

USO DO CINAMOMO (Melia azedarach) COMO ALTERNATIVA AOS AGROQUÍMICOS NO CONTROLE DO CARRAPATO BOVINO (Boophilus microplus)

MARILAC PRISCILA VIVAN

Florianópolis, Agosto de 2005

FICHA CATALOGRÁFICA

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

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Pinheiro Machado

Co-orientador: Eng. Agr. M. Sc. Antônio Amaury Silva Júnior

Defesa: 31/08/2005

Palavras-chave: carrapato, cinamomo, controle com fitoterápicos, extratos vegetais.

TERMO DE APROVAÇÃO

Marilac Priscila Vivan

USO DO CINAMOMO (*Melia azedarach*) COMO ALTERNATIVA AOS AGROQUÍMICOS NO CONTROLE DO CARRAPATO BOVINO (*Boophilus microplus*).

Dissertação aprovada em 31/8/2005, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Luiz Carlos Pinheiro Machado CCA/UFSC

M. Sc. Antônio Amaury Silva Júnior EEI/EPAGRI

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio Augusto Ferreira Quadros CCA/UFSC

Prof. Dr. Darci Odílio Paul Trebien

CCA/UFSC

Prof^a. Dra. Marília T. Sangoi Padilha CCA/UFSC

Dr. Francisco Carlos Deschamps EEI/EPAGRI

Prof. Dr. Luiz Carlos Pinheiro Machado Filho CCA/UFSC

Prof. Dr. Luiz Carlos Pinheiro Machado Filho Coordenador do PGA

MARILAC PRISCILA VIVAN

Médica Veterinária

USO DO CINAMOMO (Melia azedarach) COMO ALTERNATIVA AOS AGROQUÍMICOS NO CONTROLE DO CARRAPATO BOVINO (Boophilus microplus)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agroecossistemas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção de grau de Mestre em Agroecossistemas.

Orientador:

Prof. Dr. LUIZ CARLOS PINHEIRO MACHADO

Co-orientador

Eng. Agr. M.Sc. ANTÔNIO AMAURY SILVA JÚNIOR

Florianópolis, Agosto de 2005

Aos agricultores, em especial àqueles que têm se dedicado a produção de alimentos com ética e qualidade.

O que mais há na terra, é paisagem. Por muito que do resto lhe falte, a paisagem sempre sobrou, abundância que só por milagre infatigável se explica, porquanto a paisagem é sem dúvida anterior ao homem, e apesar disso, de tanto existir, não se acabou ainda.

José Saramago

Agradecimentos

À Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC.

Ao curso de Pós-Graduação em Agroecossistemas – PPAGR.

Ao meu orientador, prof. Luiz Carlos Pinheiro Machado, por ter aceito o desafio da orientação.

Ao meu co-orientador Antonio Amaury Silva Junior, pela receptividade e troca de conhecimentos.

Aos professores e colegas do curso de Agroecossistemas.

À Jurandir T. Gugel e Prefeitura Municipal de Blumenau, pelo incentivo e apoio.

À todos os meus colegas de trabalho, que de diversas formas contribuíram, em especial ao Anselmo, que me apoiou em um momento decisivo para ingresso no curso, e ao Alexandro, que dedicou muito do seu tempo, auxiliando-me no trabalho de campo.

Aos agricultores de Blumenau, pela colaboração com o trabalho de campo.

A Inês, Laci, Luana, Guilherme e Daniela, que muitas vezes dividiram seu espaço comigo.

À Vivi, Marcos e Rick, pelas contribuições na redação.

Ao Henry, Deschamps, Fofão, Fernando, Daniele, Franciele, Cláudio e demais funcionários da Epagri/Itajaí, pela colaboração.

Ao professor Marcos do Colégio Agrícola de Camboriú, pelo auxílio na parte laboratorial.

Aos colegas, Antônio e Gava da UDESC/Lages pelas contribuições.

Aos colegas Itaqui, Nelton, Larri, Machado da Rosa, Lígia, Alberto e Wilson pelo subsídio com material e informações.

A Rodrigo e Sérgio (SENAI/Blumenau), e ao colega Rogério (CIDASC/Blumenau), pelas contribuições com material de laboratório e bibliográfico.

À Raimundo Araújo Filho, colega que teve importância fundamental na minha vida profissional.

À todos os meus amigos...

À minha família, meu pai, minha mãe, Raif, Miki, Preto, Rosângela, Carolina, Camila e Matheus. Pelo carinho e apoio incondicional em todas as minhas escolhas.

Uso do cinamomo (*Melia azedarach*) como alternativa aos agroquímicos no controle do carrapato bovino (*Boophilus microplus*)

Autora: Marilac Priscila Vivan

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Pinheiro Machado

Resumo

O controle do carrapato bovino Boophilus microplus, é feito quase que exclusivamente com produtos químicos. Esses produtos e seus resíduos podem trazer sérios problemas à saúde do homem, dos animais e do ambiente. Além disso, existem relatos de resistência dos carrapatos a quase todos os produtos químicos comercializados. Com o objetivo de buscar um acaricida menos agressivo, realizou-se um estudo sobre os efeitos de extratos de cinamomo (Melia azedarach) sobre teleóginas de Boophilus microplus in vitro. As fêmeas ingurgitadas do carrapato foram coletadas em dez propriedades, localizadas em Blumenau - SC. Foram testados os extratos hexânicos dos frutos e das folhas e os extratos aquosos dos frutos e das folhas. As fêmeas ingurgitadas foram imersas durante cinco minutos em soluções aquosas em concentrações decrescentes de 0,20 a 0,025% para cada um dos extratos. Os extratos dos frutos, independente do veículo extrator, apresentaram uma eficiência superior aos extratos das folhas. Ao contrário do esperado, o extrato aquoso dos frutos foi mais eficiente que o extrato hexânico dos frutos. Os extratos de cinamomo não apresentaram a eficiência esperada no controle do carrapato. Novas pesquisas devem ser desenvolvidas, visando avaliar outros solventes extratores, concentrações, época de coleta de frutos e determinação dos componentes mais ativos.

Palavras-chave: carrapato, cinamomo, controle com fitoterápicos, extratos vegetais.

The use of *Melia azedarach* as an alternative to pesticides in the control of cattle tick (*Boophilus microplus*)

Authora: Marilac Priscila Vivan

Adviser: Prof. Dr. Luiz Carlos Pinheiro Machado

Abstract

The control of the cattle tick *Boophilus microplus*, is done almost exclusively with chemicals. These products and their residues cause serious problems to human and animal health and to the environment. Besides, there are reports of resistance of the ticks to almost all commercial chemicals. With the goal of looking for a less aggressive acaricide, a study about the in vitro effects of *Melia azedarach* extracts on engorged females *Boophilus microplus* was carried out. The parasites were colleted in ten farms in Blumenau-SC, Brazil. Four different extracts were tested: hexane extract of the fruits, hexane extract of the leaves, water extract of the fruits and water extract of the leaves. The engorged females were immersed for five minutes into decreasing concentrations of 0,20 to 0,025% for each of the extracts. The extract of the fruits revealed a higher efficiency in comparison to the extract of the leaves. The opposite to expected, the water extract of the fruits, showed better efficiency what the hexane extract of the fruits. New researches must be carried out, aiming to evaluate other extracting solvents, concentrations, time of collection of the fruits and determination of the most active components.

Keyword: tick, *Melia azedarach*, phitoterapic control, vegetable extracts.

SUMARIO Páginas

Lista de anexos			
1- Introdução			
2 - O carrapato - Booph	ilus microplus		
2.1. Características	gerais		
2.2. Ciclo evolutivo)		
2.3. Resistência do I	Boophilus microplus	s aos carrapati	cidas
2.4. Controle do Boo	ophilus microplus _		
3-Toxicidade dos principais	s carrapaticidas		
4- Plantas com atividade in	seticida		
4.1 - A espécie Melia aze	edarach		
4.2 – A Melia azedarach	no controle do Boo	philus microp	lus
4.3 - Utilização de ex	tratos vegetais no	controle do	Boophilus microplu
4.3 - Utilização de ex-	·		
	<u>-</u>		
 5- Hipótese			
5- Hipótese6- Objetivo geral			
5- Hipótese 6- Objetivo geral 7- Objetivos específicos			
5- Hipótese 6- Objetivo geral 7- Objetivos específicos 8- Materiais e método _	ção dos frutos e folh	nas da <i>Melia a</i>	zedarach
5- Hipótese 6- Objetivo geral 7- Objetivos específicos 8- Materiais e método 8.1 - Coleta e prepara	ção dos frutos e foll m os parasitos	nas da <i>Melia d</i>	zedarach
5- Hipótese 6- Objetivo geral 7- Objetivos específicos 8- Materiais e método _ 8.1 - Coleta e prepara 8.2 - Teste <i>in vitro</i> co	ção dos frutos e foll m os parasitos ão	nas da <i>Melia d</i>	zedarach
5- Hipótese 6- Objetivo geral 7- Objetivos específicos 8- Materiais e método 8.1 - Coleta e prepara 8.2 - Teste in vitro col 9- Resultados e discussã	ção dos frutos e foll m os parasitos ão	nas da <i>Melia d</i>	zedarach
5- Hipótese 6- Objetivo geral 7- Objetivos específicos 8- Materiais e método 8.1 - Coleta e prepara 8.2 - Teste in vitro col 9- Resultados e discussa 10- Conclusão	ção dos frutos e foll m os parasitos ão	nas da <i>Melia a</i>	zedarach
5- Hipótese 6- Objetivo geral 7- Objetivos específicos 8- Materiais e método 8.1 - Coleta e prepara 8.2 - Teste in vitro col 9- Resultados e discussa 10- Conclusão	ção dos frutos e foll m os parasitos ão finais	nas da <i>Melia d</i> e	zedarachrecomendaçõe

VII

Lista de tabelas

Tabela 1 – Índice de favorabilidade de ocorrência do <i>Boophilus microplus</i> gerados pelo Programa CLIMEX para diferentes localidades do estado de Santa Catarina
Tabela 2 - Valores médios dos efeitos de diferentes concentrações dos extratos hexânico e aquoso dos frutos e folhas de <i>Melia azedarach</i> sobre o peso (g) de ovos das teleóginas de <i>Boophilus microplus</i>
Tabela 3 - Valores médios do efeito de diferentes concentrações dos extratos hexânico e aquoso dos frutos e folhas de <i>Melia azedarch</i> sobre eclosão dos ovos das teleóginas de <i>Boophilus microplus</i> .
Tabela 4 - Valores médios de diferentes concentrações dos extratos hexânico e aquoso dos frutos e folhas de <i>Melia azedarach</i> sobre o índice reprodutivo das teleóginas de <i>Boophilus microplus</i> .
Tabela 5 – Valores médios do percentual de eficácia das diferentes concentrações dos extratos hexânicos dos frutos e folhas de <i>Melia azedarach</i> em teleóginas do Boophilus microplus
Tabela 6 - Valores médios de diferentes concentrações dos extratos hexânicos dos frutos e folhas de <i>Melia azedarach</i> sobre os diferentes parâmetros de avaliação do <i>Boophilus microplus</i> .
Tabela 7 - Valores médios de diferentes concentrações dos extratos aquosos dos frutos e folhas de <i>Melia azedarach</i> sobre os diferentes parâmetros de avaliação do <i>Boophilus microplus</i> .

Lista de anexos

Anexo 1 – Tabela 1 – Índice de favorabilidade de ocorrência do <i>Boophilus microplus</i>	gerados
pelo programa CLIMEX para diferentes localidades do estado de Santa Catarina	71
Anexo 2 – Tabela 6 – Valores médios do efeito de diferentes concentrações do extrato)
hexânico dos frutos e folhas de Melia azedarach sobre os diferentes parâmetros de ava	aliação
do Boophilus microplus	72
Tabela 7 – Valores médios do efeito de diferentes concentrações do extrato	aquoso
dos frutos e folhas de <i>Melia azedarch</i> sobre os diferentes parâmetros de avaliação do	
Boophilus microplus.	72

1. Introdução

É unânime a afirmação que dentre os ectoparasitos, o carrapato é um dos que maiores prejuízos causa à pecuária bovina do Brasil (Souza, 1985). Atualmente o controle do carrapato em bovinos, envolve o uso intensivo de produtos químicos, que podem deixar resíduos tóxicos na carne e leite, sendo ainda nocivos ao animal e ao ambiente. A resistência do carrapato *Boophilus microplus* aos carrapaticidas disponíveis no mercado, também é motivo de preocupação.

Este trabalho foi realizado na região do Médio Vale do Itajaí que, por suas características climáticas, apresenta grandes problemas de infestações parasitárias, sendo o carrapato *Boophilus microplus*, um dos principais ectoparasitos presentes. O município de Blumenau, local onde foram coletados os ectoparasitos, está localizado na região Nordeste de Santa Catarina, no Médio Vale do Itajaí. Segundo dados do IPPUB¹, a temperatura média mensal do município é de 20,1°C e a umidade relativa média é de 84,2% (IPA/FURB)², condições excelentes, portanto, para o desenvolvimento do *Boophilus microplus*.

Apesar das inúmeras pesquisas já realizadas relacionadas ao controle do carrapato, como o desenvolvimento de vacinas, rotação de pastagens, plantas que dificultam seu desenvolvimento, cruzamentos com raças bovinas resistentes, controle biológico com alguns tipos de fungos, controle com uso da homeopatia e extratos vegetais, a verdade é que a maior parte dos agricultores utiliza-se ou tem acesso, apenas a produtos químicos para fazer o controle desse parasito.

O crescente problema de resistência do carrapato aos produtos químicos disponíveis e a tendência mundial de buscar alternativas de produções sustentáveis, que protejam a saúde humana e ambiental, tem gerado a necessidade de pesquisas nessa área. É importante considerar que a simples substituição de um produto sintético, por um de origem vegetal, não soluciona o problema. Medidas de manejo, que visem o controle do parasito na forma não parasitária, como rotação de pastagens, presença de predadores naturais e outras, são fundamentais no seu controle. Entretanto, existe a necessidade imediata de uma alternativa aos produtos sintéticos, principalmente para os rebanhos bovinos leiteiros. Nesses rebanhos, além da utilização de produtos carrapaticidas ser mais freqüente, já que as raças européias são mais suscetíveis a esse parasito, existe, ainda, um descaso com relação ao período de carência,

² IPA/FURB – Instituto de Pesquisas Ambientais da Universidade Regional de Blumenau.

¹ IPPUB – Instituto de Pesquisa e Planejamento Urbano de Blumenau.

tanto por parte dos fabricantes, como de muitos agricultores. Como não há qualquer controle legal sobre esse tipo de resíduo no leite, a saúde do consumidor pode ser comprometida.

A utilização de extratos vegetais, aliada ao manejo adequado das pastagens e outras medidas de controle, pode contribuir para atenuar o problema causado por esses parasitos, atendendo ainda à necessidade de diminuir a utilização de produtos que são tóxicos para o animal, o homem e o ambiente.

O cinamomo (*Melia azedarcach*) é uma planta que tem efeito inseticida reconhecido. Existe a necessidade de ampliar e aprofundar as pesquisas com essa planta que, entre outras, se mostra promissora para o controle do carrapato.

2. O carrapato - Boophilus microplus

2.1. Características gerais

Os carrapatos são animais metazoários de simetria bilateral, pertencentes ao filo Artropoda, classe Arachnida, ordem Acarina, superfamília Ixodoidea e a várias famílias. Existem no Brasil cerca de 50 espécies de carrapatos distribuídas nas seguintes famílias:

- Família Argasidae: gênero Argas (5 espécies);
- Família Spaelaorhtynchidae: gênero Spaeleorhynchus (1 espécie)
- Família *Ixodidae*: Gênero *Amblyoma* (30 espécies), *Ixodes* (9 espécies), *Haemaphysalis* (3 espécies), *Rhipicephalus* (1 espécie) e *Boophilus* (1 espécie) (Correa, 1976).

Em geral os carrapatos preferem o calor, sendo que a maior parte das espécies vive nos trópicos. São sensíveis à dessecação, vivendo principalmente em locais com vegetação densa e com umidade (Borchert, 1964).

O *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) é o ectoparasito economicamente mais importante em termos de pecuária, considerando-se que 75% da população mundial de bovinos são afetados por ele (Bordin, 1998). Parasita preferencialmente os bovinos e, ocasionalmente outras espécies animais como os ovinos, caprinos, eqüinos, caninos e, mesmo o homem (Souza, 1985). É originário da Ásia, notadamente da Índia e Ilha de Java. Hoje é encontrado na Ásia, Austrália, México, América Central, América do Sul e África, tendo se estabelecido dentro dos climas demarcados pelos paralelos 32º Norte e Sul, com alguns focos nos paralelos 35º norte e sul (Kessler, 1998). Essa região entre os paralelos 32 e 35º é chamada de zona marginal, situada entre a região onde não existem carrapatos e aquela que onde eles existem em uma quantidade razoável. Nessa faixa marginal, geralmente existem poucos carrapatos e a preocupação é muito maior com os casos de tristeza parasitária do que com superpopulações de carrapatos, que dificilmente ocorrerão. No continente americano a linha demarcada pelo paralelo 32º sul passa, no Brasil, na região de Santa Vitória do Palmar/RS, e aproximadamente no centro do Uruguai e da Argentina, ao norte de Buenos Aires. O paralelo 32º norte passa pelo México e sul dos Estados Unidos (Gonzáles, 1975).

O *Boophilus microplus* é encontrado em todo território brasileiro, sendo que a Região Sul, apesar da influência negativa do inverno, é a mais afetada pela ocorrência de carrapato nos bovinos. Dois fatores parecem contribuir significativamente para isso: a predominância de animais de origem européia e a maior densidade populacional de bovinos (Horn, 1983).

O *Boophilus microplus* está presente em todo o território catarinense, destacando-se como um dos principais ectoparasitos causadores de prejuízo à pecuária (Souza, 1996).

Entre os danos causados pelo carrapato cita-se a espoliação sanguínea, com reflexos negativos diretos no ganho de peso e produção leiteira, que variam de acordo com o grau de parasitismo. Em pesquisa realizada na Argentina, observou-se uma queda na produção de leite variando de 18,6 a 42,4% em relação às vacas não parasitadas (Correa, 1976). Pode ocorrer, também, a inoculação de toxinas na corrente circulatória do hospedeiro, que interferem na síntese protéica, resultando numa desproporção proteína-gordura, com prevalência desta última, o que se percebe por ocasião do abate. Pode transmitir, ainda, agentes infecciosos: a rikéttsia - Anaplasma spp. e o protozoário Babesia spp., responsáveis pela doença comumente chamada de Tristeza Parasitária Bovina. Essa doença se manifesta clinicamente por febre, anemia, hemoglobinúria, icterícia, anorexia, emagrecimento, e, nos casos de bovinos sensíveis, alta mortalidade (Kessler, 1998). As perdas econômicas causadas por essa doença são elevadas: há uma queda acentuada na produção de leite, aumento do período de engorda dos animais, gastos com medicamentos, descarte do leite, e em alguns casos, morte do animal. No Brasil, a Tristeza Parasitária Bovina é endêmica na maior parte do território, sendo os bovinos de raça européia mais sensíveis que os zebuínos (Kessler, 1998). O carrapato causa, ainda, prejuízos no couro do animal. Cerca de 70% dos couros curtidos no Brasil são defeituosos devido à ação, principalmente de carrapatos e bernes (Kessler, 1998). As perdas econômicas devido ao carrapato, no Brasil, têm sido estimadas em 1 bilhão de dólares por ano (Borges, 2003).

2.2. Ciclo evolutivo

O *Boophilus microplus* é uma espécie de carrapato que utiliza um único hospedeiro no seu ciclo evolutivo, que pode ser dividido em dois tempos, ou fases complementares: fase parasitária e fase não parasitária.

