

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA



Tese

**LEVANTAMENTO DE DADOS SOBRE A PRESENÇA E CONTROLE DE
RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS NO GADO DE LEITE NA REGIÃO SUL
DO RIO GRANDE DO SUL E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE ALTERNATIVAS
FITOTERÁPICAS NO CONTROLE *IN VITRO***

José Pablo Villarreal Villarreal

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

V719l Villarreal, José Pablo Villarreal

Levantamento de dados sobre a presença e controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no gado de leite na região sul do Rio Grande do Sul e avaliação da eficácia de alternativas fitoterápicas no controle in vitro / José Pablo Villarreal Villarreal ; Patrícia da Silva Nascente, orientadora ; Tânia Regina Bettin dos Santos, coorientadora. — Pelotas, 2017.

104 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Óleos. 2. Propriedades leiteiras. 3. Fatores de risco. 4. Carrapaticidas. 5. Produtores. I. Nascente, Patrícia da Silva, orient. II. Santos, Tânia Regina Bettin dos, coorient. III. Título.

CDD : 636.2142

JOSÉ PABLO VILLARREAL VILLARREAL

**LEVANTAMENTO DE DADOS SOBRE A PRESENÇA E CONTROLE DE
RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS NO GADO DE LEITE NA REGIÃO
SUL DO RIO GRANDE DO SUL E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE
ALTERNATIVAS FITOTERÁPICAS NO CONTROLE *IN VITRO***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (área de conhecimento: Parasitologia).

Orientador: Prof^a. Dr^a. Patrícia da Silva Nascente
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Tânia Regina Bettin dos Santos

Pelotas, 2017

Banca examinadora:

Profa. Dr^a. Patrícia da Silva Nascente (UFPel) (Orientadora)

Profa. Dr^a. Marlete Brum Cleff (UFPel)

Prof. Dr. Leandro Quintana Nizoli (UFPel)

Prof. Dr. Jerônimo Lopes Ruas (UFPel)

Prof. Dr. Jesús Jaime Hernandez Escareño (UANL)

Profa. Dr^a. Ana Raquel Mano Meinerz (UFPel) (Suplente)

Dedico este trabalho aos meus pais, José Javier e Minerva Margarita, a minha esposa Nelly, a minha irmã Ximena e ao meu irmão Santiago, e também a minha orientadora Patrícia Nascente e ao professor Jaime Escareño, por todo o amor, carinho, compreensão, incentivo e força.

Agradecimentos:

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por estar sempre ao meu lado e por ter me dado a força e a vontade de realizar esta grande meta.

Aos meus pais, Jose Javier Villarreal e Minerva Margarita Villarreal por ter me dado a minha vida, por todo o amor, carinho e ajuda. Graças por ter acreditado em mim, “los amo mucho”.

A minha esposa Nelly Zapata por ser o maior presente da minha vida, pelo amor, cuidado e carinho, pela paciência, compreensão e ajuda nos momentos difíceis. Por estar ao meu lado meu anjo. Te amo.

Aos meus irmãos e melhores amigos Ximena e Santiago Villarreal, por seus bons desejos, por seus bons conselhos, pelo ensino e amor que fazem que seja uma melhor pessoa.

Às minhas querida avó Orelia por sempre estar ao meu lado, obrigado pelas ligações, foram de muita ajuda “abuelita”, e a minha avó Victoria por me deixar ficar no seu coração.

A minha tia Adriana, pelo amor e pela ajuda, “te quiero mucho tia”. A toda minha família Villarreal Rodriguez e a toda minha família Villarreal Alvarez Tostado, “los quiero mucho”.

A minha nova família Zapata Rangel pela ajuda e querer, vamos fazer uma família mais grande em um futuro.

Professora Patrícia muito obrigado por todo, você é uma ótima e muito querida pessoa, você e sua bonita familia sempre serão bem-vindos com os braços abertos no México em especial na minha casa em Monterrey.

Aos meus professores e amigos, professora Tânia e professor Diego, muito obrigado por ter me ajudado nesse caminho e pelo ensino que foi fundamental para realizar essa meta.

A minha cadela Carmela por seu amor e porque eu sei que ela vai estar me aguardando para dar uma bonita caminhada no céu. A minha cadelinha Minina, pelo amor nos momentos difíceis.

Aos meus melhores amigos Marcelo e Junior, obrigado pela ajuda meus rapazes.

Aos meus amigos Roberta e Carlos pela ajuda incondicional, Fabian, Javier, Noa, Efracio, Andrios, Miguelito, Simon, Rosane, Thaís, Natália, Victor, Jean,

Mariestela, Jesús, Antonieta, Rosaria, Alessandro, Marcos, Pancho, Fernando, Cibele, Julia, Leonilde e a todos os que faltam, obrigado por estar ao meu lado nesta aventura.

As minhas colegas do laboratório Carol, Cris, Juliana, e ao meu colega Pedro, pela ajuda brindada e pelo bons tempos no laboratório.

À professora Daniela obrigado pela ajuda e pelas aulas, e aos meus professores do Programa e da Faculdade de Veterinária, ao professor Evertón pelas ótimas aulas.

Aos meus amigos da igreja, Renan, Dani, Otavio e Fernanda, obrigado pela ajuda dada, a José del Barco e a Susana da Argentina, à família Bonadeu pelos bons tempos na sua casa, ao seu Carlos, seu Herón e por último ao Rio Grande do Sul e ao Brasil.

Graças ao professor Juan José Zarate Ramos, pela ajuda e pela oportunidade de ter estudado no Brasil, a minha alma mater a U.A.N.L, minha casa a F.M.V.Z, ao departamento de intercambio académico e a PRODEP por essa oportunidade, também a minha segunda alma mater a UFPel.

Um agradecimento aos professores da miha banca: Prof. Dr^a. Marlete, Prof. Nizoli, Prof. Jerônimo, Prof. Jesús Jaime Hernandez Escareño e à Profa. Meinerz.

Obrigado a todos, vocês sempre terão sua casa em Monterrey com um bom chimas e uma boa carne assada!!.

“Disciplina é liberdade; Compaixão é fortaleza;

Ter bondade é ter coragem.”

(Renato Russo)

Resumo:

VILLARREAL, J. P. V. **Levantamento de dados sobre a presença e o controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no gado de leite na região sul do Rio Grande do Sul e avaliação da eficácia de alternativas fitoterápicas no controle *in vitro***. 2017. 104f. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Os efeitos diretos e indiretos causados pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, tem um grande impacto econômico na pecuária bovina. A resistência aos acaricidas sintéticos deve-se ao fator operacional, por não se ter conhecimento acerca da biologia, ecologia e epidemiologia deste carrapato e isso tem dado origem a graves problemas na produção bovina. Devido a isso os óleos e extratos de plantas vêm ganhando espaço como métodos alternativos de controle para esta espécie de carrapato. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi conhecer a percepção dos produtores de gado de leite sobre a presença de *R. (B.) microplus* e o seu controle na propriedade e identificar os componentes majoritários de um óleo essencial e de dois óleos fixos e avaliar seus efeitos acaricidas *in vitro*. Um questionário foi aplicado em 30 propriedades leiteiras de cinco municípios do Rio Grande do Sul. Os dados foram tabulados e analisados mediante o software Epi Info v.7. As associações entre as variáveis foram realizadas pelo teste de Fisher ($p < 0.05$) e analisadas por regressão logística. Quanto as alternativas fitoterápicas a identificação dos componentes químicos majoritários dos três óleos foi realizado através de cromatografia gasosa. Os óleos e três acaricidas sintéticos (amidina, piretroide e uma associação de piretroide com organofosforado) foram testados usando o Teste de Imersão de Adultas. Os resultados revelaram que a dificuldade para controlar o *R. (B.) microplus* com os acaricidas disponíveis não depende do grau de instrução. As propriedades leiteiras com alto nível de tecnologia têm nove vezes mais chances de ter dificuldade para o controle, do que aqueles que possuem instalações de tipo galpão. Os proprietários que aplicam os carrapaticidas em número equivalente ou maior a quatro vezes por ano, tem 6.42 vezes mais chances de apresentar resistência dentro da sua propriedade e, 7.46 vezes mais chances de ter dificuldade para o controle do que

aqueles que fazem menos de quatro aplicações por ano. A maioria dos proprietários não mostram um controle estratégico. Os dois componentes majoritários do óleo essencial de *Cuminum cyminum* L. foram o cuminaldeído e o γ -terpineno. Nos óleos fixos foram o ácido linoleico e oleico. O óleo essencial mostrou alta eficácia acaricida (100%) sobre *R. (B.) microplus*. Os óleos fixos de *Bertholletia excelsa* e *Heliantus annuus* L. causaram baixa eficácia acaricida (39.39% e 58.75% respectivamente), não obstante apresentaram maior eficácia que os sintéticos: amidina e o piretroide. Em relação aos acaricidas, somente a associação mostrou alta eficácia (100%). Conclui-se que há necessidade de obter novas medidas de manejo capazes de reduzir e controlar infestações e prolongar a vida útil dos carrapaticidas, assim também providenciar informações para aconselhar os produtores sobre as falhas no manejo e fatores de risco nas propriedades e que o óleo essencial mostrou potencial para ser usado como fonte alternativa no controle, no entanto, estudos adicionais são necessários.

Palavras-chave: óleos; propriedades leiteiras; fatores de risco; carrapaticidas; produtores.

Abstract:

VILLARREAL, J. P. V. **Data collection survey about the presence and control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the southern region of Rio Grande do Sul and evaluation of the efficacy of phytotherapy alternatives for controlling *in vitro***. 2017. 104f. Thesis (PhD Degree em Parasitologia) – Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

The direct and indirect effects caused by the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, have a high economic impact on livestock. The resistance to synthetic acaricides is mainly due to the operational factor, without having a knowledge about the biology, ecology and epidemiology of this tick and this has given rise to serious problems within cattle production. Plant-based oils and extracts have been gaining ground as alternative control methods for this tick specie. In this context, the aim of this study was to know the perception of dairy cattle producers about *R. (B.) microplus* and its control in the dairy farm and to identify the main chemical components of one essential oil and two fixed oils and to evaluate their acaricidal affects *in vitro*. A questionnaire was applied in 30 dairy farms of five municipalities of Rio Grande do Sul. The data was tabulated and analyzed using the software Epi Info v.7. The associations between the variables were performed using the Fischer's test ($p < 0.05$) and analyzed by the logistic regression model. Regarding the phytotherapeutic alternatives, the identification of the main components of the three oils was performed through gas-chromatography analyses. The oils and three synthetic acaricides (amidine, pyrethroid and an association of a pyrethroid and an organophosphate) were tested using the Adult Immersion Test. The results revealed that the difficulty to control *R. (B.) microplus* with the available acaricides do not depend on the education levels. The dairy farms with higher level of technification are nine times more likely to have difficult controlling ticks, than those with shed type facilities. The producers that applied acaricides equal or more than four times per year are 6.42 times more likely to have resistance inside their farm and 7.46 more likely to have difficult controlling them, than those that applied less than four times per year. Most of the properties did not show a strategic control. The two main chemical components of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. were the

cuminaldehyde and the γ -terpinene. In the fixed oils, were the linoleic and oleic fatty acids. The essential oil showed high acaricidal activity (100%) over *R. (B.) microplus*. The fixed oils of *Bertholletia excelsa* and *Heliantus annuus* L. caused low acaricidal activity (39.39% e 58.75% respectively), nevertheless, they presented higher efficacy than the synthetic acaricides amidine and the pyrethroid. Regarding the acaricides, only the association showed high efficacy (100%). It can be concluded, the necessity to obtain new management measures able to reduced and control infestations as well as to prolongate the useful life of the acaricides. Provide information to advise the producers about the management failures and risk factors in the farms and that the essential oil showed have potential to be used as an alternative source to control the cattle tick, however, there is a need for additional studies.

Key-words: oils; dairy farms; risk factors; acaricides; producers.

LISTA DE FIGURAS

Página

ARTIGO 1

Figura 1: Questionário aplicado a produtores de leite em cinco municípios da zona sul do RS, abordando as variáveis quanto à presença e controle do *R. (B.) microplus* em bovinos de leite.....52

LISTA DE TABELAS

Página

ARTIGO 1

Tabela 1: Quadro 1. Frequências das variáveis avaliadas pelos produtores de leite que representam fatores de risco quanto à presença e controle do <i>R. (B.) microplus</i> em bovinos de leite em cinco municípios do sul do RS.....	53
Tabela 2: Quadro 2. Correlação das variáveis de exposição com a percepção dos produtores de leite quanto as variáveis dependentes pela análise uni variada (Exato de Fisher)	54
Tabela 3: Quadro 3. Regressão binomial dos fatores de risco associadas com a percepção dos produtores de leite quanto as variáveis dependentes.....	55

ARTIGO 2

Tabela 1: Acaricides used describing name of the company, trade name of the product, active ingredient and concentration of the acaricides.....	76
Tabela 2: Main chemical components of <i>Cuminum cyminum</i> L. (Cumin), <i>Bertholletia excelsa</i> (Brazil nut) and <i>Helianthus annuus</i> L. (Sunflower seed) essential oils.....	77
Tabela 3: Evaluation of the commercial acaricides and of the six different concentrations of the Cumin essential oil, Brazilian nut and Sunflower seed fixed oils on reproductive indices of <i>R. (B.) microplus</i> , as well as their Product effectiveness (values are expressed in mean \pm SD).....	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIT	Adult Immersion Test
AOC-20i	Auto Injector/Auto Sampler
(B.)	Boophilus
B.	Bos
BOD	Biochemical Oxygen Demand incubator
C.	Cuminum
CCQFA	Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
CEP	Código de Endereçamento Postal
CL	Concentração Letal
Cx	Caixa postal
DEMP	Departamento de Microbiologia e Parasitologia
Dr.	Doutor
Dra.	Doutora
ER	Estimated Reproduction
FAMEs	Fatty Acid Methyl Esters
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
GC-FID	Gas chromatography-flame ionization detection
GC/MS	Cromatógrafo Gasoso - Espectrômetro de Massa
HDL	High Density Lipoprotein
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IC	Intervalo de Confiança
ID	Identification
IGN	Ignorado
L.ou Linn.	Linnaeus
LADOPAR	Laboratório de Doenças Parasitárias
LIT	Larval Imersion Test
LLipBio	Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica
LPPN	Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais
LPT	Larval Packet Test
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MG	Minas Gerais
min.	Minuto
NIST	National Institute of Standards and Technology
N.L.	Nuevo León
no.	Número
OR	Odds Ratios
<i>P.</i>	Pimenta
PE	Product Effectiveness
PhD	Doctor Philosophiae
ppm	Partes por milhão
Prof.	Professor
Profa.	Professora
PVB	Pesquisa Veterinária Brasileira
<i>R.</i>	Rhipicephalus
RBPV	Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária
PE	Product Effectiveness
RS	Rio Grande do Sul
SD	Standard Deviation
s/n	Sem número
sp.	Espécie
spp.	Espécies
St	Saint
<i>T.</i>	<i>Tetradenia</i>
Tel.	Teléfono
TIA	Teste de Imersão de Adultas
TIL	Teste de Imersão de larvas
TPL	Teste de Pacote de Larvas
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
UFPEL	Universidade Federal de Pelotas
US	United States
v. ou V.	Versão

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
mm	Milímetro
I ^o	Número 1 romano
°	Graus
ml	Mililitro
≥	Maior ou igual
μl	Microlitro
m	Metro
°C	Grau Celsius
cm	Centímetro
Sufixo ^a	Indicador ordinal
γ	Gamma
<	Menor
p	Significância estadística
@	Arroba
\$	Símbolo de dólar
X	Símbolo matemático (multiplicação)
-	Sinal de menos
/	Barra comum
=	Igual
®	Símbolo de registro
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio
g	Grama
C19:0	Nonadecanoic acid
v/v	Volume/volume
mg	Miligramas
+	Sinal de mais
±	Sinal de mais ou menos
β	Beta
o	Ómicron

C18:2n6c Ácido Linoléico

C18:1n9c Ácido Oléico

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	20
2. OBJETIVOS.....	23
2.1. Objetivo Geral.....	23
2.2. Objetivos Específicos.....	23
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	24
3.1. <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	24
3.2. Acaricidas sintéticos e resistência de <i>R.(B.) microplus</i>	27
3.3. Diagnóstico da resistência.....	30
3.4. Fatores de risco para a seleção da resistência em <i>R. (B.) microplus</i>	31
3.5. Extratos vegetais contra <i>R. (B.) microplus</i>	33
3.6. Família Apiaceae.....	36
3.6.1. <i>Cuminum cyminum</i> L. (cominho).....	37
3.7. Família Lecythidaceae	38
3.7.1. <i>Bertholletia excelsa</i> (castanha do Brasil)	38
3.8. Família Asteraceae	39
3.8.1. <i>Helianthus annuus</i> L. (semente de girassol)	40
4. ARTIGO 1. Percepção de produtores e fatores de risco em propriedades leiteras quanto à presença e controle do <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> na Região Sul do Rio Grande do Sul	42
4.1. Resumo	43
4.2. Introdução	43
4.3. Materiais e métodos	44
4.4. Resultados e discussão	44
4.5. Conclusões	48
4.6. Referências.....	48
5. ARTIGO 2. Evaluation of phytotherapy alternatives for controlling <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus in vitro</i>	56
5.1. Abstract.....	57

5.2. Introduction.....	58
5.3. Material and methods.....	60
5.3.1. <i>C. cyminum</i> L.....	60
5.3.1.2. Essential oil obtention.....	60
5.3.1.3. Chromatographic analyses.....	60
5.3.2. <i>B. excelsa</i> and <i>H. annuus</i>	60
5.3.2.1. Fixed oils obtention.....	60
5.3.2.2. Preparation of the fatty acid methyl esters (FAMES) of the fixed oils..	61
5.3.2.3. Fixed oils (FAMES) analyses by Gas-Chromatography.....	61
5.3.5. Acaricides	61
5.3.6. Tick collection	62
5.3.7. <i>In vitro</i> assay (Adult Immersion Test)	62
5.3.8. Statistical analysis.....	63
5.4. Results and Discussion	63
5.5. Conclusions	69
5.6. References.....	69
6. CONCLUSÕES GERAIS.....	79
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	80
REFERÊNCIAS.....	81
ANEXOS.....	103
ANEXO A: Termo de consentimento livre e esclarecido referente ao Artigo 1.....	104

1. INTRODUÇÃO

Os efeitos diretos causados pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) e os agentes da doença tristeza parasitaria transmitidos por ele, são de extrema importância na saúde dos bovinos, causando um grande impacto econômico na pecuária (JONGEJAN; UILENBERG, 2004). Estima-se uma alta prevalência do carrapato no Brasil, onde áreas com alta umidade relativa no solo e temperatura elevada favorecem a sobrevivência das populações desse carrapato (ESTRADA et al., 2006), apresentando três a quatro gerações anuais na região sul do Brasil (CAMPOS et al., 2008), onde as perdas econômicas por ano são de 800 milhões a mais de três bilhões de dólares (GRISI et al., 2014).

Na região sul do Brasil sabe-se que, na maioria das propriedades, o controle do carrapato é realizado exclusivamente com o uso dos carrapaticidas sintéticos, sobretudo com os princípios ativos amitraz e cipermetrina, os quais foram os mais utilizados na última década (SANTOS et al., 2012). O surgimento da resistência de *R. (B.) microplus* aos carrapaticidas vem gerando sérios problemas na produção de bovinos, sendo uma tendência mundial. A causa principal ao desenvolvimento da resistência à maioria dos carrapaticidas sintéticos está associada à expressão dos fatores intrínsecos ou biológicos relacionados com o carrapato como, mutações na genética dando à produção de alelos dominantes resistentes dentro das populações e trocas enzimáticas no metabolismo (GUERRERO et al., 2001; FOIL et al., 2004), esses fatores biológicos se devem ao fator operacional, relacionado com a ação do homem no controle do carrapato. O fenômeno se apresenta devido à maioria dos produtores usarem o produto químico como única ferramenta para o controle desse ectoparasito, sendo que muitas vezes é utilizado de uma maneira errônea, incluindo: a utilização excessiva de carrapaticidas sem conhecer a biologia, ecologia, prevalência do carrapato e as falhas na detecção da resistência, entre outros (RIDDLES et al., 1986; DENHOLM et al., 1992). No sul do Rio Grande do Sul, foram descritos os fatores de risco para a seleção de populações de carrapatos resistentes em 85 propriedades de gado de corte (SANTOS et al., 2009). Em relação ao gado leiteiro no Brasil se têm estudos epidemiológicos completos (JÚNIOR et al., 2000; ROCHA et al., 2006; AMARAL et al., 2011; DAHER et al., 2012; UENO et al., 2012;

ROCHA et al., 2012), no entanto, na região sul do Rio Grande do Sul não se têm estudos em relação ao gado leiteiro.

A realização de pesquisas tem sido impulsionada na tentativa de se obter outras opções terapêuticas para resolver esse problema, como é o caso dos compostos e produtos de origem botânica para o controle de *R. (B.) microplus*. Nesse contexto, estudos demonstram que óleos e extratos vegetais vêm ganhando espaço como um método de controle para *R. (B.) microplus* (CASTRO et al., 2011; CAMPOS et al., 2012).

APEL et al. (2009), demonstraram o poder acaricida sobre larvas de *R. (B.) microplus*, quando testados óleos essenciais de três espécies do gênero *Cuniluca* (Lamiaceae) mesma família da planta *Cuminum cyminum* L. (cominho), família Apiaceae. Em outro estudo se demonstrou o efeito acaricida do óleo essencial do cominho sobre as larvas de *R. (B.) microplus* (VELAZQUEZ et al., 2011), usando o Teste de Pacote de Larvas (TPL) descrito por STONE e HAYDOC (1962). Não se tem estudos do poder acaricida do óleo essencial do cominho sobre teleóginas de *R. (B.) microplus*. Estudos *in vitro* com diferentes extratos e óleos de origem vegetal demonstram que, o óleo de *Bertholletia excelsa* (castanha do Brasil) família Lecythidaceae, pode ser usado como fármaco, e que a castanha do Brasil apresenta atividade tripanocida e bioatividade contra *Plasmodium falciparum* (KLUCZKOVSKI et al., 2015; CAMPOS et al., 2005; SOUSA, 2013). A planta Flor de *Helianthus annus* L. (girassol) família Asteraceae, já foi citada com atividade antiprotozoária (GRABENSTEINER et al., 2008). Estudos demonstram a atividade antimicrobiana do óleo da semente de girassol *in vitro* (ABOKI et al., 2012; TABASSUM; VIDYASAGAR, 2014). Entretanto, não se tem relatos de estudos testando esses dois últimos óleos contra *R. (B.) microplus*.

Diante do exposto, é importante estudar a epidemiologia e os fatores de risco associados a resistência aos acaricidas e ao controle do carrapato dentro das propriedades. Estabelecer um diagnóstico da resistência frente aos carrapaticidas comerciais mais usados com o fim de conhecer a situação atual na região sul do Rio Grande do Sul através de testes *in vitro* e avaliação de novas alternativas fitoterápicas para permitir a redução da utilização dos carrapaticidas organosintéticos no controle

de *R. (B.) microplus*. Com isso espera-se reduzir os problemas econômicos, sociais, ecológicos e ambientais na utilização destes produtos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o nível de conhecimento dos produtores de gado de leite da região sul do Rio Grande do Sul quanto a presença de *R. (B.) microplus*, controle, tipos de tratamento, fatores de risco, resistência e identificar os componentes majoritários de um óleo essencial e de dois óleos fixos avaliando suas atividades acaricidas, comparados a três carrapaticidas sintéticos utilizados no controle do carrapato.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a visão dos produtores sobre a presença e o controle de *R. (B.) microplus* com os acaricidas, nas propriedades leiteiras de cinco municípios da região sul do Rio Grande do Sul.
- Verificar os fatores de risco que favorecem a presença de cepas resistentes de *R. (B.) microplus* nas propriedades leiteiras.
- Identificar os componentes majoritários do óleo essencial de *Cuminum cyminum* L. (cominho), dos óleos fixos de *Bertholletia excelsa* (castanha do Brasil) e de *Helianthus annuus* L. (semente de girassol).
- Avaliar a eficácia do óleo essencial de *C. cyminum* L. e dos óleos fixos de *B. excelsa* e de *H. annuus* L. frente a teleóginas de *R. (B.) microplus* e seus parâmetros reprodutivos *in vitro*.
- Avaliar a eficácia de acaricidas comerciais, frente a teleóginas de *R. (B.) microplus* e seus parâmetros reprodutivos *in vitro*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888)

Existem cerca de 896 diferentes espécies de carrapatos no mundo, divididas em três grandes famílias: Argasidae, Ixodidae e Nuttalliellidae, a família Ixodidae compreende 702 espécies divididas em 14 gêneros (GUGLIELMONE et al., 2010), no Brasil são conhecidas cerca de 65 espécies de ixodes, 34 delas (54%) registradas no estado de Rondônia (MARTINS et al., 2014). Entre essas espécies encontra-se a espécie; *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, como a mais predominante e prejudicial para a pecuária bovina (CASTRO, 1997; MASSARD; FONSECA, 2004).

A espécie do carrapato *R. (B.) microplus*, mais conhecida no Brasil como o carrapato do boi, pertence ao reino Metazoa; filo Arthropoda; classe Arachnida; subclasse Acari; superordem Parasitiformes; ordem Ixodida; superfamília Ixodoidea; família Ixodidae; subfamília Rhipicephalinae; gênero *Rhipicephalus* e mediante análises filogenéticas ao subgênero *Boophilus* (MURRELL; BARKER, 2003).

Com respeito à morfologia de *R. (B.) microplus*, apresenta dimorfismo sexual, os machos com 1,5 a 2,5 mm de comprimento, as fêmeas sem ingurgitar de 1,9 a 2.5 mm e já ingurgitadas até 13 mm de comprimento (PEREIRA et al., 2008). Apresenta as peças bucais curtas, com o hipostômio mais longo que os palpos, dois espiráculos respiratórios circulares, escudo não ornamentado, sem festões, coxa I com duas projeções triangulares, o macho apresenta dois pares de placas adanais longas, apêndice caudal e o escudo comprido, no idiossoma os adultos apresentam quatro pares de patas, no entanto as larvas apresentam três pares de patas (ARAGÃO; FONSECA, 1961; PEREIRA et al., 2008).

Este carrapato teve sua origem na Ásia (ROCHA, 2003), espalhando-se pelo continente americano, adaptando-se a países onde as condições abióticas como: a temperatura, o fotoperíodo e a umidade favorecem a sua sobrevivência. Na América do Sul, *R. (B.) microplus* possui maior ocorrência na região tropical e subtropical (EVANS; GUGLIELMONE, 2000). Distribuiu-se no paralelo 32°Norte e 32°Sul, pela mesoamérica, sul do Brasil, no meio do Uruguai e da Argentina, e no Sul da Austrália (ESTRADA-PENNA et al., 2006), também se apresenta no paralelo 35°Sul (NUÑES et al., 1982).

