UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Atividade carrapaticida de *Ocimum campechianum* Mill. sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no Sul da Bahia-Brasil

Luciana Silva Teixeira Oliveira
(Mestranda do PPGCA/UESC)

Prof. Dr. George Rego Albuquerque
(Orientador)

Profª. Drª Simone Andrade Gualberto
(Co-orientadora)

Ilhéus-BA – 2013.

LUCIANA SILVA TEIXEIRA OLIVEIRA

Atividade carrapaticida de *Ocimum campechianum* Mill. sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus no* Sul da Bahia-Brasil

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

Área de concentração: Ciência Animal

Orientador: Prof. George Rego Albuquerque

ILHÉUS-BAHIA

2013

O48 Oliveira, Luciana Silva Teixeira

Atividade carrapaticida de Ocimum campechianum Mill. sobre teleóginas de Rhipicephalus (Boophilus) microplus no Sul da Bahia - Brasil / Luciana Silva Teixeira Oliveira. – Ilhéus, BA: UESC, 2013.

68 f.: il.

Orientador: George Rego Albuquerque.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

Inclui referências.

1. Carrapato – Controle – Bahia. 2. Bovino – Parasito. 3. Matéria médica vegetal. 4. Essências e óleos essenciais. I. Título.

CDD 595.429

LUCIANA SILVA TEIXEIRA OLIVEIRA

Atividade carrapaticida de *Ocimum campechianum* Mill. sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus no* Sul da Bahia-Brasil.

Ilhéus- BA, 24/05/2013

_____

George Rêgo Albuquerque - DSc
UESC/DCAA
(Orientador)

_____

Marcel Teixeira - DSc
EMBRAPA - Caprinos e Ovinos

_____

Rosilene Aparecida de Oliveira - DSc
UESC

ILHÉUS-BAHIA

2013

À minha filha Luiza pela a alegria que tem proporcionado a minha vida, e pela a compreensão durante esse período. Ao meu esposo Josué pelo incentivo. Aos meus pais, Adão (*In memoriam*) e Luzia, por me darem amor, carinho, amizade e lição de vida. As irmãs Eleide, Eluzilândia, Erinéa e Erineide. por me darem ajuda, amizade e compreensão, dedico.

Agradecimento

A Deus, que em todos os momentos foi companhia constante em minha vida.

Ao meu orientador, prof. George Alburquequer, pela paciência, ajuda, compreensão e por ter aceitado o desafio de orientar-me.

A minha co-orientador Simone Gualberto, pela receptividade, amizade e colaboração na realização do experimento. E ainda, por acrescentar a esta pesquisa valiosas informações.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq /Ministério da Ciência e Tecnologia do Brasil, pelo apoio financeiro;.

Ao curso de Pós-Graduação em Ciência Animal por colocar a disposição todas as condições para a realização desta pesquisa;

À CEPLAC - Ilhéus que forneceram os carrapatos para a realização da pesquisa, principalmente ao Valdemir.

Aos professores e colegas do curso de Ciência Animal.

À Banca Examinadora, professores Marcel Teixeira e Rosilene Aparecida de Oliveira.

Aos professores Marcondes Viana e Simone A Gualberto por terem disponibilizado as instalações do NECAL e LAPRON, respectivamente.

Aos colegas do LAPRON, que dividimos espaço, equipamentos e experiências. Em especial à Matheus, Daiana, Everton e Rândilla que me auxiliaram nos momentos difíceis, que pacientemente me ensinaram metodologias e cooperaram para que os resultados fossem obtidos.

Aos colegas do Laboratório de Virologia, em especial a Daniele, que gentilmente passava a rotina do laboratório, à Emilly e Luana.

À Paulo e Saionara por terem me acolhido em sua residência todas as vezes que precisei ir para Itapetinga.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste projeto. Agradeço!

Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.

Chico Xavier

Atividade carrapaticida de *Ocimum campechianum* Mill. sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus no* Sul da Bahia-Brasil

RESUMO

O carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* é um parasito hematófago e responsável por grandes prejuízos na bovinocultura, especialmente a leiteira. O seu controle é feito principalmente com uso de produtos químicos. No entanto, esses produtos e seus resíduos podem trazer sérios problemas à saúde do homem, dos animais e do ambiente. Objetivou-se com este estudo avaliar a atividade carrapaticida *in vitro* do óleo essencial, extrato aquoso e hidroalcoólico das folhas do *Ocimum campechianum*, sobre teleóginas de *R. (B.) microplus*. As fêmeas ingurgitadas do carrapato foram coletadas na Fazenda da CEPLAC, localizadas em Ilhéus – BA. As teleóginas foram imersas durante cinco minutos em soluções aquosas e hidroalcoólica nas concentrações 5, 10, 20, 40 e 80 mg/mL e no óleo essencial nas concentrações de 2, 4, 8, 16 e 32 mg/mL. Para realização do experimento foi utilizado o teste de imersão *in vitro* em fêmeas ingurgitadas analisando os seguintes parâmetros: índice reprodutivo (IR), a eficácia do produto (EP) e avaliação da mortalidade das teleóginas nas primeiras 72 horas do experimento. No extrato hidroalcoólico houve mortalidade de 20% das teleóginas nos primeiros 3 dias na concentração de 80 mg/mL. Nos demais extratos a mortalidade máxima foi de 10%. A eficácia média do extrato aquoso variou de 6,65% a 13,78%, do extrato hidroalcoólico foi de 2,81% a 32,12% e do óleo essencial do cravo de 26,26% a 59,97%, dependendo da concentração utilizada. O óleo essencial foi o tratamento que apresentou a melhor eficácia no teste, inclusive melhor que os carrapaticidas químicos utilizados como controles.

Palavras-chave: Carrapato, Parasito, Alfavaca, Extratos vegetais, Fitoterapia

ABSTRACT

The *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick is a hematophagous parasite responsible for great economic losses in cattle, especially dairy. Chemicals are used in order to control it; however, these products and their waste can cause serious health problems to humans, animals and the environment. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* tick control activity of the essential oil, aqueous and hydroalcoholic extract of leaves of *Ocimum campechianum* on engorged females of *R. (B) microplus*. The engorged female ticks were collected in the CEPLAC Farm, located in Ilheus - Ba. They were immersed for five minutes in aqueous and hydroalcoholic solutions at concentrations of 5, 10, 20, 40 and 80 mg / mL and the essential oil at concentrations of 2, 4, 8, 16 and 32 mg / mL for the extracts. For the experiment we used the immersion test *in vitro* engorged analyzing the following parameters: reproductive index (RI), the effectiveness of the product (EP) and assessment of mortality of ticks within 72 hours of the experiment. In the hydroalcoholic extract there was 20% of mortality of ticks during the first 3 days at the concentration of 80 mg/ml. In other extracts the maximum mortality was 10%. The average efficacy of the aqueous extract ranged from 6.65% to 13.78%, of the hydroalcoholic extract was 2.81% to 32.12% and the essential oil of clove was 26.26% to 59.97%, depending on the concentration used. The essential oil was the treatment that showed the highest efficacy in the test, even better than the acaricide chemicals used as controls.

Keywords: Tick, Parasite, Basil, Herbal extracts, Herbal Medicine

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Macho e Fêmea de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* 16

Figura 2. Larva de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* 18

Figura 3. Larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* na pastagem 18

Figura 4. *Ocimum campecchianum Mill* 31

Figura 5. Delineamento Experimental 43

Figura 6. Placas cromatográficas contendo óleo essencial de *O. campechianum* reveladas com: I)Cloreto Ferrico II Vanilina. Eluente: Hexano/Acetato de Etila (9:1). 53

Figura 7. Gráfico da cromatografia do óleo essencial de *O. Campechianum Mill*. 55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies vegetais usadas no controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* 26

Tabela 2. Rendimento dos extratos obtidos de Ocimum campechianum Mill. 46

Tabela 3. Resultados da prospecção fitoquímica dos extratos de Ocimum campechianum Mill. 48

Tabela 4. Médias obtidas para a mortalidade dos extratos aquosos, hidroalcóolico e óleo essencial da alfavaca *Ocimum campechianum* nas diferentes concentrações sobre teleóginas de *Riphicephalus (Boophilus) microplus*. 50

Tabela 5. Eficácia do extrato aquoso, hidroalcóolico e óleo essencial da alfavaca (*Ocimum campechianum* Mill.) em diferentes concentrações sobre teleóginas de Rhipicephalus (Boophilus) microplus pela técnica do Biocarrapaticidograma 52

Tabela 6. Composição química do óleo de *Ocimum campechianum* Mill. 55

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 15

2.1. O parasita e distribuição 15

2.2. Características do *Rhipicephalus* (*Boophilus) microplus* 15

2.2.1. Ciclo de vida do carrapato 16

2.2.2. Importância econômica 18

2.2.3. Controle do carrapato 20

2.3. Utilização de plantas medicinais 23

2.3.1. Utilização de fitoterápicos como carrapaticidas 24

2.4. Química de produtos naturais 27

2.5. Óleos Essenciais 27

2.6. *Ocimum campechianum* Mill (ALFAVACA) 30

2.6.1. Classificação da Planta 30

3. MATERIAL E MÉTODOS 35

3.1. Origem e preparo do material vegetal 35

3.2. Extração do óleo essencial de *Ocimum campechianum* Mill 35

3.3. Obtenção do extrato aquoso do O*cimum campechianum* Mill 36

3.4. Obtenção do extrato hidroalcoólico do O*cimum campechianum* Mill 36

3.5. Perfil cromatográfico do óleo essencial 36

3.6. Teste qualitativo da atividade antioxidante 37

3.7. Prospecção fitoquímica dos extratos 37

3.7.1.1. Teste para fenóis e taninos 37

3.7.1.2. Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides 38

3.7.1.3. Teste para leucoantrocianidinas, catequinas e flavanonas 38

3.7.1.4. Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas 38

3.7.1.5. Teste para esteroides e triterpenóides (Lieberman – Buchard) 38

3.7.1.6. Teste para saponinas 39

3.7.1.7. Testes para ácidos fixos fortes 39

3.7.1.8. Teste para resina 40
3.7.1.9. Teste para alcaloides 40
3.8. Cromatografia gasosa 41
3.9. Ensaios carrapaticidas 41
3.9.1. Preparação do teste de imersão 42
3.9.2. Biocarrapaticidograma 43
3.10. Análise estatística 45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 46
4.1. Rendimentos dos extratos aquosos, hidroalcóolico e óleo essencial do *O. campechianum* Mill. 46
4.2. Prospecção fitoquímica dos extratos 46
4.3 – Biocarrapaticidograma 48
5. CONCLUSÃO 56
6. REFERENCIAS 57

1. INTRODUÇÃO

Rhipicephalus (Boophilus) microplus é um carrapato monoxeno com grande importância para a pecuária brasileira, pois acarreta importantes prejuízos econômicos aos bovinocultores, especialmente de leite, em função da redução no ganho de peso, diminuição da produção leiteira, mortalidade, problemas relacionados ao couro e gastos elevados para o controle dos animais. Além disso, este ectoparasita também transmite outros agentes patogênicos como protozoários dos gêneros *Babesia* e *Anaplasma.*

A estratégia de controle mais comum atualmente, é o uso de produtos carrapaticidas sintéticos, no entanto, devido ao uso frequente e errôneo tem-se observado um aumento na resistência destes parasitas a estes produtos. Tentativas de se usar produtos bioativos como carrapaticida muitas vezes não têm dado bons resultados, devido à resistência a diversos constituintes químicos havendo uma redução na eficiência desses produtos. Além disso, esse método de controle é dispendioso e pode deixar resíduos tóxicos no leite e na carne, causando danos ao meio ambiente, ao animal e possivelmente a saúde humana.

Com o desenvolvimento da resistência às drogas carrapaticidas surgiu a necessidade de buscar métodos de controle alternativos, que sejam eficientes no tratamento dos animais, como também seguros para o meio ambiente e o homem. Um das alternativas é o uso da fitoterapia que utiliza produtos vegetais no tratamento de enfermidades ou pragas com o objetivo de recuperação da saúde. Usada de forma correta traz muitos benefícios para a saúde do animal, não provoca contaminação do meio ambiente e evita o acumulo de resíduos. As plantas medicinais são utilizadas pelos seres humanos desde o inicio das civilizações. O homem aprendeu a utiliza-las e respeitar as suas propriedades curativas, sendo empregadas por comunidades para o tratamento das enfermidades humanas e animais.

As plantas podem produzir uma variedade de metabólitos secundários, como terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados, que desempenham diferentes

funções nos vegetais, entre elas sua proteção contra herbívoros. O conhecimento da composição química e das atividades biológicas de espécies vegetais, considerando a sua biodiversidade, torna-se necessário para conhecermos seu perfil químico e potencial farmacológico.

Os produtos naturais vêm sendo utilizados de forma experimental no controle de carrapatos e pesquisas vêm demonstrando resultados interessantes para o controle desse parasita, a exemplo das espécies *Melia azedarach, Eucalyptus citriodora, Syzygium aromaticum, Simarouba versicolor,* entre outras*.* A utilização de espécies vegetais é uma alternativa útil, haja vista que os produtos naturais se degradam rapidamente no ambiente e o desenvolvimento de resistência pelos organismos é mais lento com relação aos produtos sintéticos.

Entretanto, apenas a substituição de produtos sintéticos pelos naturais não soluciona o problema. Outras técnicas, aliadas à utilização de extratos vegetais, para o controle desses parasitas podem contribuir bastante, como um bom manejo de pastagem, uso de raças resistentes, alternância com agricultura, entre outros.

Objetivou-se com este estudo avaliar a atividade de carrapaticida *in vitro* do óleo essencial e extrato aquoso e hidroalcóolico obtidos das folhas do *Ocimum campechianum* Mill, sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O parasita e Distribuição

Rhipicephalus (*Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887), conhecido no Brasil como carrapato do boi, é um ectoparasita e tem como classificação: filo Artropoda, classe Aracnida, subordem Ixodida, família Ixodidae (PEREIRA, 2008).

Rhipicephalus (Boophilus) microplus encontra-se amplamente distribuída nos rebanhos bovinos das Américas Central e do Sul, da África, Ásia e Oceania, adaptando-se perfeitamente ao clima das áreas tropicais, onde o calor e a umidade propiciam condições favoráveis à sobrevivência e manutenção da espécie (CARVALHO, 2006).

2.2. Características do *Rhipicephalus* (*Boophilus) microplus*

Segundo Seixas (2008), os carrapatos aumentam diversas vezes de tamanho. Quando larva medem aproximadamente 1 mm, desenvolvem-se até seu estágio adulto e, quando fêmea ingurgitada, chegam a medir até 1,2 cm. Nos adultos é bem evidente a diferença entre os sexos, pois o macho é bem menor que a fêmea, medindo cerca de 2 mm.

