 *Artemisia absinthium* (Asteraceae)

Conhecida popularmente como losna, *A. absinthium* é pertencente à família Asteraceae. Esta é uma das maiores famílias de plantas que ocorrem no mundo, com cerca de 25.000 espécies, constituídas por ervas, arbustos, trepadeiras e poucas árvores, que representam cerca de 10% das espécies vegetais do planeta. A família Asteraceae tem grande importância econômica por apresentar plantas ornamentais e comestíveis (SEIXAS, 2017).

Entre as espécies pertencentes à família Asteraceae, pode-se destacar o gênero *Artemisia*, que possui mais de 500 espécies descritas e distribuídas por todo o mundo. Muitas dessas espécies são usadas em campos variados como tais como alimentício, forragem, medicinal e ornamental. *A. absinthium*, por exemplo é bem adaptada ao clima brasileiro e bem distribuída em todas regiões (SEIXAS, 2017).

A espécie *A. absinthium* é usada na medicina natural por apresentar propriedades diurética, carminativas e anti-helmitica. Mais recentemente tem sido explorada suas propriedades inseticida e herbicida (FEDERAL *et al.*, 2013).

De acordo com Seixas *et al.* (2018) o óleo apresentou alta mortalidade para o inseto praga *Diaphania hyalinata*. Enquanto Gusmini e Wehner (2005) obtiveram resultados promissores ao trabalharem com *A. absinthium*. Foi constatado que o extrato da matéria seca de *A. absinthium* reduziu significativamente a alimentação de insetos praga como *Sitona lineatus* e causou mortalidade em *Acyrtosiphon pisum*.

3.6 *Lippia alba* (Verbenaceae)

Pertencente da família Verbenaceae e conhecida popularmente como erva cidreira, *L. alba* é plantada em todo o Brasil e usada por suas propriedades calmante, analgésica, antiespasmódica e sedativa. Essa espécie pode ser encontrada em solos arenosos, margens dos rios, açudes, lagos e lagoas nos climas temperado, subtropical e tropical (STEFANINI *et al.*, 2002). É uma das espécies medicinais mais utilizadas no Brasil de acordo com a Central de Medicamentos (SILVA *et al.*, 2006).

Os óleos essenciais provenientes de *L. alba* possuem uma variada composição que podem ir de I a VII quimiotipos, estes se diferenciam pela quantidade de seus componentes que podem ser o tagetenona (I), limoneno e carvona (II), mirceno (III), citral, linalol, β -cariofileno (IV), estragol (V), γ -terpineno (VI) e camphor (VII). O óleo essencial de cidreira mostra-se eficiente na atividade antifúngica e antibacteriana de *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* e *Candida Krusei*, além de toxicidade para protozoários e atividade antiviral frente a *Trichomonas vaginalis* (BLANK; CARVALHO, 2010).

O óleo essencial de erva-cidreira pode apresentar variação na sua composição química, característica que pode estar relacionado com os fatores ambientais como o solo e clima em que as plantas são cultivadas (SILVA; OLIVEIRA, 2006). Vários estudos no Brasil abordam diferenças na composição majoritária do óleo, no Maranhão e Ceará (β -cariofileno), Paraná (γ -terpineno), São Paulo (citral) e Rio Grande do Sul (linalol) (SILVA *et al.*, 2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O bioensaio foi conduzido nas dependências do Laboratório de Zoologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Santa Helena entre os meses de fevereiro a março do ano de 2019.

4.1 Obtenção dos carrapatos

Para os ensaios foram coletadas teleóginas de bovinos leiteiros em propriedades rurais da região Oeste do Paraná. As teleginas foram retiradas dos bovinos com o auxílio de uma pinça para evitar que a amostras sofra danos, posteriormente foram separadas por tamanho e descartado as teleóginas que não possuíam tamanho ou ingurgitamento suficiente para a pesquisa, foram limpas em água corrente e secas em papel absorvente e reservadas para climatização.

4.2 Obtenção dos óleos essenciais

As espécies botânicas utilizadas para a obtenção dos óleos essenciais foram coletadas no horto medicinal da UTFPR, localizada junto ao viveiro do Refúgio Biológico do município de Santa Helena, no período de janeiro a março de 2018.

Tabela 1. Material extraído e rendimento de óleo essencial de Citronela, Erva Cidreira, Cravo de defunto e Losna.