Estima-se uma alta prevalência no Brasil, onde áreas com alta umidade relativa no solo e de temperatura elevada favorecem a sobrevivência das populações do carrapato (ESTRADA-PENÑA et al., 2006), apresentando de três a quatro gerações anuais na região sul do Brasil (CAMPOS et al., 2008). O primeiro relato da existência do carrapato no Rio Grande do Sul se apresenta no início da Revolução Farroupilha em 1835 (SILVA, 2010). *R. (B.) microplus* apresenta maior predileção aos bovinos, sendo o gado *Bos taurus* mais susceptível que o *Bos Indicus* (KASHINO et al., 2005), o homem e outros animais domésticos ou não, podem também ser hospedeiros como são os equinos, ovinos, caprinos, cães, veados e bubalinos entre outros (CFSPH, 2007), em épocas de grandes infestações nas pastagens (GONZALES, 1974), mas nesses animais poucos carrapatos atingem o estágio de fêmea ingurgitada (PEREIRA et al., 2008).

No seu ciclo de vida, o carrapato apresenta um ciclo monóxenico (um hospedeiro só), com duas fases, uma fase de vida livre e outra parasitária (GONZALES, 1974). Na fase parasitária, aproximadamente só 5% da população encontra-se parasitando, sem uma distribuição uniforme entre os hospedeiros (WHARTON et al., 1970). Uma vez que a larva de *R. (B.) microplus* infesta o hospedeiro usando suas pesas bucais para se fixar na epiderme ocorre a formação do cone de cimento, se alimentado só de plasma (CASTRO; PEREIRA, 1946). As regiões anatômicas mais comuns de parasitismo são: o períneo, a inserção da cauda, a face posterior das coxas, a barbeta, o úbere, a região inguinal, o abdome ventral, e menos comum o pavilhão auricular e o pescoço, isto devido à espessura da pele, à temperatura e à autolimpeza realizada pelo bovino (PEREIRA et al., 2008; PALMER et al., 1976; BRUM et al., 1987).

Depois de aproximadamente sete dias, a larva muda para o estágio de ninfa, no qual já começa o repasto sanguíneo, perto do local da primeira fixação (SEIFERT et al., 1968). Após 16 dias a ninfa muda para o estágio adulto. Para tornar-se apto para a cópula, o macho necessita da ingestão do sangue. O acasalamento do macho e da fêmea ocorre aproximadamente no 17º dia após a infestação. Já efetuada a cópula, a fêmea começa a sua segunda fase do ingurgitamento, horas antes da queda, a fêmea pode ingerir até 3ml de sangue (HORN, 1983; FURLONG, 1993; GONZALES, 1974). O dia modal de queda das fêmeas ingurgitadas é no dia 21 após a infestação

(GONZALES, 1974). Uma vez no solo a teleógina (fêmea ingurgitada) passa pelo período de pré-postura, que é de dois a três dias, até a postura do primeiro ovo, nesse período ocorre o desenvolvimento, produção e maturação dos ovos. No período de postura (17 dias aproximadamente), a teleógina pode produzir de 2.000 a mais de 3.000 ovos aproximadamente (GONZALES, 1974; FURLONG, 1993). O tempo de eclosão dos ovos é de cinco a dez dias. As larvas tornam-se infectantes de quatro a 20 dias após a eclosão. Os parâmetros da fase de vida livre vão depender das condições abióticas do ambiente (temperatura e umidade) e nessa fase encontra-se 95% da população do parasito. Apenas cinco por cento encontra-se sobre os hospedeiros, esta informação é muito importante para o estabelecimento de estratégias de controle (GONZALES, 1974).

Os efeitos diretos causados pela espécie de carrapato *R. (B.) microplus* nos bovinos ou nos rebanhos brasileiros, são: a perda na performance (26 milhões de arrobas de carne), a redução na produção láctea, deixando de produzir quatro bilhões de litros por ano (MARTINEZ et al., 2004), também ocorrem perdas pela baixa taxa de fertilidade e natalidade, a anemia, o efeito negativo sobre o couro do animal e a facilitação na ocorrência de miíase (HORN, 1983). Um dos principais efeitos indiretos do carrapato é atuar como vetor dos agentes da doença Tristeza Parasitaria Bovina, complexo que apresenta um alta mortalidade e morbilidade no gado que são a *Babesia* spp. e as rickettsias do gênero *Anaplasma* sp. (VERISSIMO, 1993; PEREIRA et al., 2008; ANDREOTTI; KOLLER, 2012).

Ambos os efeitos, diretos e indiretos; são de extrema importância na saúde animal, em especial nos bovinos, causando um grande impacto econômico na pecuária (JONGEJAN; ULIENBERG, 2004). Além dos gastos pelo uso de carrapaticidas sintéticos e com a mão de obra, há também gastos com equipamentos e instalações utilizados no controle (GOMES, 2000) originando perdas econômicas totais por ano que vão de 800 milhões a mais de tres bilhões de dólares no Brasil (GRISI et al., 2014), podendo chegar a 7 bilhões de dólares se incluídas a América Central e América do Sul (FAO, 2004).

3.2. Acaricidas sintéticos e resistência de *R. (B.) microplus*

O primeiro relato sobre a resistência aos acaricidas de uso sistemático no controle do carrapato ocorreu na Austrália, com o arsênico, no ano de 1937 (GEORGE et al., 2008). No Rio Grande do Sul o primeiro relato de resistência ao arsênico foi na década de 50 (FREIRE, 1953). Após na década de 40, foram desenvolvidos os organoclorados (GEORGE et al., 2008), atuando no sistema nervoso central do carrapato (MERLINI; YAMAMURA, 1999), e já no ano de 1952 se tem o primeiro relato de resistência ao Hexacloro Ciclo Hexano no Rio Grande do Sul, Brasil (FREIRE, 1953). Meados dos anos 50, os organofosforados substituíram aos organoclorados (GEORGE et al., 2008), inibindo a ação da enzima acetilcolinesterase (MERLINI; YAMAMURA, 1999), sendo o primeiro relato da resistência no Rio Grande do Sul, e primeira da América do Sul, em 1963 (WARTHON; ROULSTON, 1975).

O uso do grupo das amidinas ou imidinas surgiu em meados dos anos 70 (GEORGE et al., 2008; ANDREOTTI; KOLLER, 2012), e sua ação está relacionada com a inibição enzimática (George et al., 2008). A resistência às amidinas foi descrita por primeira vez por SOUZA (1979) e por NOLAN (1994), ambos ao amitraz no Rio Grande do Sul. A região sul do Rio Grande do Sul apresenta falhas de manejo dos acaricidas, detectadas na maioria das propriedades, assim como um aumento do uso de produtos à base de amitraz, o que favoreceu a seleção de carrapatos resistentes a essas moléculas (FARIAS et al., 2008).

No ano de 1977, surgiram os piretróides (GEORGE et al., 2008) agindo no sistema nervoso central do carrapato, e no Rio Grande do Sul o primeiro registro da resistência aos piretróides foi por LARANJA et al. (1989). Em outro estudo se avaliaram três grupos químicos, amidinas, piretróides sintéticos e organofosforados em onze regiões pecuárias do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, e os três grupos químicos testados apresentaram uma reduzida eficácia (GOMES et al. 2011). Em relação à resistência dos carrapaticidas presentes no mercado brasileiro, se têm relatos sobre a resistência e os possíveis fatores que causam o desenvolvimento da mesma, em um estudo feito no Rio Grande do Sul avaliou-se a susceptibilidade *in vitro* de dois grupos químicos; os piretróides e as amidinas, carrapaticidas mais comumente usados, sendo que ambos apresentaram uma baixa eficácia, devido ao

desenvolvimento da resistência genética pelo uso indiscriminado dos carrapaticidas no campo (CAMILLO et al., 2009).

Na região sul do Rio Grande do Sul sabe-se que, na maioria das propriedades, ainda o controle do carrapato é feito exclusivamente com o uso dos carrapaticidas sintéticos, sobretudo com os princípios ativos amidina (amitraz) e piretróide (cipermetrina), sendo os mais utilizados na última década (SANTOS et al., 2012).

As lactonas macrocíclicas surgiram no início da década de 80. O mecanismo de ação delas é bloquear os impulsos nervosos (MARTIN et al., 2012). No Rio Grande do Sul, ocorre a presença de resistência cruzada por populações de *R. (B.) microplus* às lactonas macrocíclicas, especificamente ao grupo químico da avermectina (MARTINS; FURLONG, 2001).

O fipronil que chegou ao mercado nos anos 90 tem ação paralisante atuando no sistema nervoso central, os primeiros relatos de resistência parcial foram feitos em Santa Catarina (SOUZA, et al., 2014) e em São Paulo (CASTRO-JANER et al., 2010). O único relato de eficácia de um produto contendo thialozina em associação com um piretróide foi de 61.2% (FURLONG et al., 2007). O fluazuron inibe a síntese da quitina no carrapato atuando como um inibidor do crescimento (ANDREOTTI; KOLLER, 2012), além de causar efeitos deletérios na eclosão dos ovos e nos parâmetros reprodutivos em associação com a abamectina (CRUZ et al., 2014).

O surgimento da resistência de *R. (B.) microplus* aos carrapaticidas vem gerando sérios problemas na produção de bovinos, sendo uma tendência mundial. A causa principal ao desenvolvimento da resistência à maioria dos carrapaticidas sintéticos está associada à expressão dos fatores intrínsecos ou biológicos, relacionados com o carrapato, como as mutações na genética, resultando na produção de alelos dominantes resistentes (modificação na região nucleotídica codificante) dentro das populações de *R. (B.) microplus*, causando uma insensibilidade no sítio de ação do acaricida, assim como trocas enzimáticas e um incremento na sobreexpressão e especificidade das enzimas responsáveis pelo metabolismo do acaricida, cabe se destacar as enzimas do complexo Citocromo P450, as estereases e as glutatona-S-transferases (GUERRERO et al., 2001; FOIL et al., 2004; ANDREOTTI; KOLLER, 2012; PEREIRA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2015; LI

et al., 2007). O fator operacional (pressão de seleção), relacionado com a ação do homem no controle do carrapato, fenômeno preocupante, que se apresenta devido à maioria dos produtores usarem o produto químico como única ferramenta para o controle de uma maneira errônea, como: tratar o gado em épocas do ano quando a população de larvas no ambiente não é pequena, uso de carrapaticidas de baixa qualidade com concentrações incorretas, subdosagem, superdosagem, uso de carrapaticida de longa ação com curva subletal prolongada, o uso frequente ou excessivo do carrapaticida sem conhecer a biologia, ecologia e prevalência do carrapato e o mais importante as falhas na detecção da resistência (RIDDLES; NOLAN, 1986; DENHOLM; ROWLAND, 1992; FAO, 2004). Assim, a escolha de um produto comercial de menor eficácia pode acelerar a seleção de populações de *R. (B.) microplus* resistentes.

Estima-se que os custos e o tempo na descoberta, na pesquisa e no desenvolvimento de um novo fármaco sintético na indústria da saúde animal, são entre 100 a 200 milhões de dólares e cerca de 12 anos (HENNESY, 1997). As principais razões pelas quais o controle baseado exclusivamente no uso de produtos químicos não é sustentável são: o rápido desenvolvimento da resistência aos compostos químicos pelas populações de carrapatos, sendo que uma vez que há resistência torna-se um recurso não renovável, os custos diretos e indiretos associados no seu controle, a dificuldade na obtenção de novos acaricidas, devido há que para serem registrados devem ter pelo menos 95% de índice de eficácia segundo o Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA) e pela presença de resíduos químicos na carne e no leite. Sendo assim, há a necessidade de integração de ferramentas e estratégias não químicas para o controle de *R. (B.) microplus*, com a finalidade de procurar uma redução global no grau de exposição de produtos químicos ou agrotóxicos (carrapaticidas e pesticidas) nas populações de bovinos, nos aplicadores e no meio ambiente (STRONG, 1993; KUNZ; KEMP, 1994; FRISH, 1999; BENAVIDES, 2001; ANDREOTTI; KOLLER, 2012). Deste modo, o monitoramento em situações regionais é fundamental para a avaliação da situação da resistência (ANDREOTTI, 2010).

3.3. Diagnóstico da resistência

A resistência de *R. (B.) microplus*, se apresenta na maioria dos acaricidas químicos de uso comum para o controle (HIGA et al., 2015). Um dos maiores problemas no Brasil são as falhas na detecção da resistência, o que ocasiona uma pressão de seleção nas populações, além de não ter contato ainda com os acaricidas, sendo um problema irreversível (FURLONG; SALES 2007).

O diagnóstico da resistência dentro da propriedade, seja de gado de leite ou de corte é de muita importância para a identificação do problema, assim também para elaborar estratégias e propostas de ação para o controle da situação da resistência, prevenir a disseminação de carrapatos resistentes e economizar fundos. Para preservar a eficácia de um acaricida é recomendada a utilização de testes de diagnóstico, a sua recomendação é a utilização desses antes da aplicação dos acaricidas dentro da propriedade e que seja capaz de detectar o problema em um estágio primário do seu desenvolvimento. As importantes características dos testes *in vitro* para a detecção da resistência, é que são de fácil execução e econômicos (PEREIRA et al., 2008; FAO, 2004; OLIVEIRA et al., 2015; RAYNAL et al., 2015).

Na atualidade existem dois tipos de testes ou bioensaios: testes *in vitro* (avaliando as fases de vida livre) e os testes *in vivo* (avaliando as fases de vida parasitaria). Há escassos trabalhos sobre testes *in vivo* em carrapaticidas. Os testes *in vitro* mais utilizados são de três tipos: o Teste de Imersão de Adultas (TIA) avaliando a mortalidade das teleóginas próximas a ovipostura, a taxa de ovipostura, a porcentagem de eclodibilidade das larvas e o índice de eficácia do acaricida sobre a população testada, mediante a imersão das teleóginas na diluição comercial do acaricida a ser testado (DRUMMOND et al., 1973).

O teste de Pacote de Larvas (TPL) descrito por STONE e HAYDOC (1962), avaliando a porcentagem de mortalidade das larvas após 24 horas, com o uso de um papel filtro embebido com a diluição do carrapaticida a ser testado, é uma técnica padrão reconhecida pela Food and Agriculture Organization (FAO) e, por ultimo o Teste de Imersão de Larvas (TIL) descrito por SHAW (1966) avaliando também a porcentagem de mortalidade das larvas após 24 horas, com a diferença de que as larvas são imersas por 5 minutos na solução do acaricida comercial e são

posteriormente transferidas para um papel filtro para sua incubação, esse teste é usado para acaricidas sistêmicos como as lactonas macrocíclicas. Existe também o diagnóstico molecular, no qual se identificam mutações nos alelos (distinção genotípica da resistência) entre populações de carrapatos. Um dos maiores problemas no Brasil, é o desconhecimento desses testes por parte dos produtores e mesmo os médicos veterinários (DENHOLM et al., 1992).

3.4. Fatores de risco para a seleção da resistência em *R. (B.) microplus*

A informação técnica permite aos produtores a utilização de medidas de manejo capazes de reduzir a infestação de carrapato. Os principais fatores que proporcionam a aparição da resistência são: o manejo, com falhas na diluição, na aplicação, na conservação e nos intervalos da aplicação do carrapaticida, levando a concentrações não letais para as populações de *R. (B.) microplus*.

Em um levantamento sobre o controle do *R. (B.) microplus* realizado em 85 propriedades de gado de corte em sete municípios no Rio Grande do Sul, observou-se que os fatores de risco para a seleção de populações resistentes aos acaricidas são: o nível de escolaridade até o ensino fundamental e o número de aplicações de carrapaticidas igual ou maior que quatro vezes ao ano (SANTOS et al., 2009).

Em outro estudo foi avaliada a percepção de 25 produtores de leite no Município de Passos, Mato Grosso, conclui-se que os produtores não demostram ter um conhecimento sobre a biologia do carrapato e sobre os riscos toxicológicos dos carrapaticidas, além de realizar o controle sem critérios e com alta frequência do uso do carrapaticida, baseando-se na avaliação subjetiva da infestação nos animais (ROCHA et al., 2006). Em cinco propriedades leiteiras em São Paulo, foi avaliada a resistência ao amitraz, ao piretróide e à associação de piretróide com organofosforado e os métodos de controle pelos proprietários, todas as propriedades mostraram baixos índices de eficácia, os fatores de risco associados à presença da resistência foram que em todas as propriedades criavam gado Holandês (*Bos taurus*) sensível às infestações, que as infestações se apresentaram no verão, que todas apresentaram rotação das pastagens sem os 60 dias de descanso estabelecidos, e que o critério de aplicação do carrapaticida na maioria das propriedades era só em presença de

infestações nos animais, nenhum dos proprietários tinha conhecimento do teste de TIA para o diagnóstico da resistência (UENO et al., 2012).

Na região sul do Rio Grande do Sul avaliou-se a situação da resistência, mediante a obtenção de dados de anamnese sobre o controle do carrapato em 39 propriedades, observou-se que principalmente o controle sendo feito pela aplicação de carrapaticidas quando os animais aparecem infestados, não é feito nenhum controle estratégico nas propriedades. Das propriedades com cepas resistentes 80% utiliza aspersão e o 100% usa *pour-on*, indicando que esses métodos de aplicação apresentam falhas humanas principalmente na subdose do produto, em 100% das propriedades onde se usa uma concentração maior à recomendada o carrapato apresentou resistência. Nas 39 propriedades as principais falhas detectadas foram: nos banhos estratégicos a intervalos regulares, sendo que só banham quando apresentam altas infestações, o uso de carrapaticidas em concentrações inadequadas, aplicações frequentes de piretróides para o controle de *Haematobia irritans*, e as aplicações *pour-on* inferiores ao recomendado para diminuir os custos (FARIAS, 1999).

Em um estudo feito em Yucatan, México, conclui-se que os fatores de risco para populações resistentes aos organofosforados e piretróides são: o número de aplicações por ano \geq seis, e o uso de um programa de controle do carrapato (lactonas macrocíclicas e queima das pastagens) diferente às normas de programas recomendados (VIVAS et al., 2006). Um estudo mostrou que a idade e a genética são importantes fatores de risco na infestação de *R. (B.) microplus* nas bezerras, sendo que os animais entre o terceiro e sexto mês de idade apresentaram maior suscetibilidade, e que as bezerras *Bos taurus* foram mais infestadas do que as *Bos indicus* (SILVA et al., 2015). Em Nova Caledônia, os fatores de risco relacionados à resistência foram: a localização geográfica, sendo o mais importante, o método de aplicação do carrapaticida, sendo que o método de aspersão mecânica induziu uma maior resistência seguida da aspersão manual e os intervalos de aplicação com respeito ao tempo, sendo pelos critérios de aplicação do proprietário (BIANCHI et al., 2003). Na região sul de Minas Gerais, os fatores associados à resistência, em base às informações sócio-econômico-culturais, produtivas e de manejo de acaricidas em 105 propriedades de leite, foram: o aumento do nível tecnológico da propriedade, percebido pelo manejo, a produtividade e escolaridade superior do produtor, já que

permitiu maior chance de ocorrência de resistência, pela preocupação do rebanho que acaba em um excesso de aplicação de acaricidas (alta frequência de aplicação anual) e por último o uso de acaricidas de longa duração, unida à falta de conhecimento sobre qual produto é o mais indicado para combater a cepa da propriedade e a ineficiência do banho carrapatacida, todas essas ocasionando graves situações de resistência (DAHER et al., 2012).

Em Minas Gerais se avaliou o conhecimento de 93 produtores de leite sobre o *R. (B.) microplus* e o controle do mesmo, os resultados mostram que os produtores não tinham conhecimento sobre os testes de eficácia de carrapaticidas e do controle do carrapato, a maioria dos produtores nada sabiam sobre o período não parasitário, nem sobre a biologia do carrapato, para 96.4% dos produtores, o que determinava o momento do tratamento era o grau de infestação, 93.3% deles usavam bomba-costal como método de aplicação, e que a maioria dos produtores desconhece os fatores que influenciam as escolhas do carrapaticida. Conclui-se que a escolaridade não está relacionada a um controle mais eficiente (AMARAL et al., 2011).

3.5. Extratos vegetais contra *R. (B.) microplus*

Durante as últimas décadas o interesse do público nas terapias naturais tem aumentado nos países industrializados. O Brasil é o país com mais diversidade genética vegetal no mundo, com mais de 55 mil espécies catalogadas de um total estimado de entre 350 mil e 500 mil. Dessas 55 mil, 10 mil podem ser medicinais e aromáticas (BARATA; QUEIROZ, 1995).

Os fitoterápicos apresentam importantes vantagens quando comparados com os carrapaticidas sintéticos, essas vantagens são: a obtenção a partir de recursos renováveis, rapidamente degradáveis, seletivos e de baixa fitotoxicidade, o que reduz seu impacto a organismos benéficos, ao homem e ao ambiente, desenvolvimento lento da resistência, sem resíduos nos alimentos, de ação rápida e de fácil acesso (ROEL et al., 2001; CLOYD et al., 2004). Os inseticidas botânicos podem ser usados dependendo do preparo como produto *in natura* (cru) em pó, extrato aquoso ou alcoólico, óleos essenciais, óleos fixos, formulações concentradas comerciais e semi comerciais, purificação e isolamento de compostos puros de extratos de plantas e

moléculas modelos para novos agroquímicos (MOREIRA et al., 2007; MENEZES, 2005; CAMPOS et al., 2012).

Existem vários estudos com avaliação de óleos essenciais e extratos de origem vegetal contra larvas e teleóginas de *R. (B.) microplus* (BORGES et al., 2011). Os óleos essenciais ou voláteis e fixos são misturas de compostos orgânicos de baixo peso molecular e se originam a partir dos metabolitos secundários de plantas aromáticas. Os mono e sesquiterpenos, como os fenilpropanóides são os principais componentes dos óleos essenciais, já que conferem suas características organolépticas (CAMPOS et al., 2012; BIZZO et al., 2009).

CHUNGSAMARNYART e JIWAJINDA (1992) demonstraram o efeito acaricida *in vitro* do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* e de *Cymbopogon nardus* pertencentes à família Poaceae, ambos diluídos em etanol, obtendo 100% de mortalidade em teleóginas em uma concentração de 1:2. Em outro estudo avaliaram-se cinco extratos, dos quais o extrato da semente de *Annona muricata* L. família Annonaceae, mostrou o maior poder acaricida com índice de eficácia de 100%, e teve uma redução de 100% na eclosão das larvas (BROGLIO et al., 2009). A atividade acaricida de diferentes concentrações do óleo essencial de *Tetradenia riparia* da família Lamiaceae, foi avaliada contra teleóginas (parâmetros reprodutivos) e larvas de *R. (B.) microplus*, observando-se uma correlação positiva entre a concentração do óleo essencial de *T. riparia* e o controle, já que o forte poder acaricida e as taxas de mortalidade foram dose dependente, apresentando-se como um candidato promissor no controle de cepas resistentes (GAZMIN et al., 2011).

BROGLIO et al. (2010) mostraram o poder acaricida do extrato vegetal orgânico de semente (hexano) e do óleo emulsionável de nim (*Azadirachta indica*) pertencentes à família Meliaceae a 2%, ocasionando a mortalidade das teleóginas e interferindo na reprodução, mostrando ser uma alternativa. CHAGAS et al. (2002), estudou o efeito acaricida de óleos essenciais de três espécies de Eucalipto, família Myrtaceae; o óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* mostrou 100% de mortalidade em uma concentração média de 17.5%, *Eucalyptus globulus* a 15% e o *Eucalyptus staigeriana* a 12.5%. APEL et al. (2009), mostraram efeitos de componentes essenciais e a toxicidade de óleos essenciais a partir de espécies do gênero *Cunicula*, família Lamiaceae contra larvas de *R. (B.) microplus*, com respeito à toxicidade: *Cunicula angustifolia* e *Cunicula spicata* foram as espécies com maior atividade acaricida

matando a maioria das larvas, os componentes primordiais foram alfa-pineno e o beta-pineno para *Cunicula incana* e para *C. spicata* foi o mentofurano. RIBEIRO et al. (2008) mostraram a composição química e propriedades larvicidas do óleo essencial de *Drimys brasiliensis*, família Winteracea, os compostos químicos majoritários foram os sesquiterpenos, seguido do cyclocolorenone. O óleo apresentou uma mortalidade de 100% nas larvas de *R. (B.) microplus* em uma concentração de 6.25 µl/ml.

LEBOUVIER et al. (2013) avaliaram a atividade acaricida de óleos essenciais de cinco coníferas em Nova Caledonia; dos cinco óleos, o óleo de *Araucaria columnaris*, família Araucariaceae e o óleo de *Neocallitropsis pancheri*, família Cupressaceae, apresentaram poder acaricida efetivo contra teleóginas de *R. (B.) microplus*. No México VELAQUEZ et al. (2011), avaliaram o poder acaricida dos óleos essenciais de *Cuminum cyminum* L., *Pimenta dioica* e de *Ocimum basilicum* em seis diferentes concentrações (20%, 10%, 5%, 2.5% e 1.25%) contra larvas de *R. (B.) microplus*, o óleo essencial de *C. cyminum* L. apresentou mortalidades do 100% nas cinco concentrações e o óleo de *P. dioica* teve os mesmos resultados, decrescendo só na concentração de 1.25%. O componente majoritário para o óleo de *C. cyminum* L. foi o aldeído cumínico e para o óleo de *P. dioica* foi o metileugenol.

SILVA et al. (2009), avaliaram diferentes concentrações do hidrodestilado do óleo de *Piper aduncum* família Piperaceae, obtido a partir do extrato hexano cru, contra larvas de *R. (B.) microplus*, a concentração de 0.1mg/ml⁻¹ teve 100% de mortalidade em larvas, sendo uma alternativa potencial para o controle. RIBEIRO et al. (2010) estudaram o efeito acaricida do óleo essencial da planta aromática *Hesperozygis ringens* família Lamiaceae, contra teleóginas (parâmetros reprodutivos) e larvas de *R. (B.) microplus*, as concentrações de 50 µl/ml e 25 µl/ml inibiram significativamente a postura dos ovos, a concentração de 50 µl/ml inibiu a eclodibilidade em um 95%. Nas larvas a CL99 foi de 0.260µl/ml, o componente majoritário do óleo foi a pulegona (86%), provavelmente responsável da atividade do óleo. FERNANDES E FREITAS (2007), estudaram a atividade acaricida da oleorresina de *Copaifera reticulata*, família Aesalpiniaceae, frente a larvas de *R. (B.) microplus*, a CL99 da oleorresina foi de 3491 ppm, o uso da óleo rresina de *C. reticulata* para o controle de *R. (B.) microplus* está em discussão. A necessidade de métodos mais seguros, menos agressivos ao homem e ao meio ambiente tem estimulado a busca de novos produtos pesticidas a partir de extratos vegetais.

Os acaricidas botânicos permitirão a redução da utilização dos carrapaticidas organosintéticos no controle de *R. (B.) microplus* e com isso espera-se reduzir ou minimizar os problemas econômicos, sociais, ecológicos e ambientais com a utilização destes produtos (CAMPOS et al., 2012).