Além dessa característica pode-se observar que entre machos e fêmeas existem outras diferenças: no macho o escudo tem coloração que varia entre o castanho bem claro até castanho-avermelhada, que cobre quase todo o idiossoma. A abertura genital apresenta-se localizada no nível da coxa I. Já a fêmea apresenta seu escudo de tamanho variável, e a coloração vai desde castanho bem claro a castanho-escuro. A abertura genital da fêmea fica localizada ao nível da coxa II (PEREIRA e LABRUNA, 2008a).

Figura 01- Macho e Fêmea de Rhipicephalus (Boophilus) microplus.
www.nhc.ed.ac.uk

2.2.1. Ciclo de vida do carrapato

Rhipicephalus (*Boophilus) microplus* é um parasita hematófago, com ciclo monoxeno, cujo principal hospedeiro é o bovino (MARQUES, 2003). Conforme Pereira (2008a), seu ciclo de vida caracteriza-se por duas fases distintas e complementares: vida livre e parasitária.

A fase de vida livre começa quando a fêmea ingurgitada (teleógina) se desprende do bovino, cai ao solo e procura um local protegido do sol para ovipôr de 2.000 a 3.000 ovos. O período de postura se inicia de dois a três dias após o desprendimento da teleógina, sendo normalmente finalizado em 14 dias (MARQUES, 2003). Em condições ambientais desfavoráveis, temperaturas menores que 5°C e umidade relativa do ar abaixo de 70%, esse período de postura pode ser maior, bem como a eclosão dos ovos (VIVAN, 2005). Essas condições desfavoráveis, também podem prolongar o período de formação da larva no interior do ovo (HEIMERDINGER, 2005) e a sua eclosão pode chegar a 28 dias ou mais (MARQUES, 2003). Ao eclodir do ovo emerge uma larva hexapoda, incolor, que, após ser brevemente exposta ao ar, muda a coloração da sua quitina para marrom-avermelhada (Figura 2). Essas larvas permanecem agrupadas e quiescentes, tornando-se posteriormente ativas e ficando agrupadas na haste ou ponta do capim a espera do bovino (PEREIRA e LABRUNA, 2008) fenômeno conhecido por geotropismo negativo (tendência de se afastar da terra) (HEIMERDINGER, 2005).

A localização do hospedeiro ocorre através do odor, das vibrações, sombreamento, gradiente de concentração de CO_2 e, também pelo estímulo visual (NEVES, 2011). A fase parasitária tem início com a fixação das larvas no corpo do animal, preferencialmente em áreas onde o animal não possa lamber (MARQUES, 2003), tais como: virilha, úbere, períneo, base da cauda, entre pernas, interior da orelha e atrás do pavilhão auricular, escroto, prepúcio, região inguinal e axilas (PARDINI, 2008). Buscam essas regiões devido à temperatura e à espessura da pele (PEREIRA, 2008a). Em condições normais a larva fixa o hipostômio na pele do animal, iniciando a sua primeira refeição. Em seguida, inicia-se a primeira muda, transformando-se em metalarvas (PIRES, 2006), com duração desta fase de três a cinco dias. Posteriormente, passam para a fase de ninfas, na qual se alimentam de sangue (PEREIRA, 2008a), permanecendo nessa fase entre o sexto e décimo dias (HEIMERDINGER, 2005), recomeçando o processo de metamorfose (PIRES, 2006), dando origem aos indivíduos sexuados machos jovens (neandros) ou fêmeas jovens (neógenas) (HEIMERDINGER, 2005). Nessa fase alimentam-se de sangue, originando de dois a três dias o gonandro (macho adulto) (PIRES, 2006). As neógenas também se alimentam de sangue e originam a partenógina (fêmea semi-ingurgitada), que serão fecundadas e continuarão alimentando-se de sangue dando origem as teleóginas (HEIMERDINGER, 2005). Nas últimas 12 horas, como teleóginas, as fêmeas têm o seu tamanho aumentado de 3 a 4 vezes (PIRES, 2006), e caem no solo, para a nova postura e contaminação das pastagens (MARQUES, 2003).

Figura 02- Larva de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* .
Foto (Albuquerque, 2008).

Figura 03. Larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* na pastagem.
Fotos Romário C Leite

2.2.2. Importância econômica

O Brasil possui o segundo maior rebanho de bovinos do mundo, ficando atrás somente da Índia, que possui 316 milhões. Possui o maior rebanho comercial

do mundo com 209,5 milhões de cabeças, e um acréscimo de 1,6% em comparação com o ano anterior (IBGE, 2011). No Brasil, a cadeia produtiva do leite Te da carne, tem um valor bruto estimado em R$ 67 bilhões (MAPA, 2012), evidenciando dessa forma a importância social e econômica da bovinocultura em nosso país. A produção de leite bovino chegou a 32 bilhões de litros em 2011, um acréscimo de 4,5% em relação a 2010 (IBGE, 2011).

No entanto, o Brasil enfrenta problemas para o controle do carrapato *R. (B.) microplus,* um dos principais entraves da bovinocultura leiteira. De acordo com Marques (2003), o problema mais evidente, resultante do parasitismo do carrapato, é seu efeito direto sobre os bovinos, com a queda da produtividade do rebanho. Segundo o mesmo autor, destaca-se a redução da natalidade, aumento da mortalidade, perda de peso, perda da qualidade do couro e diminuição da produtividade nos animais infestados por carrapatos.

Mendes et al. (2008), relatam que não ocorre somente a espoliação sanguínea, mas também, a transmissão de patógenos, danos no couro e irritação causada nos animais. Porém, o que mais preocupa atualmente é a rapidez no aparecimento da resistência desenvolvida pelos carrapatos aos produtos utilizados para seu controle.

Dentre as enfermidades que o carrapato pode transmitir para o bovino, a principal é a “tristeza parasitária bovina”, que é causada por protozoários do gênero *Babesia* e pela bactéria do gênero *Anaplasma*. A babesiose é uma doença hemoparasitária, causada por *B. bigemina e B. bovis.* O aspecto mais dramático da enfermidade é a mortalidade, porém, com outras consequências, como abortos, febre e anemia hemolítica. Anaplasmose é uma rickettsiose e os seus sintomas consistem em anemia acentuada, febre, icterícia, desidratação, abortos e altos índices de mortalidade, principalmente em bovinos adultos ao se infectarem pela primeira vez (MARTINS, 2002).

Segundo OLIVO et al.(2009), os prejuízos econômicos causados pelos carrapatos em rebanhos no Brasil são altos, em torno de dois bilhões de dólares por ano. Conforme Suguisawa e Soutello (2004), estima-se que as perdas estão

em torno de 8 dólares/cabeça/ano no Brasil, indo desde os custos com o uso de controle químico, até prejuízos no desempenho dos animais do rebanho.

Em experimento realizado com vacas da raça holandesa em lactação, foi observada uma redução de 2,86 litros de leite por dia (11,5%) em animais infestados por *R*. (*B.) microplus*. Também foi observado um ganho médio de peso de 10,6 kg menor que o grupo de vacas livres do carrapato, durante 15 semanas. Estima-se que cada teleógina seja responsável pela perda de 8,9 mL de leite/dia e de 1,0 g/dia de peso corporal da vaca parasitada, durante o período experimental (JONSSON et al. 1998).

Suguisawa e Soutello (2004), constataram que o carrapato causa danos irreparáveis no couro dos animais, sendo que 70% do couro brasileiro é de segunda e terceira categoria, forçando o país com o maior rebanho comercial do mundo a importar este subproduto. Conforme Fonseca (2012), o Ministério da agricultura estima que o gasto com o carrapato bovino no país é aproximadamente de um bilhão de dólares anuais. O autor ainda faz referencia aos gastos com a compra de carrapaticidas no país, que fica em torno de 13,8 milhões de dólares anuais.

2.2.3. Controle do carrapato

Conforme Klafke (2008), estratégias de controle para esse ectoparasita são essenciais para a bovinocultura, principalmente leiteiras. No final do século XIX, na Austrália, já se fazia uso de compostos arsenicais, dando início ao uso de controle químico para o controle de *R. (B.) microplus*. A partir daí, surgem novas drogas mais eficazes no mercado. Porém, mais recentemente esses carrapaticidas não têm sido eficientes para o controle do carrapato e reduzir os prejuízos causados na pecuária.

Segundo Chagas (2003), os carrapaticidas químicos têm sido o principal recurso utilizado no controle do *R. (B). microplus.* No entanto, apresentam alto custo e podem causar danos ao meio ambiente e também à saúde pública, através da contaminação do solo e dos rios (LEAL et al., 2003). A facilidade com que o

parasita adquire resistência aos carrapaticidas tem prejudicado muito a sua aplicação (CHAGAS, 2003). O manejo inadequado em muitos casos contribui substancialmente com o problema da resistência dos carrapatos aos acaricidas (KOLLER et al., 2009). Comumente, a diluição inadequada dos produtos, falhas na mistura e volume insuficiente utilizado nos animais ocasiona a elevação da resistência aos carrapaticidas, por isto, recomenda-se que o volume da calda carrapaticida deve ser em torno de 4 a 5 litros por animal adulto. Também necessita muita cautela com a dosagem dos medicamentos injetáveis ou orais (endectocidas) (KLAFKE, 2008).

Segundo Freitas et al. (2005), ao longo dos anos tem se utilizado acaricidas de diferentes classes (arsenicais, organoclorados, organosfosforados, avermectinas, entre outros), entretanto, diversos mecanismos de resistência foram sendo desenvolvidos como estratégias de sobrevivência pelo carrapato.

Com relação à resistência aos carrapaticidas no Brasil, já existem vários relatos, em diversos estados, como; São Paulo (LOVIS, 2012 , NETO, et al., 2006), Rio Grande do Sul (CAMILO et al., 2009, FARIAS et al., 2008, SANTOS et al., 2008, SANTOS et al., 2009 e VOGEL, 2009), Mato grosso do Sul (KOLLER et al., 2009) e na Paraíba (SILVA et al., 2005).

Na Bahia, em um estudo realizado em 22 propriedades rurais do município de Itamarajú com os nove carrapaticidas mais comercializados no município, a média da eficiência do fipronil foi de 99%, do clorpirifós+cipermetrina high-cis de 92%, da amitraz+clorpirifós de 90,7%, do diclorvós+clorpirifós de 81,4%, do cipermetrina+clorpirifós+citronelol de 49,2%, da amitraz de 49,0%, do cipermetrina+ethion de 39,9%, do deltametrina de 33,9% e do cipermetrina de 21,1%. (SPAGNOL et al., 2010). Em outra pesquisa realizada em fazendas na região de Ilhéus, observaram que a resistência do *R. (B.) microplus* frente aos carrapaticidas de contato, que são mais utilizados nas propriedades rurais desta região, encontraram-se os seguintes resultados médios para as quatro classes de carrapaticidas testadas, que foram: Amitraz – 30,95%; Deltametrina – 65,04%; Cipermetrina / diclorvos – 75,73%; e Triclorfon / coumaphos/ cyfluthrin – 75,13% (CAMPOS JÚNIOR e OLIVEIRA, 2005).

Em pesquisa realizada na região centro-norte da Bahia, foi possível identificar propriedades com alto grau de resistência a cipermetrina de 87,33%, deltametrina 88,87%, amitraz 67,65%, organofosforados e piteroides 76,82% (RAYNAL et. al, 2013).

Outras formas de controle podem ser realizadas como a rotação de pastagens, queima de pastagens, introdução de pastagens com poder de repelência e ação letal ao carrapato, alteração de microclima, implantação de lavoura, uso de agentes biológicos (LABRUNA, 2008) e também o uso de vacinas (HEIMERDINGER, 2005).

Observou-se que os rebanhos bovinos da raça *Bos taurus* (Europeu) apresentam, em média, 10,5 vezes mais carrapatos do que os bovinos *Bos indicus* (Zebu), confirmando, dessa forma, a resistência dos zebuínos aos carrapatos. Acredita-se que esta maior resistência está relacionada à seleção natural em razão do período de convivência do *Bos indicus* com os carrapatos (PEREIRA, 2008a). Eles são naturalmente resistentes ao *R.(B.) microplus*, devido a sua origem (Índia), possuindo bom sistema de defesa contra as infestações de carrapatos, conseguem manter um bom equilíbrio hospedeiro-parasita (VIVAN, 2005).

O aparecimento da resistência contra carrapaticidas poderá ocorrer em uma determinada população de carrapatos, antes mesmo deles entrarem em contato com determinado produto. Esse fato é explicado pela existência de alguns indivíduos naturalmente resistentes na população. É o chamado estabelecimento do alelo resistente. Com o uso continuo de carrapaticidas ocorre seleção de carrapatos resistentes a determinado produto, uma vez que causam a morte apenas dos mais sensíveis, e os resistentes acasalam-se entre si, produzindo, dessa forma, descendentes cada vez mais resistentes e cada vez será maior o seu número na população. É conhecida como a propagação do alelo resistente por pressão de seleção (FURLONG, 2000).

Devido à problemática da resistência, os altos custos dos produtos químicos, à mão de obra na aplicação do produto e, também, ao surgimento de resíduos tóxicos na carne e no leite, juntamente com a contaminação do meio ambiente, busca-se novos métodos de controle do carrapato (LEAL et al , 2003).

Em várias regiões do planeta vem-se buscando alternativas para diminuir o uso dos acaricidas sintéticos. A utilização de plantas medicinais pode contribuir para a redução dos impactos ambientais (OLIVO, 2009). Os produtos fitoterápicos são de fácil acesso e obtenção por parte dos produtores, além de, normalmente, não deixarem resíduos em alimentos e apresentarem baixo custo de produção (ROEL, 2002 apud OLIVO et al., 2009).

2.3. Utilização de plantas medicinais

O conhecimento histórico sobre o uso de plantas medicinais nos faz lembrar as necessidades dos povos antigos, já que as plantas foram os primeiros recursos terapêuticos utilizados por eles. Desde a antiguidade, o homem faz uso das plantas, não só pela necessidade de sobrevivência, mas também para a cura de suas enfermidades (MEDEIROS et al., 2004). Segundo Cunha (2005), as civilizações primitivas perceberam a existência, de um lado, das plantas comestíveis, de outro, as de maior ou menor toxicidade que, ao serem experimentadas no combate às doenças, revelaram, embora empiricamente, o seu potencial curativo. Todas as informações foram sendo transmitidas, num primeiro momento, oralmente às gerações futuras, para depois, com o surgimento da escrita, passarem a ser compiladas e guardadas como um tesouro precioso. No Brasil, os índios utilizavam as plantas para a cura de doenças, preparavam corantes e as utilizavam para ajudar na pesca, passando esses conhecimentos de geração a geração. Muitas das informações obtidas com relação à cura de doenças por plantas foram adquiridas através da observação de animais, pois quando se encontravam adoentados faziam uso de determinadas espécies de plantas, tais como a ipeca ou ipecacuanha (*Cephalis ipecachuanha* Rich.), que era procurada pelos animais para se livrarem de cólicas e diarréias (RODRIGUES e CARVALHO, 2001). Todos os conhecimentos passados acabaram deixando uma influência que marcou profundamente as diferentes áreas da cultura popular. Com base na medicina popular, vem sendo retomada a utilização dessas técnicas antigas,

procurando a partir dessas práticas, dar-lhes um caráter cientifico (RODRIGUES e CARVALHO, 2001).

