

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**AVALIAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CAPIM
LIMÃO, CITRONELA E EUCALIPTO NO CONTROLE
DO CARRAPATO**

TESE DE DOUTORADO

Carlos Alberto Agnolin

Santa Maria, RS - Brasil.

2012

**AVALIAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CAPIM LIMÃO,
CITRONELA E EUCALIPTO NO CONTROLE DO
CARRAPATO**

Carlos Alberto Agnolin

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Produção Animal/Bovinocultura de Leite, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM/RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Zootecnia.**

Orientador: Prof. Dr. Clair Jorge Olivo

**Santa Maria, RS – Brasil
2012**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Agnolin, carlos alberto
AVALIAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CAPIM LIMÃO,
CITRONELA E EUCALIPTO NO CONTROLE DO CARRAPATO / carlos
alberto Agnolin.-2012.
82 p.; 30cm

Orientador: Clair Jorge Olivo
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, RS, 2012

1. Zootecnia 2. Gado leiteiro 3. Carrapaticida 4.
Fitoterápicos 5. Propriedades organolépticas do leite I.
Olivo, Clair Jorge II. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Tese de Doutorado

**AVALIAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CAPIM LIMÃO, CITRONELA
E EUCALIPTO NO CONTROLE DO CARRAPATO**

elaborada por
Carlos Alberto Agnolin

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Clair Jorge Olivo, Dr.
(Presidente/Orientador)

Mari Inês Carissimi Boff, Dra. (UDESC)

Dionísio Link, Dr.(UFSM)

Marta Lizandra do Rêgo Leal, Dra.(UFSM)

Gilberto Vilmar Kozloski, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 15 de Março de 2012.

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

AVALIAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CAPIM LIMÃO, CITRONELA E EUCALIPTO NO CONTROLE DO CARRAPATO

AUTOR: CARLOS ALBERTO AGNOLIN

ORIENTADOR: CLAIR JORGE OLIVO

Data e local da defesa: Santa Maria, 15 de Março de 2012.

Esta pesquisa foi conduzida com o objetivo de avaliar o efeito *in vitro* e *in vivo* do óleo de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.), citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) e eucalipto (*Corymbia citriodora*) sobre o carrapato bovino (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*), sendo que cada óleo essencial corresponde a um experimento. Nas experimentações *in vitro* foi utilizado o grupo controle negativo e oito concentrações de óleo de capim limão, de citronela e de eucalipto (0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0%), em fêmeas ingurgitadas de carrapatos. A eficácia de controle foi de 0; 20; 39; 99,5; 100; 100; 100; 100 e 100% para o óleo de capim limão; de 0; 34,5; 43; 48; 82; 99; 99; 100 e 100% para o óleo de citronela e de 0; 30,5; 75,5; 91; 100; 100; 100; 100 e 100% para o óleo de eucalipto, respectivamente. Para a experimentação *in vivo* foram constituídos três grupos para cada experimento (controle negativo, óleo essencial - nível estimado mediante análise de regressão, correspondendo a 95% de eficácia de controle do carrapato da pesquisa *in vitro* e amitraz a 0,025%), com dezoito vacas da raça Holandesa. Antes (média dos dias -3, -2, -1) e após a aplicação do produto (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21 dias), foram contadas fêmeas ingurgitadas de carrapato. A eficácia de controle 21 dias após a aplicação dos produtos foi de 0; 54 (capim limão a 2%) e 74,5%; de 0; 91,3 (citronela a 8,6%) e 60% e de 0; 96,4 (eucalipto a 3,5%), e 69%, para os respectivos tratamentos *in vivo*. Na 1ª e na 2ª ordenha após a aplicação dos tratamentos, foram avaliadas variáveis fisiológicas e coletadas amostras de leite para avaliar as propriedades organolépticas no leite e do iogurte (controle negativo x tratamento fitoterápico). O teste de aceitação sensorial do leite e as variáveis fisiológicas avaliadas foram similares entre os tratamentos nos três experimentos *in vivo*.

Palavras-chave: Acaricida, fitoterápico, gado leiteiro, variáveis fisiológicas, propriedades organolépticas do leite.

GENERAL ABSTRACT

Thesis of Doctor's Degree
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

EVALUATION OF ESSENTIAL OILS LEMONGRASS, CITRONELLA AND EUCALYPTUS IN TICK CONTROL

AUTHOR: CARLOS ALBERTO AGNOLIN

ADVISER: CLAIR JORGE OLIVO

Date and defense's place: Santa Maria, March 15, 2012.

This research was aimed at evaluating *in vitro* and *in vivo* effects of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) oil, citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) oil and eucalyptus (*Corymbia citriodora*) oil on cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*), each of which corresponds to an essential oil experiment. Negative control group end eight concentrations of lemongrass oil, citronella oil and eucalyptus oil (0.5; 1; 2; 5; 10; 20; 50; 100%), were used on *in vitro* trials with engorged female ticks. The efficacy control ticks was 0; 20; 39; 99.5; 100; 100; 100; 100 and 100%, for lemongrass oil, of 0; 34.5; 43; 48; 82; 99; 99; 100 and 100%, for citronella oil and 0; 30.5; 75.5; 91; 100; 100; 100; 100 and 100%, of oil, respectively. On *in vivo* trial eighteen Holstein cows were allocated to three groups for each treatment (negative control, essential oil - level estimated by regression analysis, accounting for 95% efficacy of control ticks on *in vitro* trial and amitraz at 0.025%). Engorged female ticks were counted before (mean of days -3, -2, -1) and after treatment (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21 days). Twenty one days after application of the products, the efficacy on control ticks was 0; 54 (lemongrass oil at 2%) and 74.5%; of 0; 91.3 (citronella oil at 8.6%) and 60%; and 0; 96.4 (eucalyptus oil at 3.5%) and 69%, respectively for *in vivo* treatments. On the 1st and 2nd milked after treatments, physiologic variables were evaluate and milk samples were collected to evaluate organoleptic properties in milk and yoghurt (negative control x phytotherapeutic treatment). Similar results were found with sensorial acceptance test of milk and physiologic variables, in the three *in vivo* experiments.

Key words: Acaricide, dairy cattle, phytotherapeutic, physiologic variables, milk organoleptic properties.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 3

- Tabela 1- Médias porcentuais de eclodibilidade de larvas e da eficácia das soluções constituídas pelo controle e por diferentes concentrações de óleo de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) aplicado sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pela técnica do biocarrapaticidograma. Santa Maria, RS, 2011..... 36
- Tabela 2- Efeito da solução aquosa contendo óleo de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) e do amitraz no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos da raça Holandesas. Santa Maria, RS, 2011..... 37
- Tabela 3- Dados médios da análise sensorial do leite cru e do iogurte após a aplicação de soluções contendo óleo de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em vacas da raça Holandesa. Santa Maria, RS, 2011..... 38
- Tabela 4 - Variáveis fisiológicas de vacas da raça Holandesa, submetidos à aplicação de solução aquosa contendo 2,0% de óleo do capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Santa Maria, RS, 2011..... 39

Capítulo 4

- Tabela 1- Médias porcentuais de eclodibilidade de larvas e da eficácia das soluções constituídas pelo controle e por diferentes concentrações de óleo mineral e óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) aplicado sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pela técnica do biocarrapaticidograma. Santa Maria, RS, 2011..... 53
- Tabela 2- Efeito da solução aquosa contendo do óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) e do amitraz no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos da raça Holandesa. Santa Maria, RS, 2011..... 54
- Tabela 3 - Dados médios da análise sensorial do leite cru e do iogurte após a aplicação do óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em vacas da raça Holandesa. Santa Maria, RS, 2011..... 55
- Tabela 4 - Variáveis fisiológicas de vacas da raça Holandesa, submetidas à aplicação de soluções contendo 8,6% de óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Santa Maria, RS, 2011..... 56

Capítulo 5

Tabela 1-	Médias porcentuais de eclodibilidade de larvas e da eficácia das soluções constituídas por diferentes concentrações de óleo de eucalipto (<i>Corymbia citriodora</i>) aplicado sobre teleóginas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> pela técnica do biocarrapaticidograma. Santa Maria, RS, 2011.....	69
Tabela 2-	Efeito da solução aquosa contendo óleo de eucalipto (<i>Corymbia citriodora</i>) e do amitraz no controle do carrapato <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> em bovinos da raça Holandesa. Santa Maria, RS, 2011.....	70
Tabela 3 -	Dados médios da análise sensorial do leite cru e do iogurte após a aplicação de solução contendo óleo de eucalipto (<i>Corymbia citriodora</i>) no controle do carrapato <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> em vacas da raça Holandesa. Santa Maria, RS, 2011.....	71
Tabela 4 -	Variáveis fisiológicas de vacas da raça Holandesa, submetidas à aplicação de soluções aquosa contendo 3,5% de óleo de eucalipto (<i>Corymbia citriodora</i>) para o controle do carrapato <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> . Santa Maria, RS, 2011.....	72

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	9
1.1 Introdução	9
1.2 Hipóteses	10
1.2.1 Hipótese geral	10
1.2.2 Hipóteses específicas	11
1.3 Objetivos	11
1.3.1 Objetivo geral	11
1.3.2 Objetivos específicos	11
1.4 Estrutura do trabalho	12
CAPÍTULO 2 - ESTUDO BIBLIOGRÁFICO	13
2.1 Carrapato	13
2.2 Fitoterápicos	16
2.3 Óleos Essenciais	17
2.3.1 Capim limão.....	19
2.3.2 Citronela.....	20
2.3.3 Eucalipto.....	22
CAPÍTULO 3 - Efeito do óleo de capim limão no controle do carrapato bovino	25
Resumo.....	25
Abstract.....	25
Introdução.....	26
Material e Métodos	27
Resultados e Discussão	30
Conclusões	32
Referências Bibliográficas	32
CAPÍTULO 4 - Efeito do óleo de citronela no controle do carrapato bovino	40
Resumo.....	40
Abstract.....	40
Introdução	41
Material e Métodos	42
Resultados e Discussão	45
Conclusões	48
Referências Bibliográficas	49
CAPÍTULO 5 - Efeito do óleo de eucalipto no controle do carrapato bovino	57
Resumo.....	57
Abstract.....	57
Introdução	58
Material e Métodos	59
Resultados e Discussão	62
Conclusões	64
Referências Bibliográficas	65
CAPÍTULO 6 - DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	73
6.1 Discussão Geral	73
6.2 Conclusão Geral	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

CAPITULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 Introdução

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ectoparasita de bovinos e está distribuído nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (BARKER; MURRELL, 2004; OLWOCH et al., 2007). Estima-se que aproximadamente 75% da população mundial de bovinos é afetada por este ectoparasita (BORDIN, 1998). O aumento demográfico do carrapato ocorre principalmente devido ao cruzamento de raças de alta produção, mas com baixa resistência ao carrapato (FRISCH, 1999).

No Brasil, o carrapato é um dos principais problemas na criação de bovinos, considerando que, com exceção dos Estados da Região Sul, ocorre durante o ano todo (FURLONG, 2005). O controle deste parasita é feito principalmente através de acaricidas químicos, sendo estimado um gasto anual de US\$ 960 milhões, representando 34% do mercado de produtos veterinários (SINDAN, 2010).

Os prejuízos causados pelos carrapatos vão além dos gastos com acaricidas, pois são potenciais transmissores de patógenos que causam a *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*, (GHOSH et al., 2006; PETER et al., 2005), sendo os animais de raças da Europa mais sensíveis (KESSLER; SCHENK, 1998). Agrega-se ainda a perda de peso, diminuição na produção de leite, debilidade, anemia e morte dos animais (JONSSON, 2006; PETER, et al., 2005). Também podem-se citar as perdas indiretas, com os produtos químicos, mão-de-obra, contaminação ambiental e dos produtos de origem animal e vegetal (ANDREOTTI; GOMES, 2003), uma vez que, se não for cumprido o período de carência, o produto não deve ser destinado ao consumo humano (FURLONG; PRATA, 2006).

O uso contínuo de acaricidas tem levado ao problema de desenvolvimento de resistência nestes artrópodes (DAVEY et al., 2006), sendo observado que a cada 10 anos tem-se o surgimento de populações de carrapatos resistentes a uma classe química (FRISCH, 1999). Todos estes problemas têm provocado muitas discussões, agregando-se também a necessidade de produtos mais sustentáveis e ambientalmente saudáveis (DONALD, 1994). Nesse contexto o uso de substâncias fitoterápicas se constitui em uma estratégia importante, pois, além de sua ação

inseticida, são consideradas substâncias de fácil disponibilidade para o agricultor (AVANCINI, 1994), além de serem biodegradáveis e adequados para o controle integrado de pragas (RAMESHWAR, 2010).

Apesar disto, Murray (2000), comenta que apenas 1% do mercado mundial de inseticidas é constituído pelos praguicidas naturais. Entretanto, nos últimos anos os praguicidas de origem vegetal estão ganhando maior atenção e interesse de pesquisadores que buscam soluções menos agressivas ao ambiente, além de desempenhar um papel vital na produção de alimentos orgânicos (RAMESHWAR, 2010). Uma das formas de utilização destas plantas são os óleos essenciais que constituem uma alternativa eficaz e complementar aos compostos sintéticos da indústria química além de não apresentar efeitos secundários (CARSON; RILEY, 2003).

Os óleos essenciais presentes nas plantas desempenham papel de proteção contra bactérias, vírus, fungos e servem para atrair ou repelir insetos (BAKKALI et al., 2007). Substâncias presentes nos óleos essenciais podem apresentar variação de acordo com a forma de extração, clima, composição do solo, órgão da planta, idade e estágio do ciclo vegetativo (ANGIONI et al., 2006).