A fase parasitária tem início com a fixação das larvas no hospedeiro suscetível e termina quando os adultos incluindo as fêmeas fecundadas e ingurgitadas caem do hospedeiro. A fase não parasitária, em síntese, começa com a teleógina (fêmea ingurgitada), depois que se desprende do hospedeiro, caindo no solo para realizar a oviposição. Essa fase, termina com duas alternativas: as larvas oriundas dessas fêmeas acessam ao hospedeiro suscetível, ou, a fêmea morre, sem realizar oviposição produzindo ovos inférteis as larvas morrendo sem alcançar o hospedeiro. Assim, o início e o término do ciclo acontecem quase sempre no pasto, onde geralmente interagem o parasito, o hospedeiro e o ambiente (Pereira, 1982). O ciclo evolutivo inicia com a cópula. O macho é pequeno, e se coloca sob a fêmea partenógina que está fixada no couro do bovino. Este utiliza o hipóstomo (rostro) e introduz um espermatóforo no orifício genital. A fêmea adulta, uma vez fecundada, se desprende do bovino e cai no pasto, onde inicia a postura no terceiro dia, com duração de aproximadamente 12 dias. Em condições adversas, como baixa temperatura, a teleógina, embora não faça a postura, não morre, aguardando condições favoráveis para reiniciar o processo. Dessa forma, o período de postura pode se prolongar de vários dias, até meses, dependendo das condições climáticas (Gonzáles, 1975). Cada fêmea põe de 2000 a 3000 ovos, de acordo com o tamanho de seu corpo ingurgitado. A incubação dos ovos demanda calor e umidade. No verão, sob condições ambientais normais, a incubação dura cerca de 30 dias e no inverno, até 83 dias. A larva recém-nascida necessita de três a quatro dias para que se formem os órgãos bucais e, a seguir, procura se fixar no couro dos bovinos. Normalmente são muito vivazes, e estimuladas pelo calor úmido (verão e sereno), sobem rapidamente nas folhas e hastes do pasto, aguardando a passagem de um hospedeiro. Fixam-se de preferência, onde a pele é mais fina: axilas, entre-pernas, região genital, sob a cauda, na bolsa escrotal, etc. A larva possui três pares de patas. As ninfas aparecem mediante mudança de pele que se processa depois de 10 a 12 dias da fixação da larva no hospedeiro. As ninfas possuem quatro pares de patas e, ainda, são assexuadas. Após o décimo quinto dia da infestação, aparecem as metaninfas, que produzirão só indivíduos sexuados, machos e fêmeas. Os machos são pequenos, possuem o corpo oval quase inteiramente coberto pelo escudo dorsal e um pequeno apêndice caudal. As fêmeas quando jovens não diferem dos machos. Quando adultas vão tomando uma cor amarelho-palha ou verde oliva e, crescem rapidamente alcançando 1cm de comprimento (Pereira, 1982).

Enquanto a fase parasitária evolui sem interferências climáticas, sendo praticamente a mesma nas diversas regiões e países, a fase de vida livre sofre é sensível a estas, havendo alterações nos seus períodos, afetados especialmente pela temperatura e umidade relativa do ar. Temperaturas menores que 5°C não permitem que se realize a oviposição e, umidade relativa do ar menor que 70% impossibilita ocorra eclosão dos ovos (Hitchoch apud Gonzáles, 1975). As diversas pesquisas feitas sobre a fase de vida livre desse parasito mostram uma grande variabilidade entre os períodos de pré-postura, postura, eclosão, neolarva e longevidade das larvas infestantes, sendo que essa variabilidade acontece em decorrência das condições climáticas locais, incluindo macro e microclimas (Souza, 1985).

Em Santa Catarina, estudos sobre a fase de vida livre do *Boophilus microplus* foram feitos por Souza, et al (1988) no Planalto Catarinense e Paloschi & Beck (1989) no Vale do Itajaí. Observou-se que no Vale do Itajaí os períodos de desenvolvimento foram menores. Isto se deve a melhor favorabilidade climática dessa região. Nas condições climáticas do Planalto Catarinense, as posturas realizadas pelas teleóginas durante os meses de abril a agosto são reduzidas e geralmente tornam-se inférteis. A partir de setembro, ocorre um encurtamento progressivo dos períodos de pré-postura, postura e eclosão, que determina um acúmulo de disponibilidade de larvas nos meses de janeiro e fevereiro. No Vale do Itajaí ocorre postura fértil durante todo o ano, sendo que a duração da fase de vida livre é menor durante as épocas com temperaturas mais elevadas. Honer et al (1993) realizaram uma análise edafoclimatológica dos dados obtidos no Planalto Catarinense e Vale do Itajaí e apresentaram os resultados de uma simulação com o CLIMEX ³para o carrapato em 27 localidades de Santa Catarina. O número de graus dias disponível nas regiões de Lages é suficiente para permitir duas gerações de *Boophilus microplus* e, três, para o Vale do Itajaí (Tabela 1, anexa).

A compreensão do ecossistema do carrapato é fundamental para que se estabeleçam medidas efetivas de controle, que visem evitar a superpopulação desses parasitos. Para Gonzáles (1975), a resistência nada mais é do que a manifestação do desequilíbrio ecológico. A situação crítica é notada de um momento para outro, mas o processo de desequilíbrio é bem anterior e passou despercebido. Um dos fatores que contribuiu para esse quadro foi a concentração dos animais em áreas cada vez menores, pela pressão de se produzir mais alimentos. Quando as áreas de criação concentravam um menor número de animais, a grande

³ Programa de simulação ecoparasitológica – EMBRAPA Gado de Corte.

maioria das larvas não encontrava hospedeiro e, conseqüentemente, morriam por falta de alimento, ao contrário do que se observa hoje, onde as larvas não sucumbem, pois há hospedeiros por toda parte.

2.3. Resistência do *Boophilus microplus* aos carrapaticidas

Os artrópodes e, por extensão, os ácaros e insetos são organismos bem mais antigos que o homem, com aproximadamente 400 milhões de anos (Bordin, 1998). Genotipicamente estão totalmente evoluídos, sendo considerados de grande longevidade como espécies diversificadas. Sua aptidão e resistência permitiram sua sobrevivência, encaixando-os devidamente no paradigma darwiniano de mutação-evolução e, por conseguinte, com adaptação à sobrevivência do mais forte. Considerando-se as características mutativas-evolutivas-adaptativas relacionadas ao parasito, alguns fatores ambientais favoráveis (clima, vegetação), comuns ao meio em que os bovinos são criados, raça dos hospedeiros, e outros fatores, torna-se fácil entender porque esta ectoparasitose tem sido e vem se constituindo num crescente fator de preocupação. Apesar das inúmeras pesquisas relacionadas à biologia, ecologia e epidemiologia do carrapato, e ao diversificado arsenal da indústria químico-farmacêutica, ainda é muito difícil manter esse parasitismo compatível com a produção (Bordin, 1998).

Segundo esse autor, essa situação se deve provavelmente à mutabilidade potencial do parasito (pressão seletiva dos indivíduos resistentes), ao grau variável de desafio relacionado com a variabilidade epidemiológica entre períodos favoráveis e adversos, habilidade bioquímica da espécie, inadequação de algumas práticas terapêuticas, dosagens errôneas, e outros fatores. Por vezes, a resistência está instalada em uma população de carrapatos até mesmo antes de entrarem em contato com determinado produto. Isso ocorre porque já existiam, na população, alguns indivíduos naturalmente resistentes. Ou então, como é mais comum, o uso frequente do produto causou alterações (mutações) em alguns indivíduos da população tornando-os resistentes. É o chamado estabelecimento do alelo resistente. A continuidade do uso desse produto faz aumentar o número de carrapatos com essa característica de resistência, uma vez que, morrem os sensíveis e os resistentes acasalamse entre si, produzindo descendentes cada vez mais resistentes e em maior número na população. É a propagação do alelo resistente, por pressão de seleção. A predominância do alelo resistente ou aparecimento da resistência é o momento em que a maior parte da população descende de carrapatos resistentes, carregando, em maior ou menor porcentagem, os genes responsáveis pela alteração de comportamento, capaz de fazê-los sobreviver ao veneno (Furlong, 2000).

Os principais mecanismos utilizados pelos carrapatos resistentes para sobreviver aos acaricidas são: a redução da taxa de penetração do produto, alterando o tegumento externo; as

mudanças no metabolismo, armazenamento e excreção do produto químico e, mudanças no local de ação do produto (Furlong, 2000). Gonzáles (1975) afirma que os carrapaticidas, em sua grande maioria, deixam a desejar no que se refere à sua eficiência, permitindo que os carrapatos em contato com eles sobrevivam e dessa forma ativem seu sistema enzimático de defesa, transmitindo às gerações seguintes todos os caracteres de resistência adquiridos. Para o autor, se os carrapaticidas não permitissem que nenhum carrapato sobrevivesse, não haveria os problemas enfrentados hoje relacionados à resistência. Isso explica porque os produtos com elevado poder residual desenvolvem resistência de uma forma bem mais rápida que os demais. Nesse caso, há um contato, quase permanente, em baixo nível, com todas as formas jovens que infestam e se desenvolvem no corpo do animal.

As principais características da resistência apresentadas pelos carrapatos são genéticas e de caráter irreversível, ou seja, filhos de pais resistentes também serão resistentes, e, se houver estabelecimento da resistência a um produto, a suspensão do uso do mesmo por um determinado período de tempo não o habilitará a um novo uso eficaz (Gonzáles, 1975).

Na década de 30, do último século, foram identificados os primeiros casos de resistência ao carrapato *Boophilus microplus*. Desde então, diversos princípios ativos carrapaticidas têm sido testados e utilizados comercialmente, tendo sido observado um aumento da resistência a esses produtos (Oliveira, 2002).

A primeira constatação da existência de carrapatos arsênico-resistentes ocorreu na África do Sul, em 1938, ante persistentes falhas aos banhos arsenicais. Em 1945, o gamexano foi introduzido nessas áreas africanas. Em 1948, apareceu uma variante resistente a esse produto. Em 1955, na Austrália foi registrada a DDT-resistência do *Boophilus microplus*, após cinco a seis anos do uso de banhos à base de DDT a 0,5% (Correa, 1976).

No Brasil, até o final da década de 40 os carrapaticidas à base de arsênio eram os únicos utilizados e, já nesse período, surgiram os primeiros casos de resistência no Rio Grande do Sul. Os clorados substituíram em grande parte os arsenicais. Mas, já em 1952, foram relatados casos de resistência a eles também (Freire apud Gonzáles, 1975). Os clorados foram substituídos então pelos organofosforados e, na década de 70 foram relatadas diversas estirpes resistentes a esses produtos (Oliveira, 2002). Atualmente, os organofosforados ainda são muito utilizados, principalmente associados aos piretróides. As diamidinas foram as substâncias que substituíram os organofosforados, e, antes mesmo que houvesse estudos comprovando resistência às mesmas, no início da década de 80, o Brasil passou a usar os piretróides, uma das últimas gerações de compostos disponíveis para o controle de carrapatos, com problemas de resistência igualmente comprovados. No início da década de 80 foram

lançados os produtos sistêmicos — as ivermectinas, que têm sua atuação via corrente sanguínea. Esses produtos são classificados como endectocidas, já que têm ação contra vermes e bernes. Têm a desvantagem de não se poder utilizá-los em animais em lactação, ou em animais 30 dias antes do abate, pelo nível de resíduos que permanecem no leite e na carne. Nos últimos anos foram lançados ainda a thiazolina, o fipronil e o fluazuron, sendo que os dois últimos têm restrição para utilização em animais em lactação (Furlong, 2000).

A resistência dos carrapatos aos acaricidas tem avançado, sobretudo em rebanhos com aptidão leiteira. Em muitos países os rebanhos leiteiros são altamente suscetíveis a esses parasitos, que se tornaram, praticamente, imunes aos princípios ativos (Oliveira, 2002). Isso é explicado pelo fato de que uma vez instalada a resistência em uma população de carrapatos a um determinado produto, essa resistência se estende a os outros produtos da mesma família ou grupo químico (Furlong, 2000). Nos rebanhos de corte, embora exista o problema, o cruzamento com raças zebuínas contribui para atenuar o grau de parasitismo.

Nos últimos anos, muitos trabalhos no Brasil têm demonstrado que a eficácia dos carrapaticidas, disponíveis no mercado, está bastante comprometida. A Embrapa Gado de Leite realizou, durante os anos de 1997 a 1999, aproximadamente 200 testes para avaliar a sensibilidade/resistência de populações de carrapatos a carrapaticidas em Minas Gerais. Os produtos utilizados nos testes (coumaphos, amitraz, cypermetrina + chlorp, deltamethrin e alphamethrin), representam os principais grupos de carrapaticidas disponíveis no mercado. O resultado desse trabalho mostrou o estado crítico de resistência generalizada dos carrapatos aos poucos grupos de carrapaticidas de contato existentes no mercado, considerando que para um carrapaticida ser considerado eficiente e poder ser comercializado, deve apresentar eficiência superior a 95% de mortalidade. Dentre os baixos índices de eficiência encontrados, o melhor desempenho comparativo apresentado foi de 61%, pelo grupo das diamidinas (Furlong, 2002). Oliveira (2002), relata casos de resistência aos piretróides, diamidinas e organofosforados no Estado de Sergipe. Nesse estudo, somente produtos com duas bases químicas e contendo organofosforados tiveram melhor eficácia. Na região de São Carlos-SP, revelou-se a existência de carrapatos resistentes aos piretróides em quase todas as 25 propriedades avaliadas (Oliveira, 2002). No Paraná, estudo realizado com objetivo de avaliar os principais carrapaticidas de uso externo utilizados para controle do Boophilus microplus mostrou que em 70,59%, das 17 propriedades avaliadas, havia problema de resistência a pelo menos um dos carrapaticidas testados, sendo que o maior número de casos de resistência foi com o grupo dos piretróides (Souza et al, 2003). Esse problema foi evidenciado também, por Faustino et al (1997), na Zona da Mata e Sub Região do Agreste, em Pernambuco. Vieira et al (1997), obtiveram os mesmos resultados em Bagé-RS. Em Santa Catarina, Ramos et al (2001), avaliaram a eficácia dos principais carrapaticidas disponíveis no mercado, obtendo os seguintes resultados: carrapatos resistentes ao amitraz (5%), ao clorfenvifós + diclorofenil (7,69%), à cipermetrina + clorfenvifós (12,50%), ao triclorfon + coumafós + cyflutrin (23,07%), à alfametrina (33,33%), ao coumafós (50%), à deltametrina (57,14%) e à cipermetrina (69,23%). Em apenas seis propriedades, das 21 avaliadas, a eficácia dos carrapaticidas testados foi superior a 95%. O grande problema de resistência aos piretróides é explicado por alguns pesquisadores pela chegada da *Haematobia irritans* (mosca-do-chifre), em algumas regiões, o que levou a um aumento de aplicações de alguns produtos, muitas vezes em concentrações inferiores à recomendada para o controle do carrapato, acelerando assim, a seleção de cepas resistentes de *Boophilus microplus* (Souza et al, 1997).

2.4. Controle do Boophilus microplus

A produção animal sofreu grandes transformações nas últimas décadas, tendo como objetivo o aumento da produtividade. Buscando a maximização da produção de alimentos, o homem passou a fabricar e utilizar uma grande variedade de equipamentos e insumos. Houve pouca ou nenhuma preocupação em se estabelecer limites nos sistemas de produção, de forma a garantir a longevidade dos recursos naturais envolvidos no processo, e com a adaptação dos animais à essa forma de produção. Esse modelo, tem origem em uma série de equívocos na forma de ocupação e manejo dos recursos naturais, constatando-se a contaminação sistemática do ambiente e a aceleração no processo degradativo das terras agricultáveis. Esses equívocos têm resultado no assoreamento e morte de rios, na contaminação gradual dos recursos hídricos, em alterações climáticas, aumento da erosão, presença de resíduos de pesticidas no ambiente e nos alimentos, bem como, no aumento do número de pragas e doenças (Koller, 2002). Nesse contexto, a concentração de animais em sistemas produtivos manejados inadequadamente, tem sido a causa de grande parte das doenças infecciosas e parasitárias.

A busca do conhecimento dos processos relacionados à produção agropecuária é fundamental para evitar os desequilíbrios que ocorrem nos sistemas de produção, como vêm ocorrendo com as endo e ectoparasitoses.

Para Hoffman (2002), as "tecnologias de processo" quando bem dominadas, evitam ou reduzem grandemente a necessidade de produtos (tecnologia de produto). Na bovinocultura, os principais parasitas podem ser em grande parte controlados, a partir do conhecimento de sua biologia e do ecossistema do qual fazem parte. Pesquisas revelam que no caso de vermes gastrintestinais, a ausência do bovino por quatro semanas em uma parcela infectada, reduz em 95% a população desses parasitos (Hoffman, 2002). Sem a presença do hospedeiro, o ambiente da pastagem, onde os vermes têm uma das fases de sua vida lhe é extremamente hostil. Os carrapatos também têm uma fase de vida livre no ambiente, onde podem ser atacados, não por produtos químicos, mas por seus inimigos naturais, principalmente pássaros insetívoros, pelos fatores ambientais adversos e pela ausência do hospedeiro. Quanto mais tempo uma parcela ficar sem o hospedeiro, maior a possibilidade de redução de sua população. Entretanto, um nível mínimo de carrapatos deve ser mantido para que os bovinos jovens entrem em contato com os mesmos e desenvolvam resistência à tristeza parasitária. Quando for necessário controlar pode-se utilizar um inseticida natural.

Os insucessos no controle do carrapato bovino são devidos, principalmente, à tentativa de controle apenas na fase parasitária. A maior parte da população dos carrapatos (95%) está

na pastagem, apenas 5% dos mesmos estão nos animais (Furlong, 2000). Apesar disso, sabese que a maior parte dos tratamentos são implementados, somente a partir do momento que as formas parasitárias são evidenciadas. A tentativa de controle nessa fase foi iniciada no século passado, com a aplicação de substâncias como azeite, petróleo, cal e tabaco, de forma absolutamente empírica, e, a partir de 1895, na Austrália foram utilizados os compostos arsenicais, que passaram a ser empregados no Brasil na primeira década de 1900 (Almeida, 2005). Além de, isoladamente, esse método de controle não ser efetivo, é o mais oneroso para o agricultor, tendo ainda o agravante de usar produtos com grande toxicidade, que têm deixado resíduos nos alimentos e no ambiente. Infelizmente, essa forma de controle foi usada por muitas décadas, acreditando-se no arsenal da indústria química, com a criação de novos produtos quando apareciam problemas de resistência ou com a potencialização e associação dos já existentes, como têm ocorrido nos últimos anos. A porcentagem de eficácia exigida para um carrapaticida ser lançado no mercado é de 95%. O problema é que essa eficácia vai atuar apenas sobre 5% da população de carrapatos. Esse quadro bastante sintético mostra que é imprescindível o conhecimento do ecossistema desse parasito, para se estabelecer as melhores estratégias de controle, que tendem a ser diferenciadas de acordo com o clima, a localização geográfica entre outros fatores. É importante ressaltar que a preocupação com a eficácia do produto a ser comercializado não é a mesma com relação à sua toxicidade e degradação no ambiente. Existem orientações sobre medidas a serem tomadas, frente a quadros de intoxicação aguda pela exposição indevida ou acidental ao produto, mas pouco se conhece sobre quadros de intoxicação subaguda ou crônica a que estão expostas as pessoas, ao ingerirem ao longo dos anos produtos com resíduos desses pesticidas.

Um controle eficiente do carrapato em uma propriedade depende de vários fatores relacionados com o rebanho (tamanho, raças, cruzamentos), com as pastagens (variedades e lotação), parasitos (número de gerações, eficácia dos parasiticidas), sistema de produção, clima, época do ano e outros fatores (Almeida, 2005).

Existem várias formas de controle desse parasita, que associadas podem reduzir a população do mesmo a um limite aceitável, compatível com a produção. Os predadores naturais desempenham um papel importante. Vários predadores vertebrados (aves, ratos, camundongos e sapos) e invertebrados (formigas, aranhas), foram apontados como predadores potenciais de fêmeas, parcial ou totalmente ingurgitadas e ovos de *Boophilus microplus*. Entre esses inimigos naturais destacam-se aves como a garça-vaqueira (*Egretta ibis*) e a galinha doméstica (*Gallus domesticus*) (Veríssimo, 2004). Outras aves relatadas como predadoras de carrapatos são: *Quiscalus crassirostris*, *Crotophagaani* sp, *Buphagus africanus*, *B*.

erythrorhynclus, Cyanopica cyana e Dives atroviolaceus (Arenales, 2003). É importante lembrar que a atuação desses inimigos naturais depende da existência de um ambiente favorável a eles, o que exclui a utilização de agrotóxicos. Existe, no ambiente, grande número de organismos aliados do homem que, por ignora-los, ele próprio tem eliminado de sua propriedade pelo uso abusivo e equivocado de biocidas ou pela destruição de seus abrigos e fontes de alimentação (Koller et al, 2002). O uso intensivo e contínuo de carrapaticidas e outros agrotóxicos, promovem a eliminação de diversos seres vivos presentes no solo, que são predadores das larvas de carrapato. Desta forma, os ovos viáveis depositados pela fêmea do carrapato não encontram nenhum predador e tem ambiente propício para continuidade de seu ciclo. Em um solo saudável, no entanto, estão presentes diversos predadores como: cochonilhas (Isepoda); aranhas (Toutona triangulosa, Tegenaria domestica e Lycosa sp); insetos hemípteros (família Reduvviidae, Phonorgatos bicolor e Reduvius personatus); coleópteros (família Carabidao, Histeridas e Dermestidas); mariposas (Tinoola bisolliola); formigas carnívoras (Pheidole megacephala); vespas (família Encyrtidae, Ixodiophagus caucurtei, I. texanus e I. theilerae) (Arenales, 2003).