A importância e o potencial bioquímico das plantas medicinais vêm refletindo nos dados obtidos nas pesquisas científicas, sendo que 50% dos medicamentos utilizados na clínica, em todo o mundo, originaram-se de produtos naturais e derivados (BTTENCOURT e CECHINEL FILHO, 2010). Observa-se que apesar da investigação intensiva da flora terrestre, estima-se que somente 5 a 15% das aproximadamente 250.000 espécies de plantas superiores existentes, têm sido sistematicamente, quimicamente e farmacologicamente investigadas (BALADRIM et al., 1993 apud CRAGG e NEWMAN, 2012). O Brasil é o país com maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (GUERRA e NODARI, 2007).

2.3.1. Utilização de fitoterápicos como carrapaticidas

A partir do momento em que o homem começou a fazer confinamento animal, observou-se que fazer o controle dos artrópodes seria um grande desafio, pois o uso indiscriminado de inseticidas químicos, utilizados no controle destas pragas polui o meio ambiente, contaminando alimentos, e consequentemente, agrava cada vez mais o problema nos criadouros (LOPES et al., 2006). Portanto, a utilização de desinfetantes e pesticidas para promover o bem estar animal, acaba trazendo danos tanto para o ambiente quanto para a saúde pública (SOUZA e WIEST, 2007), uma vez que podem permanecer no solo por meses e até mesmo anos, causando um grande impacto ambiental (DAMS, 2006).

Os produtos naturais são uma poderosa fonte de novos medicamentos (PRIMACK e RODRIGUES, 2001), buscados cada vez mais pela população, tanto para o tratamento de suas enfermidades, quanto para o controle de vetores de doenças. Nesse contexto, a etnoveterinária busca resgatar os conhecimentos

tradicionais, com relação às crenças e os métodos utilizados nos cuidados com os animais (SOUZA e WIEST, 2007).

Os produtos naturais, em especial os vegetais, podem ser importantes na agricultura para eliminação de ervas daninhas e de diversos tipos de pragas e doenças. Portanto, os vegetais podem ser a fonte para a produção de bio-erbicidas, biofungicidas, entre outros produtos, sendo um importante passo para uma agricultura ecologicamente correta (SANTOS et al., 2007).

No Brasil, muitas plantas com atividade inseticida vêm sendo empregadas ou testadas para controle de insetos em lavouras e na criação animal, em substituição aos inseticidas sintéticos. Das plantas que já foram testadas destacam-se: a *Ruta graveolens* (arruda), *Melia azedarach* (cinamomo), *Piptadenia* spp. (angico), *Allium sativum* (alho), *Eucalyptus* spp (eucalipto), *Coleus sp* (boldo), *Cymbopogon citratus* (cana-de-cheiro) e *Phytolacca dioica* (umbu), dentre outras (VIVAN, 2005).Existem na literatura diversas pesquisas realizadas com plantas medicinais, as quais apresentam diferente eficácia no controle ao *R. (B.) microplpus.* Algumas destas espécies são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Espécies vegetais usadas no controle do *R. (B.) microplus*

ESPÉCIE	EXTRATO	Eficiência	AUTOR, ANO
Anadenanthera macrocarpa	Extrato Etanólico e Extrato Aquoso	76,6% 71,9%	SILVA FILHO, 2007
Annona squamosa e Azadirachta Indica	Extrato etanólico	70,8%	MAGADUM, et al., (2009)
Azadirachta indica e Cymbopogon citratus	Extrato alcoólico	30% 42%	SILVA (2007)
Syzygium aromaticum e Azadirachta indicam	Óleo de cravo e extrato aquoso e etanólico do Neen	97% 74%	SANTOS et al. (2012)
Cymbopogon nardus (L.) e Eucalyptus citriodora	Óleo	77,56% 93,58%	CLEMENTE, et. al., (2007)
A. Indica, *C. citrus,* *A. muricata.* *S. Malaccensis* *A. indica (sementes)*	Extrato Aquoso da Folha do Neen e C. citrus; Semente de Graviola. Extrato Hexânico da Flor de Jambo e Sementes de Nim	2,38% 18,35% 100% 59,25% 38,49% 65% 38,49%	BROGLIO-MICHELETTI (2009)
Melia azedarach	Extrato hexanico Verde e Maduro	100% 99,7%	SOUSA (2008)
P. alliacea	Extrato Metanólico	86%	ROSADO-AGUIAR et al., 2010
P. aduncum	Extrato de hexano, Extrato Acetato de Etil e Óleo Essencial.	54% 61% 100%	SILVA (2009)
Simarouba versicolor	Extrato aquoso e etanolico	100% 100%	PIRES (2006)
Tamarindus indicus L.	Extrato aquoso 1;2 e 1:5 alcoólico	89% 70%	CHUNGSAMARNYART e JANSAWAN (2001)

2.4. Química dos produtos naturais

A química dos produtos naturais é de grande importância nas pesquisas com plantas medicinais, uma vez que somente por meio dos métodos utilizados nessa área é possível obter os componentes ativos puros, podendo ocorrer a correta denominação estrutural e a síntese total ou parcial destes compostos (DI STASI, 1996). No reino vegetal são sintetizados constituintes químicos em rotas anabólicas e catabólicas, que fazem parte do metabolismo das plantas. Estes metabólitos, produzidos pelos vegetais e utilizados por eles para o seu desenvolvimento e adaptação são classificados em duas categorias: os metabólitos primários, constituídos pelos açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos e os metabólitos secundários, que apresentam diferentes estruturas e funções nas diversas espécies vegetais encontradas na natureza (DI STASI, 1996).

Os compostos sintetizados pelas plantas, a partir dos nutrientes recebidos do ambiente, podem apresentar propriedades terapêuticas, ou mesmo provocarem reações tóxicas nos seres vivos, a depender da dosagem utilizada. Esses compostos, produzidos por plantas medicinais, são denominados princípios ativos (RODRIGUES e CARVALHO, 2001).

São diversos os grupos de princípios ativos produzidos pelas plantas, podendo ser separados pelas características físicas, propriedades químicas e atividades biológicas (RODRIGUES e CARVALHO, 2001). Os alcaloides, compostos fenólicos e terpenos são as classes químicas que apresentam maiores potencialidades, muitos deles com propriedades farmacológicas (DI STASI, 1996).

2.5. Óleos Essenciais

A ANVISA (Brasil, 1999), define óleos essenciais como produtos voláteis de origem vegetal, obtidos por destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado. Eles podem se apresentar isoladamente ou misturados entre si, retificados, desterpenados ou concentrados. Conforme Simões e Spitzer (2007), os métodos de extração dos óleos essenciais

variam conforme a localização do óleo na planta e com a proposta de utilização do mesmo. Os mais comuns são: enfloração, arraste por vapor d'água, extração com solventes orgânicos, prensagem e extração por CO_2 supercrítico.

O teor de óleo essencial pode variar dentro de uma mesma espécie vegetal, de uma estação de crescimento para outra, afetados por parâmetros climáticos e fatores agrotécnicos, tais como fertilização, o abastecimento de água e colheita, especialmente na fase de desenvolvimento da planta e tempo de colheita (KERROLA, et al, 1994).

Os óleos essenciais são constituídos por substancias de baixo peso molecular, principalmente misturas de monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanóides, ésteres e outras substanciam (CRAVEIRO e QUEIROZ, 1993), que conferem suas características organolépticas (BIZZO, et al. 2009). Além destes, podem ser encontrados hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos e até compostos com enxofre (SIMÔES e SPITZER, 2007). Conforme Craveiro e Queiroz (1993), outra característica importante é a volatilidade de seus constituintes. Eles são insolúveis em água, viscosos e complexos (NASCIMENTO, 2007). Possuem aroma agradável e intenso, por isso são conhecidos com essências (OLIVEIRA et al., 2007). São solúveis em solventes orgânicos apolares, tais como o éter, por isso são chamados também de óleos etéreos (SIMÔES e SPITZER, 2007). São líquidos de aparência oleosa a temperatura ambiente, incolores ou ligeiramente amarelados, sendo raros os óleos essenciais azuis e, normalmente, apresentam sabor acre (ácido) e picante (OLIVEIRA, et al., 2007).

Conforme Simões e Spitzer (2007), plantas ricas em óleos voláteis são abundantes em angiospermas dicotiledôneas, tais como nas famílias Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Myristaceae, Piperaceae, Rutaceae, entre outras.

O ambiente no qual o vegetal se desenvolve e o tipo de cultivo também influenciam na composição química dos óleos voláteis (AGUIAR, 2003). Os óleos voláteis adquiridos de diferentes órgãos de uma mesma planta podem apresentar

composição química, características físico-químicas e odores distintos. É importante lembrar que a composição química de um óleo volátil extraído de um mesmo órgão da mesma espécie vegetal, pode variar significativamente, de acordo com a época de coleta, solo e condições climáticas (SIMÕES e SPITZER, 2007). Esse fato pode ser demonstrado através da extração do óleo da laranja amarga (*Citrus aurantium* L.), quando obtido a partir das flores é rico em nerol, constituindo o óleo neroli, os talos e as folhas são ricos em linalol e acetato de linalila, óleo *petit grain*, e quando obtido dos frutos é rico em limoneno (HENRIGUESA, et al., 2012).

Os óleos essenciais são utilizados com diversos fins, na indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética, pois estes óleos são capazes de inibir eficazmente o crescimento de vários microrganismos e provocam menos efeitos colaterais do que os antimicrobianos sintéticos (PARK, 2007). Conforme Scherer (2009), eles têm despertado grande interesse no setor industrial, devido à grande aceitação dos consumidores por produtos naturais, bem como pelos danos à saúde propiciados pelos aditivos sintéticos.

Segundo Bizzo et al. (2009), o Brasil ocupa lugar de destaque na produção de óleos essenciais, ao lado da Índia, China e Indonésia, considerados como os quatro grandes produtores mundiais. A posição do Brasil deve-se aos óleos essenciais de cítricos, que são subprodutos da indústria de sucos. Segundo os mesmos autores, o Brasil, mesmo se destacando na produção de óleos essenciais, sofre de problemas crônicos, como falta de manutenção no padrão de qualidade dos óleos, representatividade nacional e baixos investimentos governamentais no setor, que levam ao quadro estacionário.

Oliveira et. al. (2007), destacam que dentre os óleos essenciais comercializados no mundo, os provenientes de especiarias representam um nicho de mercado crescente. Desses óleos, merecem destaque aqueles ricos em eugenol, pois apresentam um elevado valor de mercado.

Segundo Morais (2006), na indústria, os óleos essenciais são empregados para diversos fins, na área farmacêutica têm sido utilizados devido às suas propriedades antisséptica, sedativa e analgésica; na área de cosméticos são

usados como bases para sabonetes e perfumes e na área alimentícia como incrementadores de aroma e sabor. Também são usados em aromo terapia (HENRIGUESA, et al., 2012).

Dentre as inúmeras atividades farmacológicas que são atribuídas aos óleos essenciais destacam-se as atividades: antimicrobiana, antioxidante, anti-helmíntica, analgésica, sedativa, antiparasitária, anticolinesterástica, antitumoral, entre outras (HENRIGUESA et al., 2012).

2.6. *Ocimum campechianum* Mill (ALFAVACA)

2.6.1. Classificação e Distribuição da Planta

Este gênero está distribuído em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia e América do Sul, incluindo o Brasil (Khosla 1995 apud VIEIRA e SIMON, 2000). No Brasil, já foram relatadas as espécies *O. americanum* L. (= *O. canum*); *O. campechianum* Mill. (= *O. micranthum* Willd.), *O. nudicaule* Benth. e *O. selloi* Benth (= *O. sellowie* e *O.carnosum*) (VIEIRA e SIMON, 2000).

O gênero *Ocimum*, família Lamiaceae, compreende mais de 30 espécies herbáceas e subarbustivas (ALBUQUERQUE e ANDRADE, 1998), são perenes, aromáticas (SILVA, 2007), as folhas são pecioladas, ovaladas, agudas, membranosas, levemente pubescentes e inferiormente glandulosas (VIEIRA, 2009). Conforme o mesmo autor a inflorescência apresenta-se racemosa, glomerulada, com flores de cálice tubuloso de lábios superiores tetradenteados e corola com tubo campanulado e lábio superior branco e inferior violeta.

Figura 04 – *Ocimum Campechianum* Mill.Foto: L S Teixeira Oliveira

Ocimum campechianum Mill também chamado de *O. micranthum* Willd (Rosas et al., 2004), é conhecido popularmente como alfavaca, alfavaca brava, alfavaca branca, alfavaca de galinha, alfavaca grande, alfavaco grande, cobra alfavaca, alfafa de vaca manjericão, manjericão grande. É uma especie bem distribuida, podendo ser encontrada em todo o Brasil (VIEIRA e SAMON, 2000).

Segundo Blank et al. (2004), a classificação dos manjericões ocorre de acordo com o aroma, em doce, limão, cinamato ou canela, cânfora, anis e cravo. Em relação aos óleos essenciais, os manjericões são classificados em tipo Europeu, Francês ou Doce; Egípcio, Comoro, Búlgaro, Java ou Cinamato de Metila e Eugenol, sendo o primeiro tipo o que contém principalmente linalol e metilchavicol.

Os óleos essenciais de espécies do gênero *Ocimum* que têm demonstrado diferenças em sua composição química. De acordo com as regiões onde são

encontrados, os quimiotipos são classificados em: quimiotipo Europeo, considerado como tendo um cheiro muito forte, devido à presença de linalol e estragol; quimiotipo Tropical, rico em cinamato e outro quimiotipo do norte da África e da antiga União Soviética, rico em eugenol (BENITEZ et al., 2009).

Os óleos essenciais dos manjericões possuem atividade inseticida, nematicida, fungicida, bactericida e antioxidante (VIEIRA e SIMON, 2000; VIEIRA, 2009). Estas propriedades podem ser frequentemente atribuidas aos principais constituintes do óleo essencial, tais como, metilchavicol, eugenol, linalol, cânfora e cinamato de metila (CAROVIC-STANKO et al., 2010).