3.6. Família Apiaceae

Também conhecida como família Umbelliferae, essa alberga um numero aproximado de 3.780 espécies dentro de 434 gêneros. Se encontra distribuída no mundo todo, nas zonas temperadas. Inclui um vasto leque de importantes alimentos, ervas aromáticas e com propriedades medicinais. No Brasil são relatados oito gêneros de Apiaceae albergando aproximadamente 100 espécies. Entre as espécies cultivadas para a alimentação ou especiarias estão: *Anethum graveolens* (endro), *Apium graveolens* (aipo), *Carum carvi* (cominhos), *Coriandrum sativum* (coentro), *Cuminum cyminum* L. (cominho), *Daucus carota* (cenoura), *Foeniculum vulgare* (erva-doce), *Pastinaca sativa* (flã), *Petroselinum crispum* (salsa) e *Pimpinella anisum* (anis) (ENCYCLOPEDIA BRITANNICA, 2016). Essa família é conhecida por apresentar alguns óleos essenciais na folha como os monoterpenos: limoneno e linalol (HADARUGA et al., 2005), e as cumarinas (RIBERO; KAPLAN, 2002; RAZAVI et al., 2008). O linalol é um composto fenólico que inibe o crescimento de bactérias e fungos, funcionando como antisséptico (SIMÕES; SPITZER, 2007). O limoneno desempenha o papel de proteção contra insetos nas plantas (VIEIRA et al., 2007). As cumarinas estão presentes em diferentes partes das plantas, tanto nas raízes como nas flores e frutos e podem estar distribuídas em diferentes famílias de angiospermas como na Apiaceae (RIBEIRO; KAPLAN, 2002; KUSTER; ROCHA, 2007). Muitas cumarinas possuem odores caraterísticos, sendo utilizadas na indústria de produtos de limpeza e cosméticos (KUSTER; ROCHA, 2003), possuem propriedades antibióticas (MICHAELI et al., 1970), analgésicas e bronco dilatadoras (LEAL et al., 2000), assim também pode ser usada em tratamentos contra o câncer (THORNES et al., 1994), embora sejam classificadas como substâncias tóxicas (KUSTER; ROCHA, 2003).

3.6.1. *Cuminum cuminum* Linn. (cominho)

Cuminum cuminum Linn. (cominho) é uma planta herbácea aromática anual, de até 0,6m (2 pés) de altura, semeada na primavera, a fruta contém uma semente que é uma importante especiaria comercial, é a segunda mais popular no mundo. O cominho teve sua origem na região mediterrânea, e os principais produtores de cominho são a Índia, Turquia e Irã (LIM, 2014). É usado em vários lugares do mundo para propósitos culinários, por seu distintivo aroma, propriedades medicinais e terapêuticas no tratamento de doenças. Os benefícios medicinais são atribuídos pelo alto conteúdo de componentes ativos como são: os terpenos, fenóis e flavonoides. O método mais comum da obtenção do óleo essencial do cominho é por hidrodestilação e a destilação a vapor. O componente químico majoritário do óleo de cominho é o monoterpene hidrocarbonado aldeído cumínico e em menor quantidade os sesquiterpenos. O óleo de cominho apresenta bio-atividade medicinal pelo qual é usado como anti-inflamatório, diurético, carminativo e antiespasmódico (SOWBHAGYA, 2013).

A semente do cominho apresenta atividade antioxidante já que contém flavonóide, apigenina e luteolina. O extrato aquoso exibe uma atividade antioxidante forte, sendo benéfico como aditivo alimentar (SATYANARAYANA et al., 2004). Inibe a indução de carcinomas gástrico de células escamosas (GAGANDEEP et al., 2003). Reduz os níveis de glicose no sangue pela inibição da aldose redutase e da alfa-glicosidase (LEE, 2005). O óleo essencial do cominho apresenta ação antibacteriana contra *Klebsiella pneumoniae* (DERAKSHAN et al., 2008). Atividade antifúngica contra *Candida tropicalis* e *Trichophyton mentagophytes* resistentes a fluconazole (RABADIA et al., 2012) e atividade inseticida (YEOM et al., 2012). Cabe mencionar que o óleo essencial do cominho mostrou efeito acaricida sobre as larvas de *R. (B.) microplus*, sendo os compostos majoritários o cuminaldeído, γ -terpineno e o 2-carene-10-al (VELAZQUEZ et al., 2011).

3.7. Família Lecythidaceae

Pequena família, encontrada na sua maioria nas regiões tropicais, compreende aproximadamente 400 espécies dentro de 25 gêneros (MORI, 2007). É uma família pantropical com o maior grupo dominante de árvores. Nas Américas é encontrada desde o México até o Paraguai e sul do Brasil (MORI; PRANCE, 1990; MORI, 2007; MORI, 2006). No Brasil há dez gêneros e 120 espécies, e 45% dessas espécies são endêmicas, o estado de Amazonas apresenta mais de 75 espécies (SMITH et al., 2015). Na região leste do país essa família, está em risco de extinção (SMITH et al., 2016). Essa família possui árvores tropicais na América, de até 1.400 anos de idade (espécimen *Cariniana micrantha*) (CHAMBERS et al., 1998). O extracto de clorofórmio da Casca de tronco da espécie *Gustavia elliptica* (Lecythidaceae), mostrou atividade contra Formas promastigotas de *Leishmania braziliensis*, no estudo fitoquímico confirmou a composição rica em terpenos e ácidos graxos (Almeida et al., 2011).

3.7.1. *Bertholletia excelsa* (castanha do Brasil)

A castanheira é originária da Amazônia, e a única espécie desse gênero. Encontra-se em regiões tropicais de países como: Guianas, Colômbia, Venezuela, Peru e Bolívia (WICKENS, 1995). Com limites climáticos de temperatura de 24-27°C e uma umidade relativa anual de 79-86%. As árvores caducifólias podem chegar a ter até 50m de altura e de 1 a 2m de diâmetro, folhas simples de até 35cm de comprimento, seus frutos redondos de até 15cm de comprimento contendo de oito a 24 sementes (castanhas), o tempo de desenvolvimento das sementes é de até 15 meses (MORI; PRINCE, 1990) (WICKENS, 1995).

A castanha é considerada um produto com alto valor nutricional, ecológico, social e econômico (SILVA et al., 2010). O núcleo da castanha possui 60 a 70% lipídeos, o ratio de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados é de 25:41:34 respectivamente, 15 a 20% de proteína, enxofre, vitamina E e propriedades antioxidantes (KLUCZKOVSKI, 2015; MARTINS et al., 2012). Uma castanha incrementa a concentração de selênio e a atividade da glutathione peroxidase, tendo propriedades antioxidantes (COMINETTI et al., 2012). Seu alto conteúdo de beta-

sitosterol pode servir como tratamento em pacientes com colesterol alto. O óleo de castanha tem uma alta proporção de ácidos graxos insaturados 75.6%. Os altos níveis de ácido linoléico (39.3%) e linolênico (36.1%) lhe brindam características interessantes na dieta (CHUNHIENG et al., 2008). SANTOS et al. (2012), apresentaram que o ácido oléico (36.21%) e o ácido linoléico (37.53%) foram os compostos em maior quantidade no óleo. O óleo da castanha do Brasil pode ser usado como farmacêutico, em cosméticos, em alimentos e ajuda na prevenção de doenças cardíacas e o câncer. (KLUCZKOVSKI et al., 2015).

A castanha do Brasil apresenta atividade tripanocida e bioatividade contra *Plasmodium falciparum* (KLUCZKOVSKI et al., 2015; CAMPOS et al., 2005; SOUSA et al., 2013). Cabe destacar que os componentes majoritários do óleo fixo são o ácido linoleico e o ácido oleico (RYAN et al., 2006).

3.8. Família Asteraceae

Também chamada de Compositae, apresenta aproximadamente 25.000 espécies de ervas, arbustos e árvores distribuídas em mais de 1.600 gêneros, é a maior família de angiospermas (BREMER, 1994). No Brasil se tem 196 gêneros com 1.900 espécies (BARROSO et al., 1991). Essa família é importante pelo número de plantas ornamentais de jardim, flores silvestres e ervas daninhas, outros membros da família tem importância econômica em colheitas de alimentos, que podem ser consumidos como vegetais e sementes comestíveis como são as sementes de *Helianthus annuus* L. (girassol), usadas na produção de óleo de cozinha (ENCICLOPEDIA BRITANNICA, 2016). Os extratos hexânicos das caules e folhas de *Calea serrata* (Asteraceae) mostraram poder acaricida sobre ovos e larvas de *R. (B.) microplus*, o que pode ser atribuído aos cromenos encontrados na planta, especialmente do precoceno II (RIBEIRO et al., 2008).

3.8.1. *Helianthus annus* L. (semente de girassol)

É uma dicotiledônea anual, é nativa das Américas, tendo sua origem no centro do México (LENTZ et al., 2008). O gênero deriva do grego *helios* que significa sol e de *anthus* que significa flor (CAVASIN-JUNIOR, 2001). Prefere temperaturas moderadas e cresce em regiões semiáridas, com temperaturas entre 17-33°C, e em áreas com sol (LIM, 2014). As sementes, pétalas da flor, e o pecíolo das folhas são comestíveis (ROBERTS, 2000). Erva anual ereta de 100 a 300cm de altura (LIM, 2014), o girassol é a quarta oleaginosa mais consumida no mundo, já que as sementes são ricas em óleo e devido ao aproveitamento econômico, são fonte proteica também para ração animal e uso humano (CASTRO et al., 1997; SMIDERLE, 2000).

O Brasil tem 70 mil hectares cultivadas, sendo os estados de Mato Grosso, Goiás e Rio Grande do Sul os maiores produtores do Brasil (90% da produção nacional). O sul produz 20.05% da produção nacional e o Rio Grande do Sul planta 96.34% deste total, o Brasil ocupa a 27ª posição dos maiores produtores de óleo (CONAB, 2009). O seu principal uso é o óleo produzido (CARRÃO-PANAZZI; MANDARINO, 2005), mas além do óleo se tem pequenas indústrias no Brasil processando a oleaginosa para outros fins como a produção de biodiesel (SILVA et al., 2008). O fruto de girassol tem 24% de proteínas e 47.3% de óleo (LEITE et al., 2005), o óleo é rico em ácidos graxos poli-insaturados essenciais, com alto teor de ácido linoléico (70-80%) e elevado teor de ácido oléico (80-90%), constituindo 90% total de ácidos graxos presentes no óleo de girassol, também apresenta ácidos graxos saturados (11.6%) (OLIVEIRA; VIERA, 2004; MANDARINO, 1992; CASTRO et al., 1997). Em menor proporção os compostos insaponificáveis importantes para a estabilidade do óleo que se destacam são: tocoferóis ou vitamina E, os esteróis, as lectinas e os beta-carotenos (MANDARINO, 1992).

Dentre suas funções encontra-se: o alto nível nutricional, como produto farmacêutico atuando como anti-inflamatório e redutor de colesterol prevenindo doenças cardiovasculares, já que a ingestão de dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados ocasiona um aumento das lipoproteínas de alta densidade (HDL), o que leva a uma redução do colesterol plasmático, o eicosapentanoico derivado do ácido

linolênico ajuda na inibição da aterogênese e consequentemente da trombogênese (MANDARINO, 1992; OLIVEIRA; VIERA, 2004; MENSINK, 2003).

Óleo de girassol contendo γ -tocoferol serve como antioxidante. Uma proteína de transferência de lipídeos (Ha-AP10) isolada a partir de sementes de girassol em germinação apresentou uma forte atividade antimicrobiana e um efeito inibitório mínimo contra *Alternaria alternata* (GONORAZKY et al., 2005). Estudos demonstram a atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo da semente de girassol (ABOKI et al., 2012; TABASSUM; VIDYASAGAR, 2014), assim como, tem propriedades diuréticas e expectorantes e tem sido usada como tratamento nas infecções do sistema ou aparelho respiratório superior (LIM, 2014). Os componentes majoritários do óleo são o ácido linoleico e o ácido oleico (MANDARINO, 1992).

Com base no que foi anteriormente descrito, é importante contribuir com novas alternativas terapêuticas junto aos acaricidas tradicionais, diminuindo os efeitos nocivos sobre o ambiente, pecuária, consumidores e proprietários, sendo que estes podem ser altamente produzidos no Brasil e em países próximos ao estado do Rio Grande do Sul, devido à alta viabilidade destas plantas.

Percepção de produtores e fatores de risco em propriedades leiteiras quanto à presença e controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* na Região Sul do Rio Grande do Sul¹

AUTORES:

José P. Villarreal Villarreal^{2,5*}, Tania R.B. Santos³, Éverton F. da Silva⁴, Jesús J. Hernández Escareño⁵ e Patrícia da S. Nascente⁶

ABSTRACT. – Villarreal J.P.V., Santos T.R.B., Silva É.F., Escareño J.J.H. & Nascente P.S. 2017. [Perception of producers and risk factors in dairy farms regarding the presence and control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the Southern region of Rio Grande do Sul.] Percepção de produtores e fatores de risco em propriedades leiteiras quanto a presença e controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* na Região Sul do Rio Grande do Sul. Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DEMP), Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário s/n, Cx. Postal 354, Pelotas, RS 96010-900, Brazil. E-mail: pablov_v@hotmail.com.

The tick specie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* is one of the main economic problems in livestock. The emergence of the acaricidal resistance is mainly due to the operational factor, without having a knowledge about the biology, ecology and epidemiology of the tick. In Rio Grande do Sul (RS) the epidemiologic data is scarce and outdated, besides there is no data about the perception of dairy cattle producers and risk factors in dairy farms regarding the presence and control of *R. (B.) microplus*. The aim of the present study was to carry out the first questioning approaching the perception of dairy cattle producers about *R. (B.) microplus* and its control in their farms, in order to know and obtain information of the risk factors related to the presence and selection of resistant tick populations in the southern region of RS. For this, a questionnaire was applied in a sample of 30 systemic randomly selected dairy farms, proportionally distributed of five municipalities in the southern region of RS. The data was tabulated and analyzed using the software Epi Info v.7, with an estimated prevalence of 50% and a confidence interval of 95%. The associations between the variables were performed using the Fischer's exact test ($p < 0.05$) and analyzed by a logistic regression model. The obtained results show that the difficulty to control *R. (B.) microplus* with the available acaricides do not depends on education level. The dairy farms with higher level of technification are nine times more likely to have difficulty controlling ticks, than those with shed type facilities. The producers that applied acaricides equal or more than four times per year are 6.42 times more likely to have ticks inside their farm and 7.46 more likely to have difficulty controlling them, than those applying less than four times. Most of the properties showed characteristics and favorable methods for the conventional tick control, however without having a strategic control. In this sense, the technical or veterinary information advice to producers, about the management failures and risk factors within the dairy farms showed in this study, is necessary, in order to obtain new management measures and strategic controls able to reduce and control infestations, as well as to prolong the useful life of the acaricides.

INDEX TERMS: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, dairy farms, risk factors, acaricides, producers.

² Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DEMP), Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário s/n, Cx. Postal 354, Pelotas, RS 96010-900, Brasil. *Autor para correspondência: pablov_v@hotmail.com.

³ Faculdade de Veterinária, UFPel, Campus Universitário s/n, Cx. Postal 354, Pelotas, RS 96010-900, Brasil. E-mail: tsantos@ufpel.edu.br.

⁴ Faculdade de Veterinária, UFPel, Campus Universitário s/n, Cx. Postal 354, Pelotas, RS 96010-900, Brasil. E-mail: fagondede@gmail.com.

⁵ Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), Francisco Villa S/N Col. Ex Hacienda el Canadá, Escobedo, NL 66054, México. E-mail: jjescareno@hotmail.com.

⁶ DEMP, Instituto de Biologia, UFPel, Campus Universitário s/n, Cx. Postal 354, Pelotas, RS 96010-900, Brasil. E-mail: pattsn@gmail.com.

RESUMO. - A espécie do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, é um dos principais problemas econômicos na pecuária bovina. O surgimento da resistência aos carrapaticidas, deve-se principalmente ao fator operacional, sem ter um conhecimento sobre a biologia, ecologia e epidemiologia do carrapato. No Rio Grande do Sul (RS) os dados epidemiológicos são escassos e não atualizados, além não há dados, sobre a percepção de produtores de leite, quanto a presença e controle do *R. (B.) microplus*. O presente estudo teve como objetivo realizar o primeiro questionamento abordando a percepção dos produtores de gado de leite sobre *R. (B.) microplus* e o controle em suas propriedades, com o fim de conhecer e obter informação sobre os fatores de risco que podem estar relacionados na presença e seleção de populações resistentes na região sul do RS. Foi aplicado um questionário em uma amostra de 30 propriedades leiteiras selecionadas de forma aleatória sistemática, distribuídas de maneira proporcional de cinco municípios da região sudeste do RS. Os dados foram tabulados e analisados através do programa Epi Info v.7, com uma prevalência estimada de 50% e um intervalo de confiança (IC) de 95%. As associações entre as variáveis foram feitas usando o Teste do Exato de Fisher ($p < 0.05$) e analisadas por um modelo de regressão logística. Os resultados obtidos mostram que a dificuldade para o controle de *R. (B.) microplus*, com os acaricidas disponíveis não depende do grau de instrução dos proprietários. As propriedades que tem instalações semitecnificadas, têm nove vezes mais chances de ter dificuldade para o controle, do que aqueles que possuem instalações de tipo galpão. Os proprietários que aplicam os carrapaticidas em número equivalente ou maior a quatro vezes por ano, tem 6.42 vezes mais chances de apresentar carrapatos dentro da sua propriedade e, 7.46 vezes mais chances de ter dificuldade para o controle do que aqueles que fazem menos de quatro aplicações por ano. A maioria das propriedades apresentam características e métodos favoráveis, para o controle convencional do carrapato, mas não chegam a ter um controle estratégico. Neste sentido, a assessoria técnica ou veterinária do conhecimento ou informação técnica aos proprietários, sobre as falhas no manejo e fatores de risco dentro das propriedades, apresentadas nesse estudo, é necessária, com o fim de obter novas medidas de manejo e estratégias eficientes que sejam capazes de reduzir e controlar infestações, assim também prolongar a vida útil dos carrapaticidas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, propriedades leiteiras, fatores de risco, carrapaticidas, produtores.

INTRODUÇÃO

Em 2015, o Brasil ocupou a segunda posição com maior rebanho de bovinos no mundo, com 215,20 milhões de cabeças e a quinta posição em produção de leite com 35,000 bilhões de litros o que representou uma queda de 0,4% sobre o ano anterior. No mesmo ano a região sul do país ocupou a primeira posição com 35,2% da produção nacional, sendo que o estado do Rio Grande do Sul (RS), apresentou a terceira maior posição nacional da produção de leite (IBGE, 2015). Dos 85 mil produtores de leite, nos 497 municípios do RS, 45% produz entre zero e 100 litros do produto por dia, sendo que o 95% da produção vem da agricultura familiar (MilkPoint, 2015).

Um dos principais problemas na pecuária bovina é a infestação da espécie do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888), apresentando-se do paralelo 32°norte até o 35°sul, com uma alta prevalência no Brasil, onde áreas com alta umidade relativa e temperatura favorecem a sobrevivência das populações (Estrada et al. 2006). Dentre seus efeitos negativos estão: a perda na performance, com 26 milhões de arrobas de carne; a redução na produção láctea, deixando de produzir quatro bilhões de litros por ano (Martinez et al. 2004), além de ser o principal transmissor dos agentes etiológicos do complexo da Tristeza Parasitária Bovina (Araújo et al. 1998, Bock et al. 2004), dando perdas econômicas por ano no Brasil de US\$ 800 milhões a mais de três bilhões (Grisi et al. 2014).

Apesar dos riscos, o controle do carrapato no Brasil é feito exclusivamente com carrapaticidas sintéticos, devido à intensidade dos sistemas de criação do gado leiteiro (Amaral et al. 2011, Santos & Vogel 2012). No RS diversos estudos demonstram a presença da resistência sobre diferentes princípios ativos tanto de uso por contato, quanto sistêmico e associações desses disponíveis no mercado (Martins & Furlong 2001, Farias et al. 2008, Castro-Janner 2010, Machado et al. 2014, Reck et al. 2014, Higa et al. 2015). O surgimento da resistência é propiciado principalmente devido ao fator operacional (Riddles & Nolan 1987, Denholm & Rowland 1992), pela falta de uma política de controle oficial administrados por instituições competentes, o que deixa aos produtores a responsabilidade de selecionar tais critérios de controle (Furlong 2000). Estudos no Brasil mostram que alguns fatores de risco como: as práticas de manejo sanitário, a utilização excessiva do(s) carrapaticida(s), a aplicação inadequada ao longo de um período prolongado ou o aspecto socioeconômico e cultural dos proprietários sem um conhecimento sobre a biologia, ecologia e epidemiologia do carrapato (Farias et al. 2008, Santos et al. 2009, Amaral et al. 2011, Daher et al. 2012, Rocha et al. 2012), promovem a seleção de populações resistentes aos

acaricidas. No RS não se tem dados epidemiológicos, sobre a percepção de produtores de leite, quanto a presença e controle do *R. (B.) microplus*, além de que os poucos estudos feitos no estado não são atualizados.

As informações técnicas dos produtores e o conhecimento dos fatores de risco que levam ao problema da resistência, e a presença de populações de *R. (B.) microplus*, permitem a utilização de novas medidas de manejo e estratégias eficientes que sejam capazes de reduzir e controlar infestações nas propriedades. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo realizar o primeiro questionamento abordando a percepção dos produtores de gado de leite sobre populações de *R. (B.) microplus* e o controle e manejo em suas propriedades com o fim de conhecer e obter informação sobre os fatores de risco que podem estar relacionados na presença e seleção de populações resistentes na região sul do RS.

MATERIAIS E MÉTODOS

Entre março de 2014 a junho de 2016, foi aplicado um questionário estruturado (Figura 1), sobre a percepção dos produtores sobre a presença e controle do carrapato *R. (B.) microplus* em bovinos de leite. Esse estudo abarcou cinco municípios localizados nas regiões da encosta e da serra do sudeste do RS, sendo esses, os municípios de Pelotas, São Lourenço do Sul, Capão do Leão, Arroio do Padre e Rio Grande. A metodologia utilizada para o questionamento, foi baseada em Santos et al. (2009). Foram selecionados de maneira aleatória produtores de leite que vendem o produto as duas maiores cooperativas de laticínios (ELEBAT e COSULATI), da região sul do RS, com um total de 558 propriedades. O tamanho da amostra foi calculado pelo método proporcional e/ou estratificado com o cinco % (0.05), de proporção pelo número total de propriedades fornecido pelas empresas, obtendo um total de 30 propriedades distribuídas proporcionalmente de acordo com o número absoluto de propriedades de cada município selecionadas de forma aleatória sistemática. Os questionários foram aplicados abordando: a) as características dos produtores ou administradores; b) da propriedade; e, c) a percepção quanto à presença e o manejo de infestações de populações com as variáveis mostradas na Figura 1. Os dados obtidos das entrevistas foram tabulados e analisados através do programa Epi Info v.7, com uma prevalência estimada de 50% e um intervalo de confiança (IC) de 95%. As associações dos fatores de risco (variáveis de exposição), com relação à presença e controle com acaricidas disponíveis (variáveis dependentes), se fizeram em tabelas de contingência de 2x2 (Teste do Exato de Fisher), cabe destacar que a partir desse momento só elegeram-se as variáveis com associações estatisticamente significativas ($p < 0.05$) e foram analisadas por um modelo de regressão logística binomial no programa anteriormente dito para obter os odds ratios (OR) dos fatores de risco associadas com a percepção dos produtores quanto as variáveis dependentes. Os proprietários receberam e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido sobre a presente pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisadas as frequências das respostas obtidas dos 30 proprietários e/ou administradores entrevistados das propriedades de leite, localizadas nos cinco municípios estudados mostrados no Quadro 1, pode-se observar que: 18 (60%) foram de Pelotas, cinco (17%) de Arroio do Padre, três (10%) de Capão do Leão, três (10%) de São Lourenço do Sul e um (3%) do Rio Grande. Dentro dos fatores de risco relacionados a resistência encontram-se a localização geográfica (Bianchi et al. 2003, Furlong 2005), pois esses municípios localizam-se em duas zonas fisiográficas: Encosta do Sudeste e Serra do Sudeste, entre os paralelos 31° e 32° sul, com uma umidade relativa média do 60% ao 85% e com temperaturas médias variando de entre 15°C e 18°C, com mínimas de até -10°C, e máximas de 40°C, e com precipitações pluviais concentradas no inverno e na primavera (Santos et al. 2008).

Nesse sentido, são locais marginais para ocorrência do carrapato no inverno, mas com condições favoráveis para o desenvolvimento e sobrevivência no ambiente nas outras épocas do ano (Brum et al. 1985, Furlong 2005, Estrada et al. 2006, Singh & Rath 2013), quando a média da temperatura é superior a 20°C o *R. (B.) microplus* desenvolve-se com três gerações por ano (Pereira et al. 2008). Cabe destacar que pelo aquecimento global, com flutuações de temperatura, podem-se desenvolver com até quatro gerações por ano no RS.

A pesquisa demonstra que 60% dos proprietários possuem um grau de escolaridade igual ou superior ao ensino médio e/ou universitário, resultados similares foram obtidos por Santos et al. (2009) e Rocha et al. (2006), com mais da metade dos produtores possuindo escolaridade igual ou superior ao ensino médio, concluindo que os produtores possuem maior acesso à informação e critério sobre problemas sanitários do rebanho (Santos et al. 2009), mas por outro lado, isso não alcança efeitos eficazes na utilização do controle de forma mais racional (Rocha et al. 2012), o que pode acontecer por uma maior preocupação dos proprietários (Rocha et al. 2006), levando a um excesso de aplicação de acaricidas (Daher et al. 2012), permitindo maior chance de ocorrência de resistência. Amaral et al., em 2011 conclui que o grau de escolaridade não tem uma correlação com uma alta eficácia no controle.

O estudo ainda revelou que 63% das propriedades usa a criação semiextensiva e 37% do tipo extensiva, nenhuma das propriedades usa criação de tipo intensiva, esse resultado é similar ao resultado obtido por Amaral

et al. (2011), no qual demonstra que esse tipo de criação desfavorece o desenvolvimento do carrapato, diminuindo as possibilidades de infestação das larvas nos bovinos (Bianchi et al. 2003, Santos et al. 2009), entre uma maior lotação de unidades animal por hectare, maior exposição aos carrapatos (Santos et al. 2009). O rebanho criado de forma intensiva é uma característica que sugere risco para a existência da resistência dos carrapatos aos acaricidas nas propriedades (Daher et al. 2012).

Das propriedades pesquisadas, 67% possuem instalações de tipo galpão (ordenha manual) e 33% de tipo semi-tecnificado (ordenha mecanizada), o que se deve ao fato de que a maioria dos proprietários são pequenos produtores. Daher et al. (2011) mostram que a resistência aos carrapaticidas é bem menor em rebanhos familiares e de subsistência, portanto a tendência de baixa eficiência de produtos químicos apresenta-se mais em rebanhos com maior grau de tecnologia, apresentando uma tendência a aumentar o número de aplicações de banhos carrapaticidas ao longo do ano (Rocha et al. 2005).

Todas as propriedades destinam-se à produção de leite, porém, destas, 10% contam também com produção de carne. Com respeito às raças empregadas nas propriedades, todas usam raças europeias (*Bos taurus taurus*), sendo 70% com raça holandesa, 60% raça Jersey e em menor frequência (20%) cruzas. Essas raças comumente usadas na produção do gado de leite tem um maior grau de sensibilidade ou de baixa resistência a infestações de *R. (B.) microplus* (Santos Junior et al. 2000, Ueno et al. 2012). Isso se deve ao fato de que, após várias infestações a resposta humoral é suprimida em comparação com raças zebuínas (Kashino et al. 2005). Entre os *B. taurus taurus* usados no gado de leite, os bovinos da raça Jersey são os mais resistentes (Utech et al. 1978).