As pastagens estão diretamente relacionadas às populações de carrapatos. Elas têm um papel muito importante na proteção da fêmea ingurgitada que fará oviposição, aos seus ovos e às larvas, permitindo dessa forma uma oviposição e evolução dos ovos total e rápida. Elas atuam amenizando as temperaturas altas ou baixas e também conservando uma elevada umidade relativa. Esta situação ocorre nos campos com pastagens muito altas e naqueles com vegetações arbustivas e matas (Gonzáles, 1975). Assim, o mau manejo das pastagens, constitui-se uma fonte de desequilíbrio da população de carrapatos. O manejo inadequado dos animais, como a superlotação, também favorece sua proliferação, já que proporciona maior fonte alimentar para os carrapatos.

A rotação de pastagem auxilia no controle do carrapato, já que desfavorece o seu ciclo. No sistema extensivo, em que os animais permanecem sempre na mesma pastagem, eles são constantemente reinfestados por parasitas, principalmente vermes gastrintestinais e carrapatos, já que estes sempre têm seu hospedeiro presente. Quando o bovino fica ausente em um piquete por um determinado período, as larvas de *Boophilus microplus* não encontram o hospedeiro e tem sua população diminuída pela ação dos inimigos naturais e pela ação do próprio ambiente. Períodos secos, chuvosos, ou muito frios interferem negativamente na longevidade das larvas, que sucumbem na ausência do hospedeiro (Abreu Jr., 1998). Em sistemas de pastoreio rotativo como o Voisin, pesquisadores relatam que ocorre uma redução na ocorrência de carrapatos (Machado, 2004, Eli, 2005). Embora nesse sistema haja uma alta

concentração de animais, a permanente mudança de piquetes e o pastoreamento a fundo dos mesmos, dificultam o ciclo evolutivo deste parasito (Machado, 2004). Outra forma de manter as pastagens limpas e baixas é alternar o pastoreio dos bovinos com outras espécies, como, ovinos, caprino e equinos, que fazem um pastejo diferente, obtendo o alimento bem junto ao solo (Gonzáles, 1975).

A utilização de forrageiras com propriedades de antibiose (letal) e antixenose (repelente) tem sido pesquisada no Brasil e outras partes do mundo como estratégia de controle do Boophilus microplus na fase não parasitária. O termo antibiose foi proposto para designar plantas que são capazes de matar insetos, e o termo antixenose designa plantas que têm a capacidade de repelir insetos (Rodrigues, 2003). As larvas na pastagem têm que recorrer a mecanismos fisiológicos e comportamentais para contornar as condições adversas do meio, encontrar o hospedeiro, iniciar a alimentação e dar continuidade ao ciclo. A vegetação é essencial para a manutenção das larvas na pastagem até o encontro com o hospedeiro. A antibiose e a antixenose foram propriedades adquiridas por algumas plantas para evitar a herbivoria. Como entre carrapatos e plantas não existe essa relação trófica, provavelmente a defesa foi desenvolvida para insetos e, sendo os artrópodes filogenicamente próximos aos insetos, estas propriedades são eficientes também para esse parasito. Várias espécies de gramíneas e leguminosas têm sido utilizadas para controlar larvas de carrapato. Pesquisas realizadas confirmam que gramíneas como a Andropogon gayanus (Planaltina), Melinis minutiflora (capim-gordura) e as leguminosas do gênero Stylosanthes apresentam substâncias com eficiente poder carrapaticida (Rodrigues, 2003).

Uma outra alternativa é o desenvolvimento e emprego de vacinas, sendo seu principal efeito a redução da capacidade reprodutiva do parasito, promovendo um controle progressivo do número de carrapatos. A produção de vacinas contra o carrapato bovino começou na década de 30, sendo atualmente comercializadas principalmente as vacinas de tecnologias australiana e cubana (Almeida, 2005). Essas vacinas são produzidas a partir da técnica de recombinação, ou seja, da manipulação genética de proteínas, um procedimento bastante caro e complexo. Embora essas vacinas sejam produzidas no Brasil também, tanto nesse caso como no caso da importação, existe o pagamento de royalties, já que se está utilizando uma tecnologia estrangeira (Salcedo, 2005). O alto custo e a eficiência relativa dessas vacinas, levam os produtores rurais a optar pela aplicação de carrapaticidas. Recentemente foi desenvolvida no Brasil (Universidade Federal de Viçosa) a primeira vacina sintética da América Latina. Segundo Salcedo (2005), a vacina sintética – que não necessita de meios de cultura ou organismos vivos para sua produção – tem vantagens não só pelo custo, mas

principalmente pelo grau de pureza, pela ausência de contaminantes proteicos e por ser mais fácil de se produzir. A pesquisa desenvolvida desde 1993 baseou-se no estudo da proteína Bm86 – retirada do intestino do carrapato, que ao ser aplicada nos animais estimula a produção de anticorpos contra as células intestinais dos parasitos. O resultado é uma indigestão, que mata os carrapatos ou, no mínimo, reduz sua capacidade de se alimentar direito e reproduzir. A vacina sintética alcançou uma eficiência de 80% sobre a população de carrapatos, índice considerado alto.

O cruzamento com raças bovinas resistentes ou menos suscetíveis é outra forma eficiente e econômica de controle do carrapato. Os zebuínos são naturalmente resistentes ao Boophilus microplus. Pela sua origem (Índia e Continente Africano), adquiriram importantes defesas contra a infestação de carrapatos, mantendo um perfeito equilíbrio hospedeiroparasita, de modo que nos hospedeiros resistentes os prejuízos são mínimos ou não existem. Esses animais possuem um eficiente sistema de defesa contra os parasitos, que os impede de se fixarem e causarem danos; eles são extremamente sensíveis às larvas do carrapato; quando elas estão tentando se fixar em sua pele, ficam incomodados, sentem muita coceira, e, coçamse com a língua, retirando, dessa forma, grande quantidade de larvas, que uma vez ingeridas são mortas. Esse processo ocorre também nas outras fases do carrapato: ninfas e adultos, sendo que pouquíssimos carrapatos nos bovinos resistentes conseguem chegar até a fase de fêmea ingurgitada. Depois que a fêmea se alimenta e fica repleta, ela se desprende do animal e cai no solo para ovipor. A quantidade de ovos postos por uma fêmea é diretamente proporcional ao peso que ela atingirá, o que, por sua vez, está diretamente relacionado à quantidade de sangue ingerido. Os animais resistentes possuem defesas imunológicas que interferem na ingestão de sangue pelas fêmeas do carrapato, de modo que elas não alcançam o mesmo tamanho que alcançariam se estivessem se alimentando em um hospedeiro suscetível. Assim, as poucas fêmeas que conseguem se fixar, e alcançar o estágio adulto, atingem um tamanho pequeno, e, consequentemente, sua oviposição será menor. Isso tem uma implicação muito grande no ecossistema do parasito, o que diminui significativamente a população de carrapatos na pastagem. Os bovinos resistentes podem ser considerados controladores biológicos do carrapato, pois não permitindo que as larvas atinjam a fase adulta, impedem sua reprodução, quebrando dessa forma o ciclo parasitário. Entretanto, mesmo em uma população de animais resistentes, podem existir animais suscetíveis, que, permitam uma quantidade maior de carrapatos chegar à fase adulta. Nesse caso, recomenda-se eliminar do rebanho esses animais. A resistência ao carrapato é uma característica hereditária, portanto deve-se estimular a seleção para essa característica, que pode ser feita de diversas formas, desde que se estabeleça sempre o mesmo critério para todos os animais a serem avaliados. O importante é identificar os animais que têm muitos carrapatos e os que têm pouco ou nenhum, sendo que a aparência externa pode ajudar na seleção dos animais resistentes. Em testes de suscetibilidade dos bovinos aos carrapatos, verificou-se que entre as raças leiteiras, no gado holandês e no pardo-suíço apenas 20% apresentaram resistência ao carrapato, enquanto que na raça jersey esse percentual alcançou 70%. No caso dos zebuínos das raças gir e nelore 90% apresentaram resistência ao carrapato, enquanto que nas raças mestiças o percentual caiu para 40%. Pesquisas revelam que nos animais mestiços existe uma grande relação entre o comprimento do pêlo e a infestação por carrapatos. Animais com pêlo bem curto, semelhante ao pêlo dos zebuínos apresentam menor infestação (Veríssimo, 2004). Gonzáles (1975), já alertava, que a medida simplista de importar raças puras mais produtoras de leite, em substituição às nativas, poderiam contribuir para situações de desequilíbrio de difícil solução. Assim, o cruzamento de raças leiteiras européias com raças leiteiras zebuínas parece ser uma boa solução para algumas regiões, constituindo-se em uma arma natural para antagonizar o crescimento populacional do carrapato.

O controle biológico do carrapato utilizando agentes microbianos, especialmente fungos, tem apresentado resultados satisfatórios. A identificação de competitividade entre organismos em um ecossistema específico representa perspectiva promissora para o tratamento de inúmeras enfermidades, em substituição ao uso de compostos químicos (Bittencourt, 1994). Os fungos entomopatogênicos englobam cerca de 90 gêneros e 700 espécies, estando entre os bioagentes mais utilizados no controle biológico de pragas. Esses fungos não são prejudiciais ao homem e outros animais homeotermos, pois dificilmente conseguem se desenvolver na faixa de temperatura dos diferentes mamíferos (Alves, 1988). No controle do carrapato por meio de fungos entomopatogênicos, duas espécies: *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, vêm sendo pesquisadas, havendo inclusive comercialização dos mesmos em alguns locais do país (Veríssimo, 2004).

O controle de endo e ectoparasitos através da homeopatia vem sendo utilizado por muitos produtores no Brasil, com bons resultados (Real, 2003). O fato de a homeopatia ser uma terapêutica individual a torna um procedimento excelente e prático em consultórios, granjas leiteiras ou em animais de cabanha. No tratamento de rebanhos, entretanto, a concepção clássica se torna inviável. Nesses casos, têm-se utilizado a homeopatia populacional. Esta não tem como finalidade o aspecto curativo, mas objetiva a estimulação orientada do organismo dos animais, conseguindo assim a diminuição do nível de estresse do rebanho, e o estímulo da imunidade e da capacidade reacional dos animais às infecções

bacterianas, víricas e aos parasitas internos e externos. No controle de ectoparasitos através da homeopatia populacional, há uma redução no uso de carrapaticidas e inseticidas, ocorrendo um espaçamento cada vez maior das aplicações desses produtos, com a continuidade do uso do produto homeopático (Real, 2003). Outros aspectos positivos são o baixo custo, quando comparado aos tratamentos convencionais, a ausência de toxicidade para os animais e as pessoas, ausência de resíduos nos alimentos e facilidade de aplicação.

A utilização de extratos vegetais no controle do carrapato também tem sido foco de pesquisas em vários países. No Brasil, trabalhos utilizando óleos emulsionáveis de eucalipto (*Eucalyptus* spp.), rotenóides extraídos do timbó (*Derris urucu*) (Veríssimo, 2004), e azadiractina, presente em plantas da família Meliaceae (*Melia azedarch*) (Borges, 2003), mostram-se promissores no controle desse parasito. Esse assunto será tratado com maior profundidade em capítulo posterior.

3. Toxicidade dos carrapaticidas

O Brasil, na primeira metade do século XX, foi um grande produtor e exportador de inseticidas vegetais, como a rotenona (extraída das raízes e rizomas de *Lonchocarpus* sp. e *Derris* sp.), piretro (extraído de flores de *Chrysanthemum cinerariefolium*) e nicotina (extraída de folhas de *Nicotiana tabacum*). Entretanto, seguindo a tendência mundial, após os anos 50, passou a utilizar, principalmente, os produtos sintéticos, cujos efeitos danosos foram posteriormente conhecidos (Martinez, 2002).

Entre as inúmeras conseqüências negativas do uso desses produtos ao ambiente e à saúde humana, podemos citar a contaminação do solo, do ar e da água, resultando em intoxicação dos peixes, anfíbios e outros seres. Vale também citar as intoxicações nos humanos e nos animais, tanto no campo, como para o consumidor; a redução da biodiversidade; a redução da população de inimigos naturais; a redução da população e do número de espécies de abelhas e outros polinizadores e ainda a resistência de insetos e artrópodes a esses produtos (Martinez, 2002).

Os ectoparisiticidas e seus metabólitos são considerados tóxicos a qualquer animal de sangue quente, inclusive o homem, havendo ainda possibilidade de contaminação dos produtos de origem animal. Os riscos para o consumidor decorrem da insignificante barreira natural entre a aplicação do produto e a contaminação dos alimentos, e do fato de que os parâmetros para segurança alimentar do consumidor são assuntos negligenciados ou, às vezes, intencionalmente ignorados pelos serviços de inspeção (Chagas, 2004).

Muito pouco se conhece sobre as intoxicações subagudas ou crônicas causadas por esses produtos, pois nos estudos toxicológicos, apenas a intoxicação aguda é avaliada. Embora a toxicidade aguda de uma substância seja de interesse, no caso de exposições acidentais, os efeitos da exposição crônica (cujas doses são relativamente baixas) de um produto químico tóxico deveriam ser melhor avaliados. Na toxicologia em geral, os efeitos são determinados pela administração oral ou parenteral da substância de interesse em animais, e observando-se como a saúde dos mesmos é afetada. Os dados toxicológicos são obtidos mais facilmente determinando-se a toxicidade aguda, incluindo a morte no limite extremo, após a absorção de determinada substância. Entretanto, o mesmo produto químico pode provocar tanto efeitos agudos, como crônicos, no mesmo organismo, normalmente mediante mecanismos fisiológicos diferentes. Em função de questões práticas, que incluem custo e tempo, a maior parte dos experimentos tem por objetivo estabelecer apenas a toxicidade aguda, já que para a determinação da toxicidade crônica seria necessário um número muito

grande de animais e um projeto à longo prazo. Na prática, a alternativa consiste em avaliar os efeitos usando doses altas o suficiente para causar efeitos substanciais e bem definidos e, a partir desses dados, extrapolar os resultados às exposições contínuas e de longa duração. Entretanto, não existe certeza que esse método seja confiável, dado que os mecanismos celulares que produzem os efeitos a altas e baixas doses podem diferir (Baird, 2002).

Até a década de 40 foram utilizados principalmente os inseticidas naturais, de origem orgânica e inorgânica. Na classe dos inorgânicos, os mais utilizados foram os arseniatos de cálcio e de chumbo; derivados do cobre (calda bordalesa); o enxofre em pó ou na forma de sulfatos, a cal e outros, sendo que os arsenicais, principalmente, causavam sérios impactos ambientais e à saúde humana. Entre os orgânicos estavam os sintéticos (tiocianatos, ácido cianídrico, brometo de metila, dicloroetileno) e os inseticidas cuja substância ativa eram os produtos naturais, sendo utilizados principalmente a nicotina, os piretróides e rotenóides.

De 1950 a 1970, após a Segunda Guerra Mundial, houve uma explosão na síntese e consumo de produtos sintéticos como DDT, BHC, Aldrin, Dieldrin e Clordano, que foram usados indiscriminadamente, nesse período. A resistência não tardou a aparecer, e esse foi um dos motivos que impulsionou a pesquisa de novos inseticidas. O alerta levantado por Carson (1962), no seu livro Primavera Silenciosa foi importante, levando a uma maior reflexão sobre os efeitos deletérios causados pela utilização desses produtos extremamente tóxicos. Entretanto, essa mudança na mentalidade não foi apenas ecológica, mas surgiu da necessidade de uma maior objetividade em relação ao controle de pragas. A simples criação de novos agentes cada vez mais tóxicos, além de não garantir o controle dos insetos, tornou-se cada vez mais agressiva ao homem e o ambiente (Vieira & Fernandes, 1999).

A partir dos anos 70, com o surgimento dos primeiros movimentos ecológicos, começou a haver uma maior preocupação com relação à utilização indiscriminada de produtos químicos nocivos no combate às pragas agrícolas. Os inseticidas passam a ser desenvolvidos, então para terem uma seletividade maior, atacando pragas específicas. A preocupação com a biodegrabilidade foi outra característica a ser buscada, para diminuir os impactos ambientais (Vieira & Fernandes, 1999).

Passaram-se 35 anos, e embora alguns inseticidas tenham tido seu uso proibido, dando lugar a produtos menos tóxicos, o quadro ainda é bastante preocupante, já, que os produtos utilizados atualmente estão longe de ser inócuos. Entre os principais inseticidas utilizados atualmente no controle dos carrapatos podemos citar os organofosforados, as diamidinas, os piretróides e as ivermectinas.

Os piretróides correspondem a aproximadamente um terço de todos inseticidas comercializados no mundo (Vieira & Fernandes, 1999) e, por muito tempo, foram considerados seguros. São os inseticidas mais utilizados no combate de insetos domésticos e da agricultura (Larini, 1996), e também estão entre os carrapaticidas mais utilizados. Esse inseticida, quando utilizado na agricultura, tem uma indicação de carência de dois a sete dias (Salazar Cavero, 1976), enquanto que na sua utilização como carrapaticida, não há qualquer restrição quanto à sua utilização nos dias subsequentes à aplicação, fato que deveria ser analisado com maior atenção, principalmente, no caso do leite que é consumido ininterruptamente. Uma pesquisa realizada por Vassilief (1997), mostra que os piretróides ultrapassam o couro do animal, são absorvidos pela corrente sanguínea e podem contaminar o leite. Essa pesquisa mostrou que nos primeiros 14 dias após a aplicação do produto, a quantidade de resíduos no leite ultrapassou em oito vezes a quantidade permitida de 50 microgramas por litro, sendo suficiente para intoxicar uma pessoa que ingere um litro de leite. Segundo Vassilief (1997) os piretróides interferem no sistema nervoso central causando irritabilidade, insônia, cefaléia, redução da saliva, dermatite alérgica e até mesmo convulsões. É importante salientar que o leite é um alimento ingerido em grandes quantidades por grupos etários especiais (lactentes, crianças e idosos), que por diferentes razões são mais sensíveis à presença dos xenobióticos. Nas fases muito jovens e na idosa, o metabolismo dos xenobióticos é feito de maneira deficiente, o que poderá acarretar uma acumulação de produtos químicos, e consequentemente, dar origem a fenômenos de intoxicação (Fontes, 2003). Outro aspecto importante a ser considerado é o risco ambiental, já que os piretróides são extremamente tóxicos para os animais de sangue frio, como peixes, répteis e anfíbios (Pinheiro, 1980).

Os organofosforados são o grupo mais antigo de carrapaticidas que ainda está sendo comercializado. Atualmente, na maior parte das vezes, a utilização desse grupo é em associação com os piretróides (Furlong, 2000). Os pesticidas baseados em organofosforados são de tipo não-persistente, representando sobre esse aspecto um avanço em relação aos organoclorados. Contudo, eles apresentam um efeito tóxico muito agudo para os seres humanos e outros mamíferos, representando um grave perigo para a saúde daqueles que os aplicam e para qualquer pessoa que tiver contato com os mesmos (Baird, 2002).

Esse grupo tem uma aceitação muito boa em virtude de sua rapidez na ação contra insetos. Os organofosforados agem causando inibição de enzimas do sistema nervoso do inseto, interrompendo a comunicação entre as células, efetuada pela molécula acetilcolina. Esse bloqueio na transmissão continuada de impulsos entre as células nervosa, que é essencial

para coordenação dos processos vitais dos organismos, provoca a morte dos insetos (Baird, 2002).

A inibição da acetilcolina, com todas as consequências etiopatogênicas que isto implica, nos casos de exposição indevida podem causar intoxicações sérias no homem e nos animais. Os sintomas de intoxicação podem aparecer durante a exposição ou até 12 horas após o contato com o inseticida. Alguns dos sintomas observados são cefaléia, tonturas, fraqueza, salivação abundante, incoordenação, visão borrada, confusão mental entre outros (Zambrone & Almeida, 1988). Os inseticidas organofosforados são absorvidos pelo organismo humano através de todas as vias possíveis, incluindo a via dérmica, trato gastrintestinal e via respiratória. A absorção, por via oral, ocorre nas intoxicações acidentais, particularmente em crianças ou casos de homicídio e suicídio, não sendo esta via considerada de importância na exposição ocupacional. Entretanto, assume extraordinária importância para consumidores de alimentos tratados com esses produtos de elevada toxicidade e que foram destinados ao consumo, sem o devido respeito ao período de carência. A intoxicação por essa via pode ocorrer também nos indivíduos que durante a aplicação dos inseticidas, inadvertidamente, fumam, levam as mãos à boca e, ainda, não lavam as mãos antes de se alimentar. A intoxicação por via dérmica ocorre principalmente nos indivíduos que aplicam os inseticidas (Larini, 1997). A intoxicação por via respiratória é mais frequente em indivíduos que fazem aplicação desses inseticidas, e também naqueles que trabalham em indústrias de formulação. Segundo Baird (2002), os problemas de intoxicação por organofosforados ocorrem principalmente em países em desenvolvimento, onde a ignorância geral sobre seus riscos e deficiência no uso de equipamentos de proteção tem causado muitas mortes entre trabalhadores agrícolas. A falta de cuidados, nesse caso, parece ser maior quando da utilização desses produtos nos animais. Diferentes dos inseticidas de uso agrícola, onde está mais claro para o agricultor que se trata de um produto tóxico e que cuidados devem ser tomados, os inseticidas de uso veterinário, embora com a mesma base química, são relacionados muitas vezes como "remédio" e manipulados sem qualquer cuidado.