Segundo Benitez et al. (2009), as principais classes de compostos presentes no óleo essencial de *O. campechianum* são os monoterpenos hidrocarbonetos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos hidrocarbonetos, sesquiterpenos oxigenados e outros compostos oxigenados.

Boscolo e Valle (2008), em Quissamã, Estado do Rio de Janeiro, identificaram *O. campechianum* Mill. como uma das espécies vegetais utilizadas na medicina. Esta espécie é utilizada para reumatismo, cólicas menstruais e intestinais, ânsia de vômito, bronquite, tosse e expectorante.

Em experimentos realizados com a alfavaca, foi identificada sua ação antifúngica. O óleo essencial de *O. micranthum* Mill foi capaz de inibir o crescimento de cepas de *Microsporum canis, Candida albicans*, *C. tropicalis, C. parapsilosis, C. glabrata* e *C. krusei* (VIEIRA, 2009).

Stanko et al. (2010), estudando sobre a atividade antibacteriana de óleos essenciais, observaram que *O. basilicum* var. difforme, *O. campechianum* e *O. Kilimandscharicum* inibiram fracamente o desenvolvimento de *Enterococcus faecalis, Enterococus faecium, Escherichia coli 0157: H7, Listeria monocytogenes, Listeria ivanovii, Proteus vulgaris, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermis.* .

Vieira (2009), estudando a atividade antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais das espécies *Ocimum sp.* (*O. americanum* sin. *O. canum* S.), *Ocimum basilicum* L., *O. micranthum* (sin. *O. campechianum* Mill.) e *Ocimum selloi*, observou que *O.*

micranthum tem potencial antifúngico, contra *Candida sp*. e *M. canis* constitui uma especie promissora para o tratamento de micoses.

Sacchetti et al. (2004), avaliando a atividade antioxidante *in vitro* de óleos essenciais das espécies *O. basilicum* and *Thymus* v*ulgaris*, observaram que o óleo essencial de *O. micranthum* foi o mais ativo dentre as outras espécies estudadas. Segundo os mesmos autores, nos testes de atividade antimicrobiana realizados com o óleo de *O. micranthum* houve inibiçao até certo grau em todas as cepas testadas (*Staphylococcus aureus, Enterococcus foecalis, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae, Rhodotorula glutinis, Schizosaccharomyces pombe, Yarrowia lypolytica e Candida albicans*). *O. micranthum* também demonstrou melhor atividade antibacteriana do que *O. basilicum* contra *E. foecalis, P. aeruginosa* e *E. coli.*

Em experimento realizado com o óleo essencial de manjericão (*Ocimum basilicum*), sobre fêmeas ingurgitadas de *R. (Boophilus) microplus*, utilizando as seguintes concentrações 1; 5; 10; 25; 50 e 100% do óleo essencial de manjericão foi observado que obtiveram a eficiência do produto de 28; 38; 36; 62; 100 e 100% respectivamente, sendo comprovada sua atividade carrapaticida (SANTOS et al., 2012). Em outra pesquisa realizada por Valazquez (2011), com *Cuminum cyminum, Pimenta dioica e* o óleo essencial do *O. basilicum* observou-se que as espécies *C. Cyminm e P. Dioica* foram tóxicas para as larvas do *R. (B.) microplus*. Foi constatado que *O. basilicum* tem entre seus constituintes o linalol (30,61%), o estragol (20,04%), o α-farneseno (6,96%), o eugenol (6,61%) e o 1,8-cineol (6,2%), todos possuindo atividade repelente.

Conforme Benitez et al. (2009), foram analisados os constituintes quimicos presentes nas folhas do óleo essencial do*O. campechianum,* coletadas em Chocó, noroeste colombiano foram identificados trinta e sete compostos, correspondentes a 66,1% do óleo essencial. Dezenove destes compostos foram identificados como sesquiterpenos (33,9%), cujos componentes principais foram: germacreno D (10,1%), β-bourbonene (9,5%), *trans-*α-cariofileno (7,8%), α-bulnesene (7,1) e α-guaiene (5,6%). Seis compostos foram identificados como sesquiterpenos oxigenados (10,7%), onde epi-α-murolol (2,0%) e 11-selineno-4-α-ol (1,1%) foram

os principais componentes. Seis compostos foram da classe dos monoterpenos (10,7%) e 4 monoterpenos oxigenados (7,1%), tendo o 1,8-cineol (3,3%) e o linalol (2,9%) como os principais componentes. O metil eugenol (12,0%) e o eugenol (9,0%), entre outros compostos oxigenados, constituiram 3,6% de óleo essencial.

Na literatura foram encontrado para compoição quimica do *Ocimum campechianum Mill*. valores referenciais tais 1-8 cineole (20,31), beta-caryophyllen (14,00), beta-elemene (11,10) e Eugenol (5,53) próximos ao apresentado na tab. 07 (Carovic´-Stanko et al., 2010). Vieira e Simon (20002), realizaram uma avaliação do *O. Campechinum* e notaram que houve uma diferença significativa entre a regiões, na região do Piauí encontrou-se 1,8-cineol (62,1% e 61,4 %), ao contrário da região do Maranhão que foi 13 –cariofileno (78,7 %) como o principal constituinte , e com menor porcentagem relativa de 1,8-cineol (13,1 %). O eugenol também foi encontado nessa especie com 5,53% (CAROVIC-STANKO, et al., 2011).

Avaliando o *Ocimum micranthum,* foi feita uma pesquisa com a composição química utilizando vários métodos de extração destilação a vapor, hidrodestilação usando forno de micro-ondas, extração supercrítica de CO_2 e o óleo obteve eugenol (64.8, 30.6 e 56.7,), β-cariofileno (14.3, 19.8 e 4.0) e elemicina (2.0 19.0 16.0) como principais constituintes (SILVA et al., 2004). Vieira (2009), ao avaliar o óleo essencial de *O. micranthum* apresentou eugenol (64,8%) e E-cariofileno (14.3), como principais constituintes. Segundo Sacchetti et al. (2004), o eugenol (46,55%), beta-caryophyllene (11,94%), beta-elemene (9,06%), 1,8-cineole (5,35%) foram os componentes magoritários na especie *Ocimum micantrum* (sin. *Ocimum campechianum*). O *Ocimum micantrum* (sin. Ocimum campechianum) se destaca por diversas atividades , atividade antibacteriana, antioxidante (SACCHETTI et al., 2004), antifúngico (VIEIRA, 2009), analgésico (LINO, 2005).

3.0 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Origem e preparo do material vegetal

As folhas foram coletadas no município de Uruçuca que está localizado na região geográfica Noroeste, sua área territorial é de 337,71 Km² e está inserido na região cacaueira do sul da Bahia, biomassa Mata Atlântica. Possui clima tropical úmido. Localiza geograficamente 14°36'00'' de latitude sul e 39°17'00'' de longitude Oeste do meridiano de Greenwich (URUÇUCA).

A exsicata do Ocimum campechianum foi realizado no Herbário André Mauricio Vieira de Carvalho (CEPEC) com número de registro de 35348.

A extração dos extratos aquoso e etanólico e o óleo essencial da alfavaca (*O. campechianum* Mill) foram realizada no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LAPRON) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB). O material vegetal fresco (2,3 Kg) foi seco em estufa de circulação de ar a 40°C, durante 12 horas. Após este período, as folhas secas foram resfriadas a temperatura ambiente e foram pesadas em balança semi-analítica, obtendo-se uma massa de 1,04 Kg, perdendo, portanto, cerca de 50% de umidade.

3.2. Extração do óleo essencial de *Ocimum campechianum* Mill

Do material seco foi feita a extração do óleo essencial por hidrodestilação em extrator de Clevenger modificado. Para tanto, as folhas secas foram pesadas (cerca de 80 g) trituradas manualmente e colocadas em balão de fundo redondo de 3 litros, adicionando-se a elas cerca de 1,5 litros de água deionizada. A extração foi conduzida durante um período de três horas. O óleo obtido foi recolhido e a água residual foi seca com Na_2SO_4, sendo mantido em um frasco âmbar sob-refrigeração até o momento da sua utilização.

3.3. Obtenção do extrato aquoso do O*cimum campechianum* Mill

A extração do extrato aquoso foi realizada no mesmo laboratório do óleo essencial. Foi obtido a partir das folhas secas e moído da alfavaca (*O. campechianum*), através do processo de percolação. Para tanto, 76 g das folhas secas foram pesadas e colocadas em um funil de separação de 1 litro, adicionando-se, aproximadamente, 500 mL de água deionizada. O material vegetal foi extraído até exaustão, através do recolhimento da solução aquosa por um período de dois dias. A solução recolhida a cada extração foi concentrada em rotavapor até redução do volume de água para a metade. Posteriormente, a solução restante foi dividida em frascos de vidro e congelada em ultrafreezer a -50ºC durante 24 horas. As amostras congeladas foram então submetidas à liofilização durante 24 horas, para obtenção do extrato aquoso seco, que foi mantido em geladeira até o momento da sua utilização.

3.4. Obtenção do extrato hidroalcoólico do O*cimum campechianum* Mill

O extrato hidroalcoólico foi obtido de maneira semelhante ao extrato aquoso, entretanto, utilizou-se uma solução hidroetanólica a 95% para a extração, sendo o solvente eliminado em rotavapor para obtenção do extrato bruto, que foi mantido em geladeira até o momento da sua utilização.

3.5. Perfil cromatográfico do óleo essencial

Uma avaliação qualitativa dos constituintes químicos presentes no óleo essencial foi feita preliminarmente, através de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando-se como fase estacionária placas de vidro cobertas com sílica gel e como fase móvel uma mistura de Hexano e Acetato de Etila na proporção de 9:1. A revelação das cromatoplacas foi realizada utilizando-se diferentes soluções

reveladoras, como sulfato Cérico a 1% em etanol, vanilina ácida a 0,1% e ácido Fosfomolíbdico.

3.6. Teste qualitativo da atividade antioxidante

Foi realizada uma análise qualitativa da atividade antioxidante por cromatografia em camada delgada (CCD) através do método de sequestro do radical livre DPPH.

Na fase estacionária usou placas de vidro cobertas com sílica gel e como fase móvel uma mistura de Hexano e Acetato de Etila na proporção de 9:1. A revelação das cromatoplacas foi realizada utilizando-se o solvente de radical livre DPPH (1,1-DIFENIL-2-picril-hidrazil).

3.7. Prospecção fitoquímica dos extratos

Testes com o extrato etanólica, extrato aquoso e óleo essencial.

Para a prospecção química dos extratos hidroalcoólico, aquoso e óleo essencial foram pesadas quantidades correspondentes a 1 g de cada extrato em cinco béqueres diferentes.

3.7.1.1. Teste para fenóis e taninos

O extrato contido no 1° Becker foi dissolvido em aproximadamente 20 mL de etanol a 70% e aquecido em banho-maria para melhor dissolução. A solução obtida foi dividida em cinco tubos de ensaio, para a realização dos testes abaixo:

À solução do 1° tubo de ensaio foram adicionadas 3 gotas de cloreto férrico ($FeCl_3$). Observou-se a mudança na coloração e/ou formação de precipitado, o que

evidenciou reação positiva. Comparou-se com um teste em branco (3 mL de água e cloreto férrico).

3.7.1.2. Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides

Para a realização dos testes foram utilizados os tubos 2, 3 e 4. Inicialmente, mediu-se o pH das soluções. Posteriormente, a solução do tubo 2 foi acidificada com ácido clorídrico a 1M até pH 3; a solução do tubo 3 foi alcalinizada até pH 8,5 com hidróxido de amônio (NH_4OH) 6N e a solução do tubo 4 foi alcalinizada até pH 11 com hidróxido de sódio a 5%. A mudança na coloração das soluções indicou reações positivas.

3.7.1.3. Teste para leucoantrocianidinas, catequinas e flavanonas

Os tubos preparados anteriormente, o acidificado a pH 3 e o alcalinizado a pH 11 foram aquecidos (com cuidado para evitar a projeção do solvente) e observou-se a intensificação ou aparecimento de cor, para a confirmação da presença dos metabólitos avaliados.

3.7.1.4. Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas

No último tubo (tubo 5), adicionou-se um pedaço da fita de magnésio (aproximadamente 0,5 cm) e 0,5 mL de HCl concentrado. Observou-se a efervescência da solução e a mudança de coloração, para confirmar a reação positiva.

3.7.1.5. Teste para esteroides e triterpenóides (Lieberman – Buchard)

Aos extratos contidos nos segundos béqueres (1g) foram adicionados 5 mL de clorofórmio e triturados com o auxilio de um bastão de vidro. Filtrou-se a solução

através de um funil de vidro com um pequeno pedaço de algodão coberto com Na_2SO_4 anidro para um erlenmyer pequeno e reservou-se a parte insolúvel. Na capela de exaustão, adicionou-se 1 mL de anidrido acético aos filtrados e agitou-se suavemente. Adicionou-se 3 gotas de H_2SO_4 concentrado e observou-se o rápido desenvolvimento de cores.

3.7.1.6. Teste para saponinas

Tomaram-se os resíduos que sobraram nos testes anteriores e acrescentou-se 5 mL de água. Transferiu-se para tubos de ensaio e agitaram-se os tubos vigorosamente por aproximadamente 2 minutos. Observou-se a formação de espuma persistente e abundante, após um período de 10 minutos em repouso.

3.7.1.7. Testes para ácidos fixos fortes

Aos extratos contidos nos terceiros béqueres (1g), adicionou-se 5 mL de etanol absoluto e misturou-se até completa dissolução. Adicionou-se 2 mL de NH_4OH concentrado e aqueceu-se a mistura em placa aquecedora. Filtrou-se a solução obtida através de um funil de vidro com um pedaço de algodão para um béquer pequeno e deixou-se em banho-maria (90°C) até completa evaporação do NH_4OH (não desprendimento de odor de amônia). Deixaram-se os béqueres na estufa a 110°C durante 10 minutos. Os resíduos foram novamente dissolvidos em 10 mL de água deionizada e as soluções obtidas foram filtradas para dois frascos de vidro. Em um deles adicionou-se 1 mL de NaOH a 1N e tampou-se imediatamente, colocando na tampa do frasco uma tira de papel de filtro umedecido com reagente de Nessler. Com o conteúdo do outro frasco foi repetido o procedimento sem a adição do NaOH 1N. Os frascos foram mantidos tampados por 2 a 3 minutos e observou-se o aparecimento de coloração no frasco contendo NaOH, o que indicou reação positiva. Para o preparo do reagente de Nessler dissolveram-se 5 g de cloreto de mercúrio em aproximadamente 50 mL de água deionizada a 50-60°C e a essa solução adicionou-se outra de 7,4 g de iodeto de

potássio em 10 mL de água deionizada, formando-se imediatamente um precipitado vermelho. Deixou-se o precipitado depositar no fundo do recipiente e filtrou-se a vácuo, lavando-se uma vez com água deionizada. Em seguida, adicionou-se ao precipitado 7 g de iodeto de potássio e quantidade suficiente de água deionizada para dissolver. Transferiu-se a mistura para um balão volumétrico de 100 mL e adicionou-se uma solução de 20 g de hidróxido de sódio em 60 mL de água deionizada. Completou-se o volume com água deionizada e deixou-se a mistura em repouso durante 48 horas. Filtrou-se o precipitado a vácuo e conservou-se a solução obtida em frasco âmbar em geladeira.