Dentre as espécies mais utilizadas para a extração de óleos essenciais destacam-se o capim limão, a citronela e o eucalipto, espécies adaptadas e cultivadas no Rio Grande do Sul, além de haver disponibilidade comercial de óleo essencial. Apesar de se ter várias pesquisas, com estas espécies, há poucos trabalhos em que é feita associação entre os testes *in vitro* e *in vivo*, e também sobre os possíveis efeitos destas substâncias nos animais e seus produtos como a carne e o leite, além da determinação do tipo e da quantidade de constituintes nas diferentes formulações que são apresentadas.

1.2 Hipóteses

1.2.1 Hipótese geral

Com base na composição dos óleos essenciais, com indicação de que alguns componentes apresentam ação inseticida, estabelece-se a hipótese de que soluções

constituídas com esses produtos apresentam graus distintos de controle do carrapato em bovinos leiteiros.

1.2.2 Hipóteses específicas

Para explicar a hipótese geral propõe-se com o presente trabalho as seguintes hipóteses específicas:

- Soluções constituídas por níveis crescentes de óleo essencial guardam relação com o controle do carrapato;
- O óleo mineral apresenta baixo controle do carrapato;
- Soluções avaliadas *in vitro* guardam relação com resultados *in vivo*;
- A aplicação da solução com fitoterápico nos animais, após a ordenha, não interfere nas características do leite e nas variáveis fisiológicas dos animais.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo Geral

Analisar o efeito das soluções constituídas pelos óleos essenciais de capim limão, citronela e eucalipto no controle de carrapato de bovinos.

1.3.2 Objetivos específicos

- Avaliar *in vitro* soluções constituídas por níveis crescentes de óleo essencial de capim limão, citronela, eucalipto e óleo mineral no controle de carrapato;
- Determinar os níveis de óleo de cada fitoterápico que apresentam maior controle sobre o carrapato bovino;

- Avaliar as características organolépticas do leite dos animais submetidos aos distintos tratamentos e do iogurte;
- Avaliar as variáveis fisiológicas dos animais submetidos aos tratamentos da experimentação *in vivo*.

1.4 Estrutura do Trabalho

Inicialmente desenvolveu-se o estudo bibliográfico, levantando-se informações técnico-científicas sobre o carrapato bovino, fitoterápicos e óleos essenciais de capim limão, citronela e eucalipto (capítulo 2).

Metodologicamente, serão estudadas *in vitro*, soluções constituídas por diferentes níveis de cada óleo. Para a avaliação *in vivo* usar-se-á o nível estimado para o controle de 95% do carrapato, mediante análise de regressão.

Os capítulos 3, 4 e 5 serão constituídos pelas avaliações *in vitro* e *in vivo* de cada óleo estudado. O capítulo 6 será constituído pela discussão e conclusão geral relacionada aos capítulos 3, 4 e 5.

CAPITULO 2 – ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

2.1 Carrapato

O carrapato dos bovinos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, única espécie do gênero *Boophilus* registrada no Brasil (FORTES, 1993), é originário da Ásia, mais precisamente da Índia e Ilha de Java, sendo encontrada em áreas tropicais e subtropicais entre os paralelos 32° norte e sul com alguns focos nos paralelos 35° norte e sul (WHARTON, 1974).

Atualmente é encontrado na Ásia, Austrália, México, América Central, América do Sul e África (KESSLER; SCHENK, 1998). Segundo Fortes (1993), o carrapato é um ectoparasita hematófago, cujo principal hospedeiro é o bovino, sendo que utiliza um só hospedeiro para completar seu ciclo evolutivo (monóximo), necessitando, obrigatoriamente, passar por duas fases em seu período de vida: vida livre e vida parasitária.

Na fase de vida livre a teleógina (fêmea fecundada e ingurgitada) se desprende do bovino e cai ao solo onde procura um local abrigado (úmido e escuro) para realizar a postura de até 2.000 ovos. Estes são de cor marrom brilhante, do tamanho de uma cabeça de um alfinete e visíveis a olho nu (VERÍSSIMO, 1993). Cordovés (1997) relatou que a viabilidade dos ovos de carrapato é superior a 85%. Com umidade relativa do ar em torno de 70% e com temperatura ambiente de 27°C, o período de postura se inicia 2 a 3 dias após o desprendimento do bovino, finalizando em 15 dias, aproximadamente. Sob condições ambientais desfavoráveis esse período pode se prolongar, assim como a formação da larva no interior do ovo e a sua eclosão que, em condições normais ocorre em 7 dias. O período para que as larvas eclodidas (neolarvas) se tornem infestantes é de 7 dias e ocorre por geotropismo negativo (tendência de se afastar da terra), subindo nos pastos a espera do bovino (CORDOVÉS, 1997; KESSLER; SCHENK, 1998). A larva do carrapato pode também ser transportada por hospedeiros casuais e então se soltar ou cair em condições viáveis. Não encontrando o hospedeiro, termina morrendo por exaustão (FORTES, 1997; PATARROYO; LOMBANA, 1994).

Na fase de vida parasitária, as larvas infestantes passam do pasto para o bovino e tendem a se fixar nas regiões de pele mais fina. Estas regiões são: períneo, base da cauda, entrepernas, virilha, úbere, escroto e interior da orelha. Porém em infestações severas podem se fixar em qualquer parte do corpo do animal (BRUM, 2003; FORTES, 1997). Dois dias após a infestação, as larvas transformam-se em metalarva (de cor rosa claro), 5 a 6 dias após transformam-se em ninfa (nesta fase possui quatro pares de patas) e 2 a 3 dias após em metaninfa. Das metaninfas podem sair machos (neandros) ou fêmeas (neógenas). A distinção dos sexos é feita pelo escudo dorsal, que no macho recobre todo o dorso e na fêmea não (URQUHART, 1990). Os neandros tornam-se adultos em 2 a 3 dias sendo então chamados de gonandros. As neógenas são fecundadas e logo começam a se alimentar de sangue (partenógena) em 2 a 3 dias e a teleógina em 2 dias. Nas últimas 12 horas, como teleóginas, têm o seu tamanho aumentado de 3 a 4 vezes, desprende-se do bovino e morrem após terem completado a postura (FREITAS, 1982).

O macho pode permanecer no animal por um período de até 3 meses, já a fêmea cai ao solo, em média, 21 dias depois de sua fixação ao hospedeiro. A quantidade de lipídeos da fêmea na camada externa passa de 22 μ g na fase larval para 63 μ g no momento que se encontra totalmente ingurgitada. Esta camada de cera a protege, evitando que seu corpo perca água (SONENSHINE, 1991).

A fase de vida parasitária, ao contrário da não parasitária, é pouco influenciada pelas condições climáticas. O clima afeta diretamente a fase de vida livre, determinando o número de infestações/gerações do carrapato nos bovinos durante o ano (KESSLER; SCHENK, 1998). Dessa forma, são necessárias estratégias de controle diferenciadas para as diferentes regiões do Brasil, respeitando as diferenças entre condições climáticas das regiões Sudeste e Centro-Oeste, das condições da região Sul, onde a infestação nos animais diminui no período entre os meses de maio a agosto, quando predominam as temperaturas mais baixas do ano (FURLONG; MASSARD, 1994).

Alguns dos prejuízos causados pelo carrapato aos bovinos são descritos por Veríssimo et al. (1994), tais como a perda de peso e a transmissão dos hemoparasitas *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* e *Anaplasma marginale*. Seu controle envolve custos com mão-de-obra para a aplicação dos banhos carrapaticidas, construção de instalações adequadas para a contenção dos animais,

aquisição de equipamentos e de produtos carrapaticidas para a realização das aplicações, além de perdas na indústria do couro. Os prejuízos causados por parasitas externos em rebanhos bovinos do Brasil superam a cifra de dois bilhões de dólares ao ano, dos quais 75% são atribuídos ao carrapato (GRISI et al., 2002). Segundo Patarroyo e Lombana (2004), deste prejuízo anual, US\$ 15 milhões são relativos aos custos dos produtos para o controle do carrapato.

Jonsson et al. (1998), trabalhando com vacas da raça Holandês em lactação, observaram redução de 2,86L de leite/dia em animais apresentando infestação por carrapato, além de perda de peso de 10,6 kg em relação ao grupo de vacas livres do carrapato, num período de 15 semanas. Os mesmos autores estimaram que cada teleógina é responsável pela perda diária de 8,9mL de leite e de 1,0g de peso corporal da vaca parasitada, durante o período experimental.

Para efetuar um bom controle do carrapato é preciso conhecer a sua taxonomia e a sua biologia (CORDOVÉS, 1997). O desenvolvimento de pastagens que controlem de alguma forma o parasita, a introdução de novos fármacos que deixem menos resíduos nos produtos de origem animal e a utilização de vacinas são consideradas alternativas adicionais importantes, pois, a utilização de produtos químicos como única forma de controlar a população pode levar ao desequilíbrio e ao aparecimento de resistência aos carrapaticidas (BRUM, 2003). Os carrapaticidas sintéticos devem ser considerados integrantes do sistema de manejo do carrapato, mas não a única alternativa. Por exemplo, para que seja feito um controle estratégico eficiente, há necessidade de conhecer a flutuação populacional do carrapato durante o ano, isto é, quais os meses em que a população está elevada.

Quanto à utilização de produtos químicos comerciais, encontram-se apenas variações em relação à eficácia quando são comparadas as regiões em que o produto foi experimentado. Os principais produtos utilizados são à base de piretróides, organofosforados e avermectinas, sendo esta última muito difundida, nos seus diferentes tipos de moléculas e pelo grande período em que permanece no organismo (LIMA, 1995).

Dentre os produtos carrapaticidas convencionais destaca-se o amitraz, constituído por grupo das formamidinas. Sua ação ocorre sobre a inibição das contrações do oviduto da teleógina, causando um bloqueio irreversível nas contrações, inibindo ou impedindo a postura (CORONADO; MUJICA, 1999). O uso do amitraz se intensificou com o desenvolvimento de resistência de algumas cepas aos

fosforados e aos piretróides, tornando-se este grupo uma das alternativas disponíveis para o controle do carrapato. Radostits et al. (2002), relataram que na Austrália este acaricida tem sido utilizado em cepas de carrapatos resistentes aos fosforados. Maske et al. (1994) observaram que teleóginas não realizaram postura quando tratadas com amitraz nas concentrações de 0,01%, 0,03% e 0,05%. Ressalta-se, no entanto, que esse produto apresenta um controle menor para formas imaturas do carrapato (HEIMERDINGER et al., 2006).

Na maioria das vezes a utilização de produtos químicos sintéticos como única forma de controle do carrapato tem provocado aumento da contaminação ambiental, além da contaminação do leite e da carne disponível à alimentação humana (MOLENTO et al., 2004), notadamente devido a não observância dos períodos de carência dos carrapaticidas (HEIMERDINGER et al., 2006).

A busca por formas alternativas de controle aos carrapatos aumentou, a partir de 1990. Dentre as quais, o uso de fitoterápicos destaca-se devido a grande variabilidade de plantas existentes, o baixo custo e a disponibilidade em determinadas regiões (AVANCINI, 1994).

2.2 - Fitoterápicos

Apesar de o Brasil possuir aproximadamente 55.000 espécies de plantas e ser considerado o País com a maior biodiversidade no mundo, estudos sobre possíveis efeitos terapêuticos de substâncias oriundas das plantas são muito reduzidos (DI STASI, 1996), sendo também poucas as informações conhecidas sobre a composição química de aproximadamente 99,6% das plantas da flora brasileira.

Atualmente, com métodos mais apurados de pesquisa, de separação e quantificação de princípios ativos, pode-se encontrar e medir com sucesso essas substâncias presentes em plantas (TAYLOR et al., 2001). Isso traz um novo alento ao conhecimento sobre a composição química de plantas que, com o desenvolvimento de métodos mais acurados de pesquisa de substâncias químicas, pequenas quantidades da planta são suficientes para obtenção de óleos essenciais ou princípios ativos.

Nesse contexto, é preciso haver a recuperação e valorização histórica dos modos de cura das doenças dos animais, tanto o de técnicas terapêuticas mais antigas quanto às contemporâneas. Assim, Avancini (1994), considerou que a fitoterapia na Medicina Veterinária não é uma terapia alternativa, e sim tradicional, pois justifica fazer parte da cultura popular. Junto com esta recuperação de técnicas, deve haver um grande esforço de formatação das informações científicas obtidas. Isso porque existem muitas disparidades em relação às quantidades, partes da planta, forma e época de colheita, estágio de desenvolvimento, forma de obtenção e tempo de conservação das substâncias (óleos essenciais, entre outros componentes) da planta a ser utilizada (HEIMERDINGER, 2005). Somando-se a estes questionamentos, têm-se as recomendações que envolvem a mistura de substâncias oriundas de diferentes plantas (GARCIA; LUNARDI, 2001), dificultando a análise dos resultados.

A utilização de substâncias produzidas pelas plantas na prevenção e no tratamento de doenças, bem como no controle de parasitas dos rebanhos leiteiros, é uma maneira de se manter não só as técnicas, mas as tecnologias de elaboração de substâncias necessárias para o manejo do rebanho. O uso dessa prática no estabelecimento rural implica no aprimoramento de tecnologias, reduzindo o custo de produção pela menor dependência de recursos externos à propriedade. Associado a este fator, Hernández et al.(1987), relataram que o uso de produtos naturais poderia minimizar o desequilíbrio ecológico e à contaminação ambiental causada pelo uso intensivo de produtos químicos sintéticos.

2.3 – Óleos essenciais

Os óleos essenciais são obtidos de parte das diferentes estruturas das plantas, através de diferentes processos de extração. Se constituem em misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (SIMÕES; SPITZER, 1999). As denominações dadas a estes óleos são devido às suas características físico-químicas. São considerados óleos por serem, líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente, por apresentarem volatilidade, recebem o

nome de óleos voláteis e são chamados de essenciais devido ao aroma agradável e intenso da maioria de seus representantes.