As diamidinas possuem atividade agonista adrenérgica, através da monoaminooxidase e outras enzimas, causando depressão do sistema nervoso do parasita. O efeito residual é de sete a nove dias (Sousa et al., 1999). Entretanto, a bula de vários produtos comerciais com essa base química, não faz referência alguma com relação à carência e, outros, recomendam carência de apenas 24h para o leite.

As avermectinas são derivadas de produtos obtidos com a fermentação do fungo Streptomyces avermitiles e existem quatro subgrupos no mercado: ivermectin, moxidectin, doramectin e abamectin. Esses produtos surgiram no início da década de 80, produzindo grande revolução no mercado mundial dos antiparasitários, já que além de terem maior poder residual, são ainda eficientes no controle de bernes e vermes. As avermectinas agem bloqueando a transmissão dos impulsos nervosos nos carrapatos, que morrem paralisados.

Embora essas drogas não sejam aprovadas para o uso em vacas em lactação, a sua utilização em rebanhos leiteiros ocorre indiscriminadamente. Segundo Lobato apud Chagas (2004), no caso específico das ivermectinas, os resíduos podem ser detectados nos músculos, nas vísceras, no tecido gorduroso e no leite, sendo que após a aplicação subcutânea em bovinos, estudos farmacocinéticos confirmaram elevada persistência na presença de resíduos de ivermectina no leite. Além dos problemas para a saúde humana, as ivermectinas têm efeito deletério sobre os besouros e microrganismos do solo. Wall e Strong (1987), demonstraram o efeito inibidor da ivermectina no desenvolvimento dos besouros. O experimento realizado pelos mesmos mostrou que ao final do teste (100 dias), o esterco dos bovinos tratados com ivermectina estava intacto, enquanto que o esterco dos animais não tratados havia desaparecido pela ação dos besouros. Segundo Machado (2004), o esterco de bovinos tratados com produtos à base de ivermectina é um material inerte, que não se desintegra, nem se mineraliza, interferindo negativamente na vida do solo.

4. Plantas com atividade inseticida

A necessidade de métodos mais seguros, menos agressivos ao homem e meio ambiente tem estimulado a busca de novos inseticidas a partir de extratos vegetais. O controle de parasitas nos bovinos através de produtos químicos convencionais, além do problema de resíduos nos alimentos, encontra ainda o problema do desenvolvimento acelerado da resistência, o que tem levado os fabricantes e os próprios agricultores a utilizarem concentrações altas, que, ainda assim, muitas vezes não são eficazes. O uso inadequado e exagerado desses produtos acentua o problema dos resíduos e também compromete a saúde dos agricultores, que muitas vezes os manipulam de forma inadequada com o objetivo de aumentar sua eficiência.

Assim, as plantas têm sido uma importante fonte de substâncias com diferentes estruturas químicas e com diversas atividades contra insetos. Segundo Roel (2001), a utilização de plantas com atividade inseticida, apresenta inúmeras vantagens quando comparado ao emprego de produtos sintéticos: os inseticidas naturais são obtidos a partir de recursos renováveis, sendo rapidamente degradáveis; o desenvolvimento da resistência dos insetos a essas substâncias - compostas da associação de vários princípios ativos - é um processo lento; não deixam resíduos nos alimentos e, ainda, são de fácil acesso e obtenção pelos agricultores, o que representa um menor custo de produção.

As substâncias químicas extraídas das plantas, normalmente, são classificadas em metabólitos primários e metabólitos secundários. Os metabólitos primários são substâncias amplamente distribuídas na natureza, ocorrendo em praticamente todos os organismos. Esses compostos se concentram freqüentemente nas sementes e órgãos de armazenamento e são necessários para o desenvolvimento fisiológico, já que têm papel importante no metabolismo celular básico. São usados principalmente como matéria-prima industrial, alimento ou aditivo alimentar e incluem produtos como, óleos vegetais, ácidos graxos e carboidratos (Balandrin, 1985). Os metabólitos secundários são compostos derivados bio-sinteticamente dos metabólitos primários, mas têm distribuição limitada a determinados grupos taxonômicos do reino vegetal. Aparentemente, não têm função no metabolismo primário da planta, mas, freqüentemente, têm um papel ecológico: atrativo para polinizadores, adaptação química à pressão ambiental ou servindo como defensores contra microrganismos, insetos e predadores superiores e, até mesmo, contra outras plantas. Os metabólitos secundários são geralmente armazenados pelas plantas em quantidades menores que os metabólitos primários e tendem a ser sintetizados em células especializadas e em estágios de desenvolvimento distintos, o que

muitas vezes dificulta sua extração e purificação. Dessa forma, muitos metabólitos secundários são considerados como materiais especiais ou substâncias químicas refinadas e são mais valorizados no mercado. São utilizados comercialmente como produtos farmacêuticos (terapêuticos, aromatizantes, flavorizantes) e pesticidas. Alguns exemplos de metabólitos secundários são a nicotina, as piretrinas, a rotenona, cocaína, morfina, óleo de rosas, óleo de eucalipto, etc. Os metabólitos secundários, geralmente têm estruturas altamente complexas, que determinam sua atividade biológica, sendo sua síntese inviável economicamente. Um bom exemplo é a azadiractina extraída da *Azadirachta indica*, cuja estrutura é bastante complexa (Balandrin, 1985).

A obtenção, tanto dos metabólitos primários, quanto dos secundários, pode ser feita através de processos relativamente simples, como a destilação a vapor ou extração com solventes aquosos ou orgânicos (Balandrin, 1985). Segundo este mesmo autor muitas plantas acumulam substâncias orgânicas que podem ser extraídas em quantidade suficiente para serem economicamente utilizadas para as mais variadas aplicações científicas, tecnológicas e comerciais.

A utilização de plantas com fins medicinais, assim como seu emprego como pesticida na agricultura, são hábitos comuns e arraigados na cultura popular de todo o mundo (Roel, 2001). Nos países emergentes essa prática é mais difundida, sendo que os pequenos agricultores utilizam plantas locais, que têm um baixo custo em relação aos produtos químicos convencionais (Balandrin, 1985).

Plantas com atividade inseticida têm sido utilizadas pelo homem desde tempos remotos, e é uma prática que continua até os dias atuais, com mais de duas mil plantas com propriedades pesticidas conhecidas. Na América Latina, a agricultura de subsistência tem utilizado diversas plantas para o controle de insetos: alho (*Allium sativum*), fruta-do-conde (*Annona squamosa*), mamona (*Ricinus cummunis*), Artemísia (*Artemísia ludoviciana*), louro (*Laurus nobilis*), coentro (*Coriandrum sativum*), arruda (*Ruta graveolens*), cravo-de-defunto (*Tagetes* spp.), urtiga (*Urtica urens*), maria-preta (*Cordia verbenacea*), chagas (*Tropaeolum majus*); erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides*); cavalinha (*Equisetum arvense*); mentastro (*Ageratum conyzoides*); cardo-santo (*Argemone mexicana*); quebra-pedra (*Euphorbia prostata*); guanxuma (*Sida rhombifolia*); gerânio (*Pelargonium zonale*); hortelã (*Mentha piperita*); esporinhas (*Delphinium* sp); alamandra (*Allamanda nobilis*), e ainda os atrativos/repelentes tayuiá (*Cayaponia tayuya*) e eucalipto (*Eucalyptus* sp.) (Guerra et al., Laca-Buendia e Brandão apud Roel, 2001).

No Brasil, nos últimos anos, com o crescimento da agricultura orgânica e agroecológica, muitas plantas com atividade inseticida vêm sendo utilizadas, no controle de insetos na lavoura e criação animal, em substituição aos inseticidas sintéticos. Entre as principais plantas que estão sendo utilizadas citam-se: a *Ruta graveolens* (arruda), *Melia azedarach* (cinamomo), *Annona reticulata* (anona), *Piptadenia* spp. (angico), *Allium sativum* (alho), *Derris urucu* (timbó), *Lupinus albus* (tremoço), *Eucalyptus* spp (eucalipto), *Coleus* sp (boldo), *Prunus persica* (pessegueiro), *Araucaria angustifolia* (pinheiro), *Cymbopogon citratus* (cana-de-cheiro) e *Phytolacca dioica* (umbu) (Abreu Júnior 1998; Avancini, 1994; Burg & Mayer 2001 e Garcia, 2001), além de outras.

As plantas com atividade inseticida podem causar diversos efeitos sobre os insetos, como repelência, inibição de oviposição e da alimentação, alterações no sistema hormonal, causando distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases. A extensão dos efeitos e o tempo de ação são dependentes da dosagem utilizada, de maneira que a morte ocorre nas dosagens mais elevadas e os efeitos menos intensos e mais duradouros nas dosagens menores. A utilização de doses subletais causa redução das populações à longo prazo e necessita de menores quantidades de produtos. As doses letais muitas vezes tornam sua utilização inviável pela grande quantidade necessária (Roel, 2001).

Entre as principais plantas com atividade inseticida destacam-se aquelas do gênero *Nicotiana* (Solanaceae), produtoras de nicotina e nornicotina; *Derris, Lonchocarpus, Tephrosia* e *Mundulea* (Leguminosae), produtoras de rotenóides, *Chrysanthemum* (Asteraceae), produtoras de piretrinas e *Azadirachta* (Meliaceae), produtoras de azadiractina (Vieira & Fernandes, 1999).

A nicotina, obtida de espécies de *Nicotiana* foi empregada como inseticida pela primeira vez no final do século XVII na França sob a forma de lavagem de fumo. Esse alcalóide foi isolado em 1828 e foi largamente utilizado no início do século passado. Junto com a nicotina 18 (principal alcalóide do tabaco), foram isolados ainda outros alcalóides com atividade inseticida, a nornicotina e anabasina (Vieira & Fernandes, 1999). As nicotinas apresentam algumas desvantagens como alto custo de produção, odor desagradável, extrema toxicidade para os animais e o homem e limitada atividade inseticida (Balandrin, 1985).

Do grupo dos rotenóides, a rotenoma 1 é a principal substância com atividade inseticida, ocorrendo principalmente em espécies do gênero *Derris* e *Lonchocarpus* (timbós), e *Tephrosia* e *Mundulea*. Na agricultura, um dos primeiros relatos da utilização dos rotenóides data de 1919, na Guiana Holandesa, no combate às formigas saúvas (*Dolichorus*

bidens). Os rotenóides são obtidos à partir da moagem das raízes secas de plantas com até três anos. Sua atuação pode ser tanto por contato, como por ingestão, interferindo nos mecanismos respiratórios e tendo ainda atividade fagoinibidora (Vieira & Fernandes, 1999).

As piretrinas são inseticidas naturais produzidos a partir do extrato de flores do gênero *Chrysantemum*, sendo a espécie mais comum o *Chrysantemum cinerariefolium*, o piretro. É um dos mais antigos inseticidas conhecidos, sendo já utilizado na Mesopotâmia antes da era cristã (Larini, 1997). Há referências do uso do pitretro por volta do ano de 1800, sendo então conhecido como Pó da Pérsia (Mariconi, 1988). As flores concentram a maior quantidade do princípio ativo que é muito tóxico para os insetos em geral. Sua maior ação é por contato. O sistema nervoso do inseto é afetado e convulsões violentas aparecem antes da morte (Mariconi, 1988). As piretrinas são instáveis a luz solar, razão pela qual foram desenvolvidos seus similares sintéticos (piretróides) que possuem fotoestabilidade (Baird, 2002).

A azadiractina é um limonóide de ocorrência restrita em duas plantas, *Azadirachta indica*, conhecida na Índia como neem e *Melia azedarach*, também de origem asiática, mas introduzida em vários países, inclusive o Brasil, onde é conhecida como cinamomo ou santabárbara, além de várias outras denominações vulgares. A azadiractina tem grande potencial inseticida, sendo considerada como o mais recente inseticida natural (Vieira & Fernandes, 1999).

A toxicidade de uma planta contra insetos, não a qualifica necessariamente como um inseticida. Vários aspectos devem ser levados em consideração tais como: forma de extração e conservação dos extratos, eficácia em baixas concentrações, ausência de toxicidade para mamíferos e animais superiores, fácil obtenção, manipulação e aplicação e viabilidade econômica (Viegas Junior, 2003).

Existem várias estratégias para deteminar a atividade de produtos naturais e fazer o isolamento das substâncias ativas presentes. Pode-se iniciar com extratos brutos da planta, preparados com solventes como hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água. Posteriormente os extratos ativos são fracionados por cromatografia e as frações obtidas são retestadas, repetindo-se o processo até obtenção da(s) substância(s) ativa(s) (Vieira & Fernandes, 1999). Para determinar a ação de determinada substânica (repelente, fagoinibidora, letal), existem vários testes e a escolha depende dos hábitos dos insetos ou parasitos com os quais se pretende trabalhar. Para determinar a capacidade de certas plantas de repelir insetos, utiliza-se principalmente o tratamento de folhas de plantas, que sabidamente são comidas por larvas dos insetos, e observa-se o consumo após este tratamento. Pode ser feita, também, a chamada determinação pós-ingestiva, onde os insetos são tratados com uma dieta artificial e

depois são examinados para verificação do efeito do tratamento que pode ser a morte, malformação do inseto adulto e impedimento da ecdise. Existe ainda o ensaio de atividade tópica, onde o material a ser testado, após sua preparação é aplicado no inseto, observando-se o índice de mortalidade em função do tempo (Elliot et al., 1998).

Para Bueno (2005), o uso de produtos naturais deve ser incentivado, mas antes devem ser submetidos a todos os procedimentos de segurança, da mesma forma que os produtos sintéticos. Para este autor, pelo menos quatro aspectos importantes devem ser considerados: a atividade biológica de um composto químico é mais uma função de sua estrutura do que de sua origem; as propriedades biológicas, especialmente as relativas à segurança de um produto químico depende de sua estrutura, de como ele é utilizado ou da forma que ele é exposto no ambiente; a simples percepção ou previsões sobre riscos nem sempre são consistentes com riscos reais e, ainda, um determinado composto químico dentro da planta, está interagindo com outros compostos e está num sistema em equilíbrio, mas quando ele é isolado, suas propriedades não são as mesmas, na realidade passam a ser desconhecidas.

4.1. A espécie Melia azedarach

A família Meliaceae possui 51 gêneros e aproximadamente 550 espécies, quase todas lenhosas e nativas de regiões tropicais e subtropicais, dos dois hemisférios. As espécies meliáceas comuns no Brasil são o cinamomo ou santa-bárbara, a canjerana, catiguá, cedro, cedrilho e o mogno ou caoba (Martinez, 2002).

A Melia azedarach, pertencente a esta família botânica, é uma árvore originária da Índia, Pérsia e Sri Lanka (Silva Júnior, 1997). É conhecida popularmente como cinamomo, santa-bárbara, jasmin-de-caiena, lilás-da-china, árvore-santa, loureiro-grego, chá-de-soldado, lilás-de-soldado, orgulho-da-índia (Lorenzi, 2003), além de outras denominações. Cresce em regiões com altitude de até 2000m, com temperatura média anual de 18°C e precipitação anual de 600 e 2000mm. Embora a produtividade seja maior em solos férteis e profundos, desenvolve-se também em solos ácidos e arenosos (Epagri s/d). É muito pouco exigente quanto ao tipo de solo, desde que não muito encharcados (Silva Júnior, 1997). No Brasil é amplamente cultivada, ou mesmo subespontânea na Região Sul e Sudeste, sendo muito utilizada como árvore de sombra. Ë uma árvore caducifólia, de 15-20m de altura, tendo o tronco pardo-acinzentado ou marrom-avermelhado, fissurado longitudinal e obliquamente. A ramagem é disposta de maneira a formar copa aberta. As folhas são alternas, reunidas na extremidade dos ramos, de pecíolo longo, compostas e bipinadas e as inflorescências são axilares, ramificadas, formadas de setembro a novembro, com numerosas flores pequenas, lilás-róseas, lineares e perfumadas. Os frutos são ovóide-arredondados do tipo drupa, marromamarelados (Lorenzi, 2003). O cinamomo além de sua utilização como árvores de sombra em propriedades rurais, parques, arborização de ruas, é valorizado também pela qualidade da sua madeira, de cor amarela-brancacenta ou rósea, às vezes avermelhada. A madeira é flexível, resistente à umidade e ao cupim, fácil de trabalhar e envernizar. É utilizada na fabricação de móveis, cabos de ferramentas, caixotaria, instrumentos musicais, palitos de fósforo, carroceria e também como combustível (Silva Júnior, 1997).

As plantas da família Meliaceae, conhecidas como produtoras de madeira de excelente qualidade, se destacam também pela sua composição química semelhante, contendo compostos limonóides com ação inseticida (Taylor apud Martinez, 2002). O número de compostos químicos isolados cresceu muito na última década, sendo que a maior parte das pesquisas foi realizada com o neem e o cinamomo, espécies mais promissoras, obtendo-se mais de 100 compostos (Ismann apud Martinez, 2002). Da mesma forma que o extrato de neem, os extratos das demais meliáceas têm ação inseticida, mas algumas espécies

apresentam limitação para o uso inseticida, como crescimento lento no caso do mogno, e a pequena quantidade de frutos e altura na planta onde se encontram no caso do cedro e do cedrilho. A espécie mais promissora é o cinamomo que tem ampla adaptação, crescimento rápido, produção abundante de frutos, tendo ainda utilização como planta medicinal (Martinez, 2002).

Propriedades terapêuticas, inseticidas, tóxicas e outras são atribuídas ao cinamomo, algumas com fundamentação científica e outras com base no conhecimento popular. As partes utilizadas da planta são a casca da raiz, casca do tronco, folhas, flores, frutos e sementes. Estudos fitoquímicos da *Melia azedarach* revelam na sua composição diversas substâncias, sendo que muitas delas já tiveram seus efeitos comprovados e outras vêm sendo pesquisadas. Os limonóides, conhecidos também como meliacinas, apresentam sabor amargo. Foram isolados de plantas pertencentes à família Meliaceae, Rutaceae e Cneoraceae. São conhecidos por apresentarem atividade contra insetos, interferindo no crescimento dos mesmos ou pela inibição da alimentação (Vieira & Fernandes, 1999).

Os limonóides são terpenos, sendo que estes abrangem uma grande variedade de substâncias de origem vegetal, que têm sua importância ecológica como defensivos de plantas bem estabelecida. Vários terpenos, entre eles os limonóides, foram isolados e avaliados quanto à toxicidade frente a diferentes insetos (Viegas Júnior, 2003). Os limonóides representam o nível máximo na seqüência de produção de terpenóides em plantas que normalmente não são atacadas por insetos. Grande parte dos trabalhos que se referem a terpenóides superiores, fazem referência a observações de atividades como inibidores ou retardadores de crescimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, supressores de apetite, podendo levar os insetos à morte por inanição ou toxicidade direta (Viegas Júnior, 2003). No nível inferior, os terpenos de estrutura relativamente simples, exercem funções de proteção às plantas que os produzem. Aparentemente sua ação inseticida seria decorrente da inibição da acetilcolinesterase. Os limonóides apresentam grande diversidade estrutural, com anéis B-, A-, A, B e C-seco. Em uma pesquisa tentou-se estabelecer algumas relações estrutura-atividade inseticida, concluindo-se que, os limonóides com anel C-seco são os mais ativos (Champagne et al, 1992). Uma das atividades mais relevantes das plantas da família Meliaceae é a ação fagoinibidora, sendo que os produtos com essa ação contêm como substância ativa, a azadiractina. Essa substância e outros limonóides estruturalmente relacionados têm sido isolados de várias plantas pertencentes à família Meliaceae.