3.7.1.8. Teste para resina

Aos extratos contidos nos quartos béqueres (1g), adicionou-se 10 mL de solução hidroetanólica a 70% e agitou-se até completa dissolução. Filtrou-se a solução através de um funil de vidro com um pedaço de algodão para um béquer pequeno e adicionou-se água deionizada até triplicar o volume do filtrado. Observou-se a formação de precipitado, o que indicou reação positiva.

3.7.1.9. Teste para alcaloides

Aos extratos contidos nos quintos béqueres (1g), adicionou-se 10 mL de solução hidroetanólica a 70%, 0,5 mL de hidróxido de sódio a 1N e, posteriormente, 20 mL de água deionizada. Extraiu-se o extrato alcalino em funil de separação com 20 mL de clorofórmio por três vezes. Reuniram-se os extratos cloro fórmicos e, então, extraiu-se novamente em funil de separação com 20 mL de solução de ácido clorídrico a 2%. As soluções aquosas ácidas resultantes foram transferidas para três tubos de ensaio e, a cada tubo, separadamente, adicionou-se cinco gotas dos reagentes de Dragendorff, Wagner e Mayer, Os tubos foram agitados e foi avaliada a ocorrência de formação de precipitado, o que indicou a presença de alcaloides. O Reagente de Dragendorff foi preparado pela mistura de partes iguais das soluções A e B. Para a obtenção da solução A, dissolveu-se 1,7 g de nitrato de bismuto (III)

e 20 g de ácido tartárico em 80 ml de água. Para a obtenção da solução B, dissolveu-se 16 g de iodeto de potássio em 40 ml de água. O Reagente de Wagner foi preparado pela dissolução de 1,27 g de iodo e 2 g de iodeto de potássio em 5 mL de água destilada e completado o volume com água deionizada para 100 mL de solução. O Reagente de Mayer foi preparado pela mistura de duas soluções, uma obtida pela dissolução de 1,36 g de cloreto de mercúrio em 60 mL de água e a outra pela dissolução de 5 g de iodeto de potássio em 10 mL de água deionizada. As soluções foram misturadas em um balão volumétrico e completou-se para 100 mL com água deionizada.

3.8. Cromatografia Gasosa

O cromatógrafo gasoso usado foi da marca Shimadzu, com detector de massa modelo GCMS-QP2010S apresentando interface acoplada a um computador para controle e aquisição de dados com sistema de amostragem automatizada. As condições de operação do equipamento foram às seguintes: Coluna: Marca Agilent – DB-1: 0,25 mm x 30 m, espessura do filme 0,25 um de 100% de dimetil polisiloxano; Forno: Rampa = início 100°C (2min) até 200°C a 10°C/min, logo após a 25°C/min até 300°C permanecendo por 4 min; Volume de injeção: 1,0 uL; Detector: MS – razão m/z com scan 40 a 450 uma; Eluente: He, 0,75 mL/min (100°C); Injetor: splitless = razão do split 50,0:1 a 280°C. As análises dos espectros de massas foram feitos por comparação aos espectros encontrados na biblioteca NIST 8.0.

3.9. Ensaios carrapaticidas

Para a realização dos testes carrapaticidas foram selecionadas as teleóginas de animais da raça Holandesa de aptidão leiteira de origem mestiça, da Fazenda

da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) - Ilhéus-BA, que se encontravam a pelo menos 45 dias sem tratamento parasiticida.

3.9.1. Preparação do teste de imersão

Foram utilizadas setecentas (700) fêmeas ingurgitadas para a realização do teste de biocarrapaticidograma. Foram utilizadas, para os testes, apenas teleóginas coletadas nas últimas 48 horas, em perfeito estado físico, sem alterações morfológicas ou restos de tegumento no aparelho bucal. As fêmeas foram separadas em grupos de dez (10) e pesadas, de maneira a obterem-se grupos de peso uniforme. As soluções teste foram preparadas da seguinte maneira:

1. O óleo essencial de alfavaca foi solubilizado em Tween 80 a 10% (v/v) para obterem-se soluções nas concentrações de 2, 4, 8, 16 e 32 mg/mL.

2. Os extratos hidroalcoólico e o aquoso foram diluídos nos solventes correspondentes, para obterem-se soluções nas concentrações de 5, 10, 20, 40 e 80 mg/mL.

Os controles negativos foram constituídos dos solventes (tween 80, água e álcool) utilizados para a preparação das soluções teste. Como controles positivos utilizaram-se soluções comerciais de cipermetrina e amitraz, os carrapaticidas foram diluídos em água destilada conforme recomendação dos fabricantes.

3.9.2. Biocarrapaticidograma

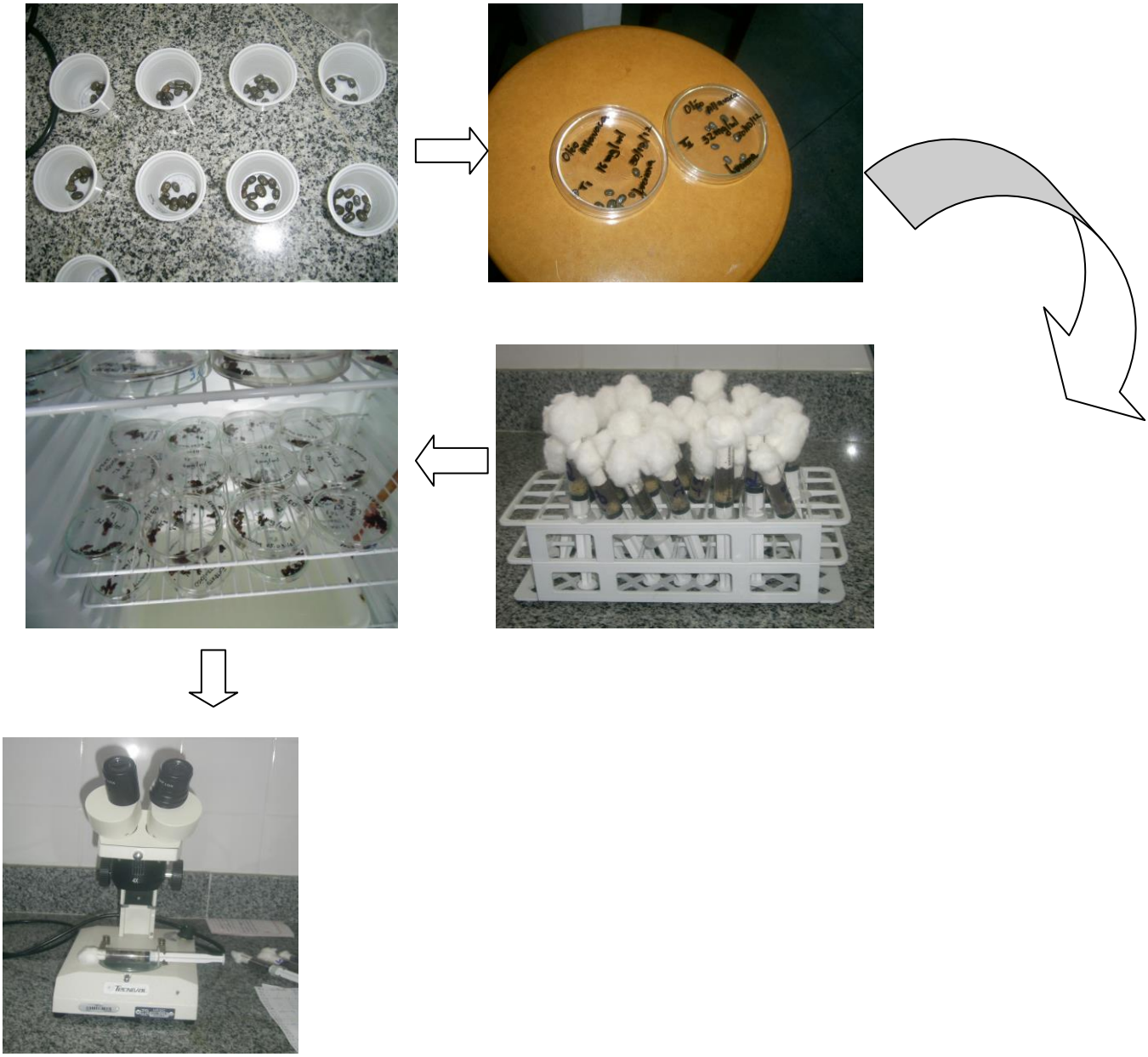


Figura 05 – Esquema de demonstração da montagem do experimento

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quinze tratamentos como quatro repetições e cinco grupos controle, considerando-se 10 fêmeas ingurgitadas para cada repetição.

De cada uma das soluções preparadas, reservou-se 30 mL em um copo descartável, onde os grupos de teleóginas de cada tratamento foram inteiramente submersas por cinco minutos.

Após esse procedimento, as teleóginas foram secas com papel absorvente, e acondicionadas em placa de Petri de 100 mm, previamente identificadas, e foram incubadas em estufa tipo B.O. D, mantidas à temperatura de 27°C ± 1°C e umidade relativa de 85% ± 5%. Os índices de mortalidade foram avaliados diariamente por um período de três dias. Já no 15º dia, as massas de posturas dos ovos foram pesadas, acondicionadas em seringas vedadas com algodão hidrófilo e recolocadas na estufa, com a mesma temperatura e umidade. Vinte e cinco dias após a pesagem foi realizada a leitura da eclodibilidade das larvas por comparação visual, comparando o grupo controle com os demais grupos, ou seja, avaliando os ovos não eclodidos remanescentes e as cascas de ovos que eclodiram, respeitando o intervalo de 5%.

Para a avaliação da eficácia das plantas sobre as fêmeas ingurgitadas foram analisados os seguintes parâmetros: índice reprodutivo (IR) e a eficácia do produto (EP) foram obtidos pelas fórmulas (Drummond et al., 1973):

$$IR = \frac{\text{peso da massa de ovos (g)}}{\text{peso da teleóginas (g)}} \times \% \text{ eclosão} \times 20.000$$

A constante 20.000 significa o número estimado de ovos em 1g de ovos de *Riphicephalus (Boophilus) microplus.*

$$EP = \frac{\text{IR do grupo controle} - \text{IR do grupo tratado} \times 100}{\text{IR do grupo controle}}$$

3.10. Análise estatística

Para a realização dos testes antioxidantes foram utilizadas três amostras, posteriormente foi aplicada a análise de regressão simples.

Para análise dos resultados do biocarrapatograma utilizou-se o programa Graphpad instat 3.06 Demo, pelo teste de Kruskal-Wallis, para a comparação de médias das eficiências dos produtos testados, com uma significância de 5% ($P<0,05$).

Para os resultados do Índice Reprodutivo utilizou ANOVA, pelo teste F com 5% de probabilidade ($P<0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Rendimentos dos extratos aquosos, hidroalcóolico e o óleo essencial do *O. campechianum* Mill

Os rendimentos dos extratos estão descritos na Tabela 2. Observou-se que a água foi uma solvente mais eficiente na extração dos metabólitos secundários das folhas da planta, embora os compostos extraídos não tenham sido os mesmos nas diferentes extrações. O rendimento de extração do óleo essencial mostrou-se bastante elevado, o que demonstra o grande potencial para obtenção deste produto a partir da espécie estudada.

Tabela 2 - Rendimento dos extratos obtidos do *Ocimum campechianum* Mill.

Extrato	Peso Médio da amostra (g)	Peso do extrato (g)	Rendimento do extrato (%)
Aquoso	76	5,6	7,3
Hidroalcóolico	76	4,6	6,5
Óleo essencial	80	3,4	4,1

4.2. Prospecção fitoquímica dos extratos

A analise fitoquímica demonstrou a presença de diferentes metabólitos secundários nos diferentes extratos e no óleo essencial de *O. campechianum* Mill. Observou-se que os flavonoides foram a classe de metabólitos secundários mais expressiva nos dois extratos analisados, sendo responsáveis pela a cor nos vegetais.

Na análise feita para flavonoides foi observada a presença da cor vermelha nos extratos que deram positivo. Conforme Marco et al., (2008) nas plantas, a maior parte das substancias responsáveis pela coloração pertence à classe dos flavonoides. Conforme Zuanazzi e Montanha, (2007), são encontrados nas folhas e podem ser diferentes daqueles presentes das outras partes do vegetal, ocorrendo em diferentes concentrações a depender do órgão em que se encontra o mesmo.

As propriedades biológicas são várias, anti-inflamatória, antioxidante, antialérgica, hepatoproterora, antitrômbica, antiviral e anticarcinogênica (MUSCHETTI e MARTINO, 2012). Na espécie *Cymbopogon citrus* encontrou flavanoides, alcaloides e terpenos na sua analise fitoquímica, e essa espécie tem comprovada ação no controle de carrapatos (SANTOS e VOGEL, 2012).

O extrato aquoso apresentou um pH 2, demonstrando a presença de antocianinas, que são pigmentos naturais. As antocianinas apresentam nos vegetais na forma de glicosídeos e são derivadas das antocianidinas, suas agliconas correspondentes. Os açúcares mais comuns presentes nas suas estruturas são a glicose, xilose, arabinose, ramnose, galactose ou dissacarídeos constituídos por esses açúcares, aos quais podem estar ligados ácidos fenólicos, como *p*-coumárico, cafêico, fenílico e vanílico (MARCO et al., 2008; TERCI e ROSSI, 2002).

As antocianinas podem apresentar diferentes estruturas em soluções aquosas, em função do pH do meio. Nota-se que, em meio extremamente ácido (pH entre 1 e 2), as antocianinas apresentam coloração intensamente avermelhada, devido ao predomínio do cátion flavílico (AH+) (MARCO et al., 2008).

Nos testes de identificação de esteroides e triterpenoides foi notória a presença de esteroides no extrato hidroalcoólico, já os triterpenóides foram observados no óleo essencial e nos extratos aquosos e hidroalcoólico. Resultado semelhante ao obtido por Souza (2004), após analise das folhas do *O. campechianum* Mill., foram encontradas em seus resultados a presença de triterpenoides e esteroides; polifenois e também monoterpenoides, sesquiterpenoides, eugenol e açurares redutores. Conforme Niero e Malheiros (2012), os triterpenos também apresentam propriedades farmacológicas, entre elas, efeitos anti-inflamatório, analgésico, cardiovascular, antitumoral, antiprotozoária e atuam na proteção contra herbívoros.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados encontrados para a prospecção química realizada para os extratos.