Os óleos essenciais são geralmente produzidos por estruturas secretoras especializadas das plantas, normalmente elaborados por células glandulares isoladas ou por pelos glandulares (BONNER, 1961). Tais estruturas podem estar localizadas em algumas partes específicas ou em toda a planta. Os óleos são armazenados em espaços extracelulares entre a cutícula e a parede celular (TAIZ; ZEIGER, 2004) e compostos basicamente por terpenos, sintetizados pela rota do mevalonato (SIMON, 1993).

Observa-se ainda que os óleos essenciais obtidos de diferentes órgãos de uma mesma planta podem apresentar composição química, características e odores distintos (SIMÕES; SPITZER, 1999). Os óleos essenciais, geralmente apresentam uma constituição complexa. Em alguns casos, chegam a conter mais de uma centena de componentes, distribuídos em quantidades variáveis. Seu uso como repelente contra insetos é atribuído à presença de substâncias voláteis em suas folhas, como o citronelal, eugenol, geraniol e limoneno, entre outras, denominadas de um modo geral como monoterpenos (SHASANY et al., 2000).

Os compostos secundários, nos quais se inclui os óleos essenciais, possuem importantes funções nos vegetais, já que são constituídos de substâncias que agem na preservação da integridade das plantas agindo como sinais de comunicação química, na proteção contra a perda de água e aumento de temperatura, sendo parte integrante das interações de espécies em comunidades vegetais tornando-as adaptadas ao seu ambiente e animais como na atração de polinizadores. Por outro lado, quando utilizados por organismo animal, proporcionam defesa contra patógenos, sendo caracterizados como plantas medicinais (GUSMAN et al., 1990; MAKKAR et al., 2007).

A qualidade e o rendimento dos óleos essenciais estão diretamente relacionados aos metabolitos primários, pois estes são os precursores para a formação dos metabolitos secundários, seja em condições ótimas para que as plantas possam alocar suas reservas para produção destes metabolitos ou em situações adversas para que acionem seus mecanismos de defesa (CASTRO et al. 2004; TAIZ; ZEIGER, 2004).

Para extração do óleo essencial são usadas técnicas convencionais utilizando-se a extração com solvente orgânico ou extração com água (destilação a vapor);

neste último a extração do óleo essencial é conhecida como "arrasto a vapor". Nesse processo é utilizado o aparelho de Clevenger, o óleo é arrastado pelo vapor d'água por ter tensão de vapor mais elevada, formando uma camada de óleo de densidade menor sobre o hidrolato que circula pelo sistema, sendo então separado deste. É o método preconizado pela Farmacopéia Brasileira para extração de óleos voláteis (SIMÕES; SPITZER, 2004). No entanto, as altas temperaturas e a própria água podem causar degradação ou modificações químicas dos constituintes dos óleos voláteis (PELLATI et al., 2005).

2.3.1 – Capim limão

O capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) é originário da Ásia. No Brasil ainda é pouco encontrado e geralmente recebe o nome internacional de capim limão da Índia Oriental (East Indian lemongrass), porém muitas vezes recebe o nome de capim cidreira (MAY et al., 2008). Pertence ao gênero *Cymbopogon* da família Poaceae, (CRONQUIST, 1988). É uma planta perene, ereta, cespitosa, de 0,6 até 3 m de altura, com caule rizomatoso muito ramificado, escuro, curto, semi-subterrâneo e palhoso. Dos rizomas partem colmos em tufos eretos e folhosos. Suas folhas verde-grisáceas com veios bem visíveis na face inferior e de cor verde-brilhante e lisa na face superior são estreitas e longas (0,5 a 1m), tem florescimento intenso durante os meses de inverno nas condições climáticas do Brasil (CASTRO; RAMOS, 2003; LORENZI; MATOS, 2002).

O capim limão apresenta maior produção de massa e, conseqüentemente, maior produção de óleo essencial, além de ser mais resistente a doenças que outras espécies como o *C. citratus* (MAY et al., 2008). Da planta são obtidos os óleos essenciais mirceno, geraniol e citral, este último usado industrialmente como flavorizante, além de ser matéria-prima na síntese de iononas e vitamina A (SIMÕES et al., 1998).

Os mesmos autores citam que o citral isolado mostra atividade antiespasmódica e relaxante da musculatura lisa de cobaias de camundongos, além de apresentar atividade antibacteriana e fungicida. Há recomendação da utilização do

capim limão, em associação com outras plantas, na formulação de xarope para combate à tosse, gripe e febre em humanos (GHEDINI et al., 2002).

Num experimento *in vitro*, testando a eficácia de extrato aquoso de folhas de capim limão na concentração de 224mg/mL de extrato em larvas de nematódeos da superfamília Strongyloidea, obtiveram 95% de mortalidade (ALMEIDA et al., 2003). Em pesquisa utilizando concentração de 1% de citral e citronelal, Zafalon et al.(2006), verificaram mortalidade de 100,00 e 58,68%, respectivamente, em larvas de *Musca domestica*. Ambos os trabalhos demonstraram que o capim limão possui propriedades larvicidas sobre espécies de endo e ectoparasitas de diferentes espécies de animais domésticos.

A utilização do capim limão no controle do carrapato é indicada na forma de macerados da planta (raízes, rizomas, colmos e folhas) que permanecem em infusão e, posteriormente, são aplicados sobre os animais (GARCIA; LUNARDI, 2001). Testes realizados com macerados da planta (raízes, rizomas, colmos e folhas) do capim limão contendo 23,08 e 37,50% de planta, utilizados em três imersões, apresentaram eficácias de 87,60 e 92,62% quando aplicados nas teleóginas pesadas e 92,05 e 76,25%, nas leves, respectivamente (HEIMERDINGER et al., 2006). A insuficiência de informações exatas sobre quantidades, partes da planta, fase de desenvolvimento, época de utilização, associado à recomendação de uso associado com outras plantas dificulta, senão impossibilita uma resposta constante nas diferentes épocas do ano e regiões de utilização.

O capim limão é uma planta de ocorrência comum no RS, de fácil estabelecimento e de manutenção nas condições de solo e clima do Estado. Estudos científicos avaliando a sua utilização no controle do carrapato bovino podem ser muito importantes na estratégia de produção agroecológica.

2.3.2 Citronela

A citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) é originária da Ásia e foi introduzida no Brasil em meados do século XVIII. O gênero *Cymbopogon* pertence à família Poaceae, (CRONQUIST, 1988). Planta perene, herbácea, cespitosa, de 0,80 - 1,20 m de altura. Os colmos são eretos, lisos, semilenhosos, coloração verde-clara.

Possui caule rizomatoso, curto e, semi-subterrâneo (CASTRO; CHEMALE, 1995). É a espécie mais cultivada no momento devido a sua maior concentração de óleo essencial.

O óleo essencial da citronela é utilizado na fabricação de perfumes e cosméticos, sendo um ótimo repelente de insetos, com ação inseticida, fungicida e bactericida (TRONGTOKIT et al., 2005; WONG et al., 2005). Podem-se encontrar variações no teor dos componentes, conforme a forma de extração, intervalo de cortes, entre outros. Análises realizada em 2011, no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, (UFSM), utilizando a técnica de extração com água (destilação a vapor) mostraram que o teor dos componentes foi o seguinte: citronelal, 47,5%; geraniol, de 18,9%; citronelol 10,7%, outros constituintes 22,9%. O rendimento de óleo essencial, com base na matéria natural varia de 0,5 a 0,7%.

Além de ser solúvel em solvente orgânico, o óleo essencial da citronela também pode ser extraído por álcool. Nesse processo, no entanto, outras substâncias presentes na folha, como clorofila e pigmentos, também são retiradas, diferentemente da extração a vapor na qual se obtém óleo puro.

Pesquisas conduzidas com óleo de citronela têm demonstrado ação inseticida e de repelência contra mosquitos e moscas (RAJA et al., 2001). Além da eficácia comprovada de produtos à base de citronela como repelente, sua utilização também contribui para prevenir doenças transmitidas por insetos (MAFONG; KAPLAN, 1997).

Experimentação *in vitro* com óleo de citronela nas quais fêmeas ingurgitadas de carrapato foram submetidas a três imersões com intervalo de 24 horas entre elas, sendo usadas concentrações de 0,5; 1,0; 10,0; 25,0; 50,0 e 100,0% de óleo verificou-se controle de 44,2; 92,1; 85,6; 87,8; 87,0 e 88,9%. Em outro experimento no qual se usou concentrações de 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 10,0; 25,0; 50,0 e 100% o controle foi de 0,7; 2,8; 51,6; 79,3; 81,0; 87,1; 86,7 e 89,5% (OLIVO et al., 2008).

O óleo de citronela também tem sido usado em associação com praguicidas convencionais. O produto comercial denominado Colosso (Ouro Fino) possui em sua fórmula um piretróide (Cipermetrina), um organofosforado (Clorpirifós) e citronelal, um dos componentes do óleo de citronela. Segundo Chungsamarnyart e Jiwajinda (1992), o citronelal é o principal componente do produto italiano Apilife/VAR utilizado no controle de ácaros de abelhas (*Apis mellifera mellifera*).

Estudos feitos *in vitro* demonstraram que destilados de folhas de citronela apresentaram ação carrapaticida, tanto em larvas quanto em fêmeas adultas de

carrapato, embora em concentrações consideradas elevadas. Pesquisas feitas com óleo de citronela a 12,5; 8,3 e 7,1%, diluído em etanol, verificaram ação larvicida de 95,7; 92,7 e 58,1%, respectivamente (CHUNGSAMARNYART; JIWAJINDA, 1992).

Avaliações feitas com óleo de citronela (*C. winterianus*) demonstraram uma eficiência de 50% no controle de teleóginas e larvas, usando concentrações de 6,1 e 4,1%, respectivamente. Foi verificado, ainda, que não houve postura quando as teleóginas foram banhadas com esse óleo na concentração de 10%. Tampouco houve eclosão de larvas das teleóginas na concentração de 7,14% (MARTINS, 2006).

Para o controle de moscas (*Lucilia sericata*), tratadas com diferentes concentrações de citronelal (0,25; 0,5 e 1,0%) a mortalidade foi de 29,32; 50,68 e 58,68%, respectivamente (CÁRCAMO et al., 2007). De acordo com Ozaki et al. (2003), ação do citronelal pode ser explicada pela facilidade com que ele penetra nos tecidos, interferindo nas funções fisiológicas do inseto.

Os dados levantados demonstram que o óleo de citronela apresenta composição complexa, havendo constatação de seu uso como repelente de insetos. No entanto, pesquisas utilizando óleo de citronela para o controle de ectoparasitas nas criações de animais, são escassas. Considerando-se que, de maneira geral, os fitoterápicos apresentam baixa toxicidade aos mamíferos, rápida degradação, e pelos resultados da ação acaricida do óleo de citronela *in vitro*, faz-se necessário estudo *in vivo* para confirmar sua ação carrapaticida.

2.3.3 – Eucalipto

A palavra eucalipto deriva do grego *eu* (bem) e *kalypto* (cobrir) em alusão ao opérculo que cobre as sementes até que estejam totalmente desenvolvidas (GUENTHER, 1977). Pertencente à família Myrtaceae, composto por aproximadamente 700 espécies, sendo a maioria, nativas da Austrália, tendo sido introduzidas espécies em mais de 90 países desde 1850.

Plantas do gênero *Eucalyptus* foram introduzidas no Brasil em 1865, inicialmente com a espécie *Eucalyptus globulus*, da qual se utilizam as folhas pecioladas e lanceoladas para extração de óleo essencial (COSTA, 1986;

GUENTHER, 1977), hoje se estima que mais da metade da área mundialmente plantada de eucalipto esteja no Brasil (EMBRAPA, 2000).

O *Eucalyptus citriodora* (Hook) atualmente denominado de *Corymbia citriodora* é originária da Austrália e destaca-se tanto por seu valor econômico, usado como madeira, quanto por seu uso como planta medicinal. No Brasil sua utilização para fins econômicos teve início em 1903, quando passou a ser empregado na produção de dormentes ferroviários e lenha para movimentar as locomotivas da época. É hoje a espécie mais plantada para produção de óleos essenciais, sendo uma das espécies mais promissoras pela sua adaptabilidade, com extenso cultivo, desde o Rio Grande do Sul até a região amazônica (XAVIER, 1993).

O rendimento em óleo essencial de biomassa foliar destilada da espécie *C. citriodora* varia de 1% a 1,6%. A concentração do seu componente principal, o citronelal, varia de 65% a 85% (CINIGLIO, 1993).

A produção nacional de óleo essencial de *C. citriodora* em 1995 foi estimada em 1.000 toneladas anuais, sendo que 90% tinham como finalidade a exportação. O Brasil apresenta uma grande participação no mercado mundial desse produto (SILVA et al., 2002).

Estanislau et al. (2001) demonstraram a ação antibacteriana do óleo de eucalipto em cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella choleraesuis*. O óleo de eucalipto apresenta também excelente ação como cicatrizante tópico, bem como antisséptico, antifúngico e antiinflamatório (OLIVEIRA et al., 2006).

Estudos realizados em animais indicam que do óleo essencial, obtido a partir das folhas de eucalipto, induzem enzimas hepáticas envolvidas no metabolismo de fármacos e a ação de outras drogas poderá ser diminuída quando administrada concomitantemente (NICOLETTI et al., 2007), estes autores enfatizaram ainda que quando aplicado à pele com loção contendo 5-fluoruracila (utilizada para o tratamento de alguns tipos de câncer de pele), o óleo aumenta a absorção dessa droga.