A azadiractina é um limonóide com anel C-seco e tem ocorrência restrita em duas plantas, a Azadirachta indica, conhecida na Índia como neem e na Melia azedarach. A azadiractina foi isolada inicialmente por Butterworth e Morgan em 1968 (Vieira & Fernandes, 1999). De acordo com trabalho de Rembold apud Vieira & Fernandes (1999) ela interfere no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos, impedindo a ocorrência da ecdise e apresentando ainda atividade fagoinibidora. Muitos outros limonóides têm sido testados com relação às atividades fagoinibidora e inibidora do crescimento de insetos. Entretanto, nenhum deles demonstrou a excepcional atividade da azadiractina (Vieira & Fernandes, 1999). Muitas outras substâncias descritas a seguir foram isoladas ainda dessa planta. A casca da raíz e do caule contém 4% óleo volátil, com 65 a 75% de cinamaldeído e 4 a 10% de eugenol, cumarina, mucilagens, o alcalóide azaradina, esteróis, taninos e lignanos. Os frutos e sementes contém principalmente óleos, glicerídeos de ácido palmítico, oléico, linolêico e esteárico, melianoninol, melianol, melianona, meliandiol, vanilina, ácido vanílico e azadirachtina. O fruto verde contém melaína G, uma protease e 28diacetilsendanina. As folhas contém o alcalóide paraisina, o flavonóide rutina e ainda meliacina.

O cinamomo tem sido utilizado como planta medicinal principalmente nas regiões onde é conhecido há muito tempo, na Ásia e China. Na década de 30, a casca do cinamomo era utilizada como vomitiva e anti-helmíntica, sendo por essas razões incluída na farmacopéia dos Estados Unidos (Correa apud Martinez, 2002). Entre as diversas propriedades terapêuticas do cinamomo são citadas as ações ascaricida, oxiuricida, tricomonicida, antiviral, antiespasmódica, carminativa, antidisentérica, antitumoral, abortífera, anódina, anti-séptica, adstringente, desobstruente, depurativa, diurética, emética, laxativa, narcótica, pediculicida, revolvente, sedativa, antiasmática, béquica e febrífuga. Os frutos são purgativos e anti-helmínticos. A casca da raiz é maturativa, vulneraria, catártica, anti-helmíntica, tônica e estimulante. As folhas são estomáquicas, anti-histéricas, anti-sifilíticas e emenagogas. As sementes secas e as folhas são anti-reumáticas e antinevrálgicas. As sementes, folhas e cascas são parasiticidas (Silva Júnior, 1997).

Alguns trabalhos comprovam a ação farmacológica dessa planta. Os extratos hexânicos e aquosos das folhas, administrados oralmente apresentam atividade antipirética em coelhos, com uma potência comparável à aspirina. Os componentes lipídicos, especialmente os fitoesteróis, reduzem o índice de úlcera gástrica induzida experimentalmente. O extrato das folhas administrado a camundongos machos aboliu a libido em 100%, sugerindo o uso da planta como contraceptivo (Silva Júnior, 1997). Em várias pesquisas, apenas a ação causada

por essa planta foi comprovada, sem a determinação de qual substância presente era responsável pelos efeitos causados, enquanto que, em outras, houve determinação do componente, ou componentes ativos. Esses trabalhos, independentemente da determinação ou não do componente ativo, têm revelado o potencial da *Melia azedarach* como antitumoral, antibacteriana, antiviral, fungicida e inseticida. O efeito inseticida é atribuído, principalmente, à azadirachtina, bem como a outros componentes da planta que apresentam vários modos de ação contra insetos como, fagoinibição, regulação do crescimento, supressão da fertilidade, esterilização da oviposição, repelência ou atratividade e alterações nas adaptações biológicas. Entre os insetos testados destacam-se os mosquitos, moscas, baratas, pulgas, traças e triatomas.

Entretanto, as propriedades toxicológicas dessa planta merecem atenção. A planta contém compostos limonóides conhecidos como meliatoxinas, que são tóxicos para os mamíferos Oelrichs et al, (1983), tornando-se necessário aprofundar as pesquisas relacionadas à sua toxicidade aos vertebrados antes de se recomendar sua utilização. Os frutos podem causar náuseas. dores abdominais, vômitos, hemodiarréias, ansiedade. incoordenação, pulso fraco, respiração irregular, paralisia, convulsões e morte por parada respiratória que ocorre em 12 a 15 horas. Com relação à toxicidade dos frutos, existem divergências. Segundo Williams, apud Silva Júnior (1997), os frutos maduros são mais tóxicos que os verdes, sendo que a dose letal é de 6g de fruto por kg de peso vivo. Mutti (1992), afirma que os frutos verdes são mais tóxicos que os maduros, sendo a ingestão de dois a três frutos verdes, suficientes, no caso de uma criança, para causar sintomas de intoxicação. A decocção das folhas pode causar queimadura na boca, oligúria, hematêmese, letargia e ocasionalmente morte. O pólen pode causar doenças respiratórias de origem alérgica. Cães que ingeriram os frutos apresentaram distúrbios gastrintestinais e no sistema nervoso central, culminando com a morte em 36 horas. A necropsia revelou severa e moderada congestões renal e hepática respectivamente e presença de fluido serosanguinolento na cavidade abdominal (Silva Júnior, 1997). Mendez et al (2002), produziram intoxicação experimental em bovinos pela administração de folhas de Melia azedarach. Folhas verdes de cinamomo foram administradas em dose única a 11 bovinos nas doses de cinco a 30g/kg de peso vivo. Os sinais clínicos observados foram depressão, atonia ruminal, fezes duras com presença de sangue, incoordenação, tremores musculares, decúbito esternal, hipotermia e dores abdominais. Os sinais clínicos foram observados entre 8 e 24 horas após a ingestão e o curso clínico durou entre 2 e 72 horas. Três animais que receberam 30g/kg morreram, sendo que os achados macroscópicos na necropsia foram congestão dos intestinos e do cérebro, fígado amarelado e presença de fezes duras e com sangue no reto. Microscopicamente os hepatócitos estavam tumefeitos, observando-se também hepatócitos necróticos distribuídos no parênquima ou próximos à veia centrolobular. Lesões degenerativas e necróticas foram observadas no epitélio dos pré-estômagos. Havia ainda necrose do tecido linfóide e nos músculos esqueléticos, degeneração hialina e necrose das fibras.

Em que pese, entretanto, esses efeitos comprovados laboratorialmente, são comuns os campos em que o cinamomo é árvore de sombra e onde não se registram esses efeitos deletérios.

Para Martinez (2002), as pesquisas com meliáceas em todo o mundo têm apresentado resultados bastante promissores e devem ser incentivadas, de modo a reduzir os aspectos negativos encontrados, utilizando, por exemplo, outras estruturas da plantas além do fruto, como as folhas e ramos, que têm demonstrado efeitos semelhantes, buscando reduzir os problemas de toxicidade. Outro fator a ser considerado é que diferente do neem, o cinamomo é uma espécie bastante adaptada às regiões mais frias do País, viabilizando o aproveitamento de matéria-prima disponível na região.

4.2. Melia azedarach no controle do Boophilus microplus

Seis espécies da família Meliaceae têm tido suas propriedades inseticidas estudadas em diferentes partes do mundo: *Azadirachta indica* A. Juss, *Azadirachta excelsa* Jack, *Azadirachta siamens* Valeton, *Melia toosendan* Sieb., *Melia volkensii* Gurke e *Melia azedarach* L. (Mulla, 1999).

Das espécies dessa família, a *Azadirachta indica* (neem) é a que mais tem sido pesquisada nos últimos anos para uso em programas de controle de insetos (Borges, 2003). Há muitos anos, o neem vem sendo utilizado na Índia no combate a insetos e, atualmente, são extraídos e comercializados compostos ativos sobre mais de 200 espécies de insetos, e, ainda alguns moluscos. Pesquisas revelam que esses produtos são muito mais seguros que outros de origem sintética, que podem ser tóxicos ao sistema nervoso central do homem (Nudmu, 1999).

Na Azadirachta indica (neem), a azadiractina concentra-se nos frutos, sendo que nas outras partes da planta quantidades muito baixas são encontradas. Existe uma grande variação no teor de azadiractina encontrada nas sementes de neem, dependendo da região de origem ou entre diferentes árvores (Ermel & Schumutterer, 1987). A quantidade dessa substância aumenta nos frutos ao longo de seu desenvolvimento, sendo máxima no amadurecimento e durante o armazenamento (Damarla & Gopinathan, 2001), podendo variar de acordo com o modo que as sementes são colhidas e armazenadas. Quando mal despolpadas ou com teores mais elevados de umidade apresentam menores concentrações de azadiractina.

A azadirachtina é o principal componente ativo, com atividade inseticida, presente nas plantas da família Meliaceae. É considerada, a mais recente substancia inseticida natural e, a busca de seus análogos em plantas dessa família, ou mesmo por síntese química é um campo bastante promissor (Simões, 1999).

Segundo Schumutterer (1990), os quatro principais compostos com atividade inseticida presentes nos extratos de folhas e sementes de neem e cinamomo, são a azadiractina, a salanina, o meliantriol e nimbim. Destes, o limonóide azadiractina é considerado o mais potente (Martinez, 2002).

A azadiractina é um tripterpeno, mais especificamente um limonóide que causa distúrbios fisiológicos, alterando o desenvolvimento e a funcionalidade de várias espécies de insetos, principalmente devido à ação de repelência alimentar, inibição do crescimento e da reprodução (Schmutterer, 1990).

A azadiractina foi isolada das sementes de neem por Butterworth & Morgan em 1968. Em 1975, Zanno et al. propuseram sua estrutura que, posteriormente, foi corrigida por Kraus et al. em 1985 (Vieira & Fernandes, 1999). Por ser uma molécula muito complexa ainda não foi sintetizada. Seu conteúdo em extratos ou em partes da planta pode ser determinado com o auxílio do HPLC, equipamento de cromatografia líquida de alta performance, utilizando-se o método descrito por Schneider & Ermel em 1987 (Martinez, 2002).

O efeito de repelência alimentar ou fagoinibidor ocorre porque essa substância torna o alimento impalatável aos insetos, como demonstrado em gafanhotos e lepidópteros. Interfere diretamente nos quimioreceptores de larvas, pela estimulação de células deterrentes específicas, que são células que causam comportamento antagônico à alimentação, situadas nas peças bucais (Blaney & Simmonds, 1990). Prejudica também, a utilização dos alimentos ingeridos, reduzindo a eficiência de conversão alimentar, e, a atividade das enzimas do mesentério, ou intestino médio (Martinez & van Emden, 1999). Ainda, pode afetar diretamente, as células dos músculos do canal alimentar, diminuindo a frequência de contrações e aumentando a flacidez muscular, como observado para o gafanhoto *L. migratoria* (Mordue et al., 1985). Conseqüentemente, o crescimento e desenvolvimento dos insetos, ficam comprometidos.

A atividade da azadiractina como reguladora do crescimento, foi demonstrada em uma ampla variedade de insetos, e, está mais relacionada com sua interferência no sistema neuroendócrino. Os hormônios da ecdise (ecdisona e 20-hidroxi-ecdisona), e o hormônio juvenil, são os principais hormônios envolvidos na regulação do crescimento. A interferência na síntese e liberação desses hormônios prejudica a ecdise, afetando especialmente larvas e ninfas de insetos, que dependem desse processo para se desenvolver e crescer. Os efeitos causados pela ação neurohormonal da azadiractina, dependem da espécie de inseto, e da concentração utilizada, resultando em várias alterações no crescimento e desenvolvimento dos insetos: pode haver completa inibição da ecdise e esta não se iniciar; a ecdise pode ser interrompida, em qualquer uma das fases, causando a morte do inseto; a ecdise pode ser incompleta, produzindo indivíduos com características intermediárias, e, ainda pode ocorrer uma ecdise imperfeita, causando deformidades de diversas naturezas (Mordue & Nisbet, 2000), prejudicando a alimentação, a locomoção, e até a capacidade do inseto de se prender aos ramos e folhas da planta onde se alimenta.

A capacidade reprodutiva de várias espécies de insetos é afetada pela azadiractina, tanto em tratamentos no estágio larval, como na fase adulta. Em lagartas de *A.gemmatalis* (lagarta-da-soja), pulverizadas com óleo emulsionável de neem, concentrações acima de

0,2%, causaram uma leve redução na fecundidade das fêmeas adultas, e, sua fertilidade foi drasticamente afetada, em concentrações iguais ou superiores a 0,5%, não se observando germinação de ovos. O composto parece afetar importantes processos relacionados à maturação reprodutiva tanto de machos, como de fêmeas, retardando o início do acasalamento e do período de postura. Entretanto, muitos aspectos relacionados à ação dessa substância sobre a reprodução dos mesmos, ainda precisam ser esclarecidos (Martinez, 2002).

Outro fator positivo da azadiractina e que, apesar de ser ativa frente a um enorme espectro de insetos, praticamente não afeta os predadores naturais dos mesmos (Stone apud Viegas Junior, 2003).

A *Melia azedarach* é uma planta que contém substâncias ativas já comprovadas contra insetos. Em 1946, a utilização de extratos de cinamomo já era recomendada para a proteção de culturas contra ataque de gafanhotos no Brasil (Lepage et al., 1946). Os estudos com essa meliácea foram retomados a partir da década de 80 e têm-se intensificado nos últimos anos, não apenas em relação a sua ação inseticida, mas também em relação à sua composição química. Muitos compostos já foram isolados tais como: melianona, melianol, meliantrol, meliatina, geduína, oquinolídeos, nimbolidim, nimbolinim, 1-desacetilnimbolinim, meliatoxinas, derivados de vilasinina, meliacarpina, sendamina, nimbolina e quinolídeos e azedaracol (INIFAT, apud Martinez, 2002). As sementes de cinamomo produzem 37,8% de óleo, que solidifica a 18°C, e corresponde a apenas 7% do peso total do fruto.

Os efeitos da *Melia azedarach* vêm sendo avaliados no controle de insetos da agricultura e insetos de interesse na saúde pública. Salles et al. (1999), demonstrou a ação inseticida de extratos obtidos de frutos de *Azadirachta indica* e *Melia azedarach* sobre a mosca-das-frutas (*Anastrepha fraterculus*). Houve redução da postura e do desenvolvimento larval e pupal do inseto. As larvas morreram sem conseguir fazer a ecdise, as pupas apresentaram má formação e os adultos não conseguiram expandir normalmente suas asas. Os dois extratos vegetais demonstraram efeito inseticida sobre diferentes estágios do inseto. O efeito inseticida da *Melia azedarach* também foi pesquisado para o controle do vetor da dengue, o mosquito *Aedes aegyptii*. Nessa pesquisa foi utilizado o extrato etanólico de sementes trituradas do cinamomo para matar larvas do mosquito. O ensaio de letalidade obedeceu ao rigor de procedimento determinado pela OMS - Organização Mundial da Saúde - e o resultado foi positivo, não havendo evolução morfogenética da larva, devido à inibição da síntese de quitina, componente do exoesqueleto do inseto. A geração de tecnologia social nesse caso, também é um aspecto positivo, já que qualquer dona-de-casa ou pequeno agricultor pode reproduzir o experimento (Fontana, 2003). A atividade acaricida da *Melia*

azedarach foi demonstrada em pesquisa realizada pelo Instituto Biológico de São Paulo, onde foram realizados testes para verificar a atividade acaricida de alguns extratos vegetais aquosos, para o controle do ácaro rajado (Tetranychus urticae), considerado um dos ácaros de maior importância em todo o mundo. O extrato de Melia azedarach teve uma eficácia de 77,31% no controle do ácaro demonstrando um bom potencial acaricida (Potenza, 1999). Extratos aquosos de sementes de cinamomo adicionados à dieta da lagarta-do-cartucho causaram mortalidade acentuada das lagartas (Hernández & Vendramim, 1996,1997). Em pesquisas posteriores, esses autores observaram que o cinamomo também reduziu o consumo alimentar da lagarta e a eficiência de conversão do alimento ingerido, afetando o seu crescimento e desenvolvimento. O extrato aquoso dos frutos do cinamomo a 1% também ocasionou elevada mortalidade (97%) na traça-das-crucíferas (Plutella xylostella) (Torres et al., 2001). O extrato aquoso das folhas do cinamomo a 0,1%, afeta a traça-do-tomateiro (T. absoluta), tendo-se obtido uma mortalidade de 30% das lagartas (Brunherotto & Vendramim, 2001). Carvalho & Castro (1987), testaram extratos de cinamomo no controle da vaquinha do feijoeiro, Diabrotica speciosa. Os extratos de folhas obtidos por prensagem e extrato aquoso da polpa de frutos (25 frutos/100ml água) causaram respectivamente, 89% e 97,5% de mortalidade; o extrato de folhas reduziu o consumo a 8% e o extrato de polpa suprimiu totalmente o consumo alimentar (Carvalho & Castro, 1987). Nesse trabalho, verificou-se ainda que, a ação fagoinibidora dos extratos de cinamomo, se reduz com o tempo após a aplicação, sendo que a partir do quinto dia da aplicação, o efeito fagoinibidor se reduz, e o consumo foliar aumenta significativamente.

A mosca branca (*Bemisia tabaci*), espécie de grande importância econômica e difícil controle, também foi afetada por extratos de cinamomo. A pulverização de extratos de folhas, a 50% (p/v), sobre feijoeiros, reduziu a oviposição em 1/3, durante oito dias (Martinez, 2002). O cinamomo também causou mortalidade de ovos de *B. tabaci* biótipo B, obtendo-se até 58% de mortalidade quando se utilizou o extrato aquoso de frutos verdes a 3% (p/v), e 47,3% de mortalidade quando se utilizou extrato de folhas (Souza & Vendramim,, 2001). Sobre ninfas, o extrato aquoso de frutos verdes alcançou 55,1% de mortalidade, e o de folhas, 35,3%. O extrato de frutos maduros não afetou a sobrevivência da mosca branca.

Segundo Martinez (2002), quando se utiliza inseticidas vegetais, é importante avaliar se os extratos obtidos nos diversos períodos do ano têm ação semelhante, para que se possa recomendar a época correta de coleta do material para preparo dos extratos. A atividade fagoinibidora de diversas estruturas do cinamomo (folhas, frutos verdes, em transição para maduros e maduros) foi avaliada sobre a vaquinha (*Diabrotica* spp), em diversas épocas,

durante um ano. Observou-se que a ação fagoinibidora causada pelas folhas se reduz durante os períodos de produção de frutos, indicando uma possível redução na concentração dos compostos ativos nas folhas.

Embora a atividade inseticida da azadiractina e outros componentes das plantas da família Meliaceae já tenha sido comprovada, poucos trabalhos foram realizados sobre os efeitos dessas substâncias sobre os carrapatos. Na prática, o cinamomo, particularmente, vem sendo recomendado em receitas artesanais para controle desse parasito (Abreu Júnior, 1998, Burg & Mayer, 2001, Garcia & Lunardi 2001).

Sobre os efeitos da Melia azedarach sobre o Boophilus microplus, especificamente, foram encontradas duas referências. Borges et al. (2003), verificaram os efeitos da Melia azedarach sobre larvas e fêmeas ingurgitadas de Boophilus microplus. Foram utilizados frutos maduros que, após secos e triturados, foram submetidos à extração por percolação a frio utilizando diferentes solventes (hexano, clorofórmio e etanol), e através da extração Soxhlet, a quente. As larvas e fêmeas ingurgitadas foram imersas em concentrações decrescentes de 0,25% a 0,015% de cada um dos extratos. A eficácia do tratamento contra fêmeas ingurgitadas foi calculada medindo a produção de ovos e sua viabilidade. As larvas tinham entre sete e 22 dias e o percentual de mortalidade foi avaliado 24, 72 e 168 horas após o tratamento. No caso das larvas, os mais altos índices de mortalidade foram observados nos extratos de clorofórmio (100%) e éter de petróleo (98%). A mortalidade foi tempo dependente, com maiores índices observados na leitura após 168 horas e nas concentrações mais altas. Da mesma forma, os extratos com hexano e clorofórmio, mostraram mais alta eficácia contra fêmeas ingurgitadas (variando de 14 a 100%) do que com o extrato etanólico (variando de 0 a 46%). Os diferentes extratos de *Melia azedarach*, não mataram as fêmeas adultas, mas inibiram parcial ou totalmente a produção de ovos e a embriogênese. Alguns ovos eram atrofiados, mas até mesmo os ovos com aparência normal falhavam na incubação. Nos insetos, a M. azedarach tem mostrado atuação fagoinibidora, reguladora do crescimento, ação repelente e causadora de alterações reprodutivas (Cabral et al, 1996). Segundo Borges et al (2003), os efeitos observados nesse trabalho contra larvas do Boophilus microplus, parecem mais relacionados, com o efeito acaricida, já que, alta proporção de mortalidade foi observada 24h após o tratamento com extrato hexânico. Foi evidenciado nesse trabalho, que os melhores resultados, foram obtidos com o solvente apolar (hexano), e, com polaridade intermediária (clorofórmio). Isso pode ser atribuído, aos componentes presentes nesses extratos (esteróides e terpenóides), demonstrados pela técnica da cromatografia.