Com respeito à densidade animal, mais da metade das propriedades (67%) apresentam < de 50 animais, já que a maioria pertence a pequenos produtores. Em 37% delas, se introduz animais de outras propriedades, o que facilita uma via de entrada de animais previamente infestados com *R. (B.) microplus* resistentes a carrapaticidas (Santos et al. 2009). É importante mencionar que dessas propriedades, menos da metade (17%) não faz controle preventivo antes de introduzir, e dos 20% que fazem tratamento prévio, somente 10% tratam com carrapaticidas, o que contribui para uma disseminação de populações de carrapatos resistentes a outras bases químicas, fator pelo qual a resistência pode estar instalada em uma população de carrapatos até mesmo antes destes entrarem em contato com aquele produto (Andreotti 2010). Para evitar ou diminuir esse risco, os animais devem ser tratados no local de origem e isolados por 30 dias antes da sua incorporação ao novo rebanho (Andreotti & Koller 2016).

Das propriedades, 87% contam com assistência médica veterinária, porém só em 37% delas essa assistência se apresenta de maneira regular, o que representa um problema no controle preventivo e da sanidade do rebanho (Santos et al. 2009, Borsanelli 2013). Isso se deve ao fato de que os produtores tendem a se basear na escolha de um carrapaticida unicamente pela indicação do balconista (Souza & Carneiro 2012) o que leva a uma falta na assessoria sobre a escolha e o uso adequado do mesmo na propriedade, resultando, consequentemente, a uma falha do manejo no controle do carrapato. Como exemplo, pode-se indicar a troca frequente de carrapaticidas por um tempo curto, o que causa rapidamente a resistência do mesmo. Uma forma de controlar isso é tornar obrigatória a prescrição veterinária no momento de comprar o acaricida, evitando assim, trocas de produtos sem justificativa (Amaral et al. 2011). Cada produtor deve, com a ajuda do veterinário, decidir qual a melhor estratégia no controle do carrapato na sua microrregião (Andreotti & Koller 2016), pois não existe no país um programa oficial, atualmente em vigor no controle desse ectoparasita.

Cabe destacar que, mais de 57% dos produtores, faz mais de quatro aplicações de carrapaticidas ao ano, sendo um fator de risco associado à presença da resistência dentro das propriedades (Sutherst 1979, Rocha et al. 2006, Vivas et al. 2006, Santos et al. 2009, Daher et al. 2012). Os estudos feitos por Farias et al. (2008) e Santos et al. (2008 & 2009) na região sul do RS indicam, uma tendência no aumento na frequência do número de aplicações em propriedades de gado de corte. Jonsson et al. (2000), encontrou uma alta probabilidade da resistência a três tipos diferentes de acaricidas quando as aplicações eram mais de cinco vezes ao ano.

A alta frequência no número de aplicações anual é uma das características mais preocupantes em relação ao controle, pois se estabelece, a partir disso, uma resistência genética (Foil et al. 2004), com mutações em alguns indivíduos da população, proporcionando assim, o estabelecimento do alelo resistente e a propagação dele por pressão de seleção (Sutherst 1979, Furlong & Sales 2007). O controle estratégico convencional deve ser realizado com um menor número de aplicações possíveis, de três a quatro, em intervalos de no máximo 30 dias (Andreotti & Koller 2016). Um excesso na aplicação, não só incrementa a pressão de seleção para a resistência, mas também, a quantidade de resíduo no leite, sendo um fator de risco na saúde pública (Rocha et al. 2012, Amaral et al. 2011). A alta frequência no número de aplicações anual é uma das características mais preocupantes com respeito ao controle, pois, estabelece a resistência genética através da pressão da seleção (Kunz & Kemp 1994, Foil et al. 2004).

Nas épocas de aplicação dos carrapaticidas, o verão foi a época de maior aplicação com 83%, seguida da primavera e outono com 40% para ambos, e por último, o inverno com 13%. Concordando com os resultados apresentados por Ueno et al. (2012), que mostram que os proprietários observaram uma maior infestação do carrapato no verão, em 80% das propriedades a aplicação foi feita depois da observação das altas infestações, sendo na sua maioria no verão, e por Rocha et al. (2006), que observou que nas propriedades o tempo no intervalo

de aplicações aumenta no inverno e diminui no verão, visto que, a incidência do carrapato aumenta nessa época, quando seu ciclo é mais curto.

A alta frequência de aplicações no verão deve-se ao fato de que na região sul do Brasil o carrapato não se desenvolve pelas condições climáticas do inverno, e tendem a desaparecer nessa época do ano. No entanto, durante os meses quentes e úmidos, característicos do verão, após a fêmea ingurgitada cair na pastagem, o desenvolvimento dos ovos é rápido. Na época seca e mais fria, esse tempo chega a triplicar, recomeçando em meados da primavera com a primeira geração, dando origem a um pico maior de carrapatos (segunda geração) no verão, desprendendo-se nas pastagens em épocas favoráveis, com altas temperaturas do verão, originando assim, a terceira geração que é a mais numerosa (Pereira et al. 2008). O ambiente seco e com baixas temperaturas no inverno contribuem para uma alta mortalidade das larvas logo após a eclosão. Nesse sentido, no final desse período seco do ano, de maneira estratégica, é o mais adequado para o combate do carrapato e de sua população, pois ainda se encontram em baixos níveis, devido às condições menos favoráveis de desenvolvimento e sobrevivência de ovos e larvas de carrapato, o que impedirá o surgimento de altas infestações comuns no verão (Furlong & Sales 2007, Andreotti & Koller 2016).

Esse conhecimento é muito importante para se controlar os carrapatos com mais sucesso (Furlong & Sales 2007), o que indica que nesse estudo, é que o proprietário só faz a aplicação na época do ano em que o gado apresenta alta infestação, estando as outras épocas do ano com menos frequência de aplicações e de maneira irregular sem ter um controle estratégico. A aplicação do carrapaticida deve ser feita durante os períodos de infestações baixas, antes da explosão da primeira geração, na primavera, quando a fase de vida livre é mais curta. No entanto, a falta de conhecimento sobre a fase de vida livre do carrapato, faz com que o proprietário não implemente um controle estratégico, especificamente no momento correto para a aplicação do acaricida (Amaral et al. 2011).

Enquanto em 70% das propriedades, o uso do carrapaticida foi de mais de três anos, nos outros 27% o uso foi menor do que três anos. Resultado similar foi obtido por Amaral et al. (2011), sendo que a metade das propriedades teve o uso dos carrapaticidas de zero a dois anos. Cabe destacar que a troca indiferenciada e constante de um princípio ativo sem critério culmina com o surgimento de populações resistentes aos produtos. O que a literatura recomenda em geral é que o período não deve ser inferior a dois anos, sendo a troca, a última atitude possível por parte do proprietário (Leite et al. 1995, Furlong 2005). O produtor rural brasileiro, embora capaz de reconhecer que o princípio ativo perde sua eficácia com o tempo de uso, desconhece os principais fatores que levam a esse problema (Rocha 1996). Rocha et al. (2005), menciona no seu estudo que o intervalo de troca de produto comercial foi bastante variado, porém a maior parte dos proprietários, citou entre dois a seis meses, sem levar em conta suas bases químicas e o uso simultâneo de vários produtos em algumas propriedades.

É comum neste caso que as pessoas reclamem do produto e muitas vezes façam a troca, sem se preocupar com o princípio ativo, que pode, com frequência, ser o mesmo que o anterior, já que a simples variação de produto dentro do mesmo grupo químico não possibilita melhora do quadro de controle, pois o princípio ativo que mata os carrapatos é semelhante nos dois princípios (Furlong 2005). Com o uso contínuo do produto, há um aumento na resistência, uma vez que, os sensíveis morrem, e os resistentes se acasalam entre si, produzindo descendentes cada vez menos susceptíveis e em maior número na população (Andreotti et al. 2010).

Entretanto, não há motivo para a troca de um grupo químico se esse é eficaz no controle da população tratada. A troca do carrapaticida somente deverá ocorrer, quando uma parcela significativa dos carrapatos tratados foi capaz de sobreviver e fazer a postura de ovos férteis (Furlong 2005). No estudo feito por Amaral et al. (2011), a maioria dos produtores trocavam os acaricidas pela ineficiência desses, pois, essa ineficiência na maioria das vezes ocorria pelos erros na aplicação do produto, tanto pelo baixo volume da solução acaricida, quanto pela incorreta aplicação. A vida útil dos produtos comerciais depende da correta utilização por parte do produtor, e esta pode ser prolongada pela utilização de testes laboratoriais, como o Teste de Imersão de Adultas (TIA), que identifica e avalia a sensibilidade de populações de carrapatos aos carrapaticidas, auxiliando assim, nas decisões para o controle (Mendes et al. 2007). Outra característica comum é a troca constante de base medicamentosa sem critério. Isto ocorre quando não se tem sucesso com os tratamentos, então, troca-se por outra base, mas o problema continua sendo o banho incorreto (Embrapa gado de leite 2011).

Em 70% das propriedades, se aplica o carrapaticida somente quando ocorre a presença de infestações visíveis no gado. E em 30% delas quando o objetivo é a prevenção, isto pode ocorrer, pelo fato de que os produtores se baseiam somente na avaliação subjetiva da infestação nos animais. Nesse sentido, não demonstram um conhecimento básico sobre a biologia e ecologia do carrapato, o que leva a uma ausência de um critério certo, e, conseqüentemente, sem uma estratégia no controle, reafirmando os resultados demonstrados por Rocha et al. (2006), Farias et al. (2008), Santos et al. (2009), Rocha et al. (2012), nos quais a aplicação de acaricida somente é empregada sem um critério técnico, quando visualizadas as formas adultas.

No estudo feito por Amaral et al. (2011), foi destacado que o aumento no número de carrapatos, elevou o número de tratamentos, sendo que, o grau de infestação foi o critério de aplicação para quase todos os produtores. Bianchi et al. (2003) afirmou que com um controle racional e de baixa pressão o gado encontrava-se menos

infestado. Como o controle nem sempre é realizado de forma racional, e levando em conta os fatores biológicos do parasita, ocorre que, o combate do carrapato se dá de forma ineficaz. Permitindo assim, a disseminação da resistência nas populações e o aumento crescente dos prejuízos econômicos. Assim, qualquer ação baseada no conhecimento da vida do parasita, resultará em melhor controle, menor custo e menor disseminação da resistência (Furlong 2005). Rocha et al. (2012), mostrou que os proprietários têm baixos níveis de informação sobre o conhecimento básico da biologia e ecologia do carrapato e por esta razão, os critérios para a gestão de infestações são definidos exclusivamente pelos produtores.

Cabe mencionar que 73% das propriedades já apresentaram problemas de presença de carrapatos durante o último ano, resultado similar ao de Amaral et al. (2011), onde o 83.7% dos produtores relataram ter problemas com o carrapato no gado. Sendo que, nesta pesquisa 63% apresentaram dificuldades para controlar o carrapato com os acaricidas disponíveis no mercado. No RS se tem estudos apresentando resistência aos oito princípios ativos dos carrapaticidas usados para o controle (Farias et al. 2008, Castro-Janner 2010, Machado et al. 2014, Reck et al. 2014, Higa et al. 2015).

O tipo de aplicação mais usada dos carrapaticidas nas diferentes etapas de produção, foi o método do *pour-on* com 43% em terneiras, 47% em novilhas, 50% em vacas secas e 57% em vacas lactantes, tendo-se observado que, houve uma tendência de utilizar mais o método de aplicação por aspersão e *pour-on* facilitando o rodízio entre os princípios ativos (Farias et al. 2008), que se deve ao fato de ter um maior período residual eficaz, como é o caso dos *pour-on* sistêmicos. Em propriedades no Brasil com cepas resistentes, a maioria dos produtores usa *pour-on* como predileção, seguido da aspersão, indicando que esses métodos de aplicação apresentam falhas humanas principalmente na subdosagem do produto (Amaral et al. 2011).

O segundo método mais utilizado em terneiras e novilhas foi o injetável, ambos com 40%, apesar desse método não ser recomendado em animais com menos de quatro meses. Nas 30 propriedades esse método não foi usado em vacas lactantes, já que o período de carência a base de endectocidas nesse método é de 122 dias aproximadamente não devendo ser usado em vacas cujo leite se destina ao consumo humano (Silva et al. 2011). Em vacas secas e lactantes o método de aspersão foi utilizado com 30% e 40% respectivamente, método mais usado para bovinos de leite no Brasil (Rocha et al. 2006, Furlong et al. 2007, Amaral et al. 2011), com menos frequência se apresentou o método de imersão. Estudos feitos por Farias et al. (2008) e Santos et al. (2009) destacam que o método de aplicação mais utilizado na região Sul do RS é o de imersão. Cabe mencionar que esses estudos foram enfocados no gado de corte com propriedades tendo acima de 100 animais, o que difere desta pesquisa, pois, como se mencionou anteriormente, além da maioria das propriedades possuírem um número reduzido de animais, isso faz com que esse método não seja custeável, além desse método ter grande eliminação dos resíduos ao meio ambiente. Resultado similar foi observado no estudo feito por Rocha et al. (2006), onde o método de imersão não foi utilizado no gado de leite.

Segundo Biainchi et al. (2003) o que mais induz a resistência no carrapato é o método de pulverização, apresentando uma baixa eficácia entre os métodos de aplicação, pela necessidade de molhar todas as partes do animal (Furlong et al. 2007), o que implica um maior volume de aplicação do acaricida, no qual o aplicador tem que fazer um maior esforço nesse procedimento, resultando em uma alta exposição ao produto químico (Jonsson & Matchoss 1998). No entanto, outros fatores relacionados à aplicabilidade do produto, como: as condições do equipamento, diluição, quantidade administrada e agitação, podem acelerar o processo da resistência e levar a falhas no controle do carrapato (George 2000).

Em 83% das propriedades há rotação de pastagens, sendo um fator favorável já que é um método que diminui a sobrevivência do carrapato. A rotação de pastagens ou descanso de pastos, interfere na relação com o bovino, diminuindo as infestações, sendo dos fatores que exigem atenção especial (Furlong 2005). Segundo Furlong (1998), tem que ter no mínimo 60 dias de vedação de pastagens, como verificado na Região Sudeste do Brasil. Para que se tire proveito desse fato, é importante que, no retorno dos animais ao pasto vedado, eles estejam sem carrapatos ou recém tratados, para manter a pastagem limpa por mais tempo.

Todavia, a chance de insucesso no controle do carrapato dos bovinos é maior se não houver o combate desse parasita nas pastagens. Cabe mencionar que na prática esse período de descanso às vezes é inviável em função do ciclo das gramíneas forrageiras (Pereira et al. 2008). Além disso, só 17% utiliza alternativas para o controle do carrapato, o que significa que a maioria dos proprietários só depende do uso indiscriminado dos acaricidas sintéticos, aumentando a rápida expressão da resistência (Vivas et al. 2006). No RS o controle é baseado exclusivamente no uso dos carrapaticidas sintéticos (Farias et al. 2008). Cabe destacar que 77% das propriedades apresentaram casos de Tristeza Parasitaria Bovina (TPB) durante o último ano, e mais da metade (57%), já apresentou animais mortos por babesiose ou anaplasmoses.

Pela análise univariada (Exato de Fisher) no Quadro 2, mostra-se que entre as correlações das variáveis de exposição com a variável dependente (Presença de carrapatos na propriedade), se observam duas variáveis independentes com associação estatística ($p < 0.05$): tipo de instalações e número de aplicações de carrapaticidas por ano. E com respeito à variável dependente (controle de carrapatos com acaricidas), se observam três variáveis

independentes com associação estatística: grau de instrução, tipo de instalações e número de aplicações de carrapaticidas por ano, sendo esses fatores representativos dentro da população.

Os fatores já citados foram analisados pelo modelo de regressão logística binomial quanto as variáveis dependentes (Quadro 3), e se observou que, quanto ao grau de instrução, ser analfabeto ou ter escolaridade até o ensino fundamental não é um fator de risco associado a um difícil controle do carrapato com os acaricidas disponíveis (odds ratio < 1), já que a tabela de 2X2 mostrou que tanto esses proprietários como aqueles com ensino médio ou universitário apresentam a mesma dificuldade para o controle do carrapato (variável dependente), diferindo de Santos et al., em 2009, onde os proprietários analfabetos ou com escolaridade até o ensino fundamental apresentam mais dificuldade para o controle, concluindo que entre mais escolaridade maior a informação e critério sobre controle de problemas sanitários do rebanho. No entanto, este estudo aponta para o fato de que, uma maior escolaridade não melhora a percepção dos produtores quanto a biologia do carrapato. Nesse sentido, vai ao encontro do estudo de Amaral et al. (2011), que concluiu que o grau de escolaridade não tem uma correlação com uma alta eficácia no controle, assim também Rocha et al. (2012) menciona que isso não alcança efetivos resultados no controle pois isso pode levar a uma maior preocupação do rebanho (Rocha et al. 2006), o que dá a um excesso de aplicação de acaricidas (Daher et al. 2012), permitindo maior chance de ocorrência de resistência.

Enquanto a variável independente (tipo de instalação), as propriedades que tem instalações semitecnificadas (ordenha mecanizada) têm nove vezes mais chances de ter dificuldade para controlar o *R. (B.) microplus* com os acaricidas disponíveis, do que aqueles que possuem instalações de tipo galpão. Daher et al. (2011) mostraram que baixa eficiência de produtos químicos apresenta-se mais em rebanhos com maior grau de tecnologia, já que esses apresentam uma tendência a manter a frequência de banhos carrapaticidas ao longo do ano, com aumento no número de aplicações (Rocha et al. 2005).

Na variável independente (número de aplicações por ano), os proprietários que aplicam os carrapaticidas em número equivalente ou maior a quatro vezes por ano, tem 6.42 vezes mais chances de apresentar carrapatos dentro da sua propriedade e, 7.46 vezes mais chances de ter dificuldade para controlar o carrapato com os acaricidas do que aqueles que fazem menos de quatro aplicações por ano. Estudos na região sul do RS indicam uma tendência no aumento na frequência no número de aplicações em propriedades de gado de corte (Farias et al. 2008, Santos et al. 2008 e 2009). Jonsson et al. (2000), encontraram uma alta probabilidade de resistência a três tipos diferentes de acaricidas quando as aplicações eram realizadas mais de cinco vezes por ano. O controle estratégico convencional deve ser realizado com um menor número de aplicações possíveis, de três a quatro aplicações em intervalos de no máximo 30 dias (Andreotti & Koller 2016). Como já descrito, o excesso na aplicação, aumenta a pressão de seleção para a resistência, e gera resíduo no leite (Amaral et al. 2011, Rocha et al. 2012;).

CONCLUSÕES

Nas propriedades de leite estudadas, situadas em cinco municípios da região sul do RS, demonstra-se que, tanto os proprietários analfabetos ou com escolaridade até o ensino fundamental, como aqueles com ensino médio ou universitário, apresentam a mesma dificuldade para o controle de *R. (B.) microplus*, com os acaricidas disponíveis, ou seja, independentemente do grau de instrução (escolarização), não houve alteração em relação a percepção dos produtores quanto a biologia e ecologia do carrapato, já que o grau de escolaridade não apresenta uma associação com uma alta eficácia no controle. As propriedades que tem instalações semitecnificadas (ordenha mecanizada), e aquelas que aplicam carrapaticidas mais de, ou igual a quatro vezes por ano, apresentam um difícil controle do carrapato, sendo estes considerados, fatores de risco. A maioria das propriedades apresentam características e métodos favoráveis, para o controle convencional do carrapato, mas não chegam a ter um controle estratégico. Neste sentido, recomenda-se o diagnóstico precoce da resistência dentro das propriedades, em um estágio de desenvolvimento primário da resistência, assim como, a assessoria técnica ou veterinária de informação aos proprietários, sobre as falhas no manejo e fatores de risco dentro das propriedades, apresentadas nesse estudo, que levam a presença e à dificuldade no controle de *R. (B.) microplus*, com o fim de obter um controle estratégico e prolongar a vida útil dos carrapaticidas.

REFERÊNCIAS

- Amaral M.A.Z., Rocha C.MB.M., Faccini J.L., Furlong J., Monteiro C.M.O & Prata M.C.A. 2011. Perceptions and attitudes among milk producers in Minas Gerais regarding cattle tick biology and control. Rev. Bras. Parasitol. Vet. Jaboticabal. 20 (3):194-201.
- Andreotti R. 2010. Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil.. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande, MS.
- Andreotti R & Koller W.W. 2016. Carrapatos: protocolos e técnicas. 1ª ed. Embrapa gado de corte. Brasília, DF.

- Araújo F.R., Madruga C.R., Leal C.R.B., Bastos P.A.S & Marques A.P.C. 1998. Frequência de anticorpos anti-*Anaplasma marginale* em rebanhos leiteiros da Bahia. Arq. Bras. Med. Vet. Zoo. 50 (3): 243-246.
- Bianchi M.W., Barré N & Messad S. 2003. Factors related to cattle infestation level and resistance to acaricides in *Boophilus microplus* tick populations in New Caledonia. Vet Parasitol. 112: 75-89.
- Bock R., Jackson L., De Vos A & Jorgensen W. 2004. Babesiosis of cattle. Parasitology. 129 (51): S247-S269.
- Borsanelli A.C. 2013. Fatores socioeconômicos e percepção de risco de produtores de leite no uso de produtos veterinários. Dissertação de Mestrado. Disponível em <http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/94616/borsanelli_ac_me_jabo.pdf?sequence=1> Acesso em 15 set. 2016.
- Brum J.G.W., Gonzales J.C & Petruzzi M.A. 1985. Postura e eclosão de *Boophilus microplus* em diferentes localizações geográficas do RS, Brasil. Arq. Brasil. Med. Vet. Zootec. 37 (6): 581-587.
- Castro-Janer E.A. 2010. Resistência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) a fipronil: Padronização de bioensaios *in vitro*, detecção de resistência em populações de campo e avaliação sobre resistência cruzada com outras drogas. Tese de Doutorado. Disponível em <http://C:/Users/Usuario/Downloads/EleonorACJaner_Doutorado_P.pdf> Acesso em 24 nov. 2016.
- Daher D.O., Bertolucci A.V., Lopes E., Guimarães A.M & Rocha C.M.B.M. 2012. Fatores associados à resistência do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) no sul de Minas Gerais. Revista Verde. 7 (1): 102-115.
- Denholm I & Rowland M.W. 1992. Tactics for managing pesticide resistance in Arthropods: Theory and practice. Annu. Ver. of Entomol. 37: 91-112.
- Embrapa gado de leite. 2011. 4.10.2.11 - Controle de carrapatos – *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Disponível em <http://www.cnpqg.embrapa.br/sistemaproducao/410211-controle-de-carrapatos-%E2%80%93-rhipicephalus-boophilus-microplus>. Acesso em 22 set. 2016.
- Estrada A.P., Bouattour A., Camicas J.L., Guglielmone A., Horak I., Jongejan F., Latif A., Pegram R & Walker A.R. 2006. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus *Boophilus* (Acari: Ixodidae) in Africa and Latin America. Exp. Appl. Acarol. 38 (2-3): 219-235.
- Farias N.A., Ruas J.L & Santos T.R.B. 2008. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região sul do Rio Grande do Sul. Cienc. Rural. 38 (6):1700-1704.
- Foil L.D., Coleman P., Eisler M., Fragosó-Sánchez H., García-Vázquez Z., Guerrero F.D., Jonsson N.N., Langstaff I.G., Li A.Y., Machila N., Miller R.J., Morton J., Pruett J.H & Tori S. 2004. Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases. Vet Parasitol. 125: 163-181.
- Furlong J. 1998. Poder infestante de larvas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em pastagem de *Melinis minutiflora*, *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria mutica*. Cienc. Rural. 28 (4): 635-640.
- Furlong J. 2005. Carrapato: problemas e soluções. 1ª ed. Embrapa gado de leite. Juiz de Fora, MG.
- Furlong J & Sales R.O. 2007. Controle estratégico de carrapatos no bovino de leite: uma revisão. Rev. Brás. Hig. San. Anim. 1 (2): 44-72.
- George J.E. 2000. Present and future technologies for tick control. Ann. N. Y. Acad. Sci. 916: 583-588.
- Grisi L., Leite R.C., Martins J.R.S., Barros A.T.M., Andreotti R., Cançado P.H.D., Pérez de León A.A., Pereira J.B & Villela H.S. 2014. Reavaliação do potencial Impacto econômico de parasitos de bovinos no Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 23 (2): 150-156.
- Higa L.O.S., Garcia M.V., Barros J.C., Koller W.W & Andreotti R. 2015. Acaricide resistance status of the *Rhipicephalus microplus* in Brazil: a literature overview. Med Chem. 5 (7): 326-333.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2015. Produção da Pecuária Municipal. 43: 1-49. Rio de Janeiro. Disponível em <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf> Acesso em 8 nov. 2016.
- Jonsson N.N & Matschoss A.L. 1998. Attitudes and practices of Queensland dairy farmers to the control of the cattle tick, *Boophilus microplus*. A.V.J. 76 (11): 746-751.
- Jonsson, N.N., Mayer, D.G & Green P.E. 2000. Possible risk factor on Queensland dairy farms for acaricide resistance in cattle tick (*Boophilus microplus*). Vet Parasitol. 88 (1-2): 79-92.
- Júnior J.C.B.S., Furlong J & Daemon E. 2000. Control of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in dairy farm systems of the physiographic microregion of Grande Rio, Rio de Janeiro, Brazil. Cienc. Rural. 30 (2): 305-311.
- Kashino S.S., Resende J., Sacco A.M.S., Rocha C., Proença L., Carvalho W.A., Firmino A.A., Queiroz R., Benavides M., Gershwin L.J & Santos I.K.F. M. 2005. *Boophilus microplus*: the pattern of Bovine immunoglobulin isotype responses to high and low tick infestations. Exp. Parasitol. 110 (1): 12-21.
- Kunz S.E & Kemp D.H. 1994. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 13 (4): 1249-1286.