Amostra	Material extraído	Rendimento
Citronela	150 g	3,2 g (2,1 %)
Erva Cidreira	120 g	0,98 g (0,81 %)
Cravo de defunto	102 g	0,82 g (0,31 %)
Losna	135 g	0,75 g (0,55 %)

Foram coletadas folhas de capim-citronela (*C. winterianus*), cravo-de-defunto (*T. patula*), losna (*A. absinthium*) e erva-cidreira (*L. alba*). O material botânico foi

submetido à secagem em estufa de ventilação forçada de ar a 40° C, até atingir massa constante (72 horas). Posteriormente os materiais secos foram triturados em moinho do tipo Wiley, com peneira de 2 mm e pesados em balança analítica. Os óleos essenciais foram obtidos por meio do método de hidrodestilação por intermédio do *apparattus* Clevenger, no qual foi colocado éter etílico no coletor do *apparattus*. O éter juntamente com o óleo essencial foi recolhido, posteriormente seco com sulfato de sódio anidro, filtrado e rotaveaporado. Foram calculados os rendimentos na extração dos óleos e os mesmos foram armazenados em frascos de vidro e conservados em geladeira.

4.3 *Screening* da atividade carrapacida de óleos essenciais

Foram selecionadas teleóginas ingurgitadas presentes em animais isentos de carrapaticida químico de contato, por no mínimo 30 dias. As teleóginas foram deixadas por 24 horas em temperatura ambiente e posteriormente foram empregadas no ensaio de imersão.

Os óleos essenciais (3%) foram previamente solubilizados em acetona (2,5 mL). Cada indivíduo foi imerso por 30 segundos no tratamento. Após esse período, as teleóginas foram separadas da solução com auxílio de peneiras, secas com papel absorvente e fixadas pela superfície dorsal, com auxílio de fita dupla face, em placa de Petri. A mortalidade das teleóginas foi avaliada visualmente até o final das posturas (3 dias).

Após 7 dias da exposição das teleóginas aos óleos essenciais, as posturas de cada teleógina foram separadas e pesadas em balança analítica. Amostras de ovos (0,1 g) foram retiradas e transferidas para tubos de ensaio os quais foram vedados com algodão hidrófilo. O bioensaio foi mantido em B.O.D na temperatura de 28° e umidade relativa (UR) de 80%.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e 30 repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída por uma teleógina. As testemunhas negativa e positiva utilizadas foram um acaricida químico (amitraz® 0,012%) e acetona (99,9% P.A), respectivamente.

Os dados referentes a sobrevivência dos ácaros e a massa dos ovos das teleóginas foram analisados utilizando o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

Previamente, os dados foram analisados quanto a homogeneidade das variâncias, através do teste de Bartlett, e normalidade empregando o teste de Shapiro-Wilk.

5 RESULTADOS

Para a variável peso das posturas, os dados apresentaram homogeneidade das variâncias ($K = 10,222$, $df = 5$, $p = 0,06918$), entretanto não apresentaram distribuição normal ($W = 0,94343$, $p = 2,99e^{-05}$), por isso, os dados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, sendo constatada diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 19,554$, $df = 5$, $p = 0,001515$). O tratamento com amitraz® causou redução no peso dos ovos (figura 1). Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si.