Abdel-Shafy & Zayed (2002), verificaram a eficácia de um produto comercial a base de neem, com 5% de azadiractina em sua formulação, sobre larvas do ixodídeo *Hyalomma* anatolicum excavatum. Esse produto, só causou mortalidade de 100% das larvas nas concentrações acima de 6,4%. Mortalidade de ninfas e adultos não ingurgitados, e 0% de eclodibilidade dos ovos, só foram obtidos com concentrações de 12,8%. No trabalho de Ndumu (1999), extratos da semente de neem, testados contra larvas do ixodídeo *Amblyomma* variegatum, só causaram alta taxas de mortalidade com o óleo puro.

Os resultados obtidos com essas duas meliáceas, no controle de carrapatos, quando comparados, parecem indicar, que a *Melia azedarach*, é mais eficiente acaricida que a *Azadirachta indica*, embora esses resultados possam ser atribuídos à sensibilidade individual do carrapato, ou, devido a forma de extração dos compostos ativos.

Souza et al. (2004), testaram o efeito de diversas plantas, entre elas, a *Melia azedarach*, no controle do carrapato bovino. Na preparação do extrato, foram utilizadas 60g de folhas, maceradas em uma solução contendo 500ml de álcool e 500ml de água. Foram testadas três diluições: 1:50; 1:25 e 1:12,5. Não se verificou eficácia significativa do extrato hidroalcoólico das folhas de *M. azedarach*, sobre teleóginas de *B. microplus*.

Conforme o exposto, os resultados de pesquisas desenvolvidas com a *M. azedarach*, evidenciam uma considerável atividade inseticida. Por se tratar de um extrato vegetal, entretanto, existem influências de muitas variáveis, como parte da planta utilizada, localização geográfica, época do ano em que foi coletada, veículo extrator, concentração utilizada, além, da sensibilidade individual de cada espécie de inseto ou artrópode.

Segundo Viegas Junior (2003) a eficiência e seletividade observada nos compostos isolados da família Meliaceae, e outros inseticidas naturais, mostram a grande contribuição que a natureza pode fornecer, o que justifica a urgência de se buscar alternativas aos produtos sintéticos.

4.3. Utilização de extratos vegetais no controle do *Boophilus microplus*

Diversas plantas têm sido testadas no Brasil e no mundo para verificação de seu efeito sobre algumas espécies de carrapatos, entre eles o *Boophilus microplus*.

O crescente problema de resistência e a necessidade de produtos menos tóxicos para o controle desse parasito, principalmente nos rebanhos leiteiros, tem acelerado a pesquisa de acaricidas vegetais no mundo inteiro. Como já detalhado antes, os últimos produtos lançados no mercado, na sua maior parte tem restrição para utilização em animais em lactação, justamente onde o problema é mais freqüente e mais sensível.

Assim, a pesquisa de extratos vegetais para o controle do *Boophilus microplus* é de extrema importância, aliada a outras medidas, obviamente. As pesquisas realizadas nessa área têm sido feitas a partir de plantas com atividade inseticida já reconhecida ou a partir do conhecimento de agricultores e populações nativas, sobre os prováveis efeitos inseticidas de plantas regionais.

Pesquisas nessa área vêm sendo desenvolvidas, principalmente, em países de regiões tropicais, normalmente a partir de plantas locais. Nesses países, a utilização de extratos vegetais no controle de pragas e insetos era de uso comum, antes do advento dos produtos sintéticos.

No Brasil, diversas plantas vêm sendo pesquisadas para o controle do Boophilus microplus, sendo que alguns resultados foram bastante satisfatórios. Costa Júnior et al (2002), pesquisaram a eficácia do Derris urucu (timbó) contra teleóginas do Boophilus microplus conforme metodologia proposta por Drummond et al. (1973). Foram testadas cinco diferentes concentrações (1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0mg/ml), utilizando como solvente a água destilada. Os rotenóides extraídos do timbó mostraram-se eficazes nas concentrações de 7,5 e 10,0 mg/ml, sendo a porcentagem de eficácia de 92,4 e 97,8% respectivamente. As grandes concentrações necessárias para se produzir efeitos tóxicos via oral com o Derris urucu, em mamíferos e que exigem o emprego de técnicas farmacológicas para obtenção de tais efeitos, revelam a segurança do produto testado. Chagas et al (2002) pesquisaram o efeito do monoterpeno 1,8cineol presente no óleo essencial do capim-gordura (Melinis minutiflora) e também nas folhas de várias espécies de eucaliptos (Eucalyptus spp.) Os monoterpenos são metabólitos secundários que podem causar interferência nas funções bioquímicas e fisiológicas de insetos herbívoros (Brattsten, 1998). Segundo Prates (1998), o monoterpeno 1,8-cineol está presente no óleo essencial do capim-gordura a uma concentração de 10,6%, sendo capaz de matar 100% das larvas do carrapato Boophilus microplus em 5 minutos. A concentração dessa substância nas folhas de eucalipto pode ser bem maior que a presente no capim gordura, variando conforme a espécie: Eucalyptus citriodora (55%), E. globulus (71%), E. punctata (66%), E. maculata (51%), E. maidesii (70%) e E. smithii (84%). Nesse estudo foi pesquisada a ação acaricida de três espécies de eucaliptos (E. citriodora, E. globulus e E. staigeriana), principais espécies que têm seus óleos essenciais comercializados no Brasil. Constatou-se que o óleo essencial de E. citriodora e E. staigeriana mataram 100% das larvas a uma concentração de 10% e E. globulus a 20%. Com relação às fêmeas ingurgitadas, o óleo essencial de E. citriodora teve eficácia máxima a 25%, E. globulus a 10% e E. staigeriana a 15%. Foram testados nesse trabalho dois concentrados emulsionáveis, sendo o primeiro composto por 90% de óleo de eucalipto e 10% de tensoativos. Como a ação desse concentrado foi pequena sobre as fêmeas ingurgitadas, produziu-se um segundo concentrado para ser testado contra esse estágio: 25% do óleo, 65% de xilol e 10% dos mesmos tensoativos. Essa formulação é semelhante à da maioria dos carrapaticidas comerciais, tanto em relação ao solvente, quanto às concentrações. Com o primeiro concentrado, no caso das fêmeas, somente obteve-se eficácia máxima a uma concentração de 40%. Já o segundo concentrado teve eficácia máxima sobre as fêmeas a uma concentração de 12,5% para E. globulus e de 6,2% para E. staigeriana De maneira geral, fazendo-se uma média da ação dos óleos sobre os dois estágios, o óleo essencial de E. citriodora teve eficácia máxima a uma concentração média de 17,5% (10% para larva e 25% para fêmea), E. globulus a 15% (20 e 10%) e E. staigeriana a 12,5% (10 e 15%). Segundo Odhiambo (1982), para um bioativo funcionar, precisa ser hidrofílico e lipofílico para que seja absorvido, pois todos os artrópodos têm esses dois meios de absorção. Quando um produto, como um óleo natural, está muito concentrado, ocorre o fenômeno físico chamado apassivação, onde, inicialmente, o produto é absorvido, mas depois forma um filme apassivador, impedindo a passagem do óleo. Quando está mais diluído esse filme não é formado e, a penetração ocorre mais lentamente, porém de maneira muito mais devastadora. Os óleos essenciais que demonstraram uma maior eficiência (E. globulus e E. staigeriana) foram transformados em concentrados emulsionáveis e patenteados.

Saueressig (2000), também utilizando a mesma metodologia, pesquisou o efeito das folhas de neem (*Azadirachta indica*), de frutos maduros de sucupira (*Pterodons pubescens*, Benth), das folhas de sisal (*Agave* sp.) e ainda o neem comercial. As extrações das diferentes plantas foram feitas com etanol e as concentrações testadas variaram de 0,1 a 5%. A eficácia dos extratos das plantas foi calculada de acordo com a literatura (Drummond, 1973). Nenhum dos extratos testados foi efetivo no controle do *Boophilus microplus* Os diferentes extratos

não apresentaram atividade ovariostática, nem ação antiembriogênica, já que a postura dos ovos e a eclosão das larvas não foram inibidas. No caso do extrato de sucupira, onde foi necessária a adição de emulsificantes (utilizaram-se emulsificantes naturais: leite e óleo de soja) com a água, formaram-se grumos na superfície das fêmeas submersas, devendo ser avaliadas outras formas de diluição do extrato concentrado de sucupira. Em Santa Catarina Souza et al. (2004), testaram a eficácia de algumas plantas da região e também de folhas e sementes de neem (Azadirachta indica) obtidos comercialmente. Foram realizados testes in vitro através da imersão de teleóginas de Boophilus microplus em extratos de Melia azedarach (cinamomo), Strychnodendron adstringens (barbatimão), Derris guianensis (timbó), Solanum eryanthum (fumo-bravo), Maclura tinctoria (pau-de-fogo) e Nicotiana tabacum (fumo), obtidos de forma artesanal (60g de folhas, 500ml de álcool e 500ml de água) e Ateleia glazioviana (cinamomo-bravo), extraída a partir de 100g de folhas frescas, 100ml de álcool e 50ml de água. Esses extratos foram testados nas diluições de 1:50, 1:25 e 1:12,5. Os extratos de folhas e sementes de neem foram diluídos a 1% e testados em duas repetições. Para os demais extratos foram feitas cinco repetições, com exceção da Ateleia glazioviana, onde foram realizadas quatro repetições. Não foi verificada eficácia significativa dos extratos testados sobre teleóginas de Boophilus microplus.

Na Nigéria, Mgbojikwe e Okoye (2001), testaram o extrato aquoso de Adenium obesum (Rosa-do-deserto), arbusto da família Apocynaceae em dois gêneros de carrapatos de ocorrência comum em bovinos nessa região, o Boophilus e o Amblyomma. Para esses autores, uma das principais vantagens na utilização de extratos vegetais é que, ao contrário dos produtos sintéticos, eles podem ter mais de um princípio ativo, que agem sinergicamente potencializando a atividade inseticida da planta e ainda dificultando a capacidade dos carrapatos tornarem-se resistentes aos seus efeitos. Os resultados obtidos nessa pesquisa foram positivos, apontando o extrato aquoso de Adenium obesum como um potente acaricida, com eficácia de 96,72% e 89,50% sobre as larvas de Amblyomma e Boophilus respectivamente. Com relação às fêmeas ingurgitadas, os efeitos sobre a postura foram insignificantes, mas a viabilidade dos ovos foi bastante prejudicada, com 85,75% de ovos inviáveis para o Amblyomma e 75,10% para o Boophilus. Esse trabalho confirma também a opinião de outros pesquisadores, de que o Amblyomma é mais suscetível aos efeitos tóxicos dos acaricidas em geral. Outro dado interessante é o efeito da Adenium obesum sobre a capacidade reprodutiva das fêmeas ingurgitadas, afetando a eclosão dos ovos, visto que, a maior parte dos acaricidas convencionais, comumente, não apresenta esse efeito sobre a produção de ovos. Ainda na Nigéria, Ndumu et al (1999), testaram a toxicidade do óleo da semente de neem (*Azadirachta indica*) sobre larvas do carrapato *Amblyomma variegatum*. Esse carrapato, assim como o *Boophilus* pertence à família Ixodidae e parasita bovinos, cabras e ovelhas na Ásia e na África. O neem é uma planta de crescimento vigoroso nas regiões desérticas ou de clima mais seco, estando, portanto bem adaptada a essa região. Segundo esse autor, entre os inseticidas disponíveis no mercado nessa região, além dos organofosforados e carbamatos estão ainda os derivados de organoclorados, produtos extremamente tóxicos. Os resultados obtidos nesse trabalho mostram que a mortalidade das larvas é dependente do tempo e concentração. Os resultados obtidos para as diferentes concentrações foram de 33,3% (56h), 66,7% (48h) e 100% (36h). Uma vantagem apontada por esses autores, em relação à utilização do neem, é que o mesmo possui ainda propriedades fungicidas e bactericidas, auxiliando na cicatrização dos ferimentos produzidos pela sugadura dos carrapatos, que muitas vezes são porta de entrada para outras infecções.

Na Etiópia, Regassa (2000) pesquisou o efeito de diversos extratos de plantas regionais para o controle do *Boophilus decoloratus*. As plantas testadas foram *Euphorbia obovalifolia*, *Fícus brachypoda*, *Phytolaca dodecandra*, *Vernonia amygdalina*, *Solanum incanum*, *Lepidium sativum*, *Calpurnea aurea* e *Capsicum* spp. Preliminarmente estas plantas foram testadas *in vitro* sobre fêmeas ingurgitadas, sendo que os extratos de *Capsicum* spp, *E. obovalifolia*, *S. incanum* e *F. brachypoda* ocasionaram um índice de mortalidade variando de 30 a 100%. Subseqüentemente foi feito o tratamento *in vivo* com essas preparações, utilizando bovinos naturalmente infestados, sendo feita uma aplicação por dia durante cinco dias consecutivos. Os extratos de *E. obovalifolia* e *F. brachypoda* reduziram acima de 70% a carga parasitária dos bovinos.

Embora alguns trabalhos não tenham logrado êxito devido a dificuldades metodológicas, ou outros fatores, eles representam um grande avanço e servem como subsídio para discussões e futuras pesquisas.

Aspecto importante nas pesquisas nessa área é a busca de soluções para problemas regionais a partir de insumos locais, contribuindo para a sustentabilidade dos sistemas de produção. Segundo Van de Sande (1994), o desenvolvimento de tecnologias durante a revolução verde foi um processo padronizado e unidirecional (dos pesquisadores para os agricultores), e agora ele precisa ser bi-direcional. O desenvolvimento tecnológico deve permitir respostas a problemas regionais específicos, dependendo em grande parte, do estoque de conhecimentos acumulados ao longo do tempo pelos agricultores e populações nativas sobre espécies e variedades nativas, plantas medicinais, etc.

As pesquisas com produtos de origem vegetal, além de resgatarem práticas utilizadas pelas antigas populações locais, contribuem para a viabilização das propriedades rurais e para o desenvolvimento local. Dessa forma, deve-se procurar trabalhar com plantas locais, e, de preferência com extratos que possam ser fácil obtenção e uso pelos agricultores.

Na pesquisa com produtos naturais, além dos aspectos técnicos, merecem uma discussão mais ampla os aspectos legais. Para Santos (1996), os produtos da diversidade biológica, na forma em que ocorrem na natureza, são considerados descobertas, não atendendo, portanto, ao requisito de inventividade necessário para a obtenção de patentes. Entretanto, patentes vêm sendo concedidas para inovações tecnológicas relacionadas com o todo ou parte dos seres vivos, transformados geneticamente ou não, desde que apresentem aplicação industrial definida, sejam considerados novos e tenham sido plenamente descritos.

5. Hipótese

Extratos de *Melia azedarach* determinam efeitos deletérios sobre postura e eclosão dos ovos de *Boophilus microplus*.

6. Objetivo geral

Observar o efeito *in vitro* dos diferentes extratos da *Melia azedarach* e suas respectivas concentrações sobre a postura e eclosão dos ovos de *Boophilus microplus*.

7. Objetivos específicos

- Desenvolver metodologia de obtenção de extratos de *Melia azedarach*, de fácil reprodução pelos agricultores.
- Verificar o efeito de diferentes tipos de solventes e concentrações dos extratos de *Melia azedarach* sobre a postura e eclosão dos ovos em teleóginas do *Boophilus microplus*.

.

8. Materiais e método.

Este trabalho foi realizado na região do Médio Vale do Itajaí-SC, que por suas características climáticas apresenta grandes problemas de infestações parasitárias. O município de Blumenau, local onde se procedeu à coleta dos parasitos, está localizado na Região Nordeste de Santa Catarina. Segundo dados do IPPUB, a temperatura média mensal do município é de 20,1° e a umidade relativa é de 84%, condições excelentes, portanto para o desenvolvimento do *Boophilus microplus*. A realização do trabalho foi possibilitada por um acordo entre a Prefeitura Municipal de Blumenau e a Estação Experimental da Epagri de Itajaí, tendo ainda a colaboração do Colégio Agrícola de Camboriú.

8.1. Coleta e preparação dos extratos das folhas e frutos da Melia azedarach

Folhas e frutos da *Melia azedarach* foram coletadas na Estação Experimental da Epagri em Itajaí, no mês de março de 2005, em uma árvore adulta localizada em área de bosque, com exceção dos frutos utilizados na preparação do extrato aquoso, que foram coletados no mês de julho de 2004.

Após a coleta foi realizada uma limpeza do material, separando folhas e frutos dos galhos e outros materiais estranhos. O material selecionado foi desidratado em estufa secadora com fluxo de ar contínuo com temperatura média de 40°, com exceção das folhas utilizadas no preparo do extrato aquoso que eram frescas. As folhas permaneceram na estufa por um período de um dia e os frutos durante dois dias. Antes de serem secos, os frutos foram moídos em moinho de faca, para facilitar a secagem uniforme.

Foram utilizados como extratores o hexano e água destilada. A extração das folhas e frutos do cinamomo foi feita separadamente, gerando quatro diferentes extratos: extrato hexânico do fruto, extrato hexânico das folhas, extrato aquoso do fruto e extrato aquoso das folhas.

A proporção dos veículos extratores e das diferentes partes da planta foi a seguinte:

♦ Frutos:

Extrato hexânico - 1:1

Extrato aquoso – 1:1

♦ Folhas:

Extrato hexânico – 1:2,5

Extrato aquoso – 1:3,2

Os frutos e folhas do cinamomo ficaram em maceração por 48 horas. A proporção de massa e volume foi diferente para frutos e folhas, porque no caso das folhas houve necessidade de maior quantidade do veículo extrator para que estas ficassem totalmente cobertas pelo líquido. Devido à escassez de material, mais especificamente de frutos, houve necessidade de recorrer a um lote anteriormente colhido, para preparação do extrato aquoso. Não foi objetivo deste trabalho analisar esta variável.

No caso dos extratos hexânicos foi necessária fazer a evaporação do solvente, processo realizado em capela, sendo o mesmo acelerado com a elevação da temperatura a 40°C, por aproximadamente 24 horas.

Para possibilitar a diluição dos extratos obtidos com a água destilada para preparação das diferentes diluições a serem testadas, no caso dos extratos hexânicos, foi utilizado um óleo dispersante.

No caso do extrato aquoso não foi feita a evaporação do veículo extrator, já que o mesmo é inócuo ao carrapato. Após a maceração o mesmo foi agitado e filtrado em tecido fino. A etapa seguinte, após a preparação dos extratos, foi a preparação das quatro diluições com as quais se trabalhou, com as concentrações de 0,2; 0,1; 0,05 e 0,025%.

Foi realizada uma análise fatorial, sendo três os fatores avaliados: duas partes da planta (frutos e folhas), dois veículos extratores (hexano e água) e quatro concentrações (0,20, 0,10, 0,05 e 0,025%), totalizando 16 tratamentos.

Para avaliar os diferentes tratamentos com o controle, foi calculada a percentagem desse controle (100%), com os demais tratamentos.

8.2. Teste *in vitro* com os parasitos

As teleóginas foram coletadas em Blumenau, em 10 propriedades rurais. De forma geral, o controle de ectoparasitos é realizado na sua grande maioria sem muito critério. Esse controle é feito exclusivamente através de aplicação de carrapaticidas, determinado pelo grau de infestação dos animais, sem nenhuma medida de controle estratégico, sendo comum a troca indiscriminada de produtos comerciais e, desconhecimento dos princípios ativos que os compõe.

As teleóginas foram levadas até a Estação Experimental de Itajaí em frascos de vidro com a tampa perfurada, sendo as mesmas coletadas 24h antes do início do trabalho de laboratório. Uma a uma, as teleóginas foram selecionadas, as maiores, mais ágeis e distribuídas nas placas de Petri até totalizar 10 teleóginas por placa. Trabalhou-se com quatro diluições para cada extrato e três repetições. O grupo controle foi o mesmo para os diferentes extratos, totalizando 72 placas. As teleóginas foram pesadas, ajustando-se o peso das mesmas, pela substituição de algumas teleóginas de maior ou menor peso, com o objetivo de uniformizar o peso dos grupos. O peso médio das teleóginas foi de 1,78g. As placas foram identificadas com informações referentes ao extrato, diluição do mesmo e número da repetição.

Depois de preparadas as diluições, as teleóginas foram imersas durante cinco minutos nas respectivas diluições, depois secas em papel toalha e novamente colocadas nas placas de Petri, para então serem levadas à câmara climatizada regulada com temperatura de 27°C e umidade relativa de 80%, onde permaneceram durante 15 dias.