Tabela 3 – Resultado da prospecção fitoquímica dos extratos de *Occimum campechianum* Mill

Metabólito Secundário	Extrato Aquoso	Extrato Hidroalcoólico	Óleo Essencial
Antocianidinas	+	-	-
Antocianina	+	-	-
Esteróides livres	-	+	-
Fenóis	+	+	+
Flavanóides	+	+	+
Flavonóis	+	-	-
Flavanonóis	+	+	-
Flavanonas	+	-	+
Triterpenóides	+	+	+
Xantona	+	-	-

+ = positivo, - = negativo
s

A análise fitoquímica realizada com *espécie Glechon spathulata* Benth revelou a presença de flavonóides, óleos voláteis, antocianinas, taninos condensados e, em menor quantidade, saponinas, triterpenos e taninos hidrolisáveis, realizando pesquisas com *R. (B.) microplus,* foi verificado que houve atividade carrapaticida in vitro (BUZATTI et al., 2011). Flavonóides, antocianinas e triterpenos também foram encontradas em *O. campechianum.*

4.3– Biocarrapaticidograma

Ao se fazer a escolha da extração dos extratos da alfavaca o aquoso e o hidroalcóolico como veículos extratores foram por serem veículos de fácil obtenção, facilitando assim o uso pelos pecuaristas.

Com relação à mortalidade do 1° ao 3° dia das fêmeas ingurgitadas, o extrato que obteve maior mortalidade foi o hidroalcóolico variando de 0 – 20% e os demais extratos obtiveram valores variando de 0 – 10% e os controle de cada extrato obtiveram 0% de mortalidade demonstrado que os respectivos solventes não influenciam na mortalidades das teleóginas. O extrato aquoso demonstrou que

foi proporcional a relação entre a concentração e a mortalidade das teleóginas. Quando analisado a mortalidade dos extratos que apresentaram baixa mortalidade das teleóginas com os controles amitraz e cipermetrina os mesmos não obtiveram mortalidade, nota-se que ouve uma eficiência, mesmo sendo baixa dos respectivos extratos. Esses resultados estão descritos na tabela 4.

Observou-se que o óleo essencial nas concentrações 32 e 16 mg/mL foram que melhor apresentou eficiência sobre as teleóginas, inclusive com resultados maiores que os carrapaticidas químicos testados e observando o seu controle que obteve 0% de mortalidade, nota-se que a eficácia do fitoterápico nas concentrações testadas (Tabela 6). De acordo com os resultados apresentados, a eficácia do óleo essencial foi o melhor obtido. Os resultados obtidos foram inferiores aos registrados por Santos et al. (2012a) que ao trabalharem com o óleo essencial de *O. basilicum* nas concentrações de 25%, 50% e 100% e tiveram uma eficiência de 50%, 100% e 100% respectivamente, para teleóginas de *R. (B.) microplus.* Essa diferença pode ter ocorrido pelo fato de ter usado o óleo essencial em uma maior concentração, dessa forma possibilitando uma melhor atividade do principio ativo. Podendo também está associada à interação do composto e o poder de penetração nas teleóginas. Porém, foram superiores ao obtidos por Martinez-Velazquez, (2010) que apresentaram 0% de mortalidade de larvas de *R. (B.) microplus* em todas as concentrações testadas, para as demais espécie *C. cyminum* e frutos de P. dioica os seus óleos essenciais eram tóxicos para as larvas de *R. microplus*.

Srivastava et al. (2008), avaliando várias especies vegetais verificaram que os extratos que mostraram eficácia in vitro foram a semente de neem (*A. Indica)* com (80%), seguido pela sementes de pêssego (*P. persica)* (70%) e as folhas de *A. indica* (30%). Em outro estudo os extratos de *S. malaccensis (*flor do jambo), e de *A. indica* (neem) fração hexanica obtiveram resultados intermediários respectivamente de 59,24% e 38,49% (BROGLIO-MICHELETTI et al., 2009).

Tabela 4 – Médias obtidas para a mortalidade dos extratos aquosos, hidroalcóolico e óleo essencial da alfavaca *Ocimum campechianum* nas diferentes concentrações sobre teleóginas de *Riphicephalus (Boophilus) microplus*.

Produto	**Diluição** (Concentração) (mg/mL)	**Mortalidade/dia** (%)		
		1°	2°	3°
Extrato aquoso	5	0	0	0
	10	0	10	10
	20	0	10	10
	40	10	10	10
	80	10	10	10
Extrato Hidroalcóolico	5	10	10	20
	10	0	0	0
	20	20	20	20
	40	10	10	10
	80	20	20	20
Óleo Essencial	2	0	0	0
	4	10	10	10
	8	0	0	0
	16	0	10	10
	32	10	10	10
Extrato Aquoso		0	0	0
Extrato Hidroalcóolico		0	0	0
Controle Tween		0	0	0
	100	0	0	0
Carrapaticida Amitraz				
Carrapaticida Cipermetrina	125	0	0	0

Segundo Castro et al. (2010), as espécies algodão de seda (*C. procera)* e flor-do-mel (*T. diversifolia)* apresentaram baixa eficácia, sendo nas concentrações de 25,9% e 25,4% e a ação do extrato etanólico de pinheiro do paraná *(A. angustifólia)* a 100 mg ml-1 limitou-se a 11,9%.

Vivan (2005), avaliando a eficácia de extratos hexânicos e aquosos de folhas e frutos de *M. azedarach* sobre o *R. (B.) microplus*, observou a melhor eficácia sobre fêmeas com extratos aquosos dos frutos, na concentração de 0,10%,

atingindo 47,54%. Já nos extratos hexânicos foi obtida a eficácia máxima de 31,89%, na concentração de 0,10%.

Castro et al. (2009) verificaram que *in vitro* o extrato do pinheiro brasileiro (*Araucaria angustifolia*) foi eficaz sobre *R. microplus, na* concentração de (30%) com eficácia de 50 %. As concentrações testados contendo 13,04; 23,08 e 37,50% de capim cidreira apresentaram eficácias de 52,22; 55,31 e 52,60%, respectivamente, demonstrando comportamento semelhante (HEIMERDINGER, 2005). Silva et al. (2008), avaliando algumas plantas medicinais observaram que a salsa (*Ipomoea asarifolia)*, apresentou eficácia de 69,52% e o capim-santo (*Cymbopogon citratus)* tiveram eficácia de 48,10%.

Avaliando o extrato bruto de *petiveria alliacea* a 10% (100 mg/mL) e 20% (200 mg / ml) concentração avaliada contra *R. (B.) microplus* ingurgitadas fêmeas apresentaram percentual acumulado de mortalidadede 40,0% e 86,6%, respectivamente, tendo como principais constituintes Dibenzyldisulfid e Dibenzyltrisulfide (ROSADO-AGUILAR, 2010).

Em pesquisa realizada a *Tetradenia riparia* apresenta alta atividade carrapaticida sobre o *R. (B.) microplus*. O óleo essencial de *T. riparia* em teleóginas, obervou que ela apresentou uma alta mortalidade das teleóginas em baixas concentrações, uma ação inibitória na oviposição com uma redução de 100% dos ovos, nas concentrações de óleo 1,8% a 1,5% (GAZIM et al., 2011).

Realizando teste do biocarrapaticidograma com larva de *R. (B.) micrplus* Apel et al. (2009), utilizou as espécie Cunila, *C. Angustifolia, C. Incana, C. spicata* foram as que apresentaram maior atividade nas larva, no entanto a c. Incisa e a C. Microcephala foi baixo o seus efeitos.

Santos, *et al.* (2013), fazendo uso da epecies cintronela (*Cymbopogon nardus*), Santa Maria erva (*Chenopodium ambrosioides*) e quássia (*Quassia amara*) utilizou alcool 70%, obervaram que todas as especies acima tiveram ação carrapaticida no controle do *R. (B.) micrplus*. Com o extrato etanólico de *S. versicolor* observou-se *que ela* provoca mortalidade de 100% das larvas de *R. (B.) microplus* (PIRES, 2006).

Ao se testar extrato de hexano, acetato de etila e etanol teleoginas e larvas de R. Microplus., Silva, *et al.,* (2009), avaliou que *Piper aduncum L.,* notou que nos três extratos não houve diferença estatistica para as teleóginas, no entanto conseguiu um CR 40-62%. Na analise feita com as larvas, o etrato heânico foi muito tóxico.

Tabela 5- Eficácia do extrato aquoso, hidroalcoolico e óleo essencial da alfavaca *Ocimum campechianum* Mill. em diferentes concentrações (%) sobre teleóginas de *Riphicephalus (Boophilus) microplus* pela técnica do biocarrapaticidograma (Drummond et al. 1973).

Produto	**Diluição** (Concentração) (mg/mL)	**Eficácia** Mínima (%)	**Eficácia** Máxima (%)	**Eficácia** Média (%)	**Desv.** Pad. (%)
Extrato aquoso	5	4,62	20,34	11	10,2291
	10	15,74	19,01	8,69[b]	10,1199
	20	9,47	27,33	13,78	11,7272
	40	13,11	21,96	6,65[b]	10,7492
	80	0,73	29,63	9,13	13,9388
Extrato Hidroalcóolico	5	4,18	7,05	2,81[ab]	3,4470
	10	13,22	21,52	8,68[b]	10,5855
	20	15,05	46,55	15,40	21,9451
	40	12,03	37,23	26,82	10,9233
	80	19,57	41,53	32,12	10,5969
Óleo Essencial	2	28,16	40,31	26,26	18,7973
	4	32,5	47,59	38,75	6,9343
	8	28,29	63,80	42,33	15,3837
	16	45,35	59,10	54,84[a]	6,3806
	32	56,67	65,46	59,97[b]	3,8111
Carrapaticida Amitraz	100	8,35	15,50	15,50	5,3
Carrapaticida Cipermetrina	125	12,44	26,37	26,37	9,85

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (p<0,05).

O eugenol (4-alilo-2-metoxifenol) é o componente principal do óleo essencial do *O.campechianum Mill*. (SCHALLETI, 2004). Monteiro et al. (2012) observaram que eugenol na concentração de 2,5 µl/mL obteve 99,4% de mortalidade de larvas

de *R. (B.) microplus* e nas concentrações de 5.0, 10.0, 15.0, e 20.0 µl/mL de eugenol apresentou um mortalidade de 100%. O eugenol foi o principal composto identificado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), representando 35% dos fenóis extraídos do cravo-da-índia. É provável que esse valor possa ser ainda maior, uma vez que a extração empregada neste trabalho não foi exaustiva (MAZZAFERA, 2003). Alvarez et al. (2008) e Santos et al. (2012) encontraram excelentes resultados no controle de *R. (B.) microplus* utilizando o cravo-da-índia, que pode estar também associado ao eugenol. Com relação ao eugenol foram encontrados relato sobre sua atividade antihelmintica (PESSOA et al., 2002).

Conforme Sousa (2004), *O. campechianum* apresenta o componente eugenol. Ao realizar a análise quantitativa dos constituintes químicos do óleo essencial do *O. Campechianum,* o eugenol foi o componente em maior concentração. Entretanto, a análise qualitativa do óleo por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando-se como eluente Hexano/Acetato de Etila (9:1), evidenciou a presença de compostos fenólicos (CF) e terpenoides (T), quando se revelaram as cromatoplacas com, vaniliva e cloreto ferrico (Figura 06).

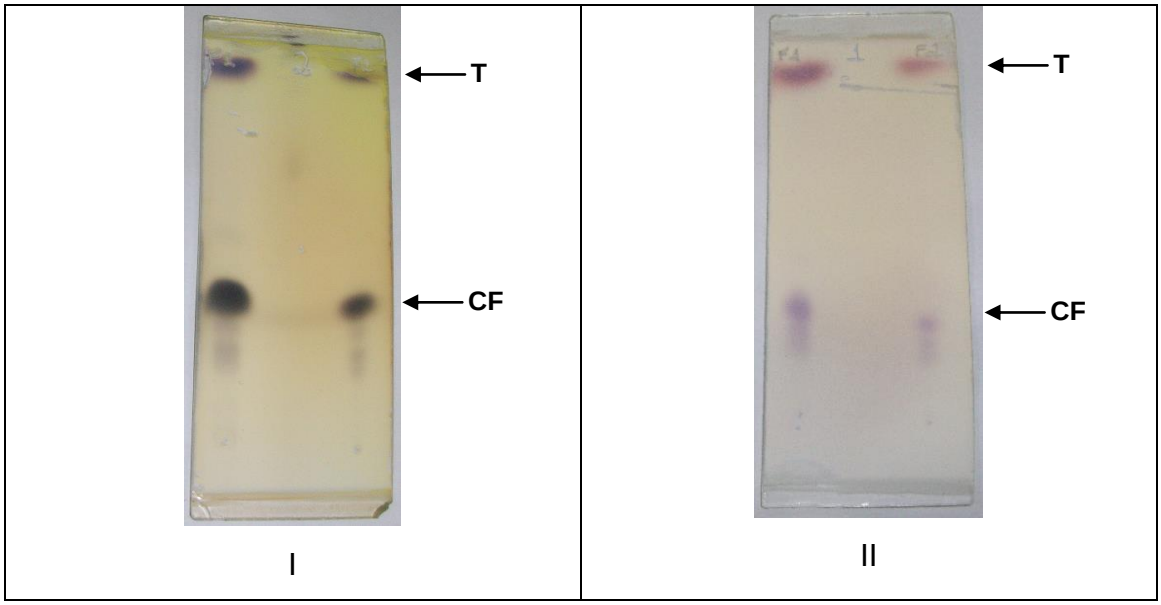


Figura 6. Placas cromatográficas do óleo essencial de *O. campechianum* reveladas com: I)Cloreto Ferrico II Vanilina . Eluente: Hexano/Acetato de Etila (9:1)

Fonte: L. S. Teixeira Oliveira

Com relação a composição quimica do óleo essencial do *O. Campechianum Mill.* coletada na Região Sul da Bahia, Eugenol foi o principal componente, seguido por Eucalyptol, Beta-cariophyllene, Beta-Pinene.

Conforme Benitez (2009), em compoição quimica do *Ocimum campechianum* na região da Colombia o eugenol apresentou seus componente majoritário que , Methyl eugenol (12%), Germacrene D (10 - 1%), a -Bourbunene (9,5%), o eugenol com (9%) e 1,8-cineole (3.3%) sendo este os seus componentes, estão presentes as classes sesquiterpenos e monoterpenos.

Na analise química do *Ocimum bailicum* os principais componentes forma linalol (30,61%), estragol (20,04%), α-farneseno (6,96%), o eugenol (6,61%) e 1,8-cineol (6,2%), diante da literatura são considerados repelente (MARTINEZ-VELAZQUEZ, 2010) .