Pesquisas utilizando o óleo essencial de *C. citriodora* com concentração de 10% e *E. globulus* a 20%, resultaram em 100% de mortalidade em larvas de *R. (B.) microplus* (CHAGAS et al., 2002). Os autores também determinaram a composição química destes óleos e constataram que *C. citriodora* possui 94,9% de citronelal, enquanto que o *E. globulus* possui como principal componente o 1,8-cineol, em uma concentração de 85,84%.

A grande disponibilidade de *C. citriodora*, em diferentes regiões do País e seu potencial para extração de óleos essenciais torna esta espécie uma boa opção para a fitoterapia. Estudos avaliando a sua utilização no controle de ectoparasitas podem ser muito importantes visto que seu principal componente (citronelal) tem demonstrado ação inseticida.

CAPÍTULO 3

Efeito do óleo de capim limão no controle do carrapato bovino Effect of lemongrass oil on the control of cattle ticks

RESUMO

Esta pesquisa foi conduzida com o objetivo de avaliar o efeito *in vitro* e *in vivo* do óleo do capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) sobre o carrapato bovino (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*). Na experimentação *in vitro* foi utilizado o grupo controle negativo e oito concentrações de óleo de capim-limão (0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0%), em fêmeas ingurgitadas de carrapato. A eficácia de controle foi de 0; 20; 39; 99,5; 100; 100; 100; 100 e 100%, respectivamente. Para a experimentação *in vivo* foram constituídos três grupos (controle negativo, óleo de capim limão a 2,0% - nível estimado mediante análise de regressão, correspondendo a 95% de eficácia de controle do carrapato da pesquisa *in vitro* e amitraz a 0,025%), com dezoito vacas da raça Holandesa. Antes (média dos dias -3, -2, -1) e após a aplicação do produto (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 e 21 dias), foram contadas fêmeas ingurgitadas de carrapato. A eficácia de controle foi de 0; 54 e 74,5%, respectivamente, 21 dias após o tratamento. Na 1ª e na 2ª ordenha após a aplicação dos tratamentos, foram avaliados variáveis fisiológicas e coletadas amostras de leite para avaliar as propriedades organolépticas no leite e do iogurte (controle negativo x tratamento fitoterápico). O teste de aceitação sensorial do leite e as variáveis fisiológicas avaliadas foram similares entre os tratamentos.

Palavras-chave: Acaricida, fitoterápico, gado leiteiro, variáveis fisiológicas, propriedades organolépticas do leite.

ABSTRACT

This research was aimed at evaluating *in vitro* and *in vivo* effects of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) oil on cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*). Negative control group and eight concentrations of lemongrass oil (0.5; 1; 2; 5; 10; 20; 50; 100%), were used on *in vitro* trials with engorged female ticks. The efficacy of control ticks was 0; 20; 39; 99.5; 100; 100; 100; 100 and 100%, respectively. At the *in vivo* trial eighteen Holstein cows were allocated to three groups (negative control, lemongrass oil at 2.0% - level estimated by regression analysis, accounting for 95% efficacy of control ticks on *in vitro* trial and amitraz at 0.025%). Engorged female ticks were counted before (mean of days -3, -2, -1) and after treatment (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days). The efficacy control tick was 0; 54 and 74.5%, respectively, at 21 days after treatment. On the 1st and 2nd milked after treatments, physiologic variables were evaluate and milk samples were collected to evaluate organoleptic properties in milk and yoghurt (negative control x phytotherapeutic).

treatment). Similar results were found with sensorial acceptance test of milk and physiologic variables.

Key words: Acaricide, dairy cattle, phytotherapeutic, physiologic variables, milk organoleptic properties.

INTRODUÇÃO

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é o mais importante ectoparasito em áreas de exploração pecuária, tanto em regiões tropicais quanto subtropicais, sendo responsável por severas perdas econômicas (ATHAYDE et al., 2001). No Brasil, o carrapato está presente em praticamente todos os rebanhos destinados à produção leiteira (LEITE; ROCHA, 1999). Essa espécie, além de causar espoliação sanguínea em virtude do hematofagismo, lesa a pele, diminui a produção de leite e é o principal transmissor de agentes patogênicos para os bovinos (BITTENCOURT et al., 1999; JONSSON et al., 2001).

O uso de acaricidas é o principal meio de controle do carrapato (VARGAS et al., 2003), porém, o seu emprego nem sempre é feito de maneira correta (FURLONG et al., 2004), podendo causar intoxicações que associado ao estresse físico do tratamento predis põe os animais a outras doenças (CLARK; SANCHES, 1983), à resistência aos produtos carrapaticidas (CAMILLO et al., 2009), além de possíveis problemas de saúde pública, devido à não observância dos períodos de carência dos produtos utilizados, (HEIMERDINGER, et al., 2006; MENDES, et al., 2007), especialmente em rebanhos de bovinos leiteiros (OLIVEIRA; AZEVEDO, 2002).

Como técnicas alternativas não-químicas, incluem-se a criação de animais geneticamente mais resistentes, o desenvolvimento de vacinas, o manejo da pastagem com alternância de espécies, o controle biológico (LEAL et al., 2003) e também a utilização de extratos vegetais (CHAGAS, 2004), considerando que os produtos fitoterápicos apresentam baixo custo e são de fácil disponibilidade na maioria das regiões (AVANCINI, 1994; CHUNGSAMARNYART; JIWAJINDA, 1992; HEIMERDINGER et al., 2006).

Dentre as espécies vegetais recomendadas destaca-se o capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.). As pesquisas conduzidas com essa planta, além de

serem escassas, apresentam variação na forma de obtenção das soluções que pode ser por extração aquosa e alcoólica, usando-se a planta inteira (HEIMERDINGER et al., 2006) ou somente parte aérea (BROGLIO-MICHELETTI et al., 2009). Também há poucos estudos quanto ao uso dos componentes estruturais da planta e dos óleos essenciais. Os resultados das pesquisas apontam normalmente para efeito sobre o controle de ácaros, embora com elevada variabilidade de resultados.

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia do óleo do capim limão (*C. flexuosus*) como carrapaticida, em ensaios *in vitro* e *in vivo*, em bovinos leiteiros, verificando possíveis efeitos do produto sobre as propriedades organolépticas do leite e as variáveis fisiológicas dos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

O capim limão utilizado (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) foi cultivado na mesorregião Noroeste do Rio Grande do Sul. O óleo foi extraído da parte aérea de plantas frescas na usina de extração de óleos essenciais por arraste a vapor no Pólo Oleoquímico de Três Passos, pertencente a Universidade do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ), tendo apresentado rendimento de 1,2%, aproximadamente. A análise cromatográfica do óleo foi realizada no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), apresentando, como princípio ativo mais importante o citral com 90,6% (geranial 51,7% e neral 38,9%). Outros compostos perfizeram 9,4%.

Para a experimentação *in vitro* foram coletadas fêmeas ingurgitadas com comprimento superior a 4,5mm, retiradas de animais da raça Holandesa, naturalmente infestados, pertencentes ao Laboratório de Bovinocultura de Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria.

Os tratamentos foram constituídos pelo grupo controle e por diferentes concentrações do óleo de capim limão (0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0 e 100,0%). Para o grupo controle (testemunha, sem óleo) e para a complementação das demais soluções (até o nível de 50%) usou-se água destilada. As fêmeas ingurgitadas foram colocadas aleatoriamente em grupos de 10 em placas de Petri, sendo usadas três placas/tratamento, submetidas ao teste do biocarrapaticidograma (à semelhança de

DRUMMOND et al., 1973), realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias da UFSM. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições (placas de Petri).

O experimento *in vivo* foi realizado no Laboratório de Bovinocultura de Leite (DZ, UFSM). Foram constituídos três tratamentos: amitraz, a 0,025% (grupo controle positivo), óleo de capim limão a 2,0% e testemunha (grupo controle negativo). A opção pelo Amitraz ocorreu por não haver evidências de resistência da cepa de carrapato utilizada a esse produto. Para a concentração com óleo de capim limão, o nível utilizado de 2,0%, teve como base os resultados da experimentação *in vitro*, sendo submetidos à análise de regressão polinomial, estimando-se um valor de 95% de eficácia. O óleo de capim limão utilizado foi o mesmo daquele utilizado nos testes *in vitro*.

No experimento foram utilizadas 18 vacas em lactação da raça Holandesa, com cerca de 530 kg de peso vivo e produção média de 21 kg de leite/vaca/dia. Os animais foram submetidos diariamente a duas ordenhas. A base da alimentação foi constituída de pastagens perenes de ciclo estival. A complementação alimentar foi feita com concentrado (18% PB) à razão de 5 kg /vaca/dia, dividida entre as ordenhas da manhã e da tarde. Foram utilizadas seis vacas por tratamento. O critério para utilização de cada animal foi a infestação de carrapatos, sendo usadas vacas que apresentavam no mínimo dez teleóginas (média de três dias consecutivos). O preparo das soluções foi feito momentos antes e aplicada, após a ordenha da tarde, utilizando-se de pulverizador costal. Para ambos os tratamentos, a quantidade de calda usada foi de 4 litros/vaca.

Nas avaliações foram efetuadas contagens de carrapato, considerando-se os ínstares com tamanho superior a 4,5mm de comprimento, na metade do corpo do animal, multiplicando-se o valor por dois para a obtenção da infestação total (WHARTON et al., 1970). As contagens foram feitas no 1º, 2º, 3º, 5º, 7º, 10º, 14º e 21º dia após a aplicação dos produtos. Para calcular a eficácia do produto foi utilizada a seguinte fórmula: Eficácia = $[(N^{\circ} \text{ de teleóginas de pré-tratamento} - N^{\circ} \text{ de teleóginas do dia de pós-tratamento}) * 100 / N^{\circ} \text{ de teleóginas de pré-tratamento}]$. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo que, para a variável número de teleóginas, os dados foram analisados após a transformação logarítmica de base 10.

Para a análise das características sensoriais do leite e iogurte e a avaliação das variáveis fisiológicas, conduziu-se outra experimentação, mantendo-se os mesmos tratamentos.

Na análise das características sensoriais do leite e iogurte, as amostras de pré, da 1ª e 2ª ordenhas após o banho com soluções contendo óleo de capim limão, foram avaliadas no Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos (UFSM). Para análise da cor, odor, sabor e aparência geral, utilizou-se uma escala hedônica não estruturada de sete pontos (1 - desgostei muito; 2 - desgostei regularmente; 3 - desgostei; 4 - indiferente, nem gostei, nem desgostei; 5 - gostei; 6 - gostei regularmente; 7 - gostei muito). Para o teste de sabor em relação ao padrão, foi utilizando leite comercial, sendo realizado um teste de comparação múltipla (para o leite e o iogurte), com escala de sete pontos (1 - extremamente pior que o controle; 2 - muito pior que o controle; 3 - regularmente pior que o controle; 4 - nenhuma diferença do controle; 5 - regularmente melhor que o controle; 6 - muito melhor que o controle; 7 - extremamente melhor que o controle) (DUTCOSKY, 2007). Os testes foram realizados por vinte provadores, onde cada um recebeu uma ficha para a avaliação dos parâmetros descritos.

As amostras de leite foram submetidas à análise de gordura, lactose, proteína, sólidos não gordurosos e acidez, realizadas em triplicata, segundo os métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos definidos pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL, 2006).

As variáveis fisiológicas foram aferidos antes e às 3; 6 e 24 horas após a aplicação dos tratamentos. As frequências cardíaca e respiratória foram verificadas mediante auscultação com estetoscópio. Para aferir as temperaturas de globo ocular e da superfície da pele utilizou-se equipamento com infravermelho (TI 890 Instron com resolução de 50x).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo os tratamentos constituídos pelos grupos controle negativo e positivo (com produto químico a base de amitraz) além da solução com 2% de óleo de capim limão, estimada a partir da análise de regressão, para controlar 95% do carrapato. As unidades experimentais foram constituídas pelas vacas em lactação

Para ambos os experimentos (*in vitro* e *in vivo*) os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade do erro. Foi utilizado o seguinte modelo matemático: $Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$, em

que, Y_{ij} representa a variável dependente; i = o índice de tratamentos; j = o índice de repetições; μ é a média de todas as observações; T_i corresponde ao efeito dos tratamentos; ε_{ij} é o erro experimental. Os dados foram analisados com auxílio do programa estatístico SAS (1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à experimentação *in vitro* (Tabela 1), observa-se que houve efeito ($P < 0,05$) dos níveis, a partir de 0,5% de óleo de capim limão, sobre a eclodibilidade dos ovos. Não houve eclodibilidade com níveis de concentração a partir de 5%. Os dados submetidos à análise de regressão demonstram efeito quadrático com início descendente $y = 134,564 - 91,129x + 12,837x^2$; $R^2 = 0,99$; $P = 0,0014$.

Para eficácia houve efeito ($P < 0,05$) a partir da solução constituída com menor nível de óleo (0,5%). A partir de 5% de óleo, a eficácia foi de 100%. Os dados submetidos à análise de regressão demonstram efeito quadrático com início ascendente $y = -23,659 = 82,907x - 11,622x^2$; $R^2 = 0,97$; $P = 0,0238$. Os resultados apontam que mesmo as baixas concentrações de óleo interferem no desenvolvimento do carrapato. Para Broglio-Micheletti et al. (2009), avaliando extrato etanólico de folhas secas de capim santo (*C. citratus*) a 2%, verificaram redução da eclodibilidade em 25,5% e eficácia de 18,35% no controle do carrapato. Outros trabalhos mostram a mesma tendência como Silva et al. (2007), no qual o capim santo teve eficácia de 20,32%, a partir do extrato puro de folhas frescas. Porém, a ação foi maior quando utilizado o extrato diluído com 50% de água e outro diluído com 50% de álcool, verificando controle de 35,7 e 47%, respectivamente. Neste trabalho os autores apontam para um possível efeito potencializador do álcool, encontrando respaldo no trabalho feito por Chagas et al. (2002), quando comparou diferentes tipos de solventes. Também Heimerdinger et al. (2009) verificaram eficácia de controle de teleóginas, usando macerado da planta inteira, com extração alcoólica, correspondendo a 23,08 e 37,5% de matéria natural, observaram controle de 87,6 e 92,6%, respectivamente.