No décimo quinto dia, o material foi retirado da estufa e procedeu-se então a pesagem dos ovos de cada uma das placas. A massa de ovos foi pesada em balança com precisão de 0,01g e acondicionada em tubos de ensaio, previamente identificados e levados novamente à estufa, nas condições anteriormente descritas, por um período de quinze dias. Após esse período, os tubos foram retirados da estufa para observação da eclosão dos ovos. Esse processo foi feito visualmente, calculando-se a porcentagem de eclosão dos ovos.

Para calcular o Índice de Reprodução (IR) e a eficácia dos extratos foram utilizadas as fórmulas descritas a seguir, propostas por Drummond et al. (1973).

Índice Reprodutivo

IR= peso dos ovos x % de eclosão x 20.000⁴

Peso das teleóginas

Porcentagem de Eficácia:

% de eficácia = (IR controle – IR tratado) x 100

IR controle

Na análise estatística foi utilizado o teste de Tukey, sendo os resultados descritos a seguir.

8.3. Resultados – Anexo 2 (Tabela 6 e Tabela 7).

 $^{\rm 4}$ Estimativa do número de larvas presentes em 1g de ovos.

9. Resultados e discussão

Embora este trabalho tivesse inicialmente o objetivo de testar três diferentes veículos extratores - água, etanol e hexano - ocorreu um problema na preparação dos extratos etanólicos sendo os mesmos inutilizados. Os extratos foram novamente preparados, mas as teleóginas coletadas para o teste, apresentaram uma diferença de peso muito grande em relação às anteriores, interferindo no resultado da análise. Tendo em vista que os dados obtidos nos extratos etanólicos apresentaram fortes discrepâncias, optou-se por suprimir esses tratamentos para não comprometerem o resultado final do trabalho.

A escolha da água e do álcool como veículos extratores, foi por serem veículos de fácil obtenção, viabilizando seu uso pelos agricultores. Optou-se por trabalhar com o hexano também, pois devido à sua polaridade, mostrou-se o melhor veículo extrator, em pesquisa semelhante realizada por Borges et al (2003)

O efeito dos tratamentos sobre o peso dos ovos das teleóginas é apresentado na tabela 2. Observa-se que na concentração de 0,20%, não houve diferença significativa entre fruto e folha, no peso dos ovos, nos extratos aquosos e hexânicos. Já na concentração de 0,10%, os extratos hexânico e aquoso dos frutos, tiveram eficiência superior comparados aos extratos hexânico e aquoso das folhas. Na Azadirachta indica, a azadiractina concentra-se principalmente nos frutos, sendo que nas outras partes da planta pequenas quantidades são encontradas (Ermel, 1987). É provável que o mesmo ocorra com a *Melia azedarach*, já que os frutos apresentaram resultado melhor, fato observado também em outros trabalhos que utilizaram extratos de folhas e frutos desta planta (Carvalho & De Castro, 1987; Souza e Vendramim, 2001). Segundo Martinez (1990), o efeito causado pelas folhas se reduz durante os períodos de produção de frutos, indicando uma possível redução na concentração dos compostos ativos nas folhas. Segundo esta mesma autora, é importante, quando se trabalha com inseticidas naturais, avaliar se extratos obtidos nos diversos períodos do ano têm ação semelhante, para que se possa recomendar a época correta de coleta do material para preparação dos extratos. Nas demais concentrações, não houve diferença significativa entre os diferentes extratos. Com relação às diferentes concentrações, dentro de cada extrato, observou-se que no extrato hexânico e aquoso do fruto, a concentração de 0,10% apresentou resultado significativamente superior às demais concentrações. Não houve diferenças significativas nas diferentes concentrações do extrato hexânico e aquoso das folhas. No tratamento com extrato aquoso do fruto, as concentrações de 0,20 e 0,10% foram significativamente superiores às demais concentrações. Com o extrato aquoso das folhas, a concentração de 0,10% teve resultado significativamente inferior aos demais tratamentos com o mesmo extrato. Entre os diferentes tratamentos e o controle (100%), este só difere significativamente dos tratamentos com extrato hexânico e aquoso dos frutos, nas concentrações de 0,20 e 0,10%. Os efeitos negativos da azadiractina sobre a reprodução, não estão completamente elucidados, mas alguns trabalhos têm demosntrado que essa substância apresenta grande toxicidade e decréscimo na produção e fertilidade de ovos (Dimetry et al, 1993). Entretanto, neste trabalho e outros (Salles & Rech, 1999) utilizando extratos de *Melia azedarach* o efeito sobre a produção de ovos não foi significativo.

Tabela 2. Efeito de diferentes concentrações dos extratos hexânico e aquoso de frutos e folhas de *Melia azedarach* sobre o peso (g) de ovos das teleóginas de *Boophilus microplus*.

Concentração (%)	Extrato hexânico		Extrato aquoso	
	Fruto	Folha	Fruto	Folha
Controle	0,72	0,72	0,72	0,72
	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)
0,025	0,74aA	0,72aA	0,67aA	0,70AB
	(100%)	(100%)	(93,05%)	(97,22%)
0,05	0,75aA	0,75aA	0,70aA	0,73AB
	(100%)	(100%)	(97,22%)	(100%)
0,10	0,57bB	0,78aA	0,58bB	0,79aA
	(79,16%)	(100%)	(80,55%)	(100%)
0,20	0,76aA	0,76aA	O,54aB	0,64aB
	(100%)	(100%)	(75,00%)	(88,88%)

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas(dentro de cada extrato) e maiúsculas nas colunas (dentro de cada concentração) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os valores acima do controle foram considerados 100%.

O efeito dos tratamentos sobre a eclosão dos ovos é apresentado na tabela 3. Observa-se que na concentração de 0,20%, a percentagem de eclosão foi menor nos extratos obtidos dos frutos de cinamomo. Na concentração de 0,10%, o extrato aquoso do fruto teve uma percentagem de eclosão significativamente inferior aos demais extratos, na mesma concentração. Nas demais concentrações, não foram verificadas diferenças significativas entre os diferentes extratos. Dentro de cada extrato, nos extratos hexânicos dos frutos e folhas, não se observaram diferenças significativas, nas diferentes concentrações. No extrato aquoso do fruto, nas concentrações de 0,20 e 0,10%, a percentagem de eclosão foi, significativamente,

inferior às demais concentrações. No tratamento com extrato aquoso das folhas, não houve diferenças significativas entre as diferentes concentrações. No tratamento com extrato aquoso do fruto, a média foi de 0,74% independente das concentrações, sendo significativamente inferior aos demais tratamentos.

Em pesquisa realizada por Borges et al (2003), sobre os efeitos da Melia azedarach sobre larvas e teleóginas de Boophilus microplus, foi observado que, com solventes com menor polaridade (hexano e clorofórmio), os extratos de Melia azedarach apresentaram melhor eficácia, decrescendo a mesma com o aumento da polaridade dos solventes. Neste trabalho, entretanto, o extrato aguoso, de maior polaridade mostrou-se mais eficaz. Os solventes apolares ou com menor polaridade conseguem extrair componentes como esteróides e terpenóides, que têm comprovada ação inseticida. Os resultados obtidos neste trabalho, podem ser devidos às diferentes épocas de coleta dos frutos utilizados no extrato aquoso (julho de 2004) e extrato hexânico (março de 2005). Como foram coletadas em épocas bastante distintas, é provável que haja variação na quantidade de componentes ativos presentes nos frutos. De acordo com Ermel (1987), no caso do neem existe uma grande variação no teor de azadiractina encontrada na semente, dependendo da região de origem e de diferentes árvores. Exemplares de uma mesma espécie, colhidos em épocas diferentes, ou de locais diferentes, não têm necessariamente a mesma atividade biológica. A simples identificação botânica é insuficiente para garantir a atividade medicinal ou inseticida de determinada planta. Ainda que orientada pelas características genéticas da planta, a síntese química das substâncias é controlada por fatores do ecossistema, iluminação, calor, constituição do solo, umidade, etc (Lapa, 1999). Damarla & Gopinathan (2001), afirmam que a quantidade de azadiractina aumenta nos frutos ao longo de seu desenvolvimento, sendo máxima no amadurecimento e durante armazenamento. Com base nessa informação, e, considerando a semelhança entre neem e o cinamomo, é provável que isso aconteça também com os frutos desta planta, considerando que os frutos usados no extrato aquoso estavam armazenados há aproximadamente um ano, quando foram utilizados. Entretanto, conforme se detalha na revisão bibliográfica, no caso de insetos, diversos trabalhos utilizando extratos aquosos de Melia azedarach, obtiveram resultados satisfatórios (Carvalho & Castro, 1987; Hernades & Vendramin, 1996; Potenza, 1999; Torres et al, 2001; Brunherotto, 2001; Souza & Vendramim, 2001).

Quando comparados, os tratamentos da tabela 2 (peso dos ovos) e tabela 3 (% de eclosão), com seus respectivos controles, observa-se que os extratos apresentaram uma eficiência maior sobre a eclosão do que sobre a postura. Estes resultados são similares aos

obtidos por Salles & Rech (1999), que avaliaram a eficiência de extratos aquosos de *Melia* azedarach sobre a mosca Anastrepha fraterculus, onde observou-se que o número médio de ovos não foi significativamente afetado, mas houve redução no número médio de larvas eclodidas.

Tabela 3. Efeito de diferentes concentrações dos extratos hexânico e aquoso de frutos e folhas de *Melia azedarach* sobre eclosão dos ovos das teleóginas de *Boophilus microplus*.

Concentração (%) -	Extrato h	nexânico	Extrato aquoso	
	Fruto	Folha	Fruto	Folha
Controle	0,95 (100%	0,95 (100%)	0,95 (100%)	0,95 (100%)
0,025	0,93aA	0,88aA	0,85aA	0,93aA
	(97,89%)	(92,63%)	(89,47%)	(97,89%)
0,05	0,95aA	0,92aA	0,83aA	0,88aAB
	(100%)	(96,84%)	(87,36%)	(92,63%)
0,1	0,83aA	0,90aA	0,58bB	0,93aA
	(87,36%)	(94,73%)	(61,05%)	(97,89%)
0,20	0,93aA	0,82bA	O,68bB	0,80aB
	(97,89%)	(86,31%)	(71,57%)	(84,21%)

Médide cada concentração) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os valores acima do controle foram cas seguidas da mesma letra minúscula nas linhas (dentro de cada extrato), e maiúsculas nas colunas (dentro onsiderados 100%.

A tabela 4 traz os dados do índice reprodutivo, sendo esses dados obtidos através da fórmula proposta por Drummond et al (1973), anteriormente descrita. O índice reprodutivo expressa os valores finais, relacionados à postura e eclosão dos ovos. Na concentração de 0,20%, não houve diferenças significativas entre os diferentes extratos. Na concentração de 0,10%, nos extratos hexânico e aquoso dos frutos, o índice reprodutivo foi significativamente inferior aos extratos hexânico e aquoso das folhas. Nas demais concentrações, os diferentes extratos não apresentaram diferenças significativas. No tratamento com extrato hexânico do fruto, na concentrações desse extrato. Com relação ao extrato hexânico das folhas, não houve diferença significativa nas diferentes concentrações. No tratamento com extrato aquoso do fruto, as concentrações de 0,20 e 0,10% apresentaram um índice reprodutivo significativamente inferior às demais concentrações. Com relação ao extrato aquoso das folhas, houve diferença na concentrações de 0,20%, sendo o índice reprodutivo nessa concentração, significativamente inferior aos demais tratamentos desse extrato.

O índice reprodutivo é influenciado por vários fatores, sendo os principais a temperatura e umidade relativa do ar. Nos experimentos *in vitro*, esses fatores são controlados, de forma que, se considera que os efeitos sobre o índice reprodutivo estão relacionados apenas aos tratamentos implementados.

A tabela 4 mostra que o Índice Reprodutivo (IR) sofreu interferência negativa nos tratamentos com extrato aquoso do fruto, sendo que a média independente das concentrações foi de 5341,92, significativamente inferior aos demais tratamentos.

Tabela 4. Efeito de diferentes concentrações dos extratos hexânico e aquoso de frutos e folhas de *Melia azedarach* sobre o índice reprodutivo de teleóginas de *Boophilus microplus*.

Concentração	Extrato hexânico		Extrato aquoso	
%	Fruto	Folha	Fruto	Folha
Controle	7817,14)	7817,14	7817,14	7817,14
	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)
0,025	7370,63aA	7197,54aA	6401,35aA	7620,19aA
	(94,32%)	(92,07%)	(81,88%)	(97,48%)
0,05	7737,25aA	7413,80aA	6659,49aA	7360,22aA
	(98,97%)	(94,84%)	(85,19%)	(94,15%)
0,10	5324,59bE	7624,74aA	4100,59bB	8455,90aA
	(68,11%)	(97,53%)	(52,45%)	(100%)
0,20	7636,10aA	6805,58aA	4206,25aB	5797,84aB
	(97,68%)	(87,05%)	(53,,80%)	(74,16%)

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas (dentro de cada extrato) e maiúsculas nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os valores acima do controle foram considerados 100%.

A tabela 5 traz os dados de percentagem de eficácia de cada um dos extratos. Esses resultados são obtidos através de fórmula proposta por Drummond et al (1973), anteriormente descrita. Os extratos hexânico e aquoso dos frutos, na concentração de 0,10% diferem significativamente dos extratos hexânico e aquoso das folhas, sendo a eficácia dos primeiros superior. Nas demais concentrações não houve diferença significativa entre os extratos. No

extrato hexânico das folhas, não se observaram diferenças significativas entre as diferentes diluições. Com relação ao extrato aquoso do fruto, as concentrações de 0,20 e 0,10%, foram significativamente superiores às demais concentrações, havendo uma redução do índice reprodutivo de aproximadamente 50% em relação ao controle. No tratamento com extrato aquoso das folhas, a concentração de 0,20% foi significativamente superior às demais. A maior percentagem de eficácia obtida foi com o extrato aquoso dos frutos na concentração de 0,1%.

Tabela 5. Eficácia das diferentes concentrações dos extratos hexânico e aquoso de frutos e folhas de *Melia azedarch* sobre a postura e eclosão dos ovos de teleóginas de *Boophilus microplus*.

	Extrato hexânico		Extrato aquoso	
Concentração %	Fruto	Folha	Fruto	Folha
0,025	5,71aB	7,93aA	18,11aB	2,52aB
0,05	1,02aB	7,39aA	14,11aB	5,84aB
0,10	31,89aA	2,46bA	47,54aA	0bB
0,20	2,32aB	12,94aA	46,19aA	25,83bA

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas (dentro de cada extrato) e maiúsculas nas colunas (dentro de cada concentração), não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os dados da tabela 5 são coerentes com os das anteriores, mostrando que a maior eficácia obtida foi com o extrato aquoso do fruto, sendo que a média independente das concentrações foi 31,48%, significativamente superior aos demais tratamentos.

Os dados apresentados mostram, com evidência, que os resultados obtidos neste trabalho não foram lineares. Segundo Chagas (2004), em testes laboratoriais com extratos vegetais, é muito comum uma relação não linear, entre concentração e ação do extrato. Acredita-se que isto ocorra em função do processo de extração do princípio ativo e produção do extrato. Segundo Evans (1996), é difícil controlar quimicamente um extrato vegetal, em virtude do grande número de substâncias normalmente presentes. Para garantir a uniformidade de um fitoterápico, é necessário que os produtos intermediários (tinturas, extratos secos, etc), sejam caracterizados através de seus constituintes químicos ou de sua atividade farmacológica. Entretanto, nenhuma das duas alternativas é de fácil e rápida

execução (Lapa et al, 1999), especialmente, nas condições em que se desenvolveu o experimento.

Outro fator que pode ter contribuído para isso e, também para a grande variabilidade observada nas repetições, está relacionado com a origem dos parasitos, já que foram coletados em dez propriedades diferentes, com possibilidade de haver uma sensibilidade diferenciada entre os mesmos (Souza & Ramos, 2005).

Para Chagas (2004), "a validação da eficiência ocorre realmente nos experimentos a campo, onde os fatores ambientais, como temperatura, umidade, pluviosidade, além de fatores inerentes ao hospedeiro, irão influenciar diretamente nos resultados, provocando uma série de testes para se chegar ao ajuste final da fórmula".

Entretanto, a realização de testes laboratoriais, é essencial no início das investigações, para estimar a possibilidade de uso de determinado fitoterápico ou biocida.

10. Conclusão

Com base nos resultados desse trabalho conclui-se que:

A hipótese deste trabalho foi confirmada em parte, já que os extratos de folhas e frutos do cinamomo não foram totalmente eficazes no controle do carrapato.

De modo geral, a eficiência dos extratos dos frutos, independente do veículo extrator, foi superior à eficiência dos extratos das folhas.

O extrato hexânico, apesar de sua maior capacidade de extração de componentes apolares, mostrou-se menos eficaz que o extrato aquoso.

O extrato aquoso dos frutos mostrou-se o mais eficaz no controle do *Boophilus* microplus

11. Considerações finais e recomendações

Embora os resultados deste trabalho não tenham sido positivos, existem numerosos relatos, especialmente de técnicos de campo e produtores, registrando a eficiência de extratos dessa planta. Pode-se supor assim, uma interação microambiental, que torne esses extratos eficientes no controle do carrapato.

Ao contrário do esperado, o extrato aquoso foi mais eficiente que o hexânico, embora isso possa ter acontecido porque os frutos utilizados nos referidos extratos foram coletados em épocas diferentes. Dessa forma, é importante que os trabalhos iniciais de validação de uma planta sejam realizados com material obtido de uma única coleta.

Como nas concentrações mais baixas, observou-se pouca ou nenhuma atividade dos extratos, concentrações mais altas podem ser testadas em novas pesquisas.

O extrato aquoso constitui-se em uma formulação acessível aos criadores, podendo contribuir, aliado a outras medidas de manejo, no controle do carrapato. A determinação dos componentes ativos solúveis em água e sua ação sobre teleóginas de *Boophilus microplus* podem ser testados em trabalhos futuros. Uma vez comprovada essa informação, outros estudos na área agrônomica seriam importantes ainda, para verificar quais fatores ambientais, ontogenéticos, edáficos ou fitotécnicos seriam necessários para maximizar os teores dessa substância (ou grupo de substância) nos frutos.

Embora a percentagem de eficácia tenha ficado muito aquém do que é estabelecido para um carrapaticida ser considerado eficiente, é preciso considerar que, em função dos problemas de resistências existentes hoje, muitos inseticidas sintéticos, estão com um percentual de eficácia semelhante ao apresentado por extratos dessa planta.

Outras pesquisas deverão ser desenvolvidas visando avaliar outros solventes extratores, concentrações, épocas de coleta de frutos e determinação dos componentes mais ativos.

12 - Referências

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, p.89-96, 2002.

ABREU JÚNIOR, H. **Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura: coletânea de receitas**. Campinas: EMOPI, p.15-21/29-33, 115p, 1998.

ALMEIDA, K. **Proteção natural contra o carrapato.** Rev. Ciência Hoje, vol.34, n.203, p.58-59, 2004.

ALMEIDA, M. A. O. Controle de carrapatos: resistência e vacinas. www.simentalsimbrasil.com.br, 2005.

ALONSO, J. R. Tratado de fitomedicina – bases clínicas y farmacológicas. Isis Editores. Buenos Aires, Argentina, p.784-785, 1998.

ALVES, S. B. & PEREIRA, R. M. **Produção de fungos entomopatogênicos**. In: ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: Fealq, p.853-857, 1988.

ARENALES, M. C. Principais patologias parasitárias em bovinos e os medicamentos homeopáticos. Agroecologia Hoje, nº 19, p19, 2003.

AVANCINI, C.A.M. Sanidade Animal na Agroecologia – Atitudes Ecológicas de Sanidade Animal e Plantas Medicinais em Medicina Veterinária. Porto Alegre: Fundação Gaia, p.33, 46p, 1994.

BALANDRIN, M. F. et al. **Natural Plant Chemical: Sources of Industrial and Medicinal Materials**. Science, v.228, p.1154-60, 1985.

BAIRD, C. Química Ambiental. Porto Alegre: Bookman, p316-345, 622p, 2002.

BISSACOT, D. & VASSILIEF, I. Pyrethroid in milk and blood of dairy cows follwing single topical applications. **Veterinary and Human Toxicology**, vol. 39, n. 1, p.6-8, 1997.

BITTENCOURT, V. R. E. P. **Ação do fungo** *Metarhizium anisopliae* **sobre a fase não parasitária do ciclo biológico de** *Boophilus microplus*. Revista da Universidade Rural, Série Ciências da Vida, v.16, p.49-55, 1994.