Alguns estudos tem documentado o contole biológico do *R. (B.) microplus* ao se utilizar fitoterápicos, as classes de compostos mais presentes na análise cromatográfica foram os monoterpenos, os sesquiterpenos e os terpenos, no entanto diferem de uma espécie para a outra, conforme Santos, *et al.* (2013), Gazim et al., 2011, Ribeiro et al., 2010, Apel et al., 2009, Silva *et al* (2009), Fernandes e Freitas (2007).

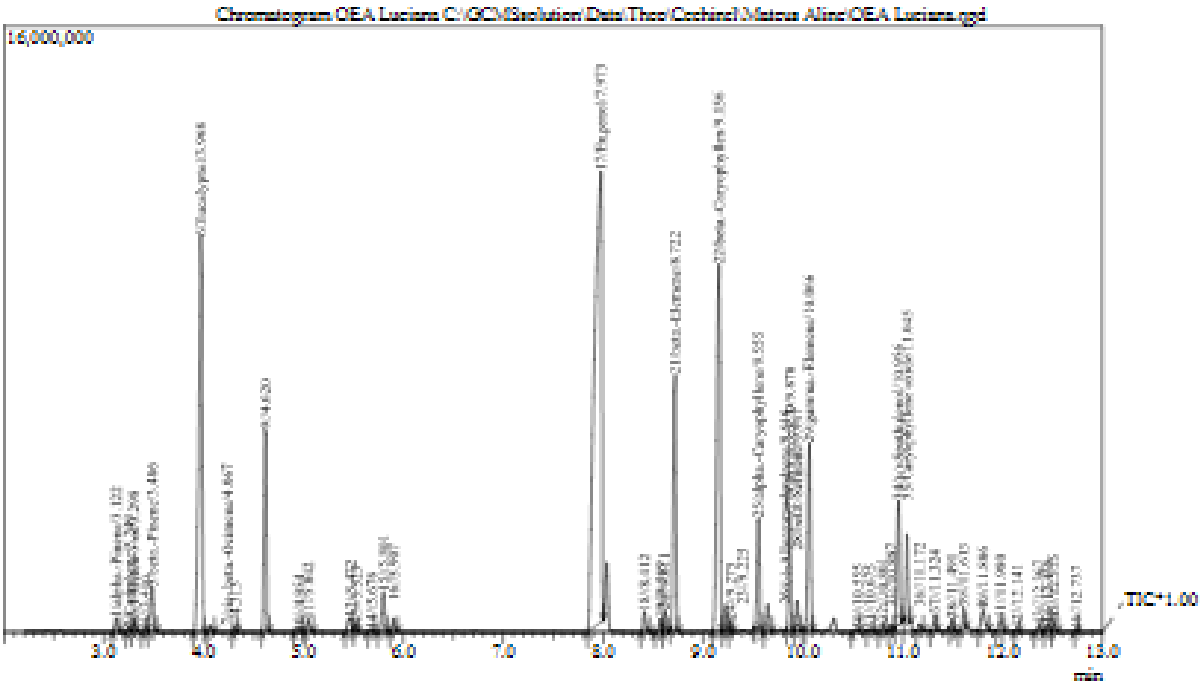
É sabido que ao utilizar extratos e óleos essenciais de plantas, as mesmas podem apresentar fontes alternativas de agente de controle acaricidas, anti-helmintico e inseticida, uma vez que constituem uma rica fonte de composto bioativos que são biodegradáveis em atóxicos e produto potencialmente adequado para o uso no controle de parasita (BAGAVAN et al., 2009).

Foi obervado que ocorre diferenças na compoição quimica da epecie pesquisada, essas diferenças podem ser atribuidas à quetão genética, e aos outros tipos de fatores, como as condições climatica, geografica, e desenvolvimento da planta. É sabido que a atividade biológica dos óleos essenciais depende da sua composição química determinada pelo genótipo e influenciada pelo meio ambiente e condições agronomicas (MAROTTI, et al, 1993).

Urge a necessidade de se bucar produto alternativos para o controle de carrapato, haja vista que são inúmeras as pequisas à respeito do controle de carrapato com o uso de fitoterapico vem sendo bastante investigado e diversas são as que têm ação carrapaticida. Uma vez que, esses fitoterapico possui baixa contaminação dos alimentos e no meio ambiente.

Tabela 07 – Composição química do óleo de *O. campechianum* Mill.

COMPOSTO		**CLASSE**	**% ÓLEO**
EUGENOL	7.973	FENOL	32,50
EUCALYPOL	3.968	MONOTERPENO	13,41
BETA-CARYOPHYLLEN	9,156	TERPENO	12,21
BETA-ELEMENE	7,05	SESQUITERPENOS	8,722
	4,620		5,37



5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no escopo dessa dissertação revelaram que *Ocimum campechianum* Mill.:

- Os flavanóides foram os metabolitos secundários que mais se expressaram.
- Dentre todos os tratamentos testados, o óleo essencial foi o que apresentou a melhor eficácia no teste biocarrapatocidograma, com 59,97%.
- O extrato aquoso, apesar de sua maior capacidade de extração de compostos secundários, mostrou-se menos eficaz que o extrato hidroalcóolico e o óleo essencial.
- Os contituientes magoritários da epécie estudada foram: fenol, monoterpeno, terpeno e sequiterpenos

6. REFERENCIAS

AGUIAR, E. M. de**,** Isolamento e caracterização de óleos essenciais de piperáceas no Vale do Itajaí, Santa Catarina**.** Programa de Pós- Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina. FLORIANÓPOLIS – SC 2003.

ALBUQUERQUE, U. P. & ANDRADE, L. H. C., El género Ocimum L. (Lamiaceae) en el nordeste del Brasil. *Anales ard. Bot. Madrid,* 1998.

ANVISA (Agencia nacional de vigilância sanitária)- Resolução nº 104, de 14 de maio de 1999. http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/104_99.htm

Apel M. A. et al., Chemical composition and toxicity of the essential oils from Cunila species (Lamiaceae) on the cattle tick Rhipicephalus (Boophilus) microplus. Parasitol Res, 105:863–868, 2009.

Bagavan, A. et al., Adulticidal and larvicidal efficacy of some medicinal plant extracts against tick, fluke and mosquitoes. Veterinary Parasitology 166, 286–292, 2009.

BENITEZ,N. P., LEÓN, E. M. M. e STASHENKO, E., E., Eugenol and Methyl Eugenol Chemotypes of Essential Oil of Species *Ocimum gratissimum* L. and *Ocimum campechianum* Mill. from Colombia. Journal of Chromatographic Science, Vol. 47, October 2009.

BIANCHI, M. de L. P. e ANTUNES, L. M. G., Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. Rev. Nutr. 12(2): 123-130, maio/ago, Campinas, 1999.

BITTENCOURT, A. M .C .M .S., NIERO, R. e CECHINEL FILHO, R. N., Considerações gerais sobre aspectos químicos e biológicos de plantas medicinais. IN: Fármacos e medicamentos: uma abordagem multidisciplinar/ coordenadores: Tania Mari B. B. e Valdir C. F. – São Paulo: Santos, 2010.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C. e REZENDE, C. M., Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. Química Nova, Vol. 32, No. 3, 588-594, 2009.

BLANK, A. F., et. Al., Caracterização morfológica e agronômica de acessos de manjericão e alfavaca. Hortic. Bras. Vol.22 nº1, Jan.-Mar. Brasília, 2004.

BOSCOLO, O. H. e SENNA VALLE, L., Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. IHERINGIA, Sér. Bot., Porto Alegre, 2008. v. 63, n. 2, p. 263-277, jul./dez. Bras. Pl. Med**.**, v.7, n.1, p.26-29, Botucatu, 2004.

BROGLIO-MICHELETI, S. Mª. F., et al., Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. In: Rev. Bras. Parasitol. Vet. v. 18, n. 4, p. 44-48, out.-dez, Jaboticabal, 2009.

BUZATTI, A. et al., Atividade acaricida *in vitro* de *Glechon spathulata* Benth. sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus.* sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus.* Ciência Rural, v.41, n.10, out, 2011.

CAMILO, G. et al., Eficiência *in vitro* de acaricidas sobre carrapatos de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Ciência Rural, v.39, n.2, p.490-495, mar-abr, , Santa Maria, 2009.

CAMPOS JÚNIOR, D. A. e OLIVEIRA, P. R. de, Avaliação *in vitro* da eficácia de acaricidas sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) de bovinos no município de Ilhéus, Bahia, Brasil. Ciência Rural**,** v.35, n.6, p.1386-1392, Santa Maria, 2005.

CAROVIC-STANKO, K.., et al., Molecular and chemical characterization of the most widespread Ocimum species. Plant Syst Evol, 294:253–262, 2011.

CAROVIC-STANKO, K.., et al., Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. Food chemistry - Pages 196–201. March 2010,

CARVALHO, W. A., O papel das imunidades nas relações parasito-hospedeiro: o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e bovinos resistentes ou susceptíveis. – Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006.

CASTRO, K. N. C. et al., Avaliação *in vitro* do extrato do pinheiro brasileiro para controle do carrapato dos bovinos. Rev. Bras. de Agroecologia/nov. 2009.

CASTRO, K. N. C. et al., Prospecção de plantas medicinais para controle do carrapato dos bovinos. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 95. Embrapa Meio-Norte, Teresina , 2010.

CHAGAS, Ana Carolina de Souza et. al.**,** Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Rhipicephalus Boophilus microplus.* Braz. J. vet. Res. anim. Sci., v. 39, n. 5, p. 247-253, São Paulo, 2002.

CHAGAS, Ana Carolina de Souza et. al., Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. Ciência Rural, v.33, n.1, jan-fev, Santa Maria, 2003.

CHUGSAMARNTART, N. e JANSAWAN, W., Effect of *Tamarindus indicus* L. Against the *Boophilus microplus*. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 35 : 34 - 39 (2001).

CLEMENTE, M. A., et. al., Avaliação do potencial de plantas medicinais no controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). Revista Brasileira de Biociências, v. 5, supl. 2, p. 516-518, jul. Porto Alegre, 2007.

CRAGG, G. M. e NEWMAN, D. J., Biodiversidade: um componente essencial na descoberta de fármacos. IN: Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia: Organizadores: Rosendo A. Y. e Valdir C. F. – 3 ed., Itajai: Universidade do Vale do Itajai, 2012.

CRAVEIRO, A. A. e QUEIROZ, D.C. de, Óleos essenciais e química fina. Química Nova, 16(3), 1993.

CUNHA, A. Proença da, Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes ativos e fitoterapia, 2005**.** In:http://www.antoniopcunha.com.sapo.pt/

DAMS, R. I., Pesticidas: uso e perigos à saúde e ao meio ambiente, Revista Saúde e Ambiente - Health and environment journal, V. 7, n. 2 p. 37-44. Joinville-SC, 2006.

DI STASI, Luiz Cláudio, Arte, ciência e magia. STASI, Luiz Cláudio Di et. al., Plantas Medicinais: Arte e Ciência. Um Guia de Estudo Interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade Paulista, 1996.

DRUMMOND, R. O. et al., *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laborarory test of insecticides. **Journal EconomicalEntomology**, v.66, n.1, p.130-133, 1973.

FARIAS, N. A., RUAS, J. L., e SANTOS, T. R B. dos, Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região sul do Rio Grande do Sul. Ciência Rural, v.38, n.6, p.1700-1704, Santa Maria, 2008.

FERNANDES, F. de F. e FREITAS, E. de P. S., Acaricidal activity of an oleoresinous extract from Copaifera reticulata (Leguminosae: Caesalpinioideae) against larvae of the southern cattle tick, Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae). Veterinary Parasitology 147, 150–154, 2007.

FONSECA, L. A. da, Impactos econômicos causados pela infestação de carrapatos em bovinos e o controle estratégico. Revista ProCampo 39ª Edição (Agosto/Setembro-2012). Disponivel em: http://www.revistaprocampo.com.br/ver-noticia/68.

FREITAS, D. R. J. de, POHL, P. C. e VAZ JR., I. da S., Caracterização da resistência para acaricidas no carrapato Boophilus microplus. Acta. Sciential Veterinarie. 33(2): 109-117, 2005.

FURLONG, J; MARTINS, J. R. de S., Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora - MG, 2000.

GAZIM, Z. C., et al., Acaricidal activity of the essential oil from Tetradenia riparia (Lamiaceae) on the cattle tick Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari; Ixodidae). Experimental Parasitology 129: 175–178, 2011.

GAZIM, Z. C., et al., Seasonal Variation, Chemical Composition, and Analgesic and Antimicrobial Activities of the Essential Oil from Leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd in Southern Brazil. *Molecules*, *15*, 5509-5524, 2010.

GUERRA, M. P. e NODARI, R. O., Bidiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento/organizado por Cláudia M.O.S.et al.- 6.ed. – Editora UFSC: Porto Alegre, 2007.

HEIMERDINGER, Arli., Extrato alcoólico de capim-cidreira (*cymbopogon citratus*) no controle do carrapato (*Boophilus microplus*) de bovinos leiteiros. Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós- Graduação em Zootecnia, área de Produção Animal/ Bovinocultura de Leite, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM – RS), Santa Maria, RS – Brasil 2005.

HENRIGUESA. T., SIMÕES-PIRES, C. A. e APEL, M. A., Óleos essenciais: importância e perspectivas terapêuticas. In: Química de novos fármacos e a moderna farmacognosia, 3. Ed. Universidade do Vale do Itajaí, 2012.

IBGE – Instituto Brasileiro de geografia e Estatística, Efetivo nacional de bovinos cresce 1,5 em 2009. Comunicação Social 26 de outubro de 2011.

JONSSON, N. N., et al., Production effects of cattle tick (Boophilus microplus) infestation of high yielding dairy cows. Veterinary Parasitology 78. p.65-77. 1998.

KERROLA, K., GALAMBOSI, B. e KALLIOT, H., Volatile Components and Odor Intensity of Four Phenotypes of Hyssop *(Hyssopus officinalis* L.). *J. Agric. Food Chem.* , *42,* 776-781, 1994.

KLAFKE, G. M., Resistência de R. (B.) microplus contra os carrapaticidas. In: Rhiphicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência, MedVet São Paulo, 2008.

KOLLER, W. W., GOMES, A. e BARROS, A. T. M. *de,* Diagnóstico da Resistência do Carrapato-do-boi a Carrapaticidas em Mato Grosso do Sul. Dados eletrônicos. -- Embrapa Gado de Corte, Campo Grande-MS, 2009.

LABRUNA, M. B., Combate contra R.(B.) microplus. In: Rhiphicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência, MedVet, São Paulo, 2008.