A ação acaricida deve-se, provavelmente, ao princípio ativo citral (mistura isomérica de neral e geranial) que é o principal constituinte do óleo do capim limão

(COSTA et al., 2005). A mortalidade dos ácaros depende da concentração do óleo essencial utilizado, sendo que, quanto maior a concentração melhor será esta ação acaricida (MEZA; TABORDA, 2010).

Para eficácia no controle de teleóginas na experimentação *in vivo* (Tabela 2), observa-se que o produto a base de amitraz, apresentou eficácia de 100% no 3º dia pós-banho, havendo, no entanto, presença de teleóginas a partir do 5º dia, indicando que o amitraz é menos eficaz em controlar as formas imaturas do carrapato (HEIMERDINGER et al., 2006; MASKE et al., 1994; MEKONNEN, 2001). Para o grupo tratado com o fitoterápico verificou-se que houve controle parcial, havendo, inicialmente, efeito mais lento se comparado com o produto químico. A melhor eficácia, próximo a 66%, no 14º dia pós-banho, é inferior a avaliação feita *in vitro* no qual o controle foi de 95% para a mesma concentração utilizada (2% de óleo). Resultados foram superiores aos encontrados por Heimerdinger et al. (2006), ao utilizarem solução feita com extrato alcoólico, correspondendo a 2,72% de planta de capim limão, que verificaram controle de 40,3; 46,5 e 41,4% no 3º, 7º e 14º dia pós-banho.

Os resultados obtidos *in vivo* podem ser atribuídos a volatilidade do óleo essencial. Em trabalho onde foi avaliada a repelência e a toxicidade de oito constituintes de óleos essenciais, o citral demonstrou boa ação numa concentração de 10 a 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ durante 3 dias, porém, a ação durou apenas um curto período de tempo em virtude da sua volatilidade (ZHU et al., 2001). Assim, é possível que na avaliação *in vivo* possa haver melhores condições de volatilidade devido à aplicação do produto na forma de aspersão onde se formam pequenas gotículas facilitando a volatilização.

Quanto à análise sensorial do leite (Tabela 3), foram observadas diferenças ($P < 0,05$) entre tratamentos, na 2ª ordenha pós-banho no parâmetro aparência geral. Apesar desta diferença, os valores obtidos, em torno de quatro, são considerados adequados para o leite pasteurizado. Na avaliação do iogurte para os parâmetros sabor e aparência geral, foram observadas diferenças na 1ª ordenha pós-banho, com menor valor nas vacas tratadas com óleo de capim limão, porém os valores obtidos ficaram entre os padrões indiferente e gostei. Destaca-se, no entanto, a elevada variabilidade dos dados da análise sensorial do leite e do iogurte, apontando para a necessidade de se repetir a experimentação.

Para as variáveis fisiológicas não foram observadas diferenças entre o controle e os animais banhados com a solução constituída por óleo de capim limão. Os valores na avaliação inicial, antecedendo os banhos (às 9:00h), demonstram que os animais apresentavam variáveis fisiológicas próximas da normalidade (SMITH, 1994). Observa-se, no entanto, que nos dois grupos houve elevação dos valores da frequência cardíaca e respiratória, com pico na avaliação feita às 15:00h, associado à elevação da temperatura do ar, apontando que os animais apresentavam estresse térmico (HAHN; MADER, 1997). Também houve elevação das temperaturas do globo ocular e da pele entre às 12:00 e às 15:00h do dia.

CONCLUSÕES

As soluções contendo níveis crescentes de óleo de capim limão avaliados *in vitro* apresentam efeito quadrático ascendente no controle do carrapato.

A solução contendo 2,0% de óleo de capim limão apresenta controle parcial do carrapato dos bovinos, apresentando baixa associação com os níveis avaliados *in vitro*.

Houve similaridade entre os grupos de animais não tratados e os que foram banhados com solução contendo óleo de capim limão, tanto nas propriedades organolépticas do leite quanto nas variáveis fisiológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATHAYDE, A.C.R. et al. Fungos entomopatogênicos: uma alternativa para o controle do carrapato bovino: *Boophilus microplus*. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.21, n.1, p.12-15, 2001.

AVANCINI, C.A.M. **Sanidade animal na agroecologia**: atitudes ecológicas de sanidade animal e plantas medicinais em Medicina Veterinária. Porto Alegre: Fundação Gaia, 1994. 46p.

BITTENCOURT, V.R.E.P. et al. Mecanismo de infecção do fungo *Metarhizium anisopliae* no carrapato *Boophilus microplus* em condições experimentais. **Ciência Rural**, v.29, n.2, p.351-354, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa 68 de 12 de dezembro de 2006. **Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos**. Brasília, 2006.

BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F. et al. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.4, p.44-48, 2009.

CAMILLO, 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, 2009.

CHAGAS, A.C.S. et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.39, n.5, p.247-253, 2002.

CHAGAS, A.J.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n.1, p.156-60, 2004.

CHUNGSAMARNYART, N.; JIWAJINDA, S. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and citronella grasses on tropical cattle ticks. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, v.26, n.5, p.46-51, 1992.

CLARK, L.G.; SANCHEZ, S.J. Association of pesticide toxicosis with some health factors during the tick eradication program in Puerto Rico. In: International symposium on veterinary epidemiology and economics 1983, Arlington. **Proceedings**. Kansas (USA) Veterinary Medicine Publishing, 1983. p.620-623.

COSTA, L.C.B. et al. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim limão. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.4, p.956-959, 2005.

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

DUTCOSKY, S.D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2. ed. Curitiba: Champagnat, 2007. 239p.

FURLONG, J. et al. Controle estratégico do carrapato dos bovinos. **A Hora Veterinária**, v.23, n.137, p.53-56, 2004.

HAHN, G.L.; MADER, T.L. Heat waves in relation o thermoregulation, feeding behavior, and mortality of feedlot cattle. In: INTERNATIONAL LIVESTOCK ENVIRONMENT SYMPOSIUM, 1997. **Proceedings...** St. Joseph: ASAE, 1997. p.125-129.

HEIMERDINGER, A. et al. Extrato alcoólico de capim-cidreira no controle do *Boophilus microplus* em bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.1, p.37-39, 2006.

_____ et al. Extratos de capim-cidreira e amitraz em teste *in vitro* sobre o carrapato bovino. **Livestock Research for Rural Development**, v.21, n.1, artigo 5, 2009.

JONSSON, N. N. et al. An estimate of the economic effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on Queensland dairy farms. **Australian Veterinary Journal**, v.79, n.12, p.826-831, 2001.

LEAL, A.T. et al. Perspectivas para o controle do carrapato bovino. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31, n.1, p.1-11, 2003.

LEITE, R.C.; ROCHA, C.M.D.M. Contagem de carrapatos em bovinos no momento do banho carrapaticida em rebanhos leiteiros do município de Divinópolis/MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, n.1, p.41-42, 1999.

MASKE, D.K. et al. *In vitro* trials of amitraz against *Boophilus microplus*. **Journal of Bombay Veterinary College**, v.5, n.1/2, p.55-58, 1994.

MEKONNEN, S. In vivo evaluation of amitraz against ticks under field conditions in Ethiopia. **Journal of the South African Veterinary Association**, v.72, n.1, p.44-45, 2001.

MENDES, M.C. et al. Determinação da frequência de realização de bioensaios para o monitoramento da resistência do carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.2, p.87-93, 2007.

MEZA, D.L.M.; TABORDA, M. Composición química y actividad del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* Stapf contra el acaro intradomiciliario *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae). **Biosalud**, v.9, n.2, p.21-31, 2010.

OLIVEIRA, A.A; AZEVEDO, H.C. Resistência do carrapato *Boophilus microplus* a carrapaticidas em bovinos de leite na região dos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Revista Científica Rural**, v.7, n.2, p.64-71, 2002.

SAS, **Statistical Analysis System: User's Guide**, Stat. 2.ed. Cary: SAS Institute, 1997. 456p.

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. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.3, p.1-5, 2007.

SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1994. 1738 p.

VARGAS, M.S. et al. Avaliação *in vitro* de uma cepa de campo de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) resistente à Amitraz. **Ciência Rural**, v.33, n.4, p.737-742, 2003

WHARTON, R.H. et al. Assessment of the efficiency of acaricides and their mode of application against the cattle tick *Boophilus microplus*. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.21, n.5, p.985-1006, 1970.

ZHU, B.C.R. et al. Evaluation of vetiver oil and seven insect-active essential oils against the formosan subterranean termite. **Journal of Chemical Ecology**, v.27, n.8, p.1617-1625, 2001.

Tabela 1- Médias percentuais de eclodibilidade das larvas e da eficácia das soluções constituídas pelo controle e por diferentes concentrações de óleo de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) aplicado sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pela técnica do biocarrapaticidograma. Santa Maria, RS, 2011.

Óleo de capim limão (%)	Eclodibilidade (%)	Eficácia do produto (%)
0 (controle)	99,0 ^a	0,0 ^d
0,5	90,0 ^b	20,0 ^c
1,0	60,0 ^c	39,0 ^b
2,0	2,0 ^d	99,5 ^a
5,0	0,0 ^d	100,0 ^a
10,0	0,0 ^d	100,0 ^a
20,0	0,0 ^d	100,0 ^a
50,0	0,0 ^d	100,0 ^a
100,0	0,0 ^d	100,0 ^a
CV (%)	4,47	1,47

Médias com letras distintas, na coluna, indicam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de tukey; Óleo de capim limão oriundo do Laboratório de Óleos Essenciais (UNIJUÍ – Ijuí, RS), do Pólo Oleoquímico de Três Passos, RS. CV= Coeficiente de variação.

Tabela 2 - Efeito da solução aquosa contendo óleo de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) e do amitraz no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos da raça Holandesa. Santa Maria, RS, 2011.

Avaliações	Número de teleóginas/vaca ¹			CV (%)
	Controle ²	Capim limão ³	Amitraz ⁴	
Pré-tratamento	22,5	18,0	29,0	8,0
Pós-tratamento				
1 ^o dia	25,8 ^a	21,2 ^{ab}	11,0 ^b	14,5
2 ^o dia	29,2 ^a	13,7 ^b	2,0 ^c	14,4
3 ^o dia	32,6 ^a	12,5 ^b	0,0 ^c	15,7
5 ^o dia	29,0 ^a	7,2 ^b	1,0 ^c	19,1
7 ^o dia	30,6 ^a	7,2 ^b	1,2 ^c	14,9
10 ^o dia	29,2 ^a	7,7 ^b	1,7 ^c	14,5
14 ^o dia	32,2 ^a	6,2 ^b	0,7 ^c	17,9
21 ^o dia	34,4 ^a	8,2 ^b	7,0 ^b	13,9
Média Pós-tratamento	30,2 ^a	10,5 ^b	3,0 ^c	24,4
	Eficácia no controle de teleóginas (%)			
Pré-tratamento	0,0	0,0	0,0	0,0
Pós-tratamento				
1 ^o dia	0,0 ^b	0,0 ^b	63,0 ^a	31,8
2 ^o dia	0,0 ^c	24,5 ^b	93,2 ^a	18,4
3 ^o dia	0,0 ^c	29,7 ^b	100,0 ^a	15,6
5 ^o dia	0,0 ^c	60,0 ^b	96,7 ^a	12,1
7 ^o dia	0,0 ^c	60,0 ^b	96,0 ^a	11,9
10 ^o dia	0,0 ^c	57,0 ^b	93,7 ^a	9,1
14 ^o dia	0,0 ^c	66,2 ^b	97,0 ^a	20,2
21 ^o dia	0,0 ^c	54,0 ^b	74,5 ^a	20,6
Média Pós-tratamento	0,0 ^c	43,9 ^b	89,2 ^a	37,6

Médias com letras distintas, na linha, indicam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; ¹dados analisados após a transformação logarítmica de base 10; ²Tratamento constituído pelo controle = grupo controle negativo; ³Capim limão = solução aquosa contendo 2% de óleo de capim limão; ⁴Amitraz = a 0,025% de amitraz, grupo controle positivo.

Tabela 3 - Dados médios da análise sensorial do leite cru e do iogurte após a aplicação de soluções contendo óleo de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em vacas da raça Holandesa. Santa Maria, RS, 2011.

Períodos	Grupos	Análise sensorial do leite				
		Cor	Odor	Sabor	Aparência Geral	Sabor / padrão
8 horas pós-banho	Controle ¹	4,4	4,1	3,5	4,4	4,5
	Capim limão ²	4,8	4,3	4,0	4,7	5,0
24 horas pós-banho	Controle	4,9	4,3	4,2	4,7 ^a	5,5
	Capim limão	4,4	4,3	4,3	3,9 ^b	5,6
Média	Controle	4,7	4,2	3,9	4,6	5,0
	Capim limão	4,6	4,3	4,1	4,3	5,3
CV(%)		25,3	23,3	34,5	28,3	34,0
		Análise sensorial do iogurte				
8 horas pós-banho	Controle	5,0	5,1	5,4 ^a	5,4 ^a	6,3
	Capim limão	4,7	4,8	4,1 ^b	4,6 ^b	5,0
24 horas pós-banho	Controle	4,7	4,5	4,7	4,6	6,5
	Capim limão	4,7	5,0	4,5	5,0	6,4
Média	Controle	4,9	4,8	5,1	5,0	6,4
	Capim limão	4,7	4,9	4,3	4,8	5,7
CV(%)		20,8	20,2	27,6	23,6	32,4

Propriedades físico-químicas do leite: gordura (%)= 2,55 e 3,2; lactose(%)=3,96 e 4,07; proteína(%)= 3,1 e 3,19; Sólidos não gordurosos (%)= 9,26 e 9,49; acidez (° Dornic)= 15,6 e 16,0 para o grupo controle e óleo de capim limão, respectivamente. Médias com letras distintas, na coluna, indicam diferença significativa (P<0,05) pelo teste F; ¹controle = grupo controle negativo; ² capim limão = solução aquosa contendo 2% de óleo de capim limão.