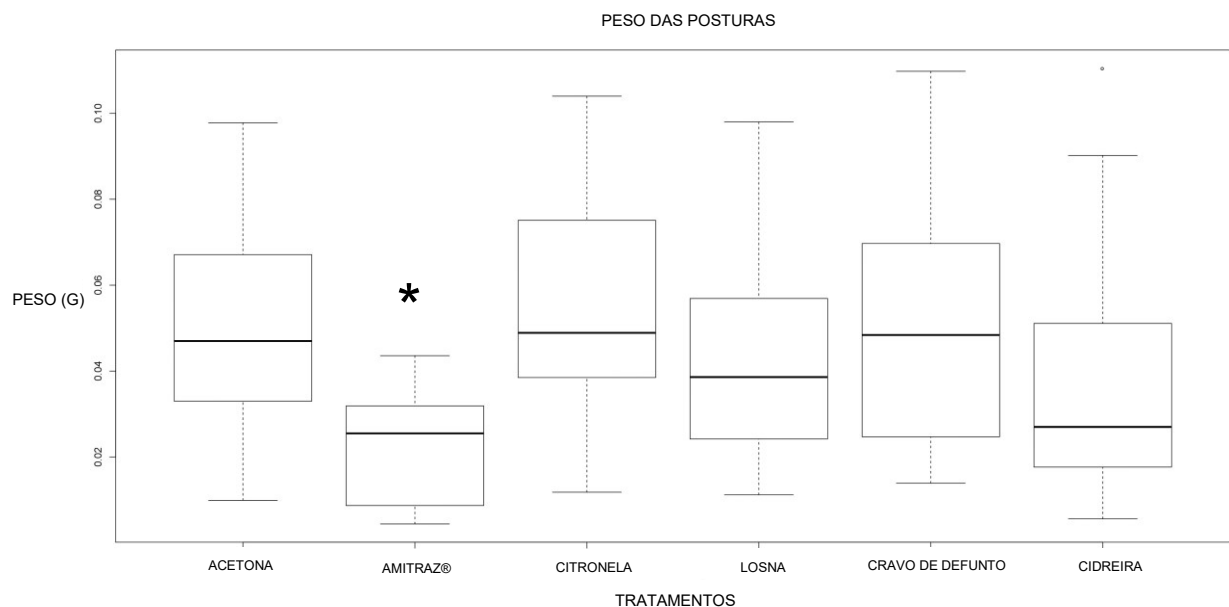


Figura 1. Peso de postura de teleóginas, submetidas a imersão com óleos essenciais ou testemunha positiva (amitraz®) e negativa (acetona).

No que se refere a variável taxa de mortalidade foi constatada diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 35,193$, $df = 5$, $p = 1,377e^{-06}$ (figura 2). O tratamento com amitraz® causou taxa de mortalidade de 56,7%. Enquanto que para os demais tratamentos com óleos essenciais a taxa de mortalidade média foi abaixo de 33,3%, não diferindo estatisticamente entre si.

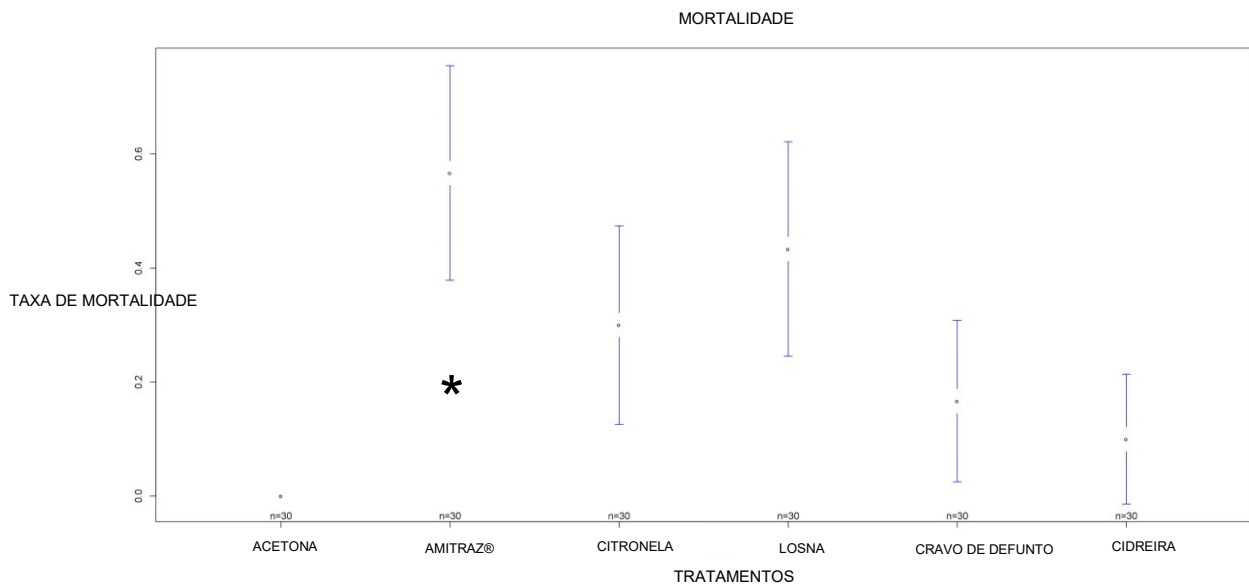


Figura 2. Taxa de mortalidade de teleóginas submetidas a tratamento, via imersão, com óleos essenciais.

6 DISCUSSÃO

De acordo com as análises não houve diferença significativa entre os óleos essenciais, frente ao carrapato bovino. Apenas o acaricida químico amitraz®, usado como controle positivo, se mostrou eficiente em aumentar a mortalidade e reduzir o peso das posturas das teleóginas.