- Leite R.C., Labruna M.B., Oliveira P.R., Monteiro A.M.F & Caetano Junior J. 1995. In vitro susceptibility of engorged females from different populations of *Boophilus microplus* to commercial acaricides. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 4 (2): 283-294.
- Machado FA., Pivoto F.L., Ferreira M.S.T., Gregorio F.V., Vogel F.S.F & Sangioni L.A. 2014. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the western-central region of Rio Grande do Sul, Brazil: multiresistant tick. Braz. J. Vet. Parasitol. Jaboticabal. 23 (3): 337-342.
- Martinez M.L., Silva M.V.G.B., Machado M.A., Teodoro R.L & Verneque R.S. 2004. A biologia molecular como aliada no combate aos carrapatos. V Simpósio da sociedade Brasileira de Melhoramento animal. Pirassununga, São Paulo, Brazil.
- Martins J.R. & Furlong J. 2001. Avermectin resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. Vet Rec. 149 (2): 64.
- Mendes M.C., Lima C.K.P. & Pereira J.R. 2008. Práticas de manejo para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) em propriedades localizadas na região de Pindamonhangaba, Vale do Paraíba, São Paulo. Arq. Inst. Biol. 75 (3): 371-373.
- MilkPoint. 2015. O mapa da produção de leite no RS. Disponível em <<https://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/o-mapa-da-producao-de-leite-no-rs-95122n.aspx>> Acesso em ago. 2016.
- Pereira M.C., Labruna M.B., Szabó M.P.J & Klafke G.M. 2008. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Biologia, controle e resistência. 1ª ed. Med Vet. São Paulo, SP.
- Reck J., Klafke G.M., Webster A., Dall'Agnol B., Scheffer R & Souza U.A. 2014. First report of fluzuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. Vet Parasitol. 201 (1-2): 128-136.
- Riddles P.W. & Nolan J. 1986. Prospects for the management of arthropod resistance to pesticides. In: "Parasitology. Quo Vadit?." VI International Congress of Parasitology. Anais... Brisbane, Ed. Australian Academy of Science, Canberra, Australia. 679-687.
- Rocha C.M.B.M. 1996. Caracterização da percepção dos produtores de leite do município de Divinópolis/MG sobre a importância do carrapato *Boophilus microplus* e fatores determinantes das formas de combate utilizadas. Dissertação de Mestrado.
- Rocha C.M.B.M., Oliveira P.R., Leite R.C., Cardoso D.L., Calic S.B. & Furlong J. 2006. Percepção dos produtores de leite do município de Passos, MG, sobre o carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). Cienc. Rural. 36 (4): 1235-1242.
- Rocha C.M.B.M., Bruhn F.R.P., Leite R.C., Guimarães A.M., Sampaio I.B. & Oliveira P.R. 2012. Principal component analysis on the perceptions of milk producers about *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* control in Minas Gerais. Rev. Bras. Parasitol. Vet. Jaboticabal. 21 (3):224-231.
- Santos T.R.B., Farias N.A.R., Filho N.A.C., Pappen F.G & Junior I.S.V. 2009. Abordagem sobre o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no sul do Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 29 (1): 65-70.
- Santos F.C.C & Vogel F.S.F. 2012. Amitraz and cypermethrin resistance ticks *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in cattle herds located in Rio Grande do Sul from 2005 to 2011. RPCV. 107 (581-582): 121-124.
- Silva T.P.P., Moreira J.C & Peres F. 2012. Are tick medications pesticides? Implications for health and risk perception for workers in the dairy cattle sector. Cien. Saude. Colet. 17 (2): 311-325.
- Singh N.K & Rath S.S. 2013. Epidemiology of ixodid ticks in cattle population of various agro-climatic zones of Punjab, India. A.P.J.T.M. 947-951.
- Souza A.M. & Carneiro A.V. 2012. Economic viability of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) strategic control program adopted in dairy cattle. Rev. Inst. Latic. 389 (67): 67-68.
- Sutherst R.W., Norton G.A., Barlow N.D., Conway G.R., Birley M & Comins H.N. 1979. An analysis of management strategies for cattle tick (*Boophilus microplus*) control in Australia. J. Appl. Eco. 16 (2): 359-382.
- Ueno T.E.H., Mendes E.E.B., Pomaro S.H.K., Lima C.K.P., Guilloux A.G.A. & Mendes M.C. 2012. Sensitivity profile of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks of dairy cattle to acaricides in small farms in the northwestern São Paulo state, Brazil. Arq. Inst. Biol. 79 (2): 177-183.
- Utech K.B.W., Wharton R.H & Kerr D.J. 1978. Resistance to *B. microplus* (canestrini) in diferente breeds of cattle. Aust. J Agric. Res. 29 (4): 885-895.
- Veríssimo C.J., Nicolau C.V.J., Cardoso V.L & Pinheiro M.G. 2002. Haircoat characteristics and tick infestation on Gyr (Zebu) and crossbreed (Holstein x Gyr) cattle. Arch Zootec. 51 (195): 389-392.
- Vivas R.I.R., Díaz M.A.A., Arevalo F.R., Sanchez H.F., Santamaria V.M & Cruz R.R. 2006. Prevalence and potential risk factors for organophosphate and pyrethroid resistance in *Boophilus microplus* ticks on cattle ranches from the State of Yucatan, Mexico. Vet Parasitol. 136:335-342.

LISTA DE FIGURAS

Figura. 1. Questionário aplicado a produtores de leite em cinco municípios da zona sul do RS, abordando as variáveis quanto à presença e controle do *R. (B.) microplus* em bovinos de leite.

CARACTERÍSTICAS DO PRODUTOR:	
Grau de instrução:	<input type="checkbox"/> Esino Médio ou Universidade <input type="checkbox"/> Analfabeto ou Ensino Fundamental
CARACTERÍSTICAS DA PROPRIEDADE:	
Tipo de criação:	<input type="checkbox"/> Extensiva <input type="checkbox"/> Semiextensiva <input type="checkbox"/> Intensiva
Tipo de instalação:	<input type="checkbox"/> Galpão <input type="checkbox"/> Semitecnificado <input type="checkbox"/> Tecnificado
Tipo de produção:	<input type="checkbox"/> Leite <input type="checkbox"/> Carne - Leite
Raça:	<input type="checkbox"/> Jersey <input type="checkbox"/> Holandesa <input type="checkbox"/> Cruzas <input type="checkbox"/> Jersey e Holandesa
Número total de animais:	<input type="checkbox"/> < 50 <input type="checkbox"/> > 50
Introduz animais de outras propriedades:	<input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim
SE SIM: Faz algum tratamento antes de introduzir:	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Assistência técnica veterinária:	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
SE SIM:	<input type="checkbox"/> Regular <input type="checkbox"/> Se necessário
CARACTERÍSTICAS NA PRESENÇA E O CONTROLE DO CARRAPATO:	
Há problema com carrapatos em sua propriedade durante o último ano ^a :	<input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim
Considera o carrapato difícil de controlar com os acaricidas disponíveis ^a :	<input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim
Número médio de aplicações de carrapaticida por ano:	<input type="checkbox"/> ≤ 4 <input type="checkbox"/> > 4
Época das aplicações:	Primavera <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Outono <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Verão <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Inverno <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Tempo de uso dos carrapaticidas:	<input type="checkbox"/> < 3 anos <input type="checkbox"/> ≥ 3 anos
Tipo de aplicação em Terneiras:	<input type="checkbox"/> Imersão <input type="checkbox"/> Injetável <input type="checkbox"/> Pour-on <input type="checkbox"/> Aspersão
Tipo de aplicação em Novilhas:	<input type="checkbox"/> Imersão <input type="checkbox"/> Injetável <input type="checkbox"/> Pour-on <input type="checkbox"/> Aspersão
Tipo de aplicação em Vacas Secas:	<input type="checkbox"/> Imersão <input type="checkbox"/> Injetável <input type="checkbox"/> Pour-on <input type="checkbox"/> Aspersão
Tipo de aplicação em Vacas Lactantes:	<input type="checkbox"/> Imersão <input type="checkbox"/> Injetável <input type="checkbox"/> Pour-on <input type="checkbox"/> Aspersão
Critério para aplicação:	<input type="checkbox"/> Prevenção de infestação <input type="checkbox"/> Presença de carrapatos visíveis
Usa rotação de pastagem:	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Utiliza alternativas para o controle do carrapato:	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Problema de babesiose ou anaplasmoses	
(Tristeza Parasitaria Bovina) durante o último ano:	<input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não sabe
Animais mortos por estas doenças:	<input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim

Quadro 1. Frequências das variáveis avaliadas pelos produtores de leite que representam fatores de risco quanto à presença e controle do *R. (B.) microplus* em bovinos de leite em cinco municípios do sul do RS.

VARIÁVEIS		DESCRIÇÃO	N	%
Grau de instrução do proprietário		Ensino médio ou universidade	18	60
		Analfabeto ou ensino fundamental	9	30
		Ignorado	3	10
Tipo de Exploração		Extensiva	11	37
		Semi extensiva	19	63
		Galpão	20	67
Tipo de Instalações		Semitecnificado	10	33
		Sim	18	60
		Não	12	40
Raça	Jersey	Sim	21	70
		Não	9	30
		Sim	6	20
	Cruzas	Não	24	80
		< de 50	20	67
		> de 50	10	33
Introdução de animais de outras propriedades		Não	19	63
		Sim	11	37
Faz algum tratamento antes de introduzir		Sim	5	17
		Não	6	20
Tratamento antes de introduzir		Aplicação de carrapaticida	3	10
		Endectocida	2	7
		Regular	11	37
Assistência médica veterinária		Quando necessário	15	50
		Sem assistência	4	13
Número de aplicações de carrapaticidas por ano		≤ 4	13	43
		> 4	17	57
Época de aplicação do carrapaticida	Primavera	Sim	12	40
		Não	18	60
	Verão	Sim	25	83
		Não	5	17
	Outono	Sim	12	40
		Não	18	60
	Inverno	Sim	4	13
		Não	26	87
Tempo de uso do carrapaticida atualmente		< 3 anos	21	70
		≥ 3 anos	8	27
		Ignorado	1	3
Critérios para Aplicação		Prevenção de infestação	9	30
		Presença de carrapatos visíveis	21	70
Rotação das pastagens		Sim	25	83
		Não	5	17
Utiliza alternativa para controle do carrapato		Sim	5	17
		Não	25	83

Quadro 2. Correlação das variáveis de exposição com a percepção dos produtores de leite quanto as variáveis dependentes pela análise uni variada (Exato de Fisher).

VARIÁVEIS	PRESENÇA DE CARRAPATOS NA PROPRIEDADE	DIFÍCIL CONTROLE DE CARRAPATOS COM ACARICIDAS DISPONÍVEIS
	P	P
Grau de instrução ^a	0,652	0,039 ^a
Tipo de Exploração	1,000	1,000
Tipo de instalação	0,028 ^b	0,048 ^b
Número total de animais	0,210	0,246
Introdução de outras propriedades	1,000	0,139
Faz algum tratamento antes de introduzir	0,181	0,454
Assistência médica veterinária	1,000	0,611
Número de aplicações de carrapaticidas por ano	0,049 ^b	0,022 ^b
Tempo de uso do carrapaticida atualmente ^a	1,000	1,000
Crêterios para aplicação	1,000	0,418
Rotação de pastagens	1,000	0,626
Utiliza alternativa para o controle do carrapato	1,000	0,626

^a Foram suprimidos os valores de respostas ignoradas (IGN).

^b Fatores de risco com associação estatística ($p < 0.05$), tomados em conta para o análise de regressão binomial.

Quadro 3. Regressão binomial dos fatores de risco associadas com a percepção dos produtores de leite quanto as variáveis dependentes.

VARIÁVEIS	PRESENÇA DE CARRAPATOS NA PROPRIEDADE		DIFÍCIL CONTROLE DE CARRAPATOS COM ACARICIDAS DISPONÍVEIS	
	Odds ratio	IC (95%)	Odds ratio	IC (95%)
Grau de instrução	—		0,14	0,02 – 0,84
0 Ensino médio ou Universidade ^b				
1 Analfabeta ou Ensino Fundamental				
Tipo de instalação	Indefinido ^a		9,00	0,95 – 84,90
0 Galpão ^b				
1 Semitecnificado				
Número de aplicações de carrapaticidas por ano	6,42	1,02 – 40,26	7,46	1,39 – 39,83
0 < 4 ^b				
1 ≥ 4				

— Não se realizou uma regressão binomial porque não existiu uma associação no análises uni variado.

IC = Intervalo de Confiança de 95%.

^a Um dos valores dos quadros da tabela de 2X2 foi de 0 por tanto não foi definido.

^b Variável usada como referência.

Evaluation of phytotherapy alternatives for controlling *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* *in vitro*.

Original Title:

Avaliação de alternativas fitoterápicas no controle *in vitro* de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Author(s)/Affiliations:

***José Pablo Villarreal Villarreal:** Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, RS, Brasil

Pedro Rassier dos Santos: Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, RS, Brasil

Maria Antonieta Machado Pereira da Silva: Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, RS, Brasil

Rosaria Helena Machado Azambuja: Departamento de Fitosanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, RS, Brasil

Carolina Lambrecht Gonçalves: Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, RS, Brasil

Jesus Jaime Hernández Escareño: Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León – UANL, Escobedo, NL, México.

Tânia Regina Bettin dos Santos: Departamento de Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, RS, Brasil

Claudio Martin Pereira de Pereira: *Instituto de Química e Geociências*, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, RS, Brasil

Rogério Antonio Freitag: Departamento de Química Orgânica, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, RS, Brasil

Patrícia da Silva Nascente: Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, RS, Brasil

***Corresponding author information:** Campus Universitário Capão do Leão, CEP 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil. Tel: +(55)(53) 32757620, 32757335, 3029071. pablov_v@hotmail.com.

Abstract:

The main chemical components of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. (cumin) and of the fixed oils of *Bertholletia excelsa* (Brazil nut) and of *Helianthus annuus* (sunflower seed), were identified. The three oils and three acaricides: amidine, pyrethroid and an association of organophosphate-pyrethroid, were tested against engorged females of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Six different concentrations of the oils (200, 100, 50, 25, 12.5 and 6.25 mg/mL) and the active principles were evaluated with the Adult Immersion Test (AIT). The two main chemicals components of *C. cyminum* L. were the cuminaldehyde and the γ -terpinene. In both *B. excelsa* and *H. annuus* were the linoleic and oleic acid. *C. cyminum* L. showed high acaricidal activity (100%) over the engorged females and on their reproductive characteristics. *B. excelsa* and *H. annuus* caused low acaricidal activity (39.39% and 58.75% respectively); nevertheless, they presented higher efficacy than the amidine and the pyrethroid (35.12% and 1.50% respectively). It can be concluded that among the oils, only the *C. cyminum* L. showed acaricidal effect, being an alternative source for the control of the cattle's tick; however, there is a need for additional studies, to be conduct *in vivo* and only the association did not showed resistance.

Key words: *Cuminum cyminum* L.; *Bertholletia excelsa*; *Helianthus annuus*; Acaricides; Tick.

Resumo:

Os componentes químicos majoritários do óleo essencial de *Cuminum cyminum* L. (comino) e dos óleos fixos de *Bertholletia excelsa* (castanha do Brasil) e de *Helianthus annuus* (semente de Girassol), foram identificados. Os três óleos e três acaricidas: amidina, piretroide e uma associação de organofosforado com piretroide, foram testados contra fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Seis concentrações diferentes dos óleos (200, 100, 50, 25, 12.5 and 6.25 mg/mL) e dos princípios activos foram avaliados através do Teste de Imersão de Adultas (AIT). Os dois componentes químicos majoritários de *Cuminum cyminum* L. foram: o cuminaldeído e o γ -terpineno. Em ambas *B. excelsa* e *H. annuus* foram: o ácido linoleico e oleico. *C. cyminum* L. mostrou alta atividade acaricida (100%) sobre as fêmeas ingurgitadas e suas características reprodutivas, tornando-se uma fonte alternativa para controlar o carrapato do gado, no entanto, são necessários estudos adicionais, a serem conduzidos *in vivo*. *B. excelsa* e *H. annuus* causaram baixa atividade acaricida (39.39% e 58.75% respectivamente), não obstante apresentaram maior eficácia que a amidina e o piretroide (35.12% and 1.50%

respetivamente). Pode se concluir que *C. cyminum* L. mostrou atividade acaricida tornando-se uma fonte alternativa para controlar o carrapato do gado, no entanto, são necessários estudos adicionais, a serem conduzidos *in vivo* e somente a associação não apresentou resistência.

Palavras chaves: *Cuminum cyminum* L; *Bertholletia excelsa*; *Helianthus annuus*; Acaricidas; Carrapato.

Introduction

The direct effects caused by the tick species *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) and the agents for bovine babesiosis and anaplasmosis that it transmits are extremely important and have high economic impact on livestock worldwide (JONGEJAN; UILENBERG, 2004; JONSSON, 2006; RODRIGUEZ–VIVAS et al., 2017). In Brazil the annual economic losses range from US\$ 800 million to more than 3 billion (GRISI et al., 2014). This tick species is highly prevalent in tropical and subtropical regions, where high relative humidity soils and high temperature weather favor tick population survival (RODRIGUEZ – VIVAS et al., 2006; ESTRADA et al., 2006). In the southern region of Brazil, three to four tick generations are produced per year (CAMPOS et al., 2008),

It is known that tick control is done exclusively through synthetic acaricides worldwide. In Brazil the active agent amidine (Amitraz) and cypermethrin are the ones that have been used most over the last decade (SANTOS et al., 2012). The onset of resistance to synthetic acaricides exhibited by *R. (B.) microplus* has given rise to serious problems within cattle production worldwide, such as México, Africa, US e New Caledonia, between others countries (RODRÍGUEZ-VIVAS et al., 2017; VUDRIKO et al., 2016; CHEVILLON et al. 2007; ABBAS et al., 2014). This resistance has developed mainly because of intrinsic or biological factors related to the tick, such as production of genetic mutations in the dominant resistance allele and changes to enzyme metabolism in tick populations (GUERRERO et al., 2001; FOIL et al., 2004). These have occurred through operational factors related to human action aimed towards tick control, and this phenomenon has appeared because producers have used synthetic acaricides as the only tool for controlling this ectoparasite. Moreover, these control measures have commonly been used erroneously, such as excessive use of acaricides without knowledge

of tick biology, ecology and prevalence, as well as failure to detect resistance, among other factors (DENHOLM et al., 1992).

Research efforts have been conducted towards the obtaintion of other therapeutic options in order to solve this problem. These investigations have focused on using botanical compounds and products for controlling *R. (B.) microplus*. In this context, studies have shown that plant-based oils and extracts have been gaining ground as control methods for *R. (B.) microplus* (SANTOS et al., 2013; BARBOSA et al., 2013). The essential oil of *Cuminum cyminum* L. (Apiaceae) (cumin) shows antibacterial action (DERAKSHAN et al., 2010), antifungic activity against fungus resistant to fluconazole (RABADIA et al., 2011) and insecticide activity (YEOM et al., 2012). It has been demonstrated its acaricidal activity against larvae of *R. (B.) microplus* (VELAZQUEZ et al., 2011), but its acaricidal activity against engorged female of *R. (B.) microplus*, as well as in their reproductive characteristics is unknown. Several studies using *Bertholletia excelsa* (Lecythidaceae) (Brazil nut) had demonstrated a tripanocidal activity and a bioactivity against *Plasmodium falciparum* (KLUCZKOVSKI et al., 2015; CAMPOS et al., 2005; SOUSA et al., 2013). Studies with the fixed oil of *Helianthus annuus* (Asteraceae) (sunflower seed) demonstrated an *in vitro* antimicrobial activity (ABOKI et al., 2012; TABASSUM; VIDYASAGAR, 2014) and insecticidal activity against *Callosobruchus maculatus*, reducing viable eggs and emerged insects (PEREIRA et al., 2008). No reports were found in the literature about the fixed oil of *Bertholletia excelsa* (Brazil nut) and of *Helianthus annuus* (sunflower seed), or fixed oils in general, having any acaricide effect against *R. (B.) microplus*. The yield of these fixed oils is high, and they can be greatly produced in Brazil and in countries closed to Rio Grande do Sul, due to the high availability of these plants.

Given the above, the aim of the present work was to identify the main chemical components of the *Cuminum cyminum* L. (cumin) essential oil, *Bertholletia excelsa* (Brazil nut) and *Helianthus annuus* (sunflower seed) fixed oils and evaluate them together with three commercial synthetic acaricides against engorged females of *R. (B.) microplus* and their reproductive characteristics, in order to explore their acaricidal efficacy.

Materials and methods

C. cuminum L.

Essential oil obtention

The essential oil was processed in the Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN) of the Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA) of the Universidade Federal de Pelotas (UFPel), ubicada in the municipality of Capão do Leão in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. The dry seeds of *Cuminum cuminum* L. used for the obtention of the oil were purchased from the producer Luar Sul® in Rio Grande do Sul, Brazil. The oil was obtained by means of hydrodistillation (1.5 L of distilled H₂O / 100 g of plant material) using a Clevenger apparatus. Once the volatile oil was obtained, it was separated from the water, dried with Na₂SO₄ sodium sulfate and stored in an amber bottle under refrigeration (RODRIGUES et al., 2004).

Chromatographic analyses

The analyses was made at the Laboratorio de Lipodômica e Bio-orgânica (LipBio) of the UFPel. The identification of the cumin essential oil was done using a gas chromatograph attached to a mass detector, model GC/MS-QP 2010SE (Shimadzu, Japan), equipped with an AOC-20i auto-injector. The separation occurred in a RTX-5MS (Restek, USA) capillary column; quantification was done by standard area and the compounds identification by the mass spectrometer, using the NIST 8 library of the definer GC/MS. The oil sample was diluted with hexane (analytic degree, ultra pure) (RODRIGUES et al., 2004).

B. excelsa and *H. annuus*

Fixed oils obtention

Both the Fixed oils of *B. excelsa* and *H. annuus* were processed in the LLipBio of the CCQFA of the UFPel. The nuts of *B. excelsa* used for the obtention of the oil were purchased from the producer Castanhas of Rondônia® in Rondônia, Brazil and the dry seeds of *H. annuus* used for the obtention of the oil were purchased from the producer Argensun® in Buenos Aires, Argentina. Both fixed oils had the same process of obtention separately. The process consisted in the milling of the nuts and seeds samples in a Willey model B-602 cutting mill, further drying in an oven at 45°C, followed by extraction where 50 g of the sample and 300 mL of

hexane solvent were collocated in a Soxhlet apparatus at a temperature of 60°C for a 6-hour period. At the end of the process, the solvent was removed through a route evaporator and the oil stored in an amber bottle under refrigeration.

Preparation of Fatty Acid Methyl Esters (FAMES) of the fixed oils

The fixed oils of *B. excelsa* and *H. annuus* had the same process of the FAMES preparation separately. The fatty acids of each fixed oil were converted to their methyl esters using the boron trifluoride-methanol (BF₃) method, as shown in the literature (MOSS et al., 1974). The resulting mixture of fatty acid methyl esters (FAMES) in hexane/chloroform (4:1, v/v) was subjected to gas chromatography-flame ionization detection (GC-FID).

Fixed oils (FAMES) analysis by Gas-chromatography

Both *B. excelsa* and *H.annuus* fixed oils had the same FAMES analyses separately, performed at the LLipBio of the UFPel. The quantitative GC analyses were performed according to the following conditions using a gas chromatograph GC/FID-2010 with an AOC-20i autosampler (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) equipped with a fused-silica capillary column (Rtx-WAX, 30 m × 0.25 mm I.D. × 0.25 µm film thickness). Injections were performed with a 1:25 split ratio, and hydrogen was used as the carrier gas under constant flow mode at 1.2 mL/min. The injector was heated to 250 °C, and the flame-ionization detector operated at 250 °C. The initial programmed oven temperature was 100 °C, which was increased by 7 °C/min up to 200 °C, then increased by 5 °C/min to 202.6 °C and held isothermal for 2 min at this temperature. It was then increased by 5 °C/min to 222.9 °C and held isothermal for 2 min, and then increased by 5 °C/min to 230 °C and held isothermal for 10 min at 230 °C (TANG; ROW 2013). The internal standard solution, containing nonadecanoate methyl ester (C19:0 ≥ 99.0%; Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA), was prepared at a concentration of 2 mg/mL by dissolving 20 mg methyl nonadecanoate in 10 mL of n-hexane in a volumetric flask.

Acaricides

Three acaricides were selected based on the products most commonly used in the region (Table 1).

Tick collection

A population of around 600 engorged females of *R. (B.) microplus* was collected from a beef cattle ranch, situated in the municipality of Capão do Leão located on the southeastern slope of the state of Rio Grande do Sul in Brazil. The engorged females of *R. (B.) microplus* were collected directly from the cattle's bodies, naturally infested and with at least 40 days without acaricide treatment. The engorged females were subjected to further analysis to the Laboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR) in the Faculdade de Veterinária of the UFPel.

In vitro assay (Adult Immersion Test)

The adult immersion test (AIT) described by Drummond et al. (1973) was performed. The population of engorged females of *R. (B.) microplus* were selected according to their state, discarding the dead, deformed, altered and hemorrhagic ones. Once the ticks were washed in distilled water and dried in filter paper, they were weighed and then divided into groups of ten females with homogeneous sizes and weights (weight difference of $\pm 0.2\text{g}$). The commercial synthetic acaricides were diluted in water in accordance with the manufacturer's recommendations. For the three oils, six serial concentrations (200, 100, 50, 25, 12.5 and 6.25 mg/mL) were made using 75% ethyl alcohol as solvent. Water and 75% ethyl alcohol were used as controls groups; it has been previously assessed, these solvents do not interfere in the ticks' mortality (CHAGAS et al., 2003). Each test was performed in duplicate, and thus there were a total of 46 groups. Each test group of ten was immersed for five minutes in all cases, i.e. each diluted acaricide solution, each oil concentration and each control. After immersion, the groups were dried and dorsally fixed using a double-sided tape, on a previously identified Petri dish. The Petri dishes were taken for incubation in a BOD incubator, at a temperature of 27 °C (± 1 °C) and relative humidity higher than 80%, which are the ideal conditions for oviposition. After 14 days of incubation, the fertile egg mass of each group was weighed and collocated in a glass vial for incubation in a BOD incubator, under the same conditions; after 30 day the egg hatching analysis was performed.

From these data, the estimated reproduction (ER) and the product effectiveness (PE%) of the treatments were determinate based on the following formulas, described by Drummond et al. (1973):

RE = Reproductive efficiency:

$$RE = (\text{egg weight} \times \% \text{ egg hatching} \times 20,000) / \text{engorged female weight}$$

PE = Product effectiveness %:

$$PE = (RE \text{ of control group} - RE \text{ of treated group} \times 100) / RE \text{ of control group}$$

Statistical analysis

The mortality rate among engorged females (%), egg weight (g), hatching rate (%), as well as the mean efficacy of the products and the oils, were analyzed by means of the Kruskal-Wallis test and Dunnett's post-hoc test for multiple comparisons, using the *IBM SPSS* software V21. P values < 0.05 were considered statistically significant.

Results and Discussion

The main chemical components, with isolation proportions greater than 1% detected by gas chromatography-mass spectrometry of the three oils are shown in Table 2. For the essential oil of *C. cyminum* L., going from the highest to the lowest proportion, the main chemical components were: cuminaldehyde (32.66%), γ -terpinene (19.87%), β -pinene (15.22%), *o*-cymene (14%), 2-carene-10-al (8.54%) and 1-phenyl-1-butanol (8.01%). The extraction yield for this oil was of 2.5%, which is low.

The cuminaldehyde, γ -terpinene and β -pinene have shown insecticidal activity (PARK et al., 2008; YEOM et al., 2012), as well as a bactericidal activity against Gram-negative and Gram-positive bacteria (IACOBELLIS et al., 2005). *In vitro* studies have demonstrated the inhibitory and toxic effect of cuminaldehyde due to suffocation and inhibition of a variety of biosynthetic processes that are shown in the beetle's different development stages, such as an effect of inhibiting acetylcholinesterase enzymatic activity (CHAUBEY et al., 2008; ABDELGALEIL et al., 2009). The acaricidal activity shown in *R. (B.) microplus* tick larvae, of the essential oil of *C. cyminum* L., is attributable to the high level of cuminaldehyde (22.03%), γ -terpinene (15.69%) and 2-carene-10-al (12.89%), as well as to minor components, such as the *o*-cymene and β -pinene (VELASQUEZ et al., 2011); however, the proportions of

cuminaldehyde, γ -terpinene, β -pinene and *o*-cymene obtained in this study were higher, which can explain the acaricidal activity reflected on the results shown in Table 3.