Tabela 4- Variáveis fisiológicas de vacas da raça Holandesa, submetidos à aplicação de solução aquosa contendo 2,0% de óleo do capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf.) para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Santa Maria, RS, 2011.

Período (hora do dia)	Grupo	Variáveis fisiológicas			
		Frequência cardíaca (bat/min.)	Frequência respiratória (mov/min.)	Temperatura globo ocular (°C)	Temperatura da pele (°C)
Antes (9:00)	Controle ¹	70,0	33,3	30,3	27,0
	Capim limão ²	73,3	33,3	31,0	25,0
3 horas (12:00)	Controle	73,0	49,3	33,9	31,0
	Capim limão	77,3	40,0	33,6	32,0
6 horas (15:00)	Controle	77,0	54,0	30,0	27,6
	Capim limão	70,6	46,0	31,0	26,3
24 horas (9:00)	Controle	65,0	27,6	28,6	24,0
	Capim limão	64,6	26,6	28,0	21,3
Média	Controle	71,2	41,0	30,7	27,4
	Capim limão	71,5	34,0	30,9	26,1
CV(%)		12,7	37,6	6,7	14,0

Diferença não significativa entre os grupos ($P > 0,05$) pelo teste F; ¹controle = grupo controle negativo; ²capim limão = solução aquosa contendo 2% de óleo de capim limão; Períodos: antes da aplicação, às 3 e 6 horas correspondem ao dia 27/06/2010 e 24 horas corresponde ao dia 28/06/2010. Temperatura mínima e máxima de 16 e 28°C e de 14 e 21°C, respectivamente para o dia 27 e 28/06/2010.

CAPÍTULO 4

Efeito do óleo de citronela no controle do carrapato bovino Effect of citronella oil on the control of cattle ticks

RESUMO

Esta pesquisa foi conduzida com o objetivo de avaliar o efeito *in vitro* e *in vivo* do óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) sobre o carrapato bovino (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*). Na experimentação *in vitro* foi utilizado o grupo controle negativo e oito concentrações de óleo de citronela e óleo mineral (0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0%), em fêmeas ingurgitadas de carrapatos. A eficácia de controle do carrapato foi de 0; 34,5; 43; 48; 82; 99; 99; 100 e 100%, respectivamente, para o óleo de citronela. Para o óleo mineral foram observados resultados irregulares no controle do carrapato. Para a experimentação *in vivo* foram constituídos três grupos (controle negativo; óleo de citronela a 8,6% - nível estimado mediante análise de regressão, correspondendo a 95% de eficácia de controle do carrapato da pesquisa *in vitro* e amitraz a 0,025%), com dezoito vacas da raça Holandesa. Antes (média dos dias -3, -2, -1) e após a aplicação do produto (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 e 21 dias), foram contadas fêmeas ingurgitadas de carrapato. A eficácia de controle foi de 0; 91,3 e 60%, respectivamente, 21 dias após o tratamento. Na 1ª e na 2ª ordenha após a aplicação dos tratamentos, foram avaliadas variáveis fisiológicas e coletadas amostras de leite para avaliar as propriedades organolépticas no leite e do iogurte (controle negativo x tratamento fitoterápico). O teste de aceitação sensorial do leite e as variáveis fisiológicas avaliadas foram similares entre os tratamentos.

Palavras-chave: Acaricida, fitoterápico, gado leiteiro, variáveis fisiológicas, propriedades organolépticas do leite.

ABSTRACT

This research was aimed at evaluating *in vitro* and *in vivo* effects of citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) oil on cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*). Negative control group and eight concentrations of citronella oil and mineral oil (0.5; 1; 2; 5; 10; 20; 50; 100%), were used on *in vitro* trials with engorged female ticks. The efficacy of control ticks was 0; 34.5; 43; 48; 82; 99; 99; 100 and 100%, respectively, for citronella oil. For mineral oil contradictory results were observed in tick control. At the *in vivo* trial eighteen Holstein cows were allocated to three groups (negative control, citronella oil at 8.6% - level estimated by regression analysis, accounting for 95% efficacy of control ticks on *in vitro* trial and amitraz at 0.025%). Engorged female ticks were counted before (mean of days -3, -2, -1) and after treatment (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days). The efficacy control tick was 0; 91.3 and 60%, respectively, at 21 days after treatment. On the 1st and 2nd milked after treatments, physiologic variables were evaluate and milk samples were collected to evaluate organoleptic properties in milk and yoghurt (negative control x phytotherapeutic).

treatment). Similar results were found with sensorial acceptance test of milk and physiologic variables.

Key words: Acaricide, dairy cattle, phytotherapeutic, physiologic variables, milk organoleptic properties.

INTRODUÇÃO

O parasitismo por carrapato é um dos maiores problemas verificados na atividade leiteira. O carrapato, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, que é o mais importante ectoparasita das regiões tropicais e subtropicais (CASTRO; NEWSON, 1993), atingindo mais de 75% da população mundial de bovinos (CORDOVÉS, 1997). Este parasita impõe um elevado grau de estresse aos animais, reduzindo o desempenho do rebanho, aumentando os custos de produção, consequentemente. Os prejuízos causados pelo carrapato estão associados ao baixo desenvolvimento, diminuição na produção de leite, perda de peso e transmissão dos hemoparasitas *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*, agentes do complexo tristeza parasitária bovina (ATHAYDE et al., 2001; GHOSH et al., 2006).

Para controlar o carrapato são utilizados praguicidas convencionais. Essa estratégia, no entanto, nem sempre é efetiva, pois, muitos agricultores fazem uso indiscriminado e de forma errônea desses produtos, havendo, assim, redução de sua eficácia (FURLONG et al., 2004), e possibilitando o desenvolvimento de resistência de cepas ao composto usado, especialmente em rebanhos de bovinos leiteiros (OLIVEIRA; AZEVEDO, 2002). Agrega-se também a contaminação ambiental causada por essa estratégia e possíveis problemas de saúde pública, considerando que parte dos produtores não observa os períodos de carência dos produtos utilizados (HEIMERDINGER, et al., 2006), implicando em muitos casos, na presença de resíduos na carne e no leite (PADILHA, 1996).

Assim, visando diminuir ou eliminar esses problemas, recomenda-se a busca por soluções alternativas para o controle do carrapato (FAO, 2003). Dentre elas, tem-se o controle biológico com fungos (BITTENCOURT et al., 1997) e bactérias (BRUM et al., 1991a; 1991b) e o uso de vacinas (KEMP et al., 1986). Destaca-se também a utilização de fitoterápicos (CASTREJÓN et al., 2003), devido a grande variabilidade de espécies de plantas existentes, o baixo custo e a fácil disponibilidade (AVANCINI, 1994). Ressalta-se que os fitoterápicos apresentam baixa toxicidade aos mamíferos,

lenta resistência parasitária e são biodegradáveis (CHUNGSAMARNYART; JIWAJINDA, 1992), conseqüentemente, proporcionam baixo impacto ambiental e redução de resíduos nos produtos de origem animal (CHAGAS, 2004).

Várias pesquisas conduzidas com óleo de citronela (*C. nardus*) demonstraram sua ação como inseticida (AGNOLIN et al., 2010; CHUNGSAMARNYART; JIWAJINDA, 1992; OLIVO et al., 2008) e de repelência contra mosquitos e moscas (RAJA et al., 2001). Extratos da citronela de Java (*C. winterianus*) têm sido descritos na literatura como controladores de fungos (DIKSHIT; HUSAIN, 1984), nematóides (SANGWAIN et al., 1985) e insetos (MARIMUTHU et al., 1997; SINGH; CHAUDHARY, 1988; SRIVASTAVA et al., 1988).

Também há referência de uso do óleo de citronela no controle do carrapato, notadamente de experimentações *in vitro* (MARTINS, 2006). Há, no entanto, poucos estudos associando experimentações feitas em laboratório e *in vivo* no controle do carrapato, bem como de possíveis efeitos do uso do produto sobre a fisiologia dos animais e nas características organolépticas do leite e derivados.

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia do óleo de citronela como carrapaticida em bovinos leiteiros, valendo-se de experimentações *in vitro* e *in vivo*, e verificando possíveis efeitos do produto nas variáveis fisiológicas dos animais e sobre as propriedades organolépticas do leite e do iogurte.

MATERIAL E MÉTODOS

A citronela utilizada (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) foi cultivada na mesorregião Noroeste do Rio Grande do Sul. O óleo foi extraído, da parte aérea de plantas frescas, na usina de extração de óleos essenciais por arraste a vapor no Pólo Oleoquímico de Três Passos, da Universidade do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ), tendo apresentado rendimento de 0,7%, aproximadamente. A análise cromatográfica do óleo foi realizada no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), apresentando, como princípios ativos mais importantes, o citronelal (47,5%), o geranial (18,9%) e o citronelol (10,7%). Outros compostos perfizeram 22,9%.

Para os testes *in vitro* foram coletadas fêmeas ingurgitadas com comprimento superior a 4,5mm, retiradas de animais da raça Holandesa, naturalmente infestados, pertencentes ao Laboratório de Bovinocultura de Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria.

Os tratamentos foram constituídos pelo grupo controle e diferentes concentrações do óleo de citronela (0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0 e 100,0%). Para o grupo controle (testemunha, sem óleo) e para a complementação das demais soluções (até o nível de 50%) usou-se água destilada. As fêmeas ingurgitadas foram colocadas aleatoriamente em grupos de 10 em cada placa de Petri, sendo usadas três placas/tratamento, submetidas ao teste do biocarrapaticidograma (à semelhança de DRUMMOND et al., 1973), realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias da UFSM. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições (placas de Petri). Também foram usadas as mesmas concentrações com óleo mineral (75,68 de hidrocarbonetos parafinados e 24,32% de material inerte), visando determinar um possível efeito da oleosidade no controle de ácaros.

O experimento *in vivo* foi realizado no Laboratório de Bovinocultura de Leite (DZ, UFSM). Foram constituídos três tratamentos: amitraz, a 0,025% (grupo controle positivo), óleo de citronela a 8,6% e testemunha (grupo controle negativo). A opção pelo Amitraz deveu-se por não haver resistência da cepa de carrapato utilizada a esse produto. Para a concentração com óleo de citronela, o nível utilizado de 8,6%, teve como base os resultados da experimentação *in vitro*, sendo submetidos à análise de regressão polinomial, estimando-se um valor de 95% de eficácia. O óleo de citronela utilizado foi o mesmo daquele utilizado nos testes *in vitro*.

Nas avaliações foram utilizadas 18 vacas em lactação da raça Holandesa, com cerca de 521 kg de peso vivo e produção média de 21kg de leite/vaca/dia. Os animais foram submetidos diariamente a duas ordenhas. A base da alimentação foi constituída de pastagens perenes de ciclo estival. A complementação alimentar foi feita com concentrado (18% PB) à razão de 5 kg/vaca/dia, dividida entre as ordenhas da manhã e da tarde. Foram utilizadas seis vacas por tratamento. O critério para utilização de cada animal foi a infestação de carrapatos, sendo usadas vacas que apresentavam no mínimo dez teleóginas (média de três dias consecutivos). O preparo das soluções foi feito momentos antes e aplicada após a ordenha da tarde, utilizando-se de pulverizador costal. Para ambos os tratamentos, a quantidade de calda usada, foi de 4 litros/vaca.

Para as avaliações foram efetuadas contagens de carrapato, considerando-se os ínstares com tamanho superior a 4,5mm de comprimento, na metade do corpo do animal, multiplicando-se o valor por dois para a obtenção da infestação total (WHARTON et al., 1970). As contagens foram feitas no 1º, 2º, 3º, 5º, 7º, 10º, 14º e 21º dia após a aplicação dos produtos. Para calcular a eficácia do produto foi utilizada a seguinte fórmula: Eficácia = $[(N^{\circ}$ de teleóginas de pré-tratamento – N° de teleóginas do dia de pós-tratamento) * 100 / N° de teleóginas de pré-tratamento]. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, para a variável número de teleóginas, os dados foram analisados após a transformação logarítmica de base 10.

Para a análise das características sensoriais do leite e iogurte e a avaliação das variáveis fisiológicas, conduziu-se outra experimentação, mantendo-se os mesmos tratamentos.

Na análise das características sensoriais do leite e iogurte, as amostras da 1ª e 2ª ordenhas após o banho com óleo de citronela, foram avaliadas no Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos (UFSM). Para análise da cor, odor, sabor e aparência geral, utilizou-se uma escala hedônica não estruturada de sete pontos (1 - desgostei muito; 2 - desgostei regularmente; 3 - desgostei; 4 - indiferente, nem gostei, nem desgostei; 5 - gostei; 6 - gostei regularmente; 7 - gostei muito); para o teste de sabor em relação ao padrão, utilizando leite comercial, foi realizado um teste de comparação múltipla (para o leite e o iogurte), com escala de sete pontos (1 - extremamente pior que o controle; 2 - muito pior que o controle; 3 - regularmente pior que o controle; 4 - nenhuma diferença do controle; 5 - regularmente melhor que o controle; 6 - muito melhor que o controle; 7 - extremamente melhor que o controle) (DUTCOSKY, 2007). Os testes foram realizados por vinte provadores, sendo que cada um recebeu uma ficha para a avaliação dos parâmetros descritos.