LEAL, A. T., FREITAS, D. R. J. de & VAZ JR., I. da S., Perspectivas para o controle do carrapato bovino. Acta Scientiae Veterinariae, 31(1): 01-11-2003.

LINO, C. S., Evaluation of antinociceptive and antiinflammatory activities of the essential oil (eo) of *ocimum micranthum* willd. from northeastern brazil. *phytother. res.* 19, 708–712 (2005).

LOPES, W. D. Z., et al., Abundância e sazonalidade de histerídeos (Coleoptera) associados ao esterco de granja aviária da Região Nordeste do Estado de São Paulo, Brasil**.** Revista Brasileira de Entomologia 50(4): 492-497, dezembro 2006.

LOVIS, L., et al., Use of the Larval Tarsal Test to determine acaricide resistance in Rhipicephalus (Boophilus) microplus Brazilian field populations. Veterinary Parasitolog (2012). Disponível In: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.011.

MACHADO, H., et al., Flavonóides e seu potencial terapêutico. Boletim do Centro de Biologia da Reprodução, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, Juiz de Fora, 2008.

MAGADUM, S., MONDAL, D. B. & GHOSH, S., Comparative efficacy of Annona squamosa and Azadirachta indica extracts against Boophilus microplus Izatnagar isolate. Parasitol Res 105:1085–1091 (2009).

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/ Acessado em: Junho/2012.

MARCO P. H. , POPPI, R. J. e SCARMINIO, I. S., Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. Quim. Nova, Vol. 31, No. 5, 1218-1223, 2008.

MARQUES, D. da C., Criação de bovinos. 7 ed. Ver., atual e ampl. – Belo Horizonte – CVP, 2003.

MARTINEZ-VELAZQUEZ, M, 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 108:481–487 (2011).

MARTINS, João Ricardo, Carrapato Bovino, Julho de 2002. Disponível em: http://www.carrapatobovino.com/index.htm.

MAZZAFERA , Paulo, Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol**.** Revista Brasil. Bot., V.26, n.2, p.231-238, jun. 2003.

MEDEIROS, Maria F. T., FONSECA, V. S. da e ANDREATA, R. H. P., Plantas medicinais e seus usos pelos sitiantes da Reserva Rio das Pedras, Acta bot. bras**.** 18(2): 391-399. 2004.

MENDES, M. C., LIMA C. K. Pinto, 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. Arq. Inst. Biol., v.75, n.3, p.371-373, jul./set., São Paulo, 2008.

MONTEIRO, C. M. de, et al., Acaricidal activity of eugenol on Rhipicephalus microplus (Acari: Ixodidae) and Dermacentor nitens (Acari: Ixodidae) larvae. Parasitol Res., 24 maio de 2012.

MORAIS, T. P. S., Produção e composição do óleo essencial do manjericão (*Ocimum brasilicum*) sob doses de cama de frango. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Urbelândia como parte das experiências do programa de Pós-Graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia. Uberlândia – MG, 2006.

MOREIRA, A. V. B. e MANCINI-FILHO, Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. Rev. Nutr., 17. (4): 411-424, out./dez., Campinas, 2004.

MUSCHIETTI, L. V. e MARTINO, V. S., Atividades biológicas dos flavonoides naturais. Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia. 3 ed. - Itajaí-Universidade do vale do Itajaí, 2012.

NASCIMENTO, P. F. C., et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn. 17(1): Jan./Mar, 2007.

NETO, S. F. P. e TOLEDO-PINTO, E. A., Análise da eficiência de carrapaticidas contra *boophilus microplus* em gado leiteiro**.** REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA - ISSN 1679-7353. ANO III, Número, 07, Junho de 2006.

NEVES, E. de S., Avaliação “in vitro” da eficiência de dois imunógenos recombinantes derivados do peptídeo SBm 7462 para o controle do carrapato Rhiphicephalus (Boophilus) Microplus (Canestrini, 1887). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 2011.

NIERO, f. & MALHEIROS A., Principal aspectos químicos e biológicos de terpenos. IN: Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia/ Rosendo augusto Yunes, Valdir Cechinel Filho (org) – 3. Ed. Ver. E ampl. – Itajaí: universidade do Vale do Itajaí, 2012.

OLIVEIRA, R. A. de, OLIVEIRA Fernando Faustino de, SACRAMENTO Célio Kersul, Óleos essenciais: perspectivas para o agronegócio de especiarias na Bahia. Bahia Agrícicola, v.8, n. 1, nov. 2007.

OLIVO, C. J. et al. , Extrato aquoso de fumo em corda no controle do carrapato de bovinos. Ciência Rural, v.39, n. 4, p.1131-1135, jul, 2009.

PARDINI, M. M., produção de óxido nítrico e interferon-gama por células mononucleares de sangue periférico de bovinos infestados artificialmente por Boophilus microplus. Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2008.

PARK, MI-JIN, Antifungal Activities of the Essential Oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Baile*y* and their Constituents against Various Dermatophytes. The Journal of Microbiology, p. 460-465. October 2007.

PEREIRA, Amílcar Alarcon, Aspectos ecológicos de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARINA: IXODIDAE) no município de Franca, Noroeste de São Paulo. Jaboticabal, 2008a.

PEREIRA, M. de C. e LABRUNA, M. B., *Rhipicephalus (Boophilus) microplus.* MedVet: São Paulo, 2008.

PEREIRA, M. de C., Introdução. MedVet: São Paulo, 2008.

PESSOA, L. M., Anthelmintic of essential oil of Ocimum gratissimum Linn. and eugenol against haemonchus contortus. Veterinary Parasitology, 109, 59-63, 2002.

PIRES, J. E. P., Efeito dos extratos aquoso e etanolico de planta *Simarouba versicolor,* St. Hill sobre larvas e teleóginas de carrapatos *Boophilus microplus,* Canestrini, 1887 e *Rhipicephalus sanguineus,* Latreille, 1806. Teresina: 2006

PRIMACK, R. B. e RODRIGUES, E., Biologia da conservação, Londrina, 2001.

RAYNAL, J. T.; Acaricides efficiency on *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* from Bahia state North-Central region. Rev. Bras. Parasitol. Vet., v. 22, n. 1, p. 71-77, jan.-mar. Jaboticabal, 2013.

RODRIGUES, V. E. G. e CARVALHO, D. A., Plantas medicinais do cerrado. Larvas: UFLA, 2001.

ROSADO-AGUIAR et al., Acaricidal activity of extracts from Petiveria alliacea (Phytolaccaceae) against the cattle tick, Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: ixodidae). Veterinary Parasitology 168 (2010).

ROSAS, J. F., et al., Comparação dos óleos voláteis das folhas de *Ocimum micranthum Willd*. Obtidos por hidrodestilação destilação-extração simultânea. Rev. Bras. Med., v.7, n.1, p.26-29, Botucatu, 2004.

RUFINO, M. do S. M., Metodologia Cientifica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Comunicado técnico, 125: Julho – Fortaleza-CE, 2006.

RUFINO, M. do S. M., Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. Comunicado técnico, 128: Julho – Fortaleza-CE, 2007.

SACCHETTI, G., et al., Composition and functional properties of the Essential Oil of Amazonian Basil, *Ocimum micranthum* Willd., Labiatae in comparison with commercial Essential Oils. J. Agric. Food Chem. , *52,* 3486-3491, 2004.

SANTOS, C. C. dos, et al., *in vitro* effect of the association of citronella, santa maria herb (*chenopodium ambrosioides)* and quassia tincture on cattle tick *rhipicephalus (boophilus) microplus.* Ci. Anim. Bras., Goiânia, v.14, n.1, p. 113-119, jan./mar. 2013.

SANTOS e VOGEL, Avaliação *in vitro* da ação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus.* Rev. bras. plantas med. vol.14 no.4 Botucatu, 2012.

SANTOS, A. V.; OLIVEIRA, R. A. de e ALBUQUERQUE, G. R., Efeito *in vitro* do extrato de nim (*Azadirachta indica*) e óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Rhipcephalus (Boophilus) microplus*. Ver. Bras. Med. Vet., 34(2):111-115, abr/jun 2012.

SANTOS, F. C. C. dos, VOGEL, F. S. F. e MONTEIRO, S. G., Efeito do óleo essencial de manjericão (*Ocimum basilicum* L.) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em ensaios *in vitro.* Semina: Ciências Agrárias, v. 33, n. 3, p. 1133-1140, maio/jun., Londrina, 2012a.

SANTOS, L. G. M. dos, et al., Avaliação do potencial fungitóxico do óleo essencial de Syzygium aromaticum (L.) Merry & Perry (cravo-da-índia), *TECNO-LÓGICA,* v. 11, n. 1, p. 11-14, jan./dez., Santa Cruz do Sul,2007.

SANTOS, T. R. B. dos et al., Uso de acaricidas em *Rhipicephalus (B.) microplus* de duas regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul. Acta Scientiae Veterinarie. 36(1): 25-30, 2008.

SANTOS, T.R.B.,et al., Abordagem sobre o controle do carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* no sul do Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 29(1):65-70, janeiro 2009.

SCHERER, R., WAGNER, R., DUARTE, M.C.T., GODOY, H.T., Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. Rev. Bras. Pl. Med., v.11, n.4, p.442-449, Botucatu, 2009.

SEIXAS, A., A reprodução em carrapatos e a avaliação de uma enzima de destaque neste processo como antígeno vacinal contra R*hipicephalus* (*Boophilus*) *microplus.* Tese submetido ao programa de pós-graduação em Biologia Celular e molecular da UFRGS. Como parte dos requisitos para obtenção de título de doutor. Porto Alegre, 2008.

SILVA FILHO, Manoel Lopes da avaliação in vitro da ação antiparasitária do extrato aquoso e etanólico do angico preto (*anadenanthera macrocarpa*) (benth.) brenan sobre o carrapato *rhipicephalus* (*boophilus*) *microplus* (canestrini, 1887). Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, Área de Concentração: Clínica Médico – Cirúrgica de Animais de interesse econômico. Teresina – Piauí, 2007**.**

SILVA, A. B. da, Biologia reprodutiva e citogenética da alfavaca do campo *(Occimum campechianum Mill.* Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do titulo de mestre. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB, Vitória da Conquista-Ba, 2007**.**

SILVA, F. F. et al., Avaliação comparativa da eficácia de fitoterápicos e produtos químicos carrapaticidas no controle do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) por meio do biocarrapaticidograma. Medicina Veterinária, v.2, n.3, p.1-8, jul-set, Recife, 2008.

SILVA, M.G. de V., et al., Composition of essential oils from three *Ocimum* species obtained by steam and microwave distillation and supercritical CO2 extraction. ARKIVOC, (vi) 66-71, 2004.

SILVA, W. W. et. al, Efeitos do neem (Azadirachta indica A. Juss) e do capim santo [Cymbopogon citratus (DC) Stapf] sobre os parâmetros reprodutivos de fêmeas ingurgitadas de Boophilus microplus e Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae) no semiárido paraibano. Rev. Bras. Pl. Med**.**, v.9, n.3, p.1-5, Botucatu, 2007.

SILVA, W. W., et al., Resistência de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Riphicephalus sanguineus* (ACARI: IXODIDAE) a carrapaticidas no semi-árido paraibano: efeito da cipermetrina e do amitraz*.* Agropecuária Científica no Semi-árido 01 59-62 (2005).

SILVA, W.C. et.al., Toxicity of Piper aduncum L. (Piperales: Piperaceae) from the Amazon forest for the cattle tick Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae). Veterinary Parasitology 164, 267–274(2009).

SIMÕES, C. M. O. e SPITZE, V., Óleos voláteis. In: Farmacognosia da planta ao medicamento. 6. Ed. Editora da UFRGS; Florianópolis- Porto Alegre, 2007.

SOUSA, L. A. D. de . et.al., Avaliação da eficácia de extratos oleosos de frutos verdes e maduros de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *rhipicehalus (B.) microplus* (Acari: ixodidae. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 17, n. 1, p.36-40, 2008.

SOUSA, S. T. de, Estudo da atividade biológica de *ocimum campechianum* Mill. e determinação de seu perfil fitoquimico. Dissertação de mestrado- universidade Federal de Pernambuco – Recife, 2004.

SOUZA A. A. e WIEST, J. M., Atividade anti-bacteriana de Aloysia gratissima (Gill et Hook) Tronc. (garupá, erva-santa), usada na medicina tradicional no Rio Grande do Sul – Brasil. Rev. Bras. Pl. Med., v.9, n.3, p.23-29, Botucatu, 2007.

SPAGNOL, F. H.; PARANHOS, E. B. e ALBUQUERQUE, G. R.; Avaliação *in vitro* da ação de acaricidas sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini, 1887 (Acari: Ixodidae) de bovinos leiteiros no município de Itamaraju, Bahia, Brasil. Ciên. Anim. Bras., v. 11, n. 3, p. 731-736, jul./set. Goiânia, 2010.

SRIVASTAVA et al., Efficacy of Azadirachta indica extracts against Boophilus microplus. Parasitol Res 104:149–153 (2008).

SUGUISAWA, Liliane e SOUTELLO, Ricardo Velludo Gomes de, Livres do carrapato: Os carrapatos causam perdas de 8 dólares/cabeça/ano no Brasil e a seleção de animais geneticamente resistentes aparece como a melhor alternativa para amenizar o problema. Revista Cultivar Bovinos, ano 1, n. 9, p. 18-20, 2004.

TERCI, D. B. L. e ROSSI, A. V., Indicadores naturais de ph: usar papel ou solução? Quim. Nova, Vol. 25, No. 4, 684-688, 2002.

TOMEI, R. R. e SALVADOR, M. J., Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais**.** XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2007. Disponível In: www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2007/.../epg/EPG00322_01C.pdf

URUÇUCA, perfil socioeconômico do municipio. Disponivel in: www.abara.org.br/bancoDados/CDAC_Urucuca.pdf

VALAZQUEZ, M. M., 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 108:481–487 (2011).

VIEIRA, P. R. N., Atividade antifúngica dos óleos essenciais de espécies de. *Ocimum frente a cepas de Candida* SPP. E *Microsporum canis*. Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito

parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias. Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal. Linha de Pesquisa: Reprodução e sanidade de carnívoros, onívoros, herbívoros e aves. Fortaleza, 2009.

VIEIRA, R. e SIMON, J, Chemical characterization of Brasil (occimum SPP) found in the markets and used in traditional medicine in Brasil. . Economic Botany 54(2) pp. 207-216. 2000.

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

VOGEL, G. C. F. F., Eficiência *in vitro* de acaricidas sobre carrapatos de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Ciência Rural, v.39, n.2, p.490-495, mar-abr, Santa Maria, 2009.

ZUANAZZI, J. A. S. & MONTANHA, J. A., Flavanoides. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4. ed. UFRGS: Porto Alegre, 2007.