Plants of the same species can vary in the quantity of chemical compounds due to their interspecific variation and other factors such as seasonality, circadian rhythm, development, temperature, ultraviolet radiation, water availability, altitude and atmospheric pollution, among others; this can coordinate or change the rate of production of the secondary metabolites (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Generally, the acaricidal effect of an essential oil is attributed to the components isolated in higher quantity; however, the activity of the main compound can be regulated by other components present in minor quantity (CAMPOS et al., 2012).

Based on the reproductive characteristics and product effectiveness with the *C. cyminum* L. (cumin) essential oil (Table 3), it is observed that in general, the results were directly proportional to the concentrations, following a pattern. The highest mortalities of the engorged females were at concentrations of 200 mg/mL and 100 mg/mL (100% in both), with statistical difference ($p < 0.05$) towards the control (ethyl alcohol 75%) which had 5% of mortality; at concentration of 50 mg/mL, the mortality decreased to 85%, and the lowest mortalities obtained, were at concentrations of 25 mg/mL, 12.5 mg/mL and 6.25 mg/mL with 45%, 20% and 20%, respectively; the last two concentrations did not show statistical difference with the control. In a study done in Mexico, five different concentrations (20%, 10%, 5%, 2.5% and 1.25%) of cumin essential oil were tested in larvae of *R. (B.) microplus* and in all concentrations mortality of 100% was shown (VELASQUEZ et al., 2011). However, it is known that larvae are more sensitive than engorged females, as it has been seen in studies with substances of plant origin (BORGES et al., 2011), because the cuticle of the tick is formed of an external layer called epicuticle (made externally of wax and internally of proteins). The layer of wax or lipids is seen only in *R. (B.) microplus* from the ecdise of the nymph and in higher amount in the adult (BALASHOV, 1972; ODHIAMBO, 1982).

Due to the high mortality in the engorged females shown by the two highest concentrations, no weights of the eggs and egg hatching results were obtained. The egg mass weights at concentrations of 50 mg/mL and 25 mg/mL were of 184 mg and 464 mg respectively, showing a negative effect ($p < 0.05$) on the egg posture, when compared to the control (1360 mg). The concentrations of 12.5 mg/mL and 6.25 mg/mL, did not show any negative effect on the egg posture regarding the control ($p < 0.05$), with weights of 1085 mg and 1247 mg

respectively. It is worth mentioning that at concentrations of 50 mg/mL and 25 mg/mL, the egg hatching was below 10%, having high negative effect. At concentration of 12.5 mg/mL, the egg hatching went up to 27.50%, but still indicating a negative effect ($p < 0.05$). Only the concentration of 6.25 mg/mL (88.75% of egg hatching) did not presented statistical significance toward the control (96%), showing a low effect. The cumin essential oil presented high Product Effectiveness (PE) at concentrations of 200 mg/mL, 100 mg/mL, 50 mg/mL and 25 mg/mL, with 100%, 100%, 99.58% and 97.34%, respectively, being above the level stipulated in Decree no. 48 of year 1997 from the Ministerio da Agricultura, Pecuaria e Abastecimento (MAPA), which states that a product is considered effective as an antiparasitic agent, when the PE is $\geq 95\%$, having similar results with the Organophosphate-Pyrethroid Association (Table 3), at concentration of 12.5 mg/mL. The PE decreased to 74.51% and at concentration 6.25 mg/mL decreased to 18.58%. The effective results obtained in the engorged female mortality and in the reproductive characteristics, are due to the bioactivity acaricidal effect of the main multiple chemical compounds and by their high percentage amount showed by the gas chromatography-mass spectrometry (Table 2).

The obtained results support that this essential oil as an alternative source to control the cattle tick, delaying the development of resistance; on the other hand, this is only the acaricidal effect *in vitro*; additional studies conduct *in vivo* are necessary, applied as pour-on, on the animal's back and/or with aspersion (MARTINS; GONZÁLEZ, 2007), in order to see if the lowest acaricidal concentration tested in this study, can cause the same activity, due to the difficulties related to external environmental conditions (MULLA; SU. 1999). Regarding the time of storage and conservation of the oil and the seeds, as seen in others plant extracts (BORGES et al., 2011), as well as to the low yield of the oil, we believe that further studies testing other types of extracts of the cumin seeds and other parts of the plants should be done, identifying the mode of action of the main bioactive compounds and those minor compounds with synergism, to evaluate their toxicity.

The chromatographic profile of the fixed oil of *B. excelsa* (Brazil nut), showed as the major compounds the unsaturated fatty acids. In the polyunsaturated fatty acids, the linoleic acid (C18:2n6c) was the main component with 47.25% and in the monounsaturated fatty acids was the oleic acid (C18:1n9c) with 30.60%. The extraction yield of the oil was of 69%, which is high. These results were close to those obtained by Ryan et al. (2006), where they obtained

42.80% of linoleic acid and 29.09% of oleic acid, as well as those obtained by Venkatachalam and Sathe (2006), with 45.43% of linoleic acid and 28.75% of oleic acid.

The six different concentrations of the fixed oil of *B. excelsa* (Brazil nut), did not show statistical difference with the control ($p > 0.05$) in the mortalities of the engorged females and on each of the reproductive characteristics, with some of the results not being directly proportional with the concentrations and with variations on the results between them. In the mortality of the engorged females, both concentrations of 200 mg/mL and 50 mg/mL showed 25%, the concentration of 12.5 mg/mL had 15%, at concentrations of 100 mg/mL and 12.5 mg/mL the mortality was of 10% in each, the concentration of 6.25 mg/mL, did not present any mortality in the engorged females. The eggs mass weights were proportional to the mortality of the engorged females at each concentration. The lower egg mass weight was at concentration of 200 mg/mL with 937 mg, the concentration of 100 mg/mL showed the lowest egg hatching (87.50%); however, no statistical difference with the control was seen, having a low effect. The fixed oil presented the higher PE (39.39%) at the concentration of 200 mg/mL, below the average established by the MAPA.

The results in the chromatographic profile of the fixed oil of *H. annuus* (Sunflower seed), also showed that the unsaturated fatty acids were the main components, with 53.63% of linoleic acid (C18:2n6c) and 35.80% of oleic acid (C18:1n9c). The extraction yield for the oil was of 61 %. These results were close to those reported by Mandarinó (1992), with 50% to 70% of linoleic acid and 26% to 40% of oleic acid. In general, the differences in the quantities of the unsaturated fatty acids components of the two fixed oils in this study with those mentioned in the other studies can be related to the origin and genotype of the nuts and seeds.

The fixed oil of *H. annuus* (sunflower seed), like the fixed oil of *B. excelsa* (Brazil nut), obtained results not directly proportional to the concentrations, only the concentration of 200 mg/mL (25% of mortality) showed a statistical difference with the control, but still was considered low. At the concentration of 50 mg/mL, the mortality was of 10%, in the concentrations of 100, 25 and 6.25 mg/mL the mortalities were of 5% and the concentration of 12.5 mg/mL not showed mortality. In the fixed oil of *H. annuus*, the concentration of 200 mg/mL presented the lowest egg mass weight (781 mg) ($p < 0.05$); also, this concentration showed the lowest hatching rate with 72.50% (no statistical difference with the control). These fixed oils presented the higher PE (58.75%) at the concentration of 200 mg/mL, below the

average established by the MAPA. It is important to establish in both fixed oils the higher PEs were higher than those obtained by the pyrethroid and the amidine tested in this study.

In general, both fixed oils showed low mortalities, attributed to the fact that the main components are unsaturated fatty acids (Table 1). Also, they did not have a high acaricidal activity, like the high mortality effect shown in the essential oil. Also, it can be deduced that the low mortality was because the fixed oils never evaporate or volatilize completely, remaining as viscous liquids. Once in contact for a period of time with the tick's spiracles, where the normal route for gas exchanges through holes or aeropyles and the ambient air is made (HINTON, 1967), the demand for oxygen and release of carbon dioxide is not balanced and excessive water loss occurs, causing suffocation of the tick and consequent dehydration. Therefore, the variations of the results between the six different concentrations may be due to several factors such as the time of contact of the oil after the immersion test in the cuticle in each tick and the mixture at dilutions of the oils with the solvent. It is important to mention that irregularities in mortality were shown in a study with essential oil in the study by Olivo et al. (2008), in which citronella oil (0.5% and 1%) was used against engorged adult *R. (B.) microplus* females. Thus, the phenomenon of passivation was observed, where the concentrated product started to be absorbed, but a passivator film began to form, thereby inhibiting passage of the oil. In such situations, the oil therefore penetrates better when it is more diluted, because no protective film has formed, causing higher absorption (CHAGAS et al., 2002).

The reproductive indices and PEs obtained from the three commercial acaricides (Table 2), showed that the organophosphate-pyrethroid association, had the highest (100%) acaricidal effect in female mortality among the acaricides. The AIT showed that between the three acaricides, only the organophosphate-pyrethroid association had a product effectiveness of 100%, being above the established by the MAPA. Similar results in Brasil have demonstrated that the organophosphate-pyrethroid association has higher average efficacy in the properties (FARIAS et al., 2008; CAMPOS et al., 2005; MACHADO et al., 2014), indicating the importance of using a combination of active agents in areas where the parasite is resistant to the active agent in isolation (MACHADO et al., 2014) due to the fact that this association potentiates the activity and prolongates the useful life of the pyrethroid, improving the efficiency of the acaricide, having importance but always only if a synergism between the two drugs (FURLONG et al., 2007).

The amidine showed a low mortality (25%) on the engorged females, had no negative effect on the egg mass weight (1110 mg) with no statistical difference with the control (1360 mg). Regarding the hatching percentage, the amidine had 80%, higher than 50%. Despite the fact that the Amitraz presented statistical difference with the control (88.75%). This does not mean that it had an efficient effect on the hatching. The amitraz, presented low effectiveness (35.12%), below the level established by the MAPA), corroborating with the results from other studies conducted in the same region of Brazil (SANTOS et al., 2009; SANTOS et al., 2012; MACHADO et al., 2014) in which the amitraz lost effectiveness over the years, with development of resistance due to control failures, such as wrong doses and inadequate drug applications, thus promoting selection of tick resistance to these chemical molecules (FARIAS et al., 2008).

The pyrethroid did not show any mortality on the engorged females, without a negative effect on the egg mass weight (1480 mg), and with high hatching percentage (92.5%). Presented the lowest PE (1.50%) among the acaricides; it is important to mention that around the year 2000, the active agents most often used were derived from pyrethroid molecules (FARIAS et al., 2008). In Porto Alegre, a strain resistant to cypermethrin was detected (RECK et al., 2014). In a study conducted by Santos et al. (2012), the highest efficacy presented by cypermethrin was 88%, below the recommended by current Brazilian legislation. Similar results were also observed in southern Brazil, where the cypermethrin presented efficacy of 20.7% (6/29) in the study population, with PE ranging between 0% and 100% (CAMILLO et al., 2009). These results are due to the fact that pyrethroids were widely used and because the resistance of *R. (B.) microplus* against pyrethroids is irreversible. Products from pyrethroids have been replaced by amidines (FARIAS et al., 2008). As mentioned previously, these results are in agreement with other studies of resistance in Brazil, indicating a high level of resistance to the active compounds amidine and pyrethroid. It is worth mentioning that in addition to those synthetic acaricides, in Brazil there is resistance to other active substances that had been present in recent years in the market, compared to the ones used in this study, such as the macrocyclic lactones (KLAFKE et al., 2006).

Conclusions

The essential oil of *C. cyminum* L., is effective in the mortality of engorged females of *R. (B.) microplus*, as well as in the reduction of egg posture and egg hatching, demonstrating high acaricidal activity (100%), making it an alternative source for the cattle tick control agent, due to the high content of bioactive biodegradable compounds. However, there is a need for additional studies, to be conducted *in vivo*. On the other hand, the fixed oils of *B. excelsa* and *H. annuus* cause low mortality in engorged females and a low acaricidal effect in their reproductive characteristics; nevertheless, they presented higher acaricidal effect than the amitraz and pyrethroid. Respecting the acaricides only the association showed higher than the established by the MAPA.

References

- Abbas RZ, Zaman MA, Colwell DD, Gilleard J, Iqbal Z. Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: The state of play. *Vet Parasitol* 2014; 203: 6-20.
- Abdelgaleil SAM, Mohamed MIE, Badawy MEI, El-Arami SAA. Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. *J Chem Ecol* 2009; 35(5): 518-25.
- Aboki MA, Mohammed M, Musa SH, Zuru BS, Aliyu HM, Gero M, Alibe IM, Inuwa B. Physicochemical and Anti-Microbial Properties of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Seed Oil. *IJST* 2012; 2(4): 151-154.
- Apel MA, Ribeiro VL, Bordignon SA, Henriques AT, Von Poser G. Chemical composition and toxicity of the essential oils from *Cunila* species (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Parasitol Res* 2009; 105(3): 863-8.
- Balashov YS. A translation of bloodsucking ticks (Ixodoidea) – Vectors of diseases of man and animals. *Misc Publ Entomol* 1972; 8(5): 159-376.
- Barbosa CS, Borges LMF, Nicácio J, Alves RD, Miguita CH, Violante IMP, Hamerski L, Garcez WS, Garcez FR. In Vitro activities of plant extracts from the Brazilian Cerrado and Pantanal against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarol* 2013; 60(3): 421-430.
- Borges LMF, Sousa LADde, Barbosa CdaS. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev Bras Parasitol Vet Jaboticabal* 2011; 20(2): 89-96.

Camillo G, Vogel FF, Sangioni LA, Cadore GC, Ferrari R. Eficiência in vitro de acaricidas sobre carrapatos de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Cienc. Rural* 2009; 39(2): 490-495.

Campos DAJ, Oliveira PR. In vitro valuation of acaricides efficiency to *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) from bovines at the region of Ilhéus, Bahia, Brazil. *Cienc. Rural* 2005; 35(6): 1386-1392.

Campos FR, Januário AH, Rosas LV, Nascimento SKR, Francinete R, Pereira PS, França SC, Cordeiro MSC, Toldo MPA, Albuquerque S. Trypanocidal activity of extracts and fractions of *Bertholletia excelsa*. *Fitoterapia* 2005; 76:26-29.

Campos PM, Bahia LM, Juan SMP, Klafke MG. *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*: Biologia, Controle e Resistência. São Paulo: MedVet; 2008.

Campos RNS, Bacci L, Araújo APA, Blank AF, Arrigoni-Blank MF, Santos GRAE, Roner MNB. OEs de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*. *Arch Zootec* 2012; 61(1): 67-68.

Castro KN de C, Lima DF, Vasconcelos LC, Magalhães JÁ, Costa JV, Santos RCD. Ação de óleos e extratos vegetais no controle de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in vitro. *Cadernos de Agroecologia* 2011; 6(2): 1-6.

Chagas ACS, Leite RC, Furlong J, Prates HT, Passos WM. Sensibility of *Boophilus microplus* tick to solvents. *Cienc Rural* 2003; 33(1): 109-114.

Chagas ACS, Passos WM, Prates HT, Leite RC, Furlong J, Fortes ICP. Acaricide effect of *Eucalyptus* spp. Essential oils and concentrated emulsion on *Boophilus microplus*. *Braz J Vet Res Anim* 2002; 39(1): 247-253.

Chaubey MK. Fumigant toxicity of essential oils from some common spices against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *J Oleo Sci* 2008; 57(3): 171-179.

Chevillon C, Ducornez S, de Meeûs T, Koffi BB, Gaïa H, Delathière JM, Barré N. Accumulation of acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari:Ixodidae) populations from New Caledonia Island. *Vet. Parasitol* 2007; 147(3-4): 276-288.

Denholm I, Rowland MW. Tactics for managing pesticide resistance in Arthropods: Theory and practice. *Annu Rev of Entomol* 1992; 37: 91-112.

Deakhshan S, Sattari M, Bigdeli M. Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) seed essential oil on biofilm formation and plasmid Integrity of *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacogn. Mag* 2010; 6: 57-61.

Drummond RO, Ernest SE, Trevino JL, Gladney WJ, Graham OH. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus* Laboratory tests of insecticides. *J. Econ. Entomol* 1973; 66(1): 130-133.

Estrada AP, Bouattour A, Camicas JL, Guglielmone A, Horak I, Jongejan F, Latif A, Pegram R, Walker AR. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus

Boophilus (Acari: Ixodidae) in Africa and Latin America. *Exp Appl Acarol* 2006; 38(2-3): 219-235.

Farias NA, Ruas JL, Santos TRB. Acaricids efficacy analysis on *Boophilus microplus* tick, in the last decade in the southern of Rio Grande do Sul. *Cienc. Rural* 2008; 38(6): 1700-1704.

Foil LD, Coleman P, Eisler M, Fragoso SH, Garcia VZ, Guerreiro FD, Jonsson NN, Langstaff IG, Machila N, Miller RJ, Morton J, Pruett J.H, Torr S. Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tickborne diseases. *Vet Parasitol* 2004; 125(1-2): 163-181.

Furlong J, Prata MCA, Martins JR. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? *Hora vet* 2007; 27(159): 26-32.

Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim Nova* 2007; 30(2): 374-381.

Grisi L, Leite RC, Martins JRdeS, Barros ATM, Andreotti R, Cançado PHD, Pérez de León AA, Pereira JB, Villela HS. Reavaliação do potencial Impacto econômico de parasitos de bovinos no Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2014; 23(2): 150-156.

Guerrero FD, Davey RB, Miller RJ. Use of an allele-specific polymerase chain reaction assay to genotype pyrethroid resistant strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 2001; 38(1): 44-50.

Hinton HE. The structure of the spiracles of the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Aust J Zool* 1967; 15: 941-949.

Iacobellis NS, Cantore P, Capasso F, Senatore F. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. *J Agric Food Chem* 2005; 53(1): 57-61.

Jongejan F, Uilenberg G. The global importance of ticks. *Parasitology* 2004; 129(S1): S3-S14.

Jonsson NN. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Vet Parasitol* 2006; 137 (1-2): 1-10.

Klafke GM, Sabatini GA, Albuquerque TAd, Martins JR, Kemp DH, Miller RJ, Schumaker TTS. Larval Immersion Tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae) from the State of São Paulo, Brazil. *Vet Parasitol* 2006; 142: 386-390.

Kluczkovski AM, Martins M, Mundim SM, Simões RH, Nascimento KS, Marinho HÁ, Kluczkovski AJ. Properties of Brazil nuts: A review. *Afr J Biotechnol* 2015; 14(8): 642-648.

Machado FA, Pivoto FL, Ferreira MST, Gregorio FdeV, Vogel FSF, Sangioni LA. *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in the western-central region of Rio Grande do Sul, Brazil: multiresistant tick. *Braz J Vet Parasitol Jaboticabal* 2014; 23(3): 337-342.

Mandarino JMG. Características bioquímicas e nutricionais do óleo e do farelo de girassol. EMBRAPA-CNPSO, Londrina; 1992.

Martins RM, González FHD. Uso del aceite de citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) (Panicoidideae) como acaricida frente a la garrapata *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae). *Rev Bras Pl Med* 2007; 9(4): 1-8.

Martinez ML, Machado MA, Nascimento CS, Silva MVGB, Teodoro RL, Furlong J, Prata MCA, Campos AL, Guimarães MFM, Azevedo ALS, Pires MFA, Verneque RS. Association of BoLA-DRB3.2 alleles with tick (*Boophilus microplus*) resistance in cattle. *Genet Mol Res* 2006; 5(3): 513-524.

Moss CW, Lambert MA, Merwin WH. Comparison of rapid methods for analysis of bacterial fatty acids. *Appl Microbiol* 1974; 28(1): 80-85.

Mulla MS, Su T. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. *J Am Mosq Control Assoc* 1999; 15(2): 133-152.

Odhambo TR. Current themes in tropical science: physiology of ticks. Oxford: Pergamon; 1982.

Olivo CJ, Carvalho NM, Silva JHS, Vogel FF, Massario P, Meinerz G, Agnolin C, Morel AF, Viau LV. Citronella oil on the control of cattle ticks. *Cienc Rural* 2008; 38(2): 406-410.

Park IK, Kim JN, Lee YS, Lee SG, Ahn YJ, Shin SC. Toxicity of plant essential oils and their components against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). *J Econ Entomol* 2008; 101(1): 139-144.

Pereira ACRL, Oliveira JVde, Junior MGCG, Câmara CAGda. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. *Ciênc agrotec Lavras* 2008; 32(3): 717-724.

Rabadia AG, Kamat S, Kamat D. Antifungal activity of essential oils against Fluconazole resistant fungi. *Int J Phytomed* 2011; 3(4): 506-510.

Reck J, Klafke GM, Webster A, Dall'Agnol B, Scheffer R, Souza UA, et al. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. *Vet Parasitol* 2014; 201(1-2): 128-136.

Rodrigues MRA, Krause LC, Caramão EB, dos Santos JG, Dariva C, Vladimir de Oliveira J. Chemical composition and extraction yield of the extract of *Origanum vulgare* obtained from sub- and supercritical CO₂. *J Agric Food Chem* 2004; 52(10): 3042-3047.

Rodríguez-Vivas RI, Rodríguez-Arevalo F, Alonso-Díaz MA, Fragoso-Sanchez H, Santamaria VM, Rosario-Cruz R. Prevalence and potential risk factors for amitraz resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle farms in the State of Yucatan, Mexico. *Prev Vet Med* 2006; 75(3-4): 280-286.

Rodriguez-Vivas RI, Grisi L, Leon AAPde, Villela HS, Acosta JFT, Sánchez HF, Salas DR, Cruz RR, Saldierna F, Carrasco DG. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2017; 8(1): 61-74.

Ryan E, Galvin K, O'Connor TP, Maguire AR, O'Brien NM. Fatty acid profile, tocoferol, squalene and phytosterol content of Brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. *Int. J. Food Sci. Nutr* 2006; 57(3-4): 219-228.

Sabatini GA, Kemp DH, Hughes S, Nari A, Hansen J. Tests to determine LC50 and discriminating doses for macrocyclic lactones against the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Vet Parasitol* 2001; 95(1):53-62.

Santos TRB, Farias NAR, Cunha FNA, Pappen FG, Vaz JIS. Abordagem sobre o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no sul do Rio Grande do Sul. *Pesqui. Vet. Bras.* 2009; 29(1): 65-70.

Santos FCC, Vogel SF. Amitraz and cypermethrin resistance ticks *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in cattle herds located in Rio Grande do Sul from 2005 to 2011. *RPCV* 2012; 107(581-582): 121-124.

Santos TRB, Klafke GM, Pappen FG, Nizoli LQ, Biegelmeyer P, Farias NAR. Comparison of three larval bioassays to evaluate susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to amitraz. *Rev Bras Parasitol Vet* 2013; 22(4): 495-501.

Santos LB, Souza JK, Papassoni B, Borges DGL, Junior GAD, Souza JME, Carollo CA, Borges FdeA. Efficacy of extracts from plants of the Brazilian Pantanal against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal* 2013; 22(4): 532-538.

Santos TRB, Castro NA, Bretanha LC, Schuch LFD, Freitag RA, Nizoli LQ. In Vitro study of the effectiveness of *Citronella (Cymbopogon wynterianus)* on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Science and Animal Health* 2015; 3(1): 135-149.

Shaw RD. Culture of an organophosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. *Bull Entomol Res* 1966; 56(3): 389-405.

Sousa CICdoC. Avaliação da Atividade Antimalárica de Bioprodutos da *Bertholletia excelsa* H.B.K [Dissertação]. Rondônia: Fundação Universidade Federal de Rondônia Núcleo de Ciências e Tecnologia; 2013.

Stone BF, Haydoc KP. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). *Bull Entomol Res* 1962; 53(3): 563-578.

Tabassum N, Vidyasagar GM. In vitro antimicrobial activity of edible oils against human pathogens causing skin infections. *IJPSR* 2014; 5(10): 4493-4498.

Tang B, Row KH. Development of gas chromatography analysis of fatty acids in marine organisms. *J Chromatogr Sci* 2013; 51(7): 599-607.

Velazquez MM, Castillo GAH, Rodrigo RC, Fernandez JMF, Ramirez JL, Gutierrez RH, Cervantes ECL. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res* 2011; 108(2): 481-487.

Venkatachalam M, Sathe SK. Chemical Composition of Selected Edible Nut Seeds. *J. Agric. Food Chem* 2006; 54(13): 4705-14.

Vudriko P, Okwee-Acai J, Tayebwa DS, Byaruhanga J, Kakooza S, Wampande E, Omara R, Muhindo JB, Tweyongyere R, Owiny DO, Hatta T, Tsuji N, Umemiya-Shirafuji R, Xuan X, Kanameda M, Fujisaki K, Suzuki H. Emergence of multi-acaricide resistant *Rhipicephalus* ticks and its implication on chemical tick control in Uganda. *Parasit Vectors* 2016; 9(4): 1-13.

Yeom H-J, Kang J.S, Kim G-H, Park Il-K. Insecticidal and Acetylcholine Esterase Inhibition Activity of Apiaceae Plant Essential Oils and Their Constituents against Adults of German Cockroach (*Blattella germanica*). *J. Agric. Food Chem* 2012; 60(29): 7194–7203.

Table Captions

Table 1. Acaricides used describing name of the company, trade name of the product, active ingredient and concentration of the acaricides.

Table 2. Main chemical components of *Cuminum cyminum* L. (Cumin), *Bertholletia excelsa* (Brazil nut) and *Helianthus annuus* (Sunflower seed) essential oils.

Table 3. Evaluation of the commercial acaricides and of the six different concentrations of the Cumin essential oil, Brazilian nut and Sunflower seed fixed oils on reproductive indices of *R. (B.) microplus*, as well as their Product effectiveness (values are expressed in mean \pm SD).

Table 1.

Name of the company	Trade name of the product	Active ingredient	Concentration
Fagra	Clipatic®*	Amitraz	0.125 mg/mL
Biofarm	Cyperbio®*	Cypermethrin	0.150 mg/mL
Ourofino	Colosso FC30®*	Chlorpyrifos	0.300 mg/mL
		Cypermethrin	0.150 mg/mL
		Fenthion	0.150 mg/mL

*Cyperbio: Batch number: 002/15, Expiration date. Mar/15-Mar/17

*Clipatic: Batch number: 016/14, Expiration date. Ago/14-17

*ColossoFC30: Batch number: 0001/14, Expiration date. Mai/14-16

Table 2.

Chemical component	<i>Cuminum cyminum</i> L (%)	<i>Bertholletia excelsa</i> (%)	<i>Helianthus annuus</i> (%)
Myristic Acid	-	0.044	0.071
Palmitic Acid	-	13.467	5.791
Palmitoleic Acid	-	0.232	0.073
Margaric Acid	-	0.129	0.039
Steric Acid	-	7.741	4.106
Oleic Acid	-	30.606	35.805
Linoleic Acid	-	47.256	53.638
Linolenic Acid	-	0.095	0.043
Arachidic Acid	-	0.194	0.244
Gadoleic Acid	-	0.07	0.096
Behenic acid	-	0.099	0.0866
Lignoceric Acid	-	0.065	0.228
Cuminaldehyde	32.66	-	-
γ-terpinene	19.87	-	-
β-pinene	15.22	-	-
O-cymene	14	-	-
2-carene-10-al	8.54	-	-
1-phenyl-1-butanol	8.01	-	-

Table 3.