Apesar de estudos relarem que a citronela (*C. winterianus*) a 12,5; 8,3; 7,1%, diluída em etanol, possui ação larvicida de até 90% na forma de aspersão sobre animais infestados naturalmente (CHUNGSAMARNYART & JIWAJINDA, 1992), nesse trabalho o efeito carrapaticida não foi constatado. Pode-se mencionar ainda que de acordo com Agnolin et al. (2014), a partir da concentração de 5% de óleo a ação é superior a 80%. Destaca-se ainda que Martins (2006) obteve 100% de redução de postura na concentração de 10%. Para as concentrações de 6,25; 12,5; e 25%, Gularte et al. (2009) encontraram uma média de 80; 94 e 100% de eficácia, respectivamente. Pode-se mencionar ainda que em experimento *in vivo*, empregando-se diversas aplicações pode-se constatar um declínio no número de teleóginas a partir do 14º dia da aplicação do óleo de citronela da espécie *Cymbopogon nardus* a 3%

(AGNOLIN, 2009). Os resultados encontrados no presente trabalho podem ser devido ao fato de que a concentração utilizada (3%) foi abaixo da concentração empregada nos trabalhos citados anteriormente.

Nesse trabalho também não foi verificado o efeito do óleo essencial de cravo de defunto (*T. patula*), sendo que existem poucas pesquisas com esta planta em relação ao controle de ácaros. Politi et al. (2012), em teste de imersão de adultos ingurgitados de *R. sanguineus*, não alcançou taxas significativas de mortalidade, sendo que concentração que causou maior redução na postura dos ovos foi de 50,0 mg/mL, representando 21,50% de redução.

No que se refere a losna (*A. absinthium*) também não foi verificada redução das posturas e na taxa de mortalidade das teleóginas. Godara et al. (2014), que analisou extrato de *A. absinthium* em carrapatos caninos *R. sanguineus*, teve a postura reduzida em 18,3, 42,5 e 85,1% nas concentrações de 5, 10 e 20%, respectivamente. Parveen et al. (2014) analisou extrato de *Artemisia conyzoides* na concentração de 5%, sendo verificado 16,7% de mortalidade de carrapatos, mas na concentração de 10% não foi constatada redução significativa da mortalidade. Godara et al. (2015) avaliou o efeito do extrato etanólico de losna em teste de imersão em carrapatos *Hyalomma anatolicum* e obteve a mortalidade de 86,7% na concentração de 20%. Além disso, houve redução na postura de 36,8 e 59,1% nas concentrações de 10 e 20%, respectivamente.

De forma semelhante ao mencionado anteriormente, no presente trabalho não se constatou redução na mortalidade e postura de teleóginas, quando empregado o óleo essencial de erva cidreira (*L. alba*). Coelho et al., (2012) testou óleo essencial de *Lippia triplinervis* em teleoginas de bovinos e observou redução significativa nas posturas em concentração de 40 mg/mL. Ao passo que Lima et al. (2016) e Cruz et al., (2013) testaram a repelência dos genótipos de teleóginas de bovinos, LA - 13 e LA - 57 que continham, respectivamente, 52,6 e 62,8% de carvona e 26,6 e 26,5% de limoneno como componentes principais do óleo essencial de *L. alba* e *L. gracilis*, respectivamente. Esses autores constataram que ambos os genótipos apresentam repelência ao carrapato de até 5 horas pós-tratamento.

De acordo com relatos em literatura, pesquisas com óleos essenciais, provenientes das plantas empregadas no presente trabalho, a partir da concentração

de 5% apresentavam atividade para o carrapato bovino. Assim, podemos concluir que em maiores concentrações provavelmente os óleos essenciais mostrariam atividade na redução de postura e mortalidade das teleóginas. Acredita-se que outro fator que corrobora para a divergência dos resultados encontrados frente aos obtidos por outros autores seria a diversidade na constituição dos óleos em relação a época de plantio e coleta, local onde encontra-se o cultivo e clima.

7 CONCLUSÕES

Os óleos essenciais provenientes de *Cymbopogon winterianus*, *Tagetes patula*, *Artemisia absinthium* e *Lippia alba* concentração de 3%, não apresentaram ação sobre as teleóginas de *R. (B.) microplus*.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do presente estudo possibilitou analisar se óleos essenciais de *C. winterianus*, *T. patula*, *A. absinthium* e *L. alba* apresentam ação carrapaticida e causam redução na postura de teleóginas de *R. (B.) microplus*. Pode-se concluir que na concentração de 3% não pode ser constatada diferença significativa entre os tratamentos. Além disso, pode-se constatar a necessidade de pesquisas com tais plantas, em relação aos óleos essenciais, seus componentes químicos e atividade biológica.