BLANEY, W. M. & SIMMONDS, M. S. J. A behavioural and electrophysiological study of the role of tarsal chemoreceptors in feeding by adults of *Spodoptera*, *Heliothis virescens* and *Helicoverpa armigera*. Journal of Insect Physiology, 36, p43-75, 1990.

BORCHERT, A. **Parasitologia Veterinária**. Zaragoza: Editorial Acribia, p.435-436, 745p, 1964.

BORDIN, E. L. **Carrapatos – Uma abordagem diferenciada**. A Hora Veterinária – Ano 18, n° 103, maio/junho p.23-28, 1998.

BORGES, L. M. F. et al. In vitro efficacy of extracts of *Melia azedarach* against the tick *Boophilus microplus*. The Royal Entomological Society Medical and Veterinary Entomology. v.17, p.228-231, 2003.

BRATTSTEN, L. B. Cytochrome P-450 involvement in interactions between plant terpenes and insects herbivores. In: DUNKEL, F. V. & SEARS, L. J. Fumigant properties of physical preparations from mountain big sagebrush, *Artemisia tridendata* Nutt. Spp. Vaseyana (Rydb) bettle for stored grain insects. Journal os Stored Produ ets Research, v. 34, n. 4, p. 307-321, 1998.

BRUNHEROTTO, R. & VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. e *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidóptera: Gelechiidae) em tomateiro. Neotropical Entomology, 30, p455-459, 2001.

BUENO, O. C. **Plantas inseticidas no controle de formigas cortadeiras**. Rev. Agroecologia Hoje, Ano IV, n. 28, p.20-22, jan., 2005.

BURG, I. C. & MAYER, P.H. **Alternativas ecológicas para prevenção e controle de pragas e doenças.** Francisco Beltrão/PR: Grafit Gráfica e Editora Ltda., p.85-89, 153p, 2001.

CARSON, R. **Primavera Silenciosa**. São Paulo/SP. Ed. Melhoramentos, 305p, 1969.

CARVALHO, S. M. & DE CASTRO, B. R. R. Efeito de plantas tóxicas no controle da vaquinha *Diabrotica speciosa* Germar em laboratório. In: II Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão, p. 49. Goiânia, maio, 1987.

CHAGAS, A. C. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. Braz. J. vet. Res. Anim. Sci. São Paulo, v.39 n..5, p.247-253, 2002.

CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 13, suplemento 1, p.156-160, 2004.

CHAMPAGNE, D. E.; KOUL, O.; ISMAN, M. B; SCUDER, G. G. E.; TOWERS, G. N. H. **Biological Activity of Limonoids From Rutales**. Phytochemistry, v. 31, n. 2, p. 377-394, 1992.

CORRÊA, O. **Doenças parasitárias dos animais domésticos**. Porto Alegre/RS: Editora Sulina, p.242-250, 1976.

COSTA JÚNIOR, L. M. Eficiência in vitro de rotenóides extraídos do timbó (Derris urucu) em teleóginas do carrapato Boophilus microplus. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, XII SEMINÁRIO DE MANEJO INTEGRADO DA RESISTÊNCIA, I SEMINÁRIO DE PARASITOSES NA CLÍNICA DE PEQUENOS ANIMAIS, I CURSO DE GEOPROCESSAMENTO E SEU USO EM ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS. Rio de Janeiro. Anais 2002. CBPV, 2002 1CD-ROM.

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

DIMETRY, N. Z.; AMER, S. A .A.; REDA, A. S. **Biological activity of two neem seed kernel against the two-spotted mite** *Tetranychus urticae* **Koch**. J. Appl. Entomol., v.116, n.3, p.308-312, 1993.

DRUMMOND, R. O. et al. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory testes of insecticides. Journal Economic Entomology, v.66, p.130-133, 1973.

ELI, M. T. et al. Conversão para produção agroecológica de leite na visão dos agricultores. In: III CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA - III SEMINÁRIO ESTADUAL DE AGROECOLOGIA, Florianópolis, 2005.

ELLIOT, M. et al. The pyrethrins and related compounds. Part XXXI: Alkoxyiminosubstituted ester. Pestic. Sci. v.22, n.3, p.231-249, 1998.

EPAGRI. Plantio de espécies florestais folhosas – Cinamomo gigante (*Melia azedarach* L.), Grevílea (*Grevillea robusta* Cunn.), Uva-do-Japão (*Hovenia dulcis* Thumb.), Canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) e Liquidambar (*Liquidambar styraciflua* L.). Apostila Florestal nº 09. Florianópolis s/d.

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

EVANS, W. C. **The plant and animal kingdoms as sources of drugs**. In: Trease and evans pharmacognosy. London: W. B. Saunders, p.15-17, 1996.

FAUSTINO, M. A. G. et al. Avaliação in vitro da sensibilidade de cepas de Boophilus microplus de estado de Pernambuco a produtos carrapaticidas através de testes de SEMINÁRIO ingurgitadas. In: X imersão de fêmeas BRASILEIRO PARASITOLOGIA VETERINÁRIA. Ι SEMINÁRIO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA DOS PAÍSES DO MERCOSUL. Anais. Itapema/SC, p.116, 1997.

FONTANA, J. D. Extrato alcoólico de frutos de cinamomo mata larva do mosquito da dengue. www.ambientebrasil.com.br, 2003.

FONTES, E. M. **Resíduos de Xenobióticos no Leite.** http:fmv.utl.pt/democ/sft/artigos/leite.htm. Acesso em 22/10/2003.

FURLONG, J.; MARTINS, J.R.S. **Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas**. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, p.7-17, 25p, 2000.

GARCIA, J. P. O., LUNARDI, J. J. **Práticas alternativas de prevenção e controle das doenças dos bovinos**. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR, p.24-30, 48p, 2001.

GONZALES, J. C. O controle do carrapato dos bovinos. Porto Alegre: Editora Sulina, p.13-46/57-65, 103p, 1975.

HERNÁNDEZ, C. R. & VENDRAMIM, J. D. **Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae em** *Spodoptera frugiperda* (**Lepidóptera: Noctuidae**). Menejo Integrado de Plagas, v. 42, p14-22, 1996.

HERNÁDEZ, C. R & VENDRAMIM, J. D. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Revista Brasileira de Agricultura, 72, p.305-318, 1997.

HOFFMAN, M. Controle de parasitas em bovinos. Agroecologia Hoje, nº 13, mar/abr. p.24, 2002.

HONER, M. R; PALOSCHI, C.G; SOUZA, A.P.; RAMOS, C. I.; BECK, A.A.H. Epidemiologia e controle do carrapato dos bovinos *Boophilus microplus* no Estado de Santa Catarina. Florianópolis, EPAGRI, (Boletim Técnico, 62) p.9-25, 26p, 1993.

HORN, S. C. Carrapato, berne e bicheira no Brasil. Brasília/DF: Ministério da Agricultura/Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, p.1-46, 153p, 1983.

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

KOLLER, W. W.; GOMES, A.; RODRIGUES, S. R. Controle natural de parasitos em massas fecais bovinas. EMBRAPA Gado de Corte. COT n. 72, dez. 2002.

LAPA, A. J. et al. **Farmacologia e toxicologia de produtos naturais**. In: SIMÕES, C. M. O .Farmacognosia: da planta ao medicamento. Ed. Univ./UFRGS/Ed. Da UFSC, p.187, 1999.

LARINI, L. **Toxicologia.** São Paulo: Editora Manole, p.152-153, 301p, 1997.

LARINI, L. **Toxicologia dos praguicidas**. São Paulo: Editora Manole, p.96-97, 230p, 1999.

LEPAGE, H. S.; GIANOTTI, O. & ORLAND, A. **Proteção das culturas contra os gafanhotos por meio de extratos de** *Melia azedarach*. O Biológico, 12, p.265-271, 1946.

LORENZI, H. et al. **Árvores exóticas do Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p.234, 368p, 2003.

MACHADO, L. C. P. Pastoreio Racional Voisin: tecnologia agroecológica para o terceiro milênio. Porto Alegre: Cinco Continentes. p.39, 314p, 2004.

MARICONI, F. M. Inseticidas e seu emprego no combate às pragas. São Paulo: Ed. Nobel, p.126-129, 412p, 1988.

MARTINEZ, S. S. O NIM – Azadirachta indica: natureza, usos múltiplos, produção. Instituto agronômico do Paraná. Editado por Sueli Souza Martinez. Londrina: IAPAR.p.9-44/111-120, 142p, 2002.

MARTINEZ, S. S. & VAN ENDEM, H. F. Sublethal concentrations of azadirachtin affect food intake, conversion efficiency and feeding behaviour of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). Bulletin of Entomological Research, v.89, p.65-71, 1999.

MENDEZ, M. C. et al. Experimental intoxication by leaves of *Melia azedarach* (Meliaceae) in cattle. Pesq. Vet. Bras. 22 (1): p.19-24, jan./mar. 2002.

MGBOJIKWE, L. O. and OKOYE, S. C. Acaricidal Efficacy of the Aqueous Stem Bark Extract of Adenium obesum on the Various Life Stages of Cattle Ticks. Nigerian Journal of Experimental and Applied Biology. v. 2, n. 1, p.39-43, 2001.

MORDUE, A. J., COTTEE, P. K. & EVANS, K. A. Azadirachtin: its effect on gut motility, growth and moulting in *Locusta*. Physiological Entomology, 10, p 431-437, 1985.

MORDUE, A. J. & NISBET, A. J. Azadirachtin from the neem tree. *Azadirachta indica*: its action against insects. Anais sa Sociedade Entomológica do Brasil, 29, p 615-632, 2000.

MULLA, M. S. & Su, T. Activit and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. Journal of American Mosquito Control Association, 15, p.133-152, 1999.

MUTTI, O . **Toxicología vegetal.** En: Intoxicaciones más frecuentes en pediatría. Edic. Macchi. Buenos Aires, 1992.

NDUMU, P. A. et al. **Toxicity of Neem Seed Oil (Azadiracta indica) against the Larvae of Amblyomma variegatum a Three-host tick in Cattle**. Phytotherapy Research v.13, p.532-534, 1999.

NODARI, R. O. & GUERRA, M. P. **Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos legais e éticos**. In: SIMÒES, C. M. O. coord. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. Da UFSC, p.11-24, 821p, 1999.

ODHIAMBO, T. R. Current themes in tropical science: physiology of tiks. Oxford: Pergamon Press, v. 1, 508p, 1982.

OELRICHS, P. et al. **Toxic tretanortriterpenoids of the fruit of** *Melia azedarach*. Phytochemistry, v. 22, p 531-534, 1983.

OLIVEIRA, A. A. Resistência do carrapato *Boophilus microplus* a carrapaticidas em bovinos de leite na região dos Tabuleiros Costeiros de Sergipe. Ver. Cient. Rural, v.7, nº 2 p64-71, 2002.

OLIVEIRA G. P. et al. **Diagnóstico da resistência do** *Boophilus microplus*, **Canestrini**, **1887** (**Acarina: Ixodidae**) **em bovinos leiteiros na região de São Carlos/SP**. Rev. Ciências Agrárias. Belém, n. 38, p.57-66, jul./dez. 2002.

PEREIRA, M. C. *Boophilus microplus* - Revisão taxionômica e morfo-biológica. Rio de Janeiro: Químio Divisão Veterinária, p.7-45, 105p, 1982.

PINHEIRO, S. A agricultura ecológica e a máfia dos agrotóxicos no Brasil. Porto Alegre: Edição dos autores, p.141, 356p, 2000.

POTENZA, M. R. Et al. Efeito acaricida de alguns extratos vegetais sobre *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (ACARI: TETRANYCHIDAE) em laboratório. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.66, n.1, p.31-37, jan./jun., 1999.

PRATES, H. T. et al. Identification of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora*) and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*). Journal of Brazilian Chemical Society, v. 9, n°2, p.193-197, 1998.

RAMOS, C. I. et al. **Parasitoses dos bovinos e ovinos: epidemiologia e controle em Santa Catarina.** Florianópolis: Epagri, 2004. 55p. (Epagri. Boletim Técnico, 121).

REGASSA, A. The use of herbal preparations for tick control in western Ethiopia. J S Afr. Vet. Assoc. Dec. V.71, p.240-43, 2000.

REAL, C. M. Homeopatia Populacional. Agroecologia Hoje, nº 19, junho/julho, p12, 2003.

RODRIGUES, A.S. F. Forrageiras com propriedades antibióticas e repelentes no controle do carrapato de bovinos, *Boophilus microplus*. Rev. Agropecuária Catarinense, v.16, n.1, p.52-55, mar. 2003.

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

SALAZAR CAVERO, E. **Inseticidas e acaricidas – Toxicologia**. Pelotas: Editora Aimara Ltda., p.272-275, 412p, 1982.

SALLES, L. A. & RECH, N. L. Efeito de extratos de nim (*Azadirachta indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (WIED) (DIPTERA: TEPHRITIDAE). Rev. Bras. de Agrociência, v. 5, n 3, p 225-227, 1999.

SANTOS, M. M. **Direitos de propriedade intelectual na área biológica**. Campinas: André Tosello, 9p, 1996.

SAUCEDO, J. H. P. Vacina contra carrapato bovino. UFV. Mimo 5p, 2005.

SAUERESSIG, T. M. Testes *in vitro* com extratos de plantas para controle alternativo do carrapato do boi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, XII SEMINÁRIO DE COCCÍDIOS E COCCIDIOSES, I SEMINÁRIO DE MANEJO INTEGRADO DA RESISTÊNCIA, I SEMINÁRIO DE PARASITOSES NA CLÍNICA DE PEQUENOS ANIMAIS, L CURSO DE GEOPROCESSAMENTO E SEU USO EM ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS. Rio de Janeiro. Anais 2002. CBPV, 2002 1 CD-ROM.

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

SILVA JÚNIOR, A. A. Plantas Medicinais. Florianópolis: Epagri, 1997. CD-ROM.

SOUSA, R. V., BALDANI, L. A., MIGUEL, A. G. Farmacologia dos Principais Antiparasitários de uso na Medicina Veterinária. Universidade Federal de Lavras/Departamento de Medicina Veterinária, 1999. www.editora.ufla.br/Boletim/pdf/bol_42.pdf. Acesso em 07/08/05.

SOUZA, A.P. et al. **Avaliação "in vitro" da eficácia de fitoterápicos em teleóginas de Boophilus microplus**. Anais do XI CICLO DE ATUALIZAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA. Lages: CAV/UDESC, p.127, 2004.

SOUZA, A P. Carrapato dos bovinos (Can. 1887). In: Beck, A. A. H, coord. Manual de parasitoses dos animais por A.A.H. Beck, E.C.T. Garcia e P.C.C. Borges. Florianópolis, Secr. Da Agricultura e do Abastecimento, p.65-80, 247p, 1985.

SOUZA, A. P. et al. Eficácia de carrapaticidas em rebanhos de bovinos leiteiros de municípios da região Centro Sul do Paraná. Rev. De Ciências Agroveterinárias, v.2, n.2, p131-135. Lages, 2003.

SOUZA, C. A. et al. Características do controle químico do na Região sul do Rio Grande do Sul e relação com a resistência a carrapaticidas. In: X SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, I SEMINÁRIO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA DOS PAÍSES DO MERCOSUL. Itapema/SC, p.129, 1997.

SOUZA, A.P. & RAMOS, C. I. Informação pessoal. Lages, 20/06/2005.

SOUZA, A. P. & VENDRAMIM, J. D. Atividade inseticida de extratos aquosos de meliáceas sobre a mosca branca *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemíptera: Aleyrodidae). Neotropical Entomology, v. 30 p.133-137, 2001.

VAN DE SANDE, T. The politic of biotechnology. On the exposure of Trojan horses. Biotechnol. Dev. Mon., n.19. p.24, 1994.

VASSILIEF, I. **Leite recebe sinal de alerta**. http//www. Editora Saraiva.com. Br/eddid/ciências/biblioteca/artigos/leite.html. Acesso em 22/10/2203.

VIEGAS JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. Quim. Nova v.26 n. 3. São Paulo may/june, 2003.

VIEIRA, M. I., TUERLINCK, S. Avaliação da resistência do carrapato *Boophilus microplus* a carrapaticidas em rebanhos de corte e leite no município de Bagé, RS. In: X SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, I SEMINÁRIO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA DOS PAÍSES DO MERCOSUL. Itapema/SC, p.132, 1997.

VIEIRA, P. C. & FERNANDES, J. B. **Plantas Inseticidas**. In: SIMÕES, C. M. O., coord. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. Da UFSC, p.739-754, 821p, 1999.

VERÍSSIMO, C. J. Controle biológico e alternativo do carrapato do boi. APTA/SAA-SP, mimo. 3p, 2004.

ZAMBRONE, F. A. D. & ALMEIDA, W. F. **Defensivos Domissanitários**. In: SCHARTSMAN, S. Produtos químicos de uso domiciliar. São Paulo: Ed. Almed. p.98-101, 182p, 1988.

WALL, R. & STRONG, L. Environmental consequences of treating cattle with the antiparisitic drug ivermectin. Nature, vol. 327, 4 jan., p.418-420, 1987.

13. Anexos

Tabela 1. Índices de favorabilidade de ocorrência do *Boophilus microplus* gerados pelo Programa CLIMEX para diferentes localidades do Estado de Santa Catarina.

T 1' 1 1	A144-1 ()	Soma dos	Índice de favorabilidade 46		
Localidade	Altitude (m)	Graus-dia			
Araranguá	12	2.695			
Blumenau	14	3.484	60		
Boava (São Joaquim)	1.350	1.068	4		
Brusque	46	3.299	57		
Caçador	960	1.915	32		
Camboriú	9	2.818	48		
Campo Alegre	819	1.800	31		
Campos Novos	947	2.025	34		
Chapecó	679	2.732	47		
Curitibanos	1.040	1.747	26		
Florianópolis	2	2.818	55		
Indaial	86	3.294	57		
Irineópolis	777	2.111	36		
Itá	387	3.045	52		
Itajaí	5	3.244	56		
Ituporanga	475	2.572	44		
Lages	937	1.851	28		
Laguna	31	2.898	50		
Orleans	156	2.830	49		
Porto União	797	2.391	41		
São Bento do Sul	850	2.046	35		
São Francisco do Sul	43	3.357	58		
São Joaquim	1.388	1.102	6		
Timbó	70	3.320	57		
Urussanga	48	2.820	48		
Videira	779	2.242	38		
Xanxerê	841	2.091	36		

^{1/} Adaptado de Honer et al apud Souza, 1996.

Tabela 7. Efeito de diferentes concentrações dos extratos hexânicos dos frutos e folhas de *Melia azedarach* sobre os diferentes parâmetros de avaliação de *Boophilus microplus*.

	Extrato hexânico frutos				Extrato hexânico folhas					
Concentração (%)	Peso	Peso		Ind.		Peso	Peso	Ind.		
	Teleo.	Ovos	Eclosão	Reprod.	Eficácia	Teleo.	Ovos	Eclosão	Reprod.	Eficácia
	(g)	(g)	(%)		(%)	(g)	(g)	(%)		(%)
0,20	1,85	0,76	0,93	7636,10	2,32	1,83	0,76	0,82	6905,58	12,94
0,10	1,85	0,57	0,83	5324,59	31,89	1,85	0,78	0,90	7624,74	2,46
0,05	1,83	0,75	0,95	7737,25	1,02	1,85	0,75	0,92	7413,80	7,39
0,025	1,88	0,74	0,93	7370,63	5,71	1,77	0,72	0,88	7197,54	7,93
controle	1,75	0,72	0,95	7817,14		1,75	0,72	0,95	7817,14	

Tabela x. Efeito de diferentes concentrações dos extratos aquosos dos frutos e folhas de *Melia azedarach* sobre os diferentes parâmetros de avaliação de *Boophilus microplus*.

	Extrato aquoso frutos					Extrato aquoso folhas				
Concentração (%)	Peso	Peso		Ind.		Peso	Peso		Ind.	
	Teleo.	Ovos	Eclosão	Reprod.	Eficácia	Teleo.	Ovos	Eclosão	Reprod.	Eficácia
	(g)	(g)	(%)		(%)	(g)	(g)	(%)		(%)
0,20	1,77	0,54	0,68	4206,25	46,19	1,77	0,64	0,80	5795,84	25,83
0,10	1,71	0,58	0,58	4100,59	47,54	1,74	0,79	0,93	8455,90	0
0,05	1,75	0,70	0,83	6659,49	14,11	1,75	0,73	0,88	7360,22	5,84
0,025	1,79	0,67	0,85	6401,35	18,11	1,72	0,70	0,93	7620,19	2,52
controle	1,75	0,72	0,95	7817,14		1,75	0,72	0,95	7817,14	