Commercial product	Female mortality %	Egg mass weight (mg)	Egg Hatching %	Product Effectiveness (%)
Amitraz	25.00±21.23 ^b	1110±0.18 ^a	80.00±0.0 ^b	35.12
Pyrethroid	0.00±0.0 ^b	1480± 0.06 ^a	92.50±3.54 ^a	1.50
Organophosphate-Pyrethroid Association	100.00±0.0 ^a	0.00±0.0 ^b	0.00±0.0 ^c	100.00
Control Water	5.00±0.0 ^b	1360±0.03 ^a	88.75±1.77 ^a	-
<i>Cuminum cyminum</i> L				
6.25 mg/mL	20.00±0.0 ^{bc}	1247±0.18 ^a	88.75±1.77 ^a	18.58
12.5 mg/mL	20.00± 14.14 ^{bc}	1085±0.32 ^{ab}	27.50±24.75 ^b	74.51
25 mg/mL	45.00±7.07 ^b	464±0.02 ^{bc}	7.75±3.18 ^b	97.34
50 mg/mL	85.00±21.21 ^a	184±0.26 ^c	1.50±2.12 ^b	99.58
100 mg/mL	100.00±0.0 ^a	0.00±0.0 ^c	0.00±0.0 ^b	100.00
200 mg/mL	100.00±0.0 ^a	0.00±0.0 ^c	0.00±0.0 ^b	100.00
Control Alcohol	5.00±0.0 ^c	1360±0.06 ^a	96.00±0.0 ^a	-
<i>Bertholletia excelsa</i>				
6.25 mg/mL	0.00±0.0 ^b	1437±0.08 ^a	91.50±9.19 ^a	8.16
12.5 mg/mL	10.00±14.14 ^b	1263±0.25 ^a	93.00±0.0 ^a	13.96
25 mg/mL	15.00±7.07 ^b	1194±0.19 ^a	92.00±2.83 ^a	19.69
50 mg/mL	25.00±35.36 ^b	1049±0.46 ^a	90.00±7.07 ^a	29.96
100 mg/mL	10.00±0.0 ^b	1228±0.0 ^a	87.50±10.61 ^a	20.91
200 mg/mL	25.00±35.36 ^b	937±0.43 ^{ab}	90.00±7.07 ^a	39.39
Control Alcohol	5.00±0.0 ^b	1360±0.06 ^a	96.00±0.0 ^a	-
<i>Helianthus annuus</i>				
6.25 mg/mL	5.00±7.07 ^c	1425±0.15 ^a	96.00±0.0 ^a	4.66
12.5 mg/mL	0.00±0.0 ^c	1501±0.0 ^a	92.00±2.83 ^{ab}	1.51
25 mg/mL	5.00±7.07 ^c	1380±0.15 ^a	88.50±4.95 ^{ab}	11.31
50 mg/mL	10.00±0.0 ^{bc}	1298±0.05 ^a	92.50±3.54 ^{ab}	11.48
100 mg/mL	5.00±7.07 ^c	1230±0.09 ^a	92.50±3.54 ^{ab}	16.24
200 mg/mL	25.00±7.07 ^b	781±0.14 ^b	72.50±10.61 ^b	58.75
Control Alcohol	5.00±0.0 ^c	1360±0.06 ^a	96.00±0.0 ^{ab}	-
Common corresponding letters ^{a-c} in a given column indicates no significant differences ($p<0,05$)				

6. CONCLUSÕES GERAIS

- As propriedades de leite estudadas, situadas em cinco municípios da região sul do RS, demonstram características e métodos favoráveis, para o controle convencional do carrapato, mas não chegam a ter um controle estratégico.
- A dificuldade para controlar *R. (B.) microplus* com os acaricidas disponíveis não depende do grau de instrução. As propriedades que tem instalações semitecnificadas (ordenha mecanizada), e aquelas que aplicam carrapaticidas mais de, ou igual a quatro vezes por ano, apresentam um difícil controle do carrapato, sendo estes considerados, fatores de risco.
- O perfil químico dos óleos foi constituído principalmente por terpenos, onde os principais compostos identificados foram: o cuminaldeído para o cominho, e os ácidos linoleico e oleico para a castanha do Brasil e para a semente de girassol.
- O óleo essencial de *C. cyminum* L. (cominho) apresentou um alto poder acaricida sobre *R. (B.) microplus*, podendo se tornar uma fonte de alternativa para o controle, devido ao seu alto conteúdo de componentes bioativos, no entanto, existe a necessidade de estudos adicionais, para serem conduzidos *in vivo*.
- Os óleos fixos de *B. excelsa* (castanha do Brasil) e de *H. annuus* L. (semente de girassol) apresentaram baixo poder acaricida, no entanto maior eficácia que o amitraz e o piretroide.
- Os três acaricidas testados apresentaram variantes com respeito a sua eficácia sobre a população de *R. (B.) microplus*, sendo que somente a associação de princípios ativos apresentou uma eficácia mais alta do estabelecido pelo MAPA.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Recomenda-se o diagnóstico precoce da resistência dentro das propriedades, em um estágio de desenvolvimento primário da resistência, assim como, a assessoria técnica ou veterinária de informação aos proprietários, sobre as falhas no manejo e fatores de risco dentro das propriedades, apresentadas nesse estudo, que levam a presença e à dificuldade no controle de *R. (B.) microplus*, com o fim de obter um controle estratégico e prolongar a vida útil dos carrapaticidas, indicando o TIA para monitorar e avaliar a situação da resistência para decidir qual acaricida pode levar ao um melhor controle.

REFERÊNCIAS

- ABDELGALEIL, S. A. M.; MOHAMED, M. I. E.; BADAWY, M. E. I.; EI-ARAMI, S. A. A. Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 05, p. 518-25, 2009.
- ABOKI, M. A.; MOHAMMED, M.; MUSA, S. H.; ZURU, B. S.; ALIYU, H. M.; GERO, M.; ALIBE, I. M.; INUWA, B. Physicochemical and Anti-Microbial Properties of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Seed Oil. **International Journal of Science & Technology**, v. 02, n. 04, p. 151-154, 2012.
- ALMEIDA, M. F. O.; MELO, A. C. R.; PINHEIRO, M. L. B.; SILVA, J. R. A.; SOUZA, A. D. L.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; AMARAL, A. C. F.; MACHADO, G. M. C.; LEON L. L. P. Constituintes químicos e atividade Leishmanicida de *Gustavia elliptica* (Lecythidaceae). **Quim Nova**, v. 34, n. 07, p. 1182-1187, 2011.
- AMARAL, M. A. Z. do.; ROCHA, C. M. B. M. da.; FACCINI, J. L.; FURLONG, J.; MONTEIRO, C. M. de. O.; PRATA, M. C. de. A. Perceptions and attitudes among milk producers in Minas Gerais regarding cattle tick biology and control. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária Jaboticabal**, v. 20, n. 03, p. 194-201, 2011.
- ANDREOTTI, Renato. **Situação atual da Resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil**. 1ª ed. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2010. 36 p.
- ANDREOTTI, Renato; KOLLER, Wilson Werner. **Carrapatos no Brasil. Biologia, Controle e Doenças Transmitidas**. 1ª ed. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2010. 187 p.
- ANDREOTTI, Renato; KOLLER Wilson Werner. **Carrapatos: protocolos e técnicas**. 1ª ed. Brasília, D. F: Embrapa gado de corte. 2016. 217 p.
- APEL, M. A.; RIBEIRO, V. L.; BORDIGNON, S. A.; HENRIQUES, A. T.; VON POSER, G. Chemical composition and toxicity of the essential oils from *Cunila* species (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Parasitology Research**, v. 105, n. 03, p. 863-8, 2009.
- ARAGÃO, H. B.; FONSECA, F. Notas de ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 59, n. 02, p. 115-129, 1961.

ARAÚJO, F. R.; MADRUGA, C. R.; LEAL, C. R. B.; BASTOS, P. A. S.; MARQUES, A. P. C. Frequência de anticorpos anti-Anaplasma marginale em rebanhos leiteiros da Bahia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 03, p. 243-246, 1998.

BALASHOV, Y. S.; A translation of bloodsucking ticks (Ixodoidea) – Vectors of diseases of man and animals. **Miscellaneous Publications of the Entomological**, v. 08, n. 05, p. 159-376, 1972.

BARATA, Lauro Euclides Soares.; QUEIROZ, Sérgio Robles Reis de. **Contribuição efetiva ou potencial do Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PADCT) para o aproveitamento econômico sustentável da biodiversidade**, estudo elaborado para o Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PADCT), Sub-Programa de Planejamento e Gestão em Ciência e Tecnologia (PGCT), do Ministério da Ciência e Tecnologia, Campinas, out. 1995.

BARBOSA, C. S.; BORGES, L. M. F.; NICÁCIO, J.; ALVES, R. D.; MIGUITA, C. H.; VIOLANTE, I. M. P.; HAMERSKI, L.; GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R. *In Vitro* activities of plant extracts from the Brazilian Cerrado and Pantanal against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Experimental Applied Acarology**, v. 60, n. 03, p. 421-430, 2013.

BARROSO, Graziela Maciel et al. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v. 03. Viçosa: Ed. Universidade Federal de Viçosa, 1991. 326p.

BENAVIDES, Ortiz Efraín. Control de las pérdidas ocasionadas por los parásitos del ganado. In: **Manejo Integrado de Plagas y enfermedades en explotaciones ganaderas**. v. 69. Bogotá, Colombia: Carta Fedegán, 2001. p. 52-63.

BIANCHI, M. W.; BARRÉ, N.; MESSAD, S. Factors relates to cattle infestation level and resistance to acaricides in *Boophilus microplus* tick populations in New Caledonia. **Veterinary Parasitology**, v. 112, n. 01-02, p. 75-89, 2003.

BIZZO, H. R.; HOVELI, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e prespectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 03, p. 588-594, 2009.

BOCK, R.; JACKSON, L.; DE VOS, A.; JORGENSEN, W. Babesiosis of cattle. **Parasitology**, v. 129, n. 51, p. 247-269, 2004.

BORGES, L. M. F.; SOUSA, L. A. D. de.; BARBOSA, C. da. S. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária Jaboticabal**, v. 20, n. 02, p. 89-96, 2011.

BORSANELLI, Ana Carolina. **Fatores socioeconômicos e percepção de risco de produtores de leite no uso de produtos veterinários**. 2013. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2013.

BREMER, Kare. **Asteraceae: Cladistics and classification**. 1ª ed. Portland Oregon: Timber Press, 1994. 729 p.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; VALENTE, E.C.N.; SOUZA, L. A. de.; DIAS, N. da. S.; ARAÚJO, A. M. N. de. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária Jaboticabal**, v. 18, n. 04, p. 44-48, 2009.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; DIAS, N. da. S.; VALENTE, E. C. N.; SOUZA, L. A. de.; LOPES, D. O. P.; SANTOS, J. M. dos. Action of extract and oil neem in the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari:Ixodidae) in laboratory. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária Jaboticabal**, v. 19, n. 01, p. 46-50, 2010.

BRUM, J. G. W.; GONZALES, J. C.; PETRUZZI, M. A. Postura e eclosão de *Boophilus microplus* em diferentes localizações geográficas do RS, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 37, n. 06, p. 581-587, 1985.

BRUM, J. G. W.; COSTA, P. R. P.; RIBEIRO, P. B.; GONZALES, J. C. Flutuação sazonal de *B. microplus* (Canestrini, 1887) no município de Pelotas, RS. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 39, n. 06, p. 891-896, 1987.

CAMILLO, G.; VOGEL, F. F.; SANGIONI, L. A.; CADORE, G. C.; FERRARI, R. Eficiência *in vitro* de acaricidas sobre carrapatos de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural Santa Maria**, v. 39, n. 02, p. 490-495, 2009.

CAMPOS, D. A. J.; OLIVEIRA, P. R. *In vitro* valuation of acaricides efficiency to *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) from bovines at the region of Ilhéus, Bahia, Brazil. **Ciência Rural Santa Maria**, v. 35, n. 06, p. 1386-1392, 2005.

CAMPOS, F. R.; JANUÁRIO, A. H.; ROSAS, L. V.; NASCIMENTO, S. K. R.; FRANCINETE, R.; PEREIRA, P. S.; FRANÇA, S. C.; CORDEIRO, M. S. C.; TOLDO, M. P. A.; ALBUQUERQUE, S. Trypanocidal activity of extracts and fractions of *Bertholletia excelsa*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 01, p. 26-29, 2005.

CAMPOS, R. N. S.; BACCI, L.; ARAÚJO, A. P. A.; BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SANTOS, G. R. A.; RÖNER, M. N. B. Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*. **Revista Archivos de Zootecnia**, v. 61, n. R, p. 67-78, 2012.

CARRÃO-PANIZZI, Mercedes Concórdia.; MANDARINO, José Marcos Gontijo. Produtos proteicos do girassol. In: LEITE, Regina Maria Villas B de C.; BRIGHENTI, Alexandre Magno.; CASTRO, César de. **Girassol do Brasil**. Ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005. p. 51-68.

CASTRO, M. P.; PEREIRA, C. Alimentação das proteroninfas de *Boophilus (Boophilus) microplus* Can., 1888 (Ixodidae) com os restos necróticos da reação tissular do hospedeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 17, p. 149-162, 1946.

CASTRO, J. J. Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. **Veterinary Parasitology**, v. 71, n. 02-03, p. 77-97, 1997.

CASTRO, Castro de.; CASTIGLIONI, Vania Beatriz R.; BALLA, Antal.; LEITE, Regina Maria Villas B de C.; KARAM, Décio.; MELLO Heveraldo Camargo.; GUEDES, Luiz César Auvray.; FARIAS, José Renato B. **A cultura do girassol**: Circular Técnica 13. Londrina: EMBRAPA- CNPSo, 1997. 36 p.

CASTRO-JANER, E.; MARTINS, J. R.; MENDEZ, M. C.; NAMINDOME, A.; KLAFKE, G. M.; SCHUMAKER, T. T. S. Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) using *in vitro* larval bioassays. **Veterinary Parasitology**, v. 173, n. 03-04, p. 300-306, 2010.

CASTRO-JANER, Eleonor Adegá. **Resistência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) a fipronil: Padronização de bioensaios *in vitro*, detecção de resistência em populações de campo e avaliação sobre resistência cruzada com outras drogas**. 2010. 118 f. Tese (Doutorado em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: <file:///D:/Downloads/EleonorACJaner_Doutorado_P.pdf>. Acesso em: 15 set. 2015.

CASTRO, K. N. de. C.; LIMA, D. F.; VASCONCELOS, L. C.; MAGALHÃES, J. A.; COSTA, J. V.; SANTOS, R. C. D. Ação de óleos e extratos vegetais no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* *in vitro*. **Cadernos de Agroecologia**, v. 06, n. 02, p. 1-6, 2011.

CAVASIN-JR, Carlos Paulo. **Cultura do girassol**. Guaíba: Agropecuária. 2001. 69 p.

CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH (CFPHS). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Southern Cattle Tick, Cattle Tick.1-3. 2007. Disponível em:<http://sisbi.ufpel.edu.br/arquivos/PDF/Manual_Normas_UFPel_trabalhos_aca%C3%AAmicos.pdf>. Acesso em: 02 nov. 2015.

CHAGAS, A. C. de. S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.; FORTES, I. C. P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 05, p. 247-253, 2002.

CHAGAS, A. C. de. S.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.; PRATES, H. T.; PASSOS, W. M. Sensibility of *Boophilus microplus* tick to solvents. **Ciência Rural Santa Maria**, v. 33, n. 01, p. 109-114, 2003.

CHAMBERS, J. Q.; HIGUCHI, N.; SCHIMEI, J. P. Ancient trees in Amazonia. **Nature**, v. 391, p. 135-136, 1998.

CHAUBEY, M. K. Fumigant toxicity of essential oils from some common spices against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Oleo Science**; v. 57, n. 03, p. 171-179, 2008.

CHUNGSAMARNYART, N.; JIWAJINDA, S. Acaricidal Activity of Volatile oil from Lemon and Citronella Grasses on Tropical Cattle Ticks. **Kasetsart Journal**, v. 26, p. 46-51, 1992.

CHUNHIENG, T.; HAFIDI, A.; PIOCH, D.; BROCHIER, J.; MONTET, D. Detailed study of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) oil micro-compounds: phospholipids, tocopherols and sterols. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 07, p. 1374-1380, 2008.

CLOYD, R. Natural indeed: Are natural insecticide safer and better than conventional insecticides?. **Illinois Pesticide Review**, v. 17, n. 03, p. 1-3, 2004.

COMINETTI, C.; BORTOLI, M. C. de.; GARRIDO, A. B. Jr.; COZZOLINO, S. M. Brazilian nut consumption improves selenium status and glutathione peroxidase activity and reduces atherogenic risk in obese women. **Nutrition Research**, v. 32, n. 06, p. 403-407, 2012.

CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento. 2009. Disponível em <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcmsconteudos>. Acesso em: 05 jan. 2015.

CRUZ, B. C.; TEXEIRA, W. F. P.; MACIEL, W. G.; FELIPPELLI, G.; FÁVERO, F. C.; CRUZ, A. C.; BUZZULINI, C.; SOARES, V. E.; GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; OLIVEIRA, G. P. de.; COSTA A. J. da. Effects of fluazuron (2.5 mg/kg) and a combination of fluazuron (3.0 mg/kg) + abamectin (0.5 mg/kg) on the reproductive parameters of a field population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* on experimentally infested cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 97, n. 01, p. 80-84, 2014.

DAHER, D. O. Fatores associados à Resistência do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) no sul de Minas Gerais. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 01, p. 102-115, 2012.

DENHOLM, I.; ROWLAND, M. W. Tactics for managing pesticide resistance in Arthropods: Theory and practice. **Annual Review of Entomology**, v. 37, p. 91-112, 1992.

DERAKHSHAN, S.; SATTARI, M.; BIGDELI, M. Effect of subinhibitory concentrations of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed essential oil and alcoholic extract on the morphology, capsule expression and urease activity of *Klebsiella pneumoniae*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 32, n. 05, p. 432-436, 2008.

DERAKHSHAN, S.; SATTARI, M.; BIGDELI, M. Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) seed essential oil on biofilm formation and plasmid Integrity of *Klebsiella pneumoniae*. **Pharmacognosy. Magazine**, v. 06, n. 21, p. 57-61, 2010.

DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*. Laboratory tests of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, n. 01, p. 130-133, 1973.

EMBRAPA GADO DE LEITE. 2011. 4.10.2.11 - Controle de carrapatos – *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Disponível em:

<<http://www.cnpqgl.embrapa.br/sistemaproducao/410211-controle-de-carrapatos-%E2%80%93-rhipicephalus-boophilus-microplus>>. Acesso em: 22 set. 2016.

ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. "Apiales". Britannica Academic. Encyclopaedia Britannica Inc., 2016. Web. 2015. Disponível em: <<http://academic-eb-britannica.ez66.periodicos.capes.gov.br/EBchecked/topic/29621/Apiales>>. Acesso em: 15 may. 2015.

ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. "Asteraceae". Britannica Academic. Encyclopaedia Britannica Inc. 2016. Disponível em: <<http://academic-eb-britannica.ez66.periodicos.capes.gov.br/EBchecked/topic/39698/Asteraceae>>. Acesso em: 15 may. 2015.

ESTRADA-PEÑA, A.; BOUATTOUR, A.; CAMICAS, J. L.; GUGLIELMONE, A.; HORAK, I.; JONGEJAN, F.; LATIF, A.; PEGRAM, R.; WALKER, A. R. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus *Boophilus* (Acari: Ixodidae) in Africa and Latin America. **Experimental and Applied Acarology**, v. 38, n. 02-03, p. 219-235, 2006.

EVANS, M. J. R. de.; GUGLIELMONE, A. A. A Review of the Ticks (Acari, Ixodida) of Brazil, Their Hosts and Geographic Distribution – 1. The State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 04, p. 453-470, 2000.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants**. Rome: FAO Animal Production and Health Division, 2004. 77 p.
FARIAS, Nara Amelia da Rosa. Situación de la resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* em la región sur de Rio Grande Del Sur, Brazil. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PARASITOLOGIA ANIMAL, 4., 1999, Puerto Vallarta, México. **Anais...** Puerto Vallarta: CONASAGA. 1999. p. 25-30.

FARIAS, N. A.; RUAS, J. L.; SANTOS, T. R. B. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região Sul do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 38, n. 06, p. 1700-1704, 2008.

FERNANDES, F. de F.; FREITAS, E. de. P. S. Acaricidal activity of na oleoresinous extract from *Copaifera reticulata* (Leguminosae: Caesalpinioideae) against larvae of the Southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 147, n. 01-02, p. 150-154, 2007.

FOIL, L. D.; COLEMAN, P.; EISLER, M.; FRAGOSO-SANCHEZ, H.; GARCIA-VAZQUEZ, Z.; GUERREIRO, F. D.; JONSSON, N. N.; LANGSTAFF, I. G.; LI, A. Y.; MACHILA, N.; MILLER, R. J.; MORTON, J.; PRUETT, J. H.; TORR, S. Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tickborne diseases. **Veterinary Parasitology**, v. 125, n. (01-02), p. 163-181, 2004.

FREIRE, J. J. Arseno e cloro resistência e emprego de tiofosfato de dietilparanitrofenila (Parathion) na luta anticarrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). **Boletim da Diretoria de Produção Animal**, v. 9, n. 07, p. 3-31, 1953.

FRISH, J. E. Towards a permanent solution for controlling cattle tick. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 01, p. 57-71, 1999.

FURLONG, John. Controle do carrapato dos bovinos na região Sudeste do Brasil. **Caderno técnicos da Escola de Veterinária** [da] Universidade Federal de Minas Gerais, v.8, p. 49-61, 1993.

FURLONG, J. Poder infestante de larvas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em pastagem de *Melinis minutiflora*, *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria mutica*. **Ciência Rural Santa Maria**, v. 28, n. 04, p. 635-640, 1998.

FURLONG John. **Carrapato: problemas e soluções**. Juiz de Fora, MG: 1ª ed. Embrapa gado de leite, 2005. Disponível em: <file:///D:/Downloads/Livro-Carrapatos-problemas-e-solucoes.pdf>. Acesso em: 28 fev. 2015.

FURLONG, J.; SALES, R. O. Controle estratégico de carrapatos no bovino de leite: uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 02, p. 44-72, 2007.

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

GAGANDEEP, D. S.; MENDIZ, E.; RAO, A. R.; KALE, R. K. Chemopreventive effects of *Cuminum cyminum* in chemically induced forestomach and uterin cervix tumors in murine model systems. **Nutrition and Cancer**, v. 47, n. 02, p. 171-180, 2003.

GAZMIN, Z. C.; DEMARCHI, I. G.; LONARDONI, M. V. C.; AMORIM, A. C. L.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M.; FERREIRA, G. A.; LIMA, E. L. de.; COSMO, F. A. de.; CORTEZ, D. A. G. Acaricidal activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari; Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 129, n. 02, p. 175-178, 2011.

GEORGE, J. E. Present and future technologies for tick control. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 916, p. 583-588, 2000.

GEORGE, John E.; POUND, Mathews.; DAVEY, Ronald B. Acaricides for controlling ticks on cattle and the problem of acaricide resistance. In: BOWMAN, Alan S.; NUTTALL, Pat A. **Ticks: biology, disease and control**. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 2008. p. 415-416.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 02, p. 374-381, 2007.

GOMES, A. Carrapato-de-boi: Prejuízos e controle. **Gado de Corte Divulga. Embrapa**, n. 42, p. 01-04, 2000.

GOMES, A.; KOLLER, W. W.; BARROS, A. T. M. de. Suscetibilidade de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a carrapaticidas em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Ciência Rural Santa María**, v. 41, n. 8, p. 1447-1452, 2011.

GONORAZKY, A. G.; REGENTE, M. C.; CANAL L. de. La. Stress induction and antimicrobial properties of a lipid transfer protein in germinating sunflower seeds. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, n. 6, p. 618-62, 2005.

GONZALES, João Carlos. **O carrapato do boi: vida, Resistencia e controle**. São Paulo: Mestre Jou, 1974. 101 p.

GRABENSTEINER, E.; LIEBHART, D.; ARSHAD, N.; HESS, M. Antiprotozoal activities determined in vitro and in vivo of certain plant extracts against *Histomonas meleagridis*, *Tetratrichomonas gallinarum* and *Blastocystis* sp. **Parasitology Research**, v. 103, n. 06, p. 1257–1264, 2008.

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

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEÓN, A. A. P. de.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reavaliação do potencial Impacto econômico de parasitos de bovinos no Brasil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 02, p. 150-156, 2014.

GUERRERO, F. D.; DAVEY, R. B.; MILLER, R. J. Use of an allele-specific polymerase chain reaction assay to genotype pyrethroid resistant strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 01, p. 44-50, 2001.

GUGLIELMONE, A. A.; ROBBINS, G. R.; APANASKEVICH, A. D.; PETNAY, N. T.; ESTRADA-PÉÑA, A.; HORAK, G. I.; SHAO, R.; BARKER, C. S. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. **Zootaxa**, v. 2528, p. 1-28, 2010.

HADARUGA, N. G.; HADARUGA, D. I.; LUPEA, A. X.; PAUNESCU, V.; TATU, C. Bioactive nanoparticles - 7. Essential oil from Apiaceae and Pinaceae family plants/betacyclodextrin supramolecular system. **Revista De Chimie**, v. 56, p. 876-882, 2005.

HENNESY, D. R. Physiology, pharmacology and parasitology. **International Journal for Parasitology**, v. 27, n. 02, p. 145-152, 1997.

HIGA, L. de O. S.; GARCIA, M. V.; BARROS, J. C.; KOLLER, W. W.; ANDREOTTI, R. Acaricide Resistance Status of the *Rhipicephalus microplus* in Brazil: A Literature Overview. **Medicinal chemistry**, v 5, n. 7, p. 326-333, 2015.

HINTON, H. E. The structure of the spiracles of the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Australian Journal of Zoology**, v.15, p. 941-949, 1967.

HORN, Silvino Carlos. **Prováveis prejuízos causados pelos carrapatos**. 2.ed. Brasília: Ministério da Agricultura Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 1983. 79 p.

IACOBELLIS, N. S.; CANTORE, P.; CAPASSO, F.; SENATORE, F. Antibacterial Activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. **Essential Oils Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 01, p. 57- 61, 2005.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Produção da Pecuária Municipal. v. 43. Rio de Janeiro: IBGE, 2015. 49 p.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, n. 01 p. 3-14, 2004.

JONSSON, N. N.; MATSCHOSS, A. L. Attitudes and practices of Queensland dairy farmers to the control of the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Australian Veterinary Journal**, v. 76, n. 11, p. 746-751, 1998.

JONSSON, N. N.; MAYER, D. G.; Green, P. E. Possible risk factor on Queensland dairy farms for acaricide resistance in cattle tick (*Boophilus microplus*). **Veterinary Parasitology**, v. 88, n. 01-02, p. 79-92, 2000.

JÚNIOR, J. C. B. S.; FURLONG, J.; DAEMON, E. Control of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in dairy farm systems of the physiographic microregion of Grande Rio, Rio de Janeiro, Brazil. **Ciência Rural Santa Maria**, v. 30, n. 02, p. 305-311, 2000.

KASHINO, S. S.; RESENDE, J.; SACCO, A. M. S.; ROCHA, C.; PROENCA, L.; CARVALHO, W. A.; FIRMINO, A. A.; QUEIROZ, R.; BENAVIDES, M.; GERSHWIN, L. J.; SANTOS, I. K. F. M. *Boophilus microplus*: the pattern of Bovine immunoglobulin isotype responses to high and low tick infestations. **Experimental Parasitology**, v. 110, n. 01, p. 12-21, 2005.