9 REFERÊNCIAS

- ADENUBI, O. T. et al. Plant extracts to control ticks of veterinary and medical importance: A review. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 178–193, 2016.
- AGNOLIN, C. A et al. Eficácia acaricida do óleo de citronela contra o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 15, n. 3, p. 604–612, 2014.
- ANDREOTTI, R. et al. *Tagetes minuta* – uma nova alternativa no controle fitoterápico de carrapatos. **Documentos**, **207**, p. 30, 2014.
- BLANK, A. F; CARVALHO, L. M. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ERVA-CIDREIRA E MANJERICÃO FRENTE A BACTÉRIAS DE CARNES BOVINAS. p. 529–535, 2010.
- BOLLER, P.J, DEBONI, T.C. Manejo ecológico de *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae) com extratos aquosos de losna *Artemisia absinthium* L. no cultivo de brócolis. v. 8, n. 2, p. 1–6, 2013.
- CAMPOS, R. N. S. et al. Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, p. 67–78, 2012.
- CARVALHO MOREIRA, F. J; FERREIRA, A. C. S. CONTROLE ALTERNATIVO DE NEMATOIDE DAS GALHAS (*Meloidogyne enterolobii*) COM CRAVO DE DEFUNTO (*Tagetes patula* L.), EM SOLO. **Holos**, v. 1, p. 99, 2015. Disponível em: <<http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/1600>>.
- CASTRO, K. N. C. et al. In vitro efficacy of essential oils with different concentrations of 1,8-cineole against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 27, n. 2, p. 203–210, 2018.
- CHAGAS, A.C.S., LEITE, R.C., FURLONG, J., PRATES, H.T., PASSOS, W.M. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solvente, **Ciência Rural**, v.33, n.1. [S.l.: s.n.], 2003.
- CHAGAS, A. C. et al. Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 3, p. 427–432, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.01.001>>.
- COELHO, T. et al. Activity of essential oil of *Lippia triplinervis* Gardner (Verbenaceae) on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). n. May 2014, 2012. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE INSETICIDA DE OLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DE ARTEMISIA SUBMETIDAS A DIFERENTES ADUBAÇÕES. In:
- SEIXAS, P. T. L. [S.l.: s.n.], 2017. p. 97.
- CORDOVÉS, C.O. Carrapato: controle ou erradicação. Guaíba. **Agrpecuária**. [S.l.: s.n.], 1997.

CRUZ, E. M. O. et al. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 195, n. 1–2, p. 198–202, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.046>>.

FIGUEIREDO, A. et al. First report of the effect of *Ocotea elegans* essential oil on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 252, n. December 2017, p. 131–136, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.02.018>>.

FLETCHMANN, C.H.W. **Ácaros de importância médico veterinária**. [S.l: s.n.], 1990.

GONÇALVES, P. Epidemiologia E Controle Da Tristeza Parasitária Epidemiology and Control of Bovine Babesiosis and. p. 187–194, 2000.

GUSMINI, G; WEHNER, T. C. Genes determining rind pattern inheritance in watermelon: A review. **HortScience**, v. 40, n. 6, p. 1928–1930, 2005.

JANKOWSKA, M. et al. Molecular targets for components of essential oils in the insect nervous system—a review. **Molecules**, v. 23, n. 1, p. 1–20, 2018.

LE GALL, V. L; KLAFKE, G. M; TORRES, T. T. Detoxification mechanisms involved in ivermectin resistance in the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 12401, 2018. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-018-30907-7>>.

LIMA, A. et al. Assessment of the repellent effect of *Lippia alba* essential oil and major monoterpenes on the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 30, n. 1, p. 73–77, 2016.

MARTINEZ ML, SILVA MVGB, MACHADO MA, TEODORA RL. A biologia molecular como aliada no combate aos carrapatos. In: Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal. **Anais (Pirassununga)**. [S.l: s.n.], 2004.

MARTINS, R. M. Estudio in vitro de la acción acaricida del aceite esencial de la gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) en la garrapata *Boophilus microplus*. p. 71–78, 2006.