As amostras de leite foram submetidas à análise de gordura, lactose, proteína, sólidos não gordurosos e acidez, realizadas em triplicata, segundo os métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos definidos pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL, 2006).

As variáveis fisiológicas, foram aferidos antes e às 3; 6 e 24 horas após a aplicação dos tratamentos. As frequências cardíaca e respiratória foram verificadas mediante auscultação com estetoscópio. Para aferir as temperaturas de globo ocular e da superfície da pele utilizou-se equipamento com infravermelho (TI 890 Instron com resolução de 50x).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo os tratamentos constituídos pelos grupos controle negativo e positivo (com produto químico a base de amitraz) além da solução com 8,6% de óleo de citronela, estimada a partir da análise de regressão, para controlar 95% do carrapato. As unidades experimentais foram constituídas pelas vacas em lactação

Para ambos os experimentos (*in vitro* e *in vivo*) os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade do erro. Foi utilizado o seguinte modelo matemático: $Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$, em que, Y_{ij} representa a variável dependente; i = o índice de tratamentos; j = o índice de repetições; μ é a média de todas as observações; T_i corresponde ao efeito dos tratamentos; ε_{ij} é o efeito do erro. Os dados foram analisados com auxílio do programa estatístico SAS (1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à experimentação *in vitro* (Tabela 1), observa-se que houve efeito ($P < 0,05$) do óleo mineral sobre a eclodibilidade de larvas a partir da solução constituída por 5%, embora esse nível não tenha diferido de 50% de óleo e do grupo testemunha (sem óleo), indicando que os resultados foram irregulares. Os melhores resultados foram obtidos com os níveis de 10 e 20% de concentração; considerando o tratamento com 100% de óleo mineral, não houve eclodibilidade. Para eficácia, os valores são baixos até o nível de 5% de concentração; para os demais tratamentos, os valores são elevados e associados ao nível de óleo utilizado. Esses resultados são atribuídos ao processo de asfixia que o óleo causa no carrapato através do bloqueio de suas aberturas superficiais (espiráculos), responsáveis pela respiração (GUIRADO, et al., 2003).

Para o óleo de citronela, observa-se que houve efeito ($P < 0,05$) a partir de 1% de óleo, sobre a eclodibilidade das larvas. Para a solução feita com 0,5% de óleo de citronela, não houve diferença em relação ao grupo controle. Não houve eclodibilidade com níveis de concentração elevada de óleo (50 e 100%). Os dados submetidos à análise de regressão demonstram efeito descendente $y = 82,265 - 3,505x + 0,027x^2$; $R^2 = 0,87$; $P = 0,0144$, para eclodibilidade a medida que se aumenta a

concentração do óleo de citronela nas soluções. Resultados semelhantes foram obtidos em pesquisa feita com o mesmo óleo, encontrando-se eclodibilidade de 25% com solução constituída por 5% de óleo; com 10% de óleo não houve eclodibilidade (MARTINS, 2006).

Para eficácia houve efeito ($P < 0,05$) a partir da solução constituída com menor nível de óleo de citronela (0,5%). A partir de 5% de óleo de citronela, a eficácia foi superior a 80%. Os dados submetidos à análise de regressão demonstram efeito quadrático com início ascendente $y = 27,215 + 13,921x - 0,701x^2$; $R^2 = 0,98$; $P = 0,0023$. Em pesquisas conduzidas com o mesmo produto foram observados resultados similares, com 100% de eficácia a partir de soluções contendo 10% de óleo de citronela (MARTINS, 2006). Resultados bem inferiores foram encontrados em concentração de 20% de óleo de citronela (*C. nardus*), com eficácia de 17% (COSTA et al., 2008).

Resultados obtidos com avaliações *in vitro* com 3% de óleo de citronela (*C. nardus*), mediante três aplicações de 1% em três dias consecutivos, em dois experimentos, nos quais foram avaliados produtos de origem distinta, verificaram-se eficácias de 79,3 e de 92,1% (OLIVO et al., 2008). Também em pesquisa em que se utilizou óleo de citronela a 12,5; 8,3 e 7,1% diluído em etanol foi observada ação larvicida de 95,7; 92,7 e 58,1%, respectivamente (CHUNGSAMARNYART; JIWAJINDA, 1992).

A ação acaricida do óleo de citronela deve-se, provavelmente, ao princípio ativo citronelal (CHAGAS et al., 2002), que é o principal componente desse produto. Já Martins (2006), avaliando os principais constituintes deste óleo (citronelal, geraniol e citronelol), sobre a ação acaricida, larvicida, de inibição da postura e eclodibilidade, verificou que o citronelal e o geraniol apresentam ação superior em relação ao citronelol. O autor apontou também para um possível efeito sinérgico dos distintos componentes do óleo no controle do carrapato. Trabalhos realizados por Enan (2001; 2005) demonstraram que entre a principal ação inseticida de diferentes constituintes de óleos essenciais incluindo o citronelal está no bloqueio dos receptores de octopamina (a octopamina possui ação neurotransmissora, neuromoduladora e como neuro-hormônio). A falta de receptores de octopamina nos vertebrados contribui para a seletividade dos óleos essenciais como inseticidas, sendo tóxicos para os insetos, mas não para os mamíferos (ENAN et al., 1998).

Para eficácia no controle de teleóginas (Tabela 2), observa-se que a ação do produto químico foi mais rápida, implicando em 100% de controle no 3º dia pós-tratamento, sendo superior ($P < 0,05$) em relação à solução feita com o fitoterápico, apresentando controle efetivo próximo a 100% no 14º dia pós-tratamento. Na avaliação feita no 21º dia, observa-se que a eficácia com óleo de citronela manteve-se acima de 90%, sendo superior ($P < 0,05$) ao grupo tratado com amitraz. Esse resultado demonstra que o óleo de citronela também age sobre as formas imaturas do carrapato, diferentemente do amitraz que tem menor ação sobre elas (HEIMERDINGER et al., 2006; MASKE et al., 1994; MEKONNEN, 2001).

Comparativamente, observa-se que a solução constituída pelo óleo de citronela a 8,6% apresenta desempenho efetivo em controlar a infestação de carrapatos se comparada com o produto químico. Os resultados também apontam que houve associação entre a eficácia obtida *in vitro*, de 95% (para o nível estimado de 8,6% de óleo de citronela, mediante análise de regressão), com valor verificado *in vivo*, obtendo-se controle superior a 90% a partir do 7º dia pós-banho.

Avaliações feitas *in vivo* com a mesma cepa de carrapato, usando óleo de citronela, mas de outra espécie (*C. nardus*), nas quais foram usadas soluções com 3 e 4% de óleo, com eficácia de 22,5 e 39,1% de controle após 14 dias de avaliação (AGNOLIN et al., 2010), confirmam os resultados obtidos (Tabela 1) da ação parcial do óleo com níveis de inclusão menores do que 5%. Os resultados verificados na presente pesquisa são superiores aos obtidos por Martins; González (2007), com controle de 60% ao usarem solução constituída por 10% de óleo de citronela (*C. winterianus*) em etanol.

As teleóginas que foram coletadas após o banho com óleo de citronela e submetidas ao teste do biocarrapaticidograma, não apresentaram postura. Este resultado é superior ao da experimentação *in vitro*, realizado na fase inicial, na qual se verificou postura tanto para o nível de 5 quanto para o de 10% de óleo de citronela.

Quanto à análise sensorial do leite (Tabela 3), não foram observadas diferenças entre tratamentos. Os valores obtidos, em torno de quatro, são considerados adequados para o leite pasteurizado. Na avaliação do iogurte foram observadas diferenças ($P < 0,05$) para os parâmetros sabor e sabor em relação ao padrão, tanto na 1ª quanto na 2ª ordenha pós-banho, com menor valor nas vacas tratadas com óleo de citronela. Para aparência também se verificou essa tendência, mas somente na

primeira ordenha, embora os valores obtidos tenham ficado entre os padrões indiferente e gostei.

Para as variáveis fisiológicas não foram observadas diferenças entre o controle e os animais banhados com a solução constituída por óleo de citronela (Tabela 4). Os valores levantados na avaliação inicial, antecedendo a aplicação do tratamento, às 9:00h, demonstram que os animais apresentavam variáveis fisiológicas próximas da normalidade (SMITH, 1994). Observa-se, no entanto, que nos dois grupos houve elevação dos valores da frequência cardíaca e respiratória, com pico na avaliação feita às 15:00h. Também houve elevação das temperaturas do globo ocular e da pele entre às 12:00 e às 15:00h, comprovando que os animais passaram por períodos de estresse térmico durante o dia.

Os resultados podem ser importantes como estratégia de controle do carrapato em diferentes sistemas de produção, uma vez que o óleo de citronela demonstrou ter ação efetiva sobre a cepa de carrapato testada. Constata-se, no entanto, a necessidade de se realizar novos estudos para otimizar a utilização do óleo de citronela, mediante novas formulações, especialmente na avaliação com emulsionantes, na forma de aplicação e no intervalo de aplicação do produto constituído.

CONCLUSÕES

As soluções contendo níveis crescentes de óleo mineral, exceto com 100% do produto, apresentam baixa eficácia e elevada variabilidade nas respostas obtidas.

As soluções contendo níveis crescentes de óleo de citronela avaliados *in vitro* apresentam efeito quadrático ascendente no controle do carrapato.

A solução contendo 8,6% de óleo de citronela apresenta eficácia no controle do carrapato dos bovinos, guardando associação com os níveis avaliados *in vitro*.

Houve similaridade entre os grupos de animais não tratados e os que foram banhados com solução contendo óleo de citronela, tanto nas propriedades organolépticas do leite quanto nos variáveis fisiológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNOLIN, C.A. Concentrações de óleo de citronela no controle de carrapatos de bovinos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.5, n.2, p.187-193, 2010.

ATHAYDE, A.C.R. et al. Fungos entomopatogênicos: uma alternativa para o controle do carrapato bovino: *Boophilus microplus*. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.21, n.1, p.12-15, 2001.

AVANCINI, C.A.M. **Sanidade animal na agroecologia: atitudes ecológicas de sanidade animal e plantas medicinais em Medicina Veterinária**. Porto Alegre: Fundação Gaia, 1994. 46p.

BITTENCOURT, V.R.E.P. et al. Avaliação da eficácia *in vitro* de dois isolados do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals) Vuil. em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.6, n.1, p.49-52, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa 68 de 12 de dezembro de 2006. **Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos**. Brasília- DF, 2006.

BRUM, J.G.W. et al. Infecção em teleóginas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): Histopatologia e testes *in vitro*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.43, n.1, p.31-7, 1991a.

_____ et al. Infecção em teleóginas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): I. etiologia e sazonalidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.43, n.1, p.25-30, 1991b.

CASTREJÓN, F.M. et al. Repellence of *Boophilus microplus* larvae in *Stylosanthes humili* sand *Stylosanthes hamata* plants. **Parasitologia Latinoamericana**. v.58, n.2-3, p.118-121, 2003.

CASTRO, J.J.; NEWSON, R.M. Host resistance in cattle tick control. **Parasitology Today**, v.9, n.1, p.13-17, 1993.

CHAGAS, A.C.S. et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.39, n.5, p.247-253, 2002.

_____ Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n.1, p.156-60, 2004.

CHUNGSAMARNYART, N.; JIWAJINDA, S. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and citronella grasses on tropical cattle ticks. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, v.26, n.5, p.46-51, 1992.

CORDOVÉS, C.O. **Carrapato: controle ou erradicação**. Guaíba: Agropecuária, 1997. 176p.

COSTA, F.B. et al. Eficácia de fitoterápicos em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, provenientes da mesorregião oeste do Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n.1, p.83-86, 2008.

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

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

DUTCOSKY, S.D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2. ed., Curitiba: Champagnat, 2007. 239p.

ENAN, E.E. et al Insecticidal action of terpenes and phenols to cockroaches: effect on octopamine receptors. In: **Proceedings of the International Symposium on Plant Protection**, Gent, Belgium, 1998.

_____ Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v.130, n.3, p.325–337. 2001.

_____ Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. **Archive in Insect Biochemistry Physiology**, v.59, n.3, p.161–171, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. **Resistência aos antiparasitários**: estado atual com ênfases na América Latina. Roma, 2003. 52p.

FURLONG, J. et al. Controle estratégico do carrapato dos bovinos. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v.23, n.137, p.53-56, 2004.

GHOSH, S. et al. Control of ticks of ruminants with special emphasis on livestock farming system in India - present and future possibilities for integrated control: a review. **Experimental and Applied Acarology**, v.40, n.1, p.49-66, 2006.

GUIRADO, N. et al. Controle da cochonilha Escama-Farinha em citros com uso de óleos em pulverização. **Laranja**, v.24, n.2, p.329-335, 2003.

HEIMERDINGER, A. et al. Extrato alcoólico de capim-cidreira no controle do *Boophilus microplus* em bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.1, p.37-39, 2006.

KEMP, D.H. et al. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: feeding and survival of the parasite on vaccinated cattle. **International Journal of Parasitology**, v.16, n.2 p.115-120, 1986.

MARTINS, R.M. Estudo "in vitro" da ação acaricida do óleo essencial da gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) no carrapato *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.2, p.71-78, 2006.

_____ ; GONZÁLEZ, F.H.D. Uso del aceite de citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt (Panicoidideae) como acaricida frente a la garrapata *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.4, p.1-8, 2007.

MARIMUTHU, S. et al. Effect of exposure of eggs to vapours from essential oils on egg mortality, development and adult emergence in *Earias vittella* (F) (Lepidoptera: noctuidae). **Biological Agriculture & Horticulture**, v.14, n.4, p.303-307, 1997.

MASKE, D.K. et al. In-vitro trials of amitraz against *Boophilus microplus*. **Journal of Bombay Veterinary College**, v.5, n.1/2, p.55-58, 1994.