KLAFKE, G. M.; SABATINI, G. A.; ALBUQUERQUE, T. A. de.; MARTINS, J. R.; KEMP, D. H.; Miller, R. J.; SCHUMAKER, T. T. S. Larval Immersion Tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from the State of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 142, n. 03-04, p. 386-390, 2006.

KLUCZKOVSKI, A. M.; MARTINS, M.; MUNDIM, S. M.; SIMÕES, R. H.; NASCIMENTO, K. S.; MARINHO, H. A.; KLUCZKOVSKI, A. J. Properties of Brazil nuts: A review. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 08, p. 642-648, 2015.

KUNZ, S. E.; KEMP, D. H. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. **Revue Scientifique Et Technique**, v. 13, n. 04, p. 1249-1286, 1994.

KUSTER, Ricardo Machado.; ROCHA, Leandro Machado. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira.; SCHENKEL, Eloir Paulo.; GOSMANN, Grace.; MELLO, João Carlos Palazzo de.; MENTZ, Lilian Anler.; PETROVICK, Pedro Ros. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS, 2007. p. 537-556.

LARANJA, R J.; MARTINS, João Ricardo de Souza.; CERESERV, H.; CORREA, B L.; FERRAZ, C. Identificação de uma estirpe de *B. microplus* resistente a carrapaticidas Piretróides, no Estado Do Rio Grande do Sul. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia

Veterinária, 4., 1989. Bagé, **Anais..** RS. Bagé, RS: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária (CBPV), 1989. p. 83.

LEAL, L. K. A. M.; FERREIRA, A. A. G.; BEZERRA, G. A.; MATOS, F. J. A.; VIANA, G. S. B. Antinociceptive, anti-inflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containing coumarin: a comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, n. 02, p. 151-150, 2000.

LEBOUVIER, N.; HUE, T.; HNAWIA, E.; LESAFFRE, L.; MENUT, C.; NOUR, M. Acaricidal activity of essential oils from five endemic conifers of New Caledonia on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Parasitology Research**, v. 112, n. 04, p. 1379-1384, 2013.

LEE, H- S. Cuminaldehyde: Aldose Reductase and α -Glucosidase Inhibitor Derived from *Cuminum cyminum* L. Seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 07, p. 2446- 2450, 2005.

LEITE, R. C.; LABRUNA, M. B.; OLIVEIRA, P. R.; MONTEIRO, A. M. F.; CAETANO, J. J. *In vitro* susceptibility of engorged females from different populations of *Boophilus microplus* to commercial acaricides. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinaria**, v. 4, n. 02, p. 283-294, 1995.

LEITE, Regina Maria Villas Boas de Campos; BRIGHENTI, Alexandre Magno dos Santos; CASTRO, Cesar de. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 641 p.

LENTZ, D. L.; POHL, M. D.; ALVARADO, J. L.; TARIGHAT, S.; BYE, R. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) as a pre-Columbian domesticate in Mexico. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 105, n. 17, p. 6232-6237, 2008.

LI, X.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. **Annual Review Entomology**, v. 52, p. 231-253, 2007.

LIM, Tong Kwee. **Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants**. ed.1. v.07. Netherlands: Springer, 2014. 1102 p.

MACHADO, F. A.; PIVOTO, F. L.; FERREIRA, M. S. T.; GREGORIO, F. V.; VOGEL, F. S. F.; SANGIONI, L. A. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the western-central

region of Rio Grande do Sul, Brazil: multiresistant tick. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology Jaboticabal**, v. 23, n. 03, p. 337-342, 2014.

MANDARINO, José Marcos G. **Características Bioquímicas e Nutricionais do óleo e do farelo de Girassol**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1992. 25 p.

MARTIN, R. J.; BUXTON, S. K.; NEVEU, C.; CHARVET, C. L.; ROBERTSON, A. P. Emodepside and SL0-1 potassium channels: a review. **Experimental Parasitology**, v. 132, n. 01, p. 40-46, 2012.

MARTINEZ, Mario Luiz; SILVA, Marcos Vinicius G. B; MACHADO, Marco Antônio; TEODORO, Roberto Luiz; VERNEQUE, Rui da Silva. A Biologia molecular como aliada no combate aos carrapatos. In: SIMPOSIO DA SOCIEDAD BRASILEIRA DE MELHORAMENTO ANIMAL, 5., 2004, Pirassununga, São Paulo. **Anais electronicos...VSBMA**, Pirassununga, São Paulo, 2004. Disponível em: <<http://sbmaonline.org.br/anais/v/palestras/pdfs/palest13.pdf>> Acesso em: 04 set. 2016.

MARTINEZ, M. L.; MACHADO, M. A.; NASCIMENTO, C. S.; SILVA, M. V. G. B.; TEODORO, R. L.; FURLONG, J.; PRATA, M. C. A.; CAMPOS, A. L.; GUIMARÃES, M. F. M.; AZEVEDO, A. L. S.; PIRES, M. F. A.; VERNEQUE, R. S. Association of BoLA-DRB3.2 alleles with tick (*Boophilus microplus*) resistance in cattle. **Genetics and Molecular Research**, v. 5, n. 03, p. 513-524, 2006.

MARTINS, J. R.; FURLONG, J. Avermectin resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. **Veterinary Record**, v. 149, n. 02, p. 64, 2001.

MARTINS, R. M.; GONZÁLEZ, F. H. D. Uso del aceite de citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) (Panicoidideae) como acaricida frente a la garrapata *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 04, p. 1-8, 2007.

MARTINS, M.; PACHECO, A. M.; LUCAS, A. C. S.; ANDRELLO, A. C.; APPOLONI, C. R.; XAVIER, J. J. M. Brazil nuts: determination of natural elements and aflatoxin. **Acta Amazonica**, v. 42, n. 01, p. 157-164, 2012.

MARTINS, T. F.; VENZAL, J. M.; TERASSINI, F. A.; COSTA, F. B.; MARCILI, A.; CAMARGO, L. M. A.; BARROS-BATTESI, D. M.; LABRUNA, M. B. New tick records from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 62, n. 01, p. 121-8, 2014.

MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. **A Hora Veterinária**, v. 135, n. 01, p. 15-23, 2004.

MENDES, M. C.; PEREIRA, J. R.; PRADO, A. P. Sensitivity of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) to pyrethroids and organophosphate in farms in the Vale do Paraíba region, São Paulo, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 02, p. 81-85, 2007.

MENDES, M. C.; LIMA, C. K. P.; PEREIRA, J. R. Práticas de manejo para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) em propriedades localizadas na região de Pindamonhangaba, Vale do Paraíba, São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 03, p. 371-373, 2008.

MENSINK, R. P.; ZOCK, P. L.; KESTER, A. D.; KATAN, M. B. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, n. 05, p. 1146–1155, 2003.

MERLINI, L. S.; YAMAMURA, M. H. A Resistencia do *Boophilus microplus* Canestrini, 1887 aos produtos químicos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**. Unipar, v. 2, n. 01, p. 53-59, 1999.

MENEZES, Elen de Lima Aguiar. **Inseticidas Botânicos: Seus Princípios Ativos, Modo de Ação, Modo de Ação e Uso Agrícola**. Seropédica RJ: Embrapa Agrobiologia, 2005. 54 p.

MICHAELI, D.; MOLAVI, A.; MIRELMAN, D.; HANOCH, A.; WEIN-STEIN, L. Mode of action of coumermycin A: com-parisons with novobiocin. **Antimicrobians Agents Chemotherapy**, v. 10, p. 95–99, 1970.

MilkPoint. 2015. O mapa da produção de leite no RS. Disponível em <<https://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/o-mapa-da-producao-de-leite-no-rs-95122n.aspx>> Acesso em ago. 2016.

MOREIRA, Márcio Dionizio.; PICANÇO, Marcelo Coutinho.; MARTINS, Júlio Cláudio.; CAMPOS, Mateus Ribeiro de.; CHEDIAK, Mateus. Uso de Inseticidas botânicos no controle de pragas In: ZAMBOLIM, Laércio.; LOPES, Carlos Alberto.; PICANÇO, Marcelo Coutinho.; COSTA, Hércio. **Manejo integrado de doenças e pragas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007. p. 577-606.

MORI, S. A.; PRANCE, G. T. Lecythidaceae part II: The zygomorphic flowered New World genera. **Flora Neotropica Monograph**, v. 21, n. 02, p. 1-376, 1990.

Mori SA, Smith NP, Cornejo X & Prance, GT (2006) The Lecythidaceae Pages. Disponível em: <<http://sweetgum.nybg.org/lp/index.php>>. Acessado em: 15 de maio de 2016.

MORI, S. A.; TSOU, C. H.; WU, C. C.; CRONHOLM, B.; ANDERBERG, A. A. Evolution of Lecythidaceae: information from combined ndhF and trnL-F sequence data. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 03, p. 289-301, 2007.

MULLA, M. S.; SU, T. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 15, n. 02, p. 133-152, 1999.

MURRELL, A.; BARKER, S. C. Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, v. 56, n. 03, p. 169-172, 2003.

NOLAN, James. Acaricide resistance in the cattle tick *Boophilus microplus*. In: REPORT OF WORK-SHOP LEADER-FAO/UN consultant, Porto Alegre, RS, Brazil. **Abstract**, 1994. p. 21-25.

NUÑES, Jorge L; MUÑOZ Cobeñas Mario E; MOLTEDO, Horacio Luis. **Boophilus microplus, la garrapata comun del ganado vacuno**. Buenos Aires: Hemisfério Sur, 1982. 184 p.

ODHIAMBO, Thomas R. Current themes in tropical science: physiology of ticks. v.1 Oxford: Pergamon, 1982. 508 p.

OLIVEIRA, Marcelo Fernandes de; VIEIRA, Osvaldo Vasconcellos. **Extração de óleo de girassol utilizando miniprensa**. 1, ed. Londrina, PR; Embrapa, 2004. 27 p.

OLIVO, C. J.; CARVALHO, N. M.; SILVA, J. H. S.; VOGEL, F. F.; MASSARIO, P.; MEINERZ, G.; AGNOLIN, C.; MOREL, A. F.; VIAU, L. V. Citronella oil on the control of cattle ticks. **Ciência Rural Santa Maria**, v. 38, n. 02, p. 406-410, 2008.

PALMER, W. A.; TREVERROW, N. L.; O'NEIL, G. H. Factors affecting the detection of infestations of *Boophilus microplus* in tick control programs. **Australian Veterinary Journal**, v. 52, n. 07, p. 321-324, 1976.

PARK, I. K.; KIM, J. N.; LEE, Y. S.; LEE, S. G.; AHN, Y. J.; SHIN, S. C. Toxicity of plant essential oils and their components against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 101, n. 01, p. 139-144, 2008.

PEREIRA, Marcelo de Campos; LABRUNA, Bahia Marcelo; SZABÓ, Matias Pablo Juan; KLAFKE, Guilherme Marcondes. ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus: Biologia, Controle e Resistência***. 1.ed. São Paulo: MedVet 2008. 169 p.

PEREIRA, A. C. R. L.; OLIVEIRA, J. V. de.; JUNIOR, M. G. C. G.; CÂMARA, C. A. G. da. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 03, p. 717-724, 2008.

RABADIA, A. G.; KAMAT, S. D.; KAMAT, D. V. Antifungal activity of essential oils against fluconazole resistant Fungi. **International Journal of Phytomedicine**, v. 3, n. 04, p. 506-510, 2012.

RAYNAL, J. T.; SOUZA, B. C.; SILVA, A. B.; BAHIANSE, T. C.; SILVA, H. C.; MEYER, R.; PORTELA, R. W. Resistência do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a acaricidas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 110, n. 593-594, p. 23-29, 2015.

RAZAVI, S. M.; NAZEMIYEH, H.; HAJIBOLAND, R.; KUMARASAMY, Y.; DELAZAR, A.; NAHAR, L.; SARKER, S. D. Coumarins from the aerial parts of *Prangos uloptera* (Apiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 01, p. 1-5, 2008.

RECK, J.; KLAFKE, G. M.; WEBSTER, A.; DALL'AGNOL, B.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. **Veterinary Parasitology**, v. 201, n. 01-02, p. 128-136, 2014.

RIBEIRO, C. V. C.; KAPLAN, M. A. C. Tendências evolutivas de famílias produtoras de cumarinas em angiospermae. **Química Nova**, v. 25, n. 04, p. 533-538, 2002.

RIBEIRO, V. L. S.; ROLIM, V.; BORDIGNON, S.; HENRIQUES, A. T.; DORNELES, G. G.; LIMBERGER, R. P. VON POSER, G. Chemical composition and larvicidal properties of the essential oils from *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasitology Research**, v. 102, n. 03, p. 531-535, 2008.

RIBEIRO, V. L. S.; AVANCINI, C.; GONÇALVES, K.; TOIGO, E.; POSER, G. V. Acaricidal activity of *Calea serrata* (Asteraceae) on *Boophilus microplus* and *Rhipicephalus sanguineus*. **Veterinary Parasitology**, v. 151, n. 02-04, p. 351-354.

RIBERO, V. L. S.; SANTOS, J. C. dos.; BORDIGNON, S. A. L.; APEL, M. A.; HENRIQUES, A. T.; VON POSER, G. Acaricidal properties of the essential oil from *Hesperozygis ringens* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Biosource Technology**, v. 101, n. 07, p. 2506-2509, 2010.

RIDDLES, P. W.; NOLAN, J. Prospects for the management of arthropod resistance to pesticides. **International Journal for Parasitology**, v. 17, n. 02, p. 679-687, 1987.

ROBERTS, Margaret J. **Edible and Medicinal flowers**. 1.ed. Claremont: New Africa Publishers, 2000. 160 p.

ROCHA, Christiane Maria Barcellos Magalhães da. **Caracterização da percepção dos produtores de leite do município de Divinópolis/MG sobre a importância do carrapato *Boophilus microplus* e fatores determinantes das formas de combate utilizadas**. 1996. 205 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1995.

ROCHA, Christiane M.B.M. **Aspectos relevantes da biologia do *Boophilus microplus* (Cannestrini, 1887)**. Lavras: Universidade Federal de Lavras (UFLA), 2003. 5-24 p.

ROCHA, C. M. B. M. da.; OLIVEIRA, P. R. de.; LEITE, R. C.; Cardoso, D. L.; CALIC, S. B.; FURLONG, J. Percepção dos produtores de leite do município de Passos, MG, sobre o carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae), 2001. **Ciência Rural Santa Maria**, v. 36, n. 4, p. 1235-1242, 2006.

ROCHA, C. M. B. M.; BRUHN, F. R. P.; LEITE, R. C.; GUIMARÃES.; A. M.; SAMPAIO, I. B.; OLIVEIRA, P. R. Principal component analysis on the perceptions of milk producers about *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* control in Minas Gerais. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária Jaboticabal**, v. 21, n. 03, p. 224-231, 2012.

ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v. 01, n. 02, p. 43-50, 2001.

RYAN, E.; GALVIN, K.; O'CONNOR, T. P.; MAGUIRE, A. R.; O'BRIEN, N. M. Fatty acid profile, tocoferol, squalene and phytosterol content of Brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. **Int. Journal of Food Science and Nutrition Impact**, v. 57, n. 03-04, p. 219-228, 2006.

SABATINI, G. A.; KEMP, D. H.; HUGHES, S.; NARI, A.; HANSEN, J. Tests to determine LC50 and discriminating doses for macrocyclic lactones against the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 95, n. 01, p. 53-62, 2001.

SANTOS, T. R. B.; FARIAS, N. A. R.; CUNHA, F. N. A.; PAPPEN, F. G.; VAZ, J. I. S. Abordagem sobre o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 65-70, 2009.

SANTOS, F. C. C.; VOGEL, S. F. Amitraz and cypermethrin resistance ticks *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in cattle herds located in Rio Grande do Sul from 2005 to 2011. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 107, n. 581-582, p. 121-124, 2012.

SANTOS, O. V.; CORRÊA, N. C. F.; SOARES, F. A. S. M.; GIOIELLI, L. A.; COSTA, C. E. F.; LANNES, S. C. S. Chemical evaluation and thermal behavior of Brazil nut oil obtained by different extraction processes. **Food Research International**, v. 47, n. 02, p. 253-258, 2012.

SANTOS, T. R. B.; KLAFKE, G. M.; PAPPEN, F. G.; NIZOLI, L. Q.; BIEGELMEYER, P.; FARIAS, N. A. R. Comparison of three larval bioassays to evaluate susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to amitraz. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 04, p. 495-501, 2013.

SANTOS, L. B.; SOUZA, J. K.; PAPASSONI, B.; BORGES, D. G. L.; JUNIOR, G. A. D.; SOUZA, J. M. E.; CAROLLO, C. A.; BORGES, F. de. A. Efficacy of extracts from plants of the Brazilian Pantanal against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária Jaboticabal**, v. 22, n. 04, p. 532-538, 2013.

SANTOS, T. R. B.; CASTRO, N. A.; BRETANHA, L. C.; SCHUCH, L. F. D.; FREITAG, R. A.; NIZOLI, L. Q. *In Vitro* study of the effectiveness of Citronella (*Cymbopogon wynterianus*) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Science and Animal Health**, v. 3, n. 01, p. 135-149, 2015.

SATYANARAYANA, S.; SUSHRUTA, K.; SARMA, G. S.; SRINIVAS, N.; SUBBIA RAJU, G. V. Antioxidant activity of the Aqueous Extracts of Spicy Food Additives-

Evaluation and Comparison with Ascorbic Acid in In Vitro Systems. **Journal of Herbal Pharmacotherapy**, v. 4, n. 2, p. 1-10, 2004.

SEIFERT, G. W.; SPRINGELL, P. H.; TATCHELL, R. J. Radioactive studies on the feeding of larvae, nymphs and adults of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). **Parasitology**, v. 58, n. 2, p. 415-430, 1968.

SHAW, R. D. Culture of an organophosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. **Bulletin of Entomological Research**, v. 56, n. 3, p. 389-405, 1966.

SILVA, P. R. F. da.; FREITAS, T. F. S. de. Biodiesel: o ônus e bônus de produzir combustível. **Ciência Rural Santa Maria**, v. 38, n. 3, p. 843-851, 2008.

SILVA, W. C.; MARTINS, J. R. de. S.; SOUZA, H. E. M. de.; HEINZEN, H.; CESIO, M. V.; MATO, M.; ALBRECHT, F.; AZEVEDO, J. L. de.; BARROS, N. M. de. Toxicity of *Piper aduncum* L. (Piperales: piperaceae) from the Amazon forest for the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 164, n. 02-04, p. 267-274, 2009.

SILVA, Juremir Machado da. **História regional da infância**. Porto Alegre: L&PM, 2010. 344 p.

SILVA, R. F.; ASCHERI, J. L. A.; SOUZA, J. M. L. Influence of Brazil nut processing on the quality of nuts. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 02, p. 445-450, 2010.

SILVA, T. P. P.; MOREIRA, J. C.; PERES, F. Are tick medications pesticides? Implications for health and risk perception for workers in the dairy cattle sector. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 02, p. 311-325, 2012.

SILVA, J. B da.; BARBOSA, J. D.; FONSECA, A. H. Fatores de risco relacionados à resistência a *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e ganho de peso de bezerras. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 04, p. 2671-2678, 2015.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira.; SPITZER, Volker. Óleos voláteis. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira.; SCHENKEL, Eloir Paulo.; GOSMANN, Grace.; MELLO, João Carlos Palazzo de.; MENTZ, Lilian Anler.; PETROVICK, Pedro Ros. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS, 2007. p. 467-496.

SINGH, N. K.; RATH, S. S. Epidemiology of ixodid ticks in cattle population of various agro-climatic zones of Punjab, India. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 6, n. 12, p. 947-951, 2013.

Smiderle, Oscar José. O girassol como alternativa de combustível. Página Rural. 2000. Disponível em: <<http://www.paginarural.com.br/artigo/718/o-girassol-como-alternativa-de-combustivel>>. Acesso em: 24 de Jan 2015.

Smith, N. P.; Mori, S. A.; Prance, G.T. 2015 Lecythidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB145>> Acesso em: 4 de dez 2015.

SMITH, P. N.; MORI, S. A.; WAYNE, L.; RIBEIRO, M. Conservation assessment of Lecythidaceae from eastern Brazil. **Kew Bulletin**, v. 71, n. 14, p. 3-19, 2016.

SOUSA, Caroline Iolanda Corsino do Carmo. **Avaliação da Atividade Antimalárica de Bioprodutos da *Bertholletia excelsa* H.B.K.** 2013. 88 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) - Núcleo de Ciências e Tecnologia, Fundação Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2013.

SOUZA, Antônio Pereira de. **Susceptibilidade dos instares parasitários do *Boophilus microplus* (Can.1887) ao Ethion, amitraz e Arsenito de sódio.** 1979. 34 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1979.

SOUZA, A. M.; CARNEIRO, A. V. Economic viability of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) strategic control program adopted in dairy cattle. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 389, n. 67, p. 67-68, 2012.

SOUZA, A. P.; PAIM, F.; BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; MOURA, A. B.; ROSA, L. D.; MIQUELLUTI, D. J. Avaliação da eficácia do fipronil em *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em tratamentos consecutivos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 01, p. 55-60, 2014.

SOWBHAGYA, H. B. Chemistry, technology and nutraceutical functions of cum (*Cuminum cyminum* L): an overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 1, p. 1-10, 2013.

STONE, B. F.; HAYDOC, K. P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). **Bulletin of Entomological Research**, v. 53, n. 03, p. 563-578, 1962.

STRONG, L. Overview: the impact of avermectins on pastureland ecology. **Veterinary Parasitology**, v. 48, n. 01, p. 3-17, 1993.

SUTHERST, R. W.; NORTON, G. A.; BARLOW, N. D.; CONWAY, G. R.; BIRLEY, M.; COMINS, H. N. An analysis of management strategies for cattle tick (*Boophilus microplus*) control in Australia. **Journal of Applied Ecology**, v. 16, n. 02, p. 359-382, 1979.

TABASSUM, N.; VIDYASAGAR, G. M. *In vitro* antimicrobial activity of edible oils against human pathogens causing skin infections. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 10, p. 4493-4498, 2014.

THORNES, R. D.; DALY, L.; LYNCH, G.; BRESLIN, B.; BROWNE, H.; BROWNE, H.Y.; CORRIGAN, T.; DALY, P.; EDWARDS G., GAFFNEY, E. Treatment with coumarin to prevent or delay recurrence of malignant melanoma. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v.120, n. S, p. 32-34, 1994.

UENO, T. E. H.; MENDES, E. E. B.; POMARO, S. H. K.; LIMA, C. K. P.; GUILLOUX, A. G. A.; MENDES, M. C. Sensivity profile of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks of dairy cattle to acaricides in small farms in the northwestern São Paulo state, **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, n. 2, p. 177-183, 2012.

UTECH, K. B. W.; WHARTON, R. H.; KERR, D. J. Resistance to *B. microplus* (Canestrini) in different breeds of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 29, n. 04, p. 885-895, 1978.

VELAZQUEZ, M. M.; CASTILLO, G. A. H.; RODRIGO, R. C.; FERNANDEZ, J. M. F.; RAMIREZ, J. L.; GUTIERREZ, R. H.; CERVANTES, E. C. L. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 108, n. 02, p. 481–487, 2011.

VENKATACHALAM, M.; SATHE, S. K. Chemical Composition of Selected Edible Nut Seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 13, p. 4705-14, 2006.

VERISSIMO, Cecilia Jose. **Controle do Carrapato dos Bovinos**. Jaboticabal: Funep, 1993. 26 p.

VERÍSSIMO, C. J.; NICOLAU, C. V. J.; CARDOSO, V. L.; PINHEIRO, M. G. Haircoat characteristics and tick infestation on Gyr (Zebu) and crossbreed (Holstein x Gyr) cattle. **Revista Archivos de Zootecnia**, v. 51, n. 195, p. 389-392, 2002.

VIEIRA, Paulo Cesar; FERNANDES, João Batista; ANDREI, Cesar Cornélio. Plantas inseticidas. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira.; Spitzer, V.. Óleos voláteis. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira.; SCHENKEL, Eloir Paulo.; GOSMANN Grace.; MELLO, João Carlos Palazzo de.; MENTZ, Lilian Anler.; PETROVICK, Pedro Ros. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS. 2007. p. 903-918.

VIVAS, R. I. R.; DÍAZ, M. A. A.; AREVALO, F. R.; SANCHEZ, H. F.; SANTAMARIA, V. M.; CRUZ, R. R. Prevalence and potential risk factors for organophosphate and pyrethroid resistance in *Boophilus microplus* ticks on cattle ranches from the State of Yucatan, México. **Veterinary Parasitology**, v. 136, n. 03-04, p. 335-342, 2006.

WARTHON, R Harry.; ROULSTON, William J. Acaricide resistance in *Boophilus microplus* in Australia. In: WORKSHOP HEMOPARASITES (Anaplasmosis and Babesiosis), 2., 1977, A Cali. Colombia. **Anais** Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1975. p. 73-92.

WHARTON, R. H.; UTECH, K. B. W.; TURNER, H. G. Resistance to the cattle tick, *Boophilus microplus*, in a herd of Australian Illawarra Shorthorn cattle: its assessment and heritability Resistance to the cattle tick, *Boophilus microplus*, in a herd of Australian Illawarra Shorthorn cattle: its assessment and heritability. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 21, n. 01, p. 163-181, 1970.

WICKENS, Gerald E. **Edible nuts**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.1995. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-v8929e.pdf> > Acesso em: 28 ago. 2015.

YEOM, H- J.; KANG, J. S.; KIM, G- H.; PARK, II- K. Insecticidal and Acetylcholine Esterase Inhibition Activity of Apiaceae Plant Essential Oils and Their Constituents against Adults of German Cockroach (*Blattella germanica*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 29, p. 7194–7203, 2012.

ANEXOS

ANEXO A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do artigo 1

Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa que faz parte de um projeto de doutorado desenvolvido no Programa de Pós-graduação em Parasitologia no Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), cujo título é **“Estudo epidemiológico do controle do carrapato em gado leiteiro na região sul do Rio Grande do Sul”**.

O objetivo desta pesquisa é conhecer a situação e percepção do controle do carrapato do boi no gado leiteiro da região sul do Rio Grande do Sul mediante a realização de um levantamento de dados sobre as possíveis exposições de populações resistentes de carrapato no gado leiteiro da região sul do Rio Grande do Sul. A partir destes dados, serão propostas ações que visam contribuir para o controle e prevenção do carrapato do boi.

Terá a segurança de não ser identificado (a), e que serão mantidos todos os preceitos éticos e legais após o término da pesquisa.

Na certeza de contar com vosso apoio, desde já agradeço colocando-me ao dispor para outros esclarecimentos, se necessário.

Considerando as informações acima, confirmo ter informado (a) por escrito e verbalmente dos objetivos desta pesquisa.

Desta forma, eu _____ ,
responsável pela propriedade leiteira _____ ,
concordo na utilização dos dados conferidos para a realização desta pesquisa.

Atenciosamente,

Médico Veterinário José Pablo Villarreal Villarreal - Laboratório de Micologia e
parasitologia do Instituto de Biologia

Telefone: (53)30290711 e-mail: pablov_v@hotmail.com

Responsável pela pesquisa