MORALES, S.; GARCÍA, C. M. Metodología para la evaluación del potencial insecticida de especies forestales. **Revista Facultad Nacional Agronomía**. [S.l: s.n.], 2000.

NARDONI, S. et al. Sensitivity of Entomopathogenic Fungi and Bacteria to Plants Secondary Metabolites, for an Alternative Control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Cattle. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, n. August, p. 1–6, 2018. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2018.00937/full>>.

ÓLEO DE CITRONELA NO CONTROLE DE ECTOPARASITAS DE BOVINOS. In: AGNOLIN, C. A. [S.l: s.n.], 2009.

OLIVEIRA, A.A., AZEVEDO, H. C. Resistência do carrapato *Boophilus microplus* a carrapaticidas em bovinos de leite na região dos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Ciência Rural**, v.7, n.2. [S.l: s.n.], 2002.

OLIVEIRA, D. F; CARVALHO, G. A; ALVES, D. S. Identificação de Compostos Bioativos. In: LOPES, E. A. (Org.). . **A química na produção Veg.** Rio Paranaíba: [s.n.], 2017. p. 87–112.

PARVEEN, S. et al. In vitro evaluation of ethanolic extracts of *Ageratum conyzoides* and *Artemisia absinthium* against cattle tick, *Rhipicephalus microplus*. **Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

POLITI, F. A. S. et al. Acaricidal activity of ethanolic extract from aerial parts of *Tagetes patula* L. (Asteraceae) against larvae and engorged adult females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). **Parasites and Vectors**, v. 5, n. 1, p. 1–11, 2012.

RAJA, N. et al. Effect of volatile oils in protecting stored *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleóptera: Bruchidae) infestation. **Journal of Stored Products Research**. [S.l: s.n.], 2000.

RAYNAL, J.T. et al. Resistência do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a acaricidas [*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistance to acaricides]. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 110, p. 23–29, 2015.

RESTELLO, R. M; MENEGATT, C; MOSSI, A. J. Efeito do óleo essencial de *Tagetes patula* L. (Asteraceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, n. 2, p. 304–307, 2009.

REY-VALEIRÓN, C. et al. Acaricidal activity of essential oils of *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch and *Schinus molle* L. on unengorged larvae of cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 29, n. 4, p. 344–350, 4 jul. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1278405>>.

RIBEIRO, C; CARVALHO, F. Avaliação in vitro da eficácia de acaricidas sobre *Boophilus microplus* de bovinos do município de Uberlândia, MG Carmen. 2010.

RODRIGUES, K. A. et al. Molluscicidal and larvicidal activities and essential oil composition of *Cymbopogon winterianus*. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, n. 10, p. 1293–1297, 2013.

ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v. 2. [S.l: s.n.], 2001.

SEIXAS, P. T. L. et al. Bioactivity of essential oils from *Artemisia* against *Diaphania hyalinata* and its selectivity to beneficial insects. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 6, p. 519–525, 2018. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162018000600519&lng=en&tlng=en>.

SIGNORINI, C. B. Potencial de *Tagetes minuta* para o manejo de *Ascia monuste orseis* em cultivos orgânicos de brassicas no município de Pelotas, RS, Brasil. [S.l.: s.n.], 2015. v. 119. Disponível em: <[http://www.repositorio.ufpel.edu.br/bitstream/prefix/2978/1/Dissertação Chaiane Signorini.pdf](http://www.repositorio.ufpel.edu.br/bitstream/prefix/2978/1/Dissertação%20Chaiane%20Signorini.pdf)>.

SILVA, N.A, OLIVEIRA, F.F. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill .) N . E . Br .) cultivada em Ilhéus na Bahia. p. 52–55, 2006.

STEFANINI, M. B; RODRIGUES, S. D; MING, L. C. Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira-brasileira. 1. p. 18–23, 2002.

TORRES, F. C. et al. Influence of essential oil fractionation by vacuum distillation on acaricidal activity against the cattle tick. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 4, p. 613–621, 2012.

VIDAL, J. et al. Efecto tóxico de *Argemone subfusiformis* Ownb. y *Tagetes patula* Link sobre larvas del IV estadio y pupas de *Aedes aegypti* L. **Revista Peruana de Biología**, v. 15, n. 2, p. 103–110, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-99332008000200017&script=sci_arttext&tlng=en>.

ZACHÉ, B. Manejo de biodiversidade em cultivos orgânico de alface (*Lactuca sativa*) através do uso de cravo-de-defunto (*Tagetes erecta*) como planta atrativa. p. 60, 2009.