MEKONNEN, S. In vivo evaluation of amitraz against ticks under field conditions in Ethiopia. **Journal of the South African Veterinary Association**, v.72, n.1, p.44-45, 2001.

OLIVEIRA, A.A; AZEVEDO, H.C. Resistência do carrapato *Boophilus microplus* a carrapaticidas em bovinos de leite na região dos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Revista Científica Rural**, v.7, n.2, p.64-71, 2002.

OLIVO, C.J. et al. Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.406-410, 2008.

PADILHA, T. Resíduos de anti-helmínticos na carne e no leite. In: PADILHA, T. **Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1996. p.77-94.

RAJA, N. et al. Effect of volatile oils in protecting stored *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleóptera: Bruchidae) infestation. **Journal of Stored Products Research**, v.37, n.2, p.127-132, 2001.

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

SAS, **Statistical Analysis System: User's Guide**, Stat. 2.ed. Cary: SAS Institute, 1997. 456p.

SINGH, R.; CHAUDARY, J.P. Effect of plant species on post-embryonic development and survival of armyworm (*Mythimna separata*). **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v.58, n.11, p.873-875, 1988.

SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. 2. Ed. São Paulo: Manole, 1994. 1738p.

SRIVASTAVA, S. et al. Effect of plant product on *Calosobruchus chinensis* L. infection on redgram. **Seed-Research**, v.16, n.1, p.98-101, 1988.

WHARTON, R.H. et al. Assessment of the efficiency of acaricides and their mode of application against the cattle tick *Boophilus microplus*. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.21, n.5, p.985-1006, 1970.

Tabela1 - Médias percentuais de eclodibilidade de larvas e da eficácia das soluções constituídas pelo controle e por diferentes concentrações de óleo mineral e óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) aplicado sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pela técnica do biocarrapaticidograma. Santa Maria, RS, 2011.

Níveis de óleo (%)	Eclodibilidade (%)		Eficácia do produto (%)	
	Óleo mineral	Óleo de citronela	Óleo mineral	Óleo de citronela
0,0 (controle)	98,5 ^a	96,5 ^a	0,0 ^f	0,0 ^e
0,5	100,0 ^a	99,5 ^a	1,0 ^f	34,5 ^d
1,0	100,0 ^a	82,0 ^c	7,5 ^e	43,0 ^{de}
2,0	98,5 ^a	91,0 ^b	0,0 ^f	48,0 ^c
5,0	98,0 ^{ab}	50,0 ^d	0,5 ^f	82,0 ^b
10,0	90,5 ^c	5,5 ^f	30,5 ^d	99,0 ^a
20,0	93,5 ^{bc}	11,5 ^e	33,5 ^c	99,0 ^a
50,0	97,5 ^{ab}	0,0 ^f	71,0 ^b	100,0 ^a
100,0	0,0 ^d	0,0 ^f	100,0 ^a	100,0 ^a
CV (%)	1,36	3,07	1,77	3,37

Médias com letras distintas, na coluna, indicam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey;. Óleo de citronela oriundo do Laboratório de Óleos Essenciais (UNIJUÍ – Ijuí, RS), do Pólo Oleoquímico de Três Passos, RS. CV= Coeficiente de variação.

Tabela 2 - Efeito da solução aquosa contendo óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) e do amitraz no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos da raça Holandesa. Santa Maria, RS, 2011.

Avaliações	Número de Teleóginas/vaca ¹			CV (%)
	Testemunha ²	Citronela ³	Amitraz ⁴	
Pré-tratamento	27,5	53,8	54,0	12,7
Pós-tratamento				
1 ^o dia	35,7	23,5	19,5	19,4
2 ^o dia	35,5 ^a	17,1 ^{ab}	3,7 ^b	20,8
3 ^o dia	41,7 ^a	11,1 ^b	0,0 ^c	21,7
5 ^o dia	36,2 ^a	7,5 ^b	2,7 ^b	26,6
7 ^o dia	36,7 ^a	4,5 ^b	2,5 ^b	23,8
10 ^o dia	33,2 ^a	2,5 ^b	5,7 ^b	28,9
14 ^o dia	33,0 ^a	1,1 ^b	1,2 ^b	33,9
21 ^o dia	35,0 ^a	3,8 ^b	18,7 ^a	23,6
Média Pós-tratamento	35,9 ^a	8,9 ^b	6,7 ^b	26,6
	Eficácia no controle de teleóginas (%)			
Pré-tratamento	0,0	0,0	0,0	0,0
Pós-tratamento				
1 ^o dia	0,0 ^b	59,6 ^a	61,2 ^a	29,0
2 ^o dia	0,0 ^c	70,1 ^b	93,2 ^a	11,2
3 ^o dia	0,0 ^c	80,6 ^b	100,0 ^a	8,4
5 ^o dia	0,0 ^b	87,0 ^a	95,7 ^a	7,7
7 ^o dia	0,0 ^b	92,8 ^a	95,7 ^a	5,2
10 ^o dia	0,0 ^b	95,3 ^a	90,5 ^a	7,5
14 ^o dia	0,0 ^b	98,0 ^a	97,7 ^a	2,3
21 ^o dia	0,0 ^c	91,3 ^a	60,0 ^b	20,3
Média Pós-tratamento	0,0 ^b	84,3 ^a	86,7 ^a	22,0

Médias com letras distintas, na linha, indicam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey;

¹ dados de número de teleóginas analisadas após a transformação logarítmica de base 10;

² Testemunha = grupo controle negativo; ³ Citronela 8,6 % = óleo de citronela a 8,6%; ⁴ Amitraz = 0,025% de amitraz, grupo controle positivo.

Tabela 3- Dados médios da análise sensorial do leite cru e do iogurte após a aplicação do óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em vacas da raça Holandesa. Santa Maria, RS, 2011.

Períodos	Grupos	Análise sensorial do leite				
		Cor	Odor	Sabor	Aparência Geral	Sabor / padrão
8 horas pós-banho	Controle ¹	4,5	4,0	3,5	4,4	4,4
	Citronela ²	4,6	4,4	3,8	4,5	4,5
24 horas pós-banho	Controle	4,9	4,3	4,3	4,7	5,5
	Citronela	4,7	4,5	4,1	4,2	4,9
Média	Controle	4,7	4,1	3,9	4,5	4,9
	Citronela	4,6	4,4	3,9	4,3	4,7
CV(%)		22,8	23,1	34,8	28,5	34,7
		Análise sensorial do iogurte				
8 horas pós-banho	Controle	5,8	5,2	5,4 ^a	5,4 ^a	6,3 ^a
	Citronela	4,8	4,7	3,6 ^b	4,6 ^b	4,6 ^b
24 horas pós-banho	Controle	4,7	4,5	4,8 ^a	4,5	6,4 ^a
	Citronela	4,3	4,1	3,5 ^b	3,8	4,9 ^b
Média	Controle	4,8	4,8	5,1 ^a	4,9	6,3 ^a
	Citronela	4,6	4,4	3,6 ^b	4,2	4,7 ^b
CV(%)		19,9	22,6	29,3	26,4	34,4

Propriedades físico-químicas do leite: gordura (%) = 2,55 e 2,85; lactose (%) = 3,95 e 3,87; proteína (%) = 3,1 e 3,0; Sólidos não gordurosos (%) = 9,2 e 9,1; acidez (° Dornic) = 15,3 e 16,0 para o grupo controle e óleo de citronela, respectivamente. Médias com letras distintas, na coluna, indicam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste F; ¹ Testemunha = grupo controle negativo; ² Citronela 8,6 % = óleo de citronela a 8,6%.

Tabela 4- Variáveis fisiológicas de vacas da raça Holandesa, submetidas à aplicação de soluções contendo 8,6% de óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Santa Maria, RS, 2011.

Período (hora do dia)	Grupo	Variáveis fisiológicas			
		Frequência cardíaca (bat/min.)	Frequência respiratória (mov/min.)	Temperatura globo ocular (°C)	Temperatura da pele (°C)
Antes (9:00)	Controle ¹	68,0	33,3	31,3	27,0
	Citronela ²	68,0	34,6	31,3	26,0
3 horas (12:00)	Controle	72,0	49,3	33,3	31,6
	Citronela	78,6	44,0	33,6	33,0
6 horas (15:00)	Controle	80,0	56,0	31,0	27,6
	Citronela	84,0	52,0	33,3	27,3
24 horas (9:00)	Controle	64,0	28,6	28,6	23,0
	Citronela	69,3	33,3	28,3	22,3
Média	Controle	71,0	41,8	31,0	27,3
	Citronela	75,0	41,0	31,1	27,1
CV(%)		15,7	41,1	6,5	14,0

Diferença não significativa ($P > 0,05$) pelo teste F; ¹ Testemunha = grupo controle negativo; ² Citronela 8,6 % = óleo de citronela a 8,6%; Períodos: antes da aplicação, às 3 e 6 horas correspondem ao dia 27/06/2010 e 24 horas corresponde ao dia 28/06/2010. Temperatura mínima e máxima de 16 e 28°C e de 14 e 21°C, respectivamente para o dia 27 e 28/06/2010.

CAPÍTULO 5

Efeito do óleo de eucalipto no controle do carrapato bovino Effect of eucalyptus oil on the control of cattle ticks

RESUMO

Esta pesquisa foi conduzida com o objetivo de avaliar o efeito *in vitro* e *in vivo* do óleo de eucalipto (*Corymbia citriodora*) sobre o carrapato bovino (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*). Na experimentação *in vitro* foi utilizado o grupo controle negativo e oito concentrações de óleo de eucalipto (0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0%), em fêmeas ingurgitadas de carrapato. A eficácia de controle foi de 0; 30,5; 75,5; 91; 100; 100; 100 e 100%, respectivamente. Para a experimentação *in vivo* foram constituídos três grupos (controle negativo; óleo de eucalipto a 3,5% - nível estimado mediante análise de regressão, correspondendo a 95% de eficácia de controle do carrapato da pesquisa *in vitro* e amitraz a 0,025%), com dezoito vacas da raça Holandesa. Antes (média dos dias -3, -2, -1) e após a aplicação do produto (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 e 21 dias), foram contadas fêmeas ingurgitadas de carrapato. A eficácia de controle foi de 0; 96,4 e 69%, respectivamente, 21 dias após o tratamento. Na 1ª e na 2ª ordenha após a aplicação dos tratamentos, foram avaliadas variáveis fisiológicas e coletadas amostras de leite para avaliar as propriedades organolépticas no leite e do iogurte (controle negativo x tratamento fitoterápico). O teste de aceitação sensorial do leite e das variáveis fisiológicas avaliadas foram similares entre os tratamentos.

Palavras-chave: Acaricida, fitoterápico, gado leiteiro, variáveis fisiológicas, propriedades organolépticas do leite.

ABSTRACT

This research was aimed at evaluating *in vitro* and *in vivo* effects of eucalyptus (*Corymbia citriodora*) oil on cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*). Negative control group and eight concentrations of eucalyptus oil (0.5; 1; 2; 5; 10; 20; 50; 100%), were used on *in vitro* trials with engorged female ticks. The efficacy of control ticks was 0; 30.5; 75.5; 91; 100; 100; 100; 100 and 100%, respectively. At the *in vivo* trial eighteen Holstein cows were allocated to three groups (negative control, eucalyptus oil at 3.5% - level estimated by regression analysis, accounting for 95% efficacy of control ticks on *in vitro* trial and amitraz at 0.025%). Engorged female ticks were counted before (mean of days -3, -2, -1) and after treatment (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 and 21 days). The efficacy control tick was 0; 96.4 and 69%, respectively, at 21 days after treatment. On the 1st and 2nd milked after treatments, physiologic variables were evaluate and milk samples were collected to evaluate organoleptic properties in milk and yoghurt (negative control x phytotherapeutic treatment). Similar results were found with sensorial acceptance test of milk and physiologic variables.

Key words: Acaricide, dairy cattle, phytotherapeutic, physiologic variables, milk organoleptic properties.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui um dos maiores rebanhos de bovinos do mundo, estimado em 173,2 milhões de cabeças (ANUALPEC, 2009). Dentre os parasitas que afetam os bovinos, o carrapato (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) é responsável por perdas econômicas nos rebanhos brasileiros e também em diferentes regiões do mundo (JONSSON; PIPER, 2007; MARTINS et al., 2006; WALKER et al., 2003). Os custos envolvidos com o controle e perdas causadas pelo carrapato em rebanhos no território brasileiro, podem chegar a 800 milhões de dólares por ano (MARTINEZ et al., 2006). Para o gado leiteiro, o carrapato causa diminuição na produção de leite e no ganho de peso, além de desvalorizar o couro, por causa das marcas deixadas no local onde o carrapato se fixou e há possibilidade de transmissão de doenças, como os agentes do complexo tristeza parasitária bovina (PATARROYO; LOMBANA, 2004).

O principal método de controle envolve o uso de acaricidas sintéticos. Essa forma de controle tem causado muitos casos de intoxicações de operadores, aumento da mortalidade de animais domésticos e silvestres, contaminação dos solos, das águas e dos alimentos, afetando, direta e indiretamente a saúde das comunidades envolvidas na produção de alimentos (ROEL, 2001). Agrega-se também, o desenvolvimento e seleção de cepas resistentes de *R. (B.) microplus* em diferentes partes do mundo tornando vários agentes químicos ineficazes (FAO, 2004).

Por causa da evolução da resistência a acaricidas, e dificuldade no desenvolvimento de novos produtos, há uma preocupação sobre o futuro dos métodos de controle químico do carrapato (GEORGE et al., 2004). Motivado por esta realidade, Mendes et al.(2007), afirmaram que uma das prioridades no controle do carrapato é evitar a seleção e proliferação de populações resistentes. Por esta razão, a busca de novas alternativas para o controle de carrapato tornou-se inevitável (CHAGAS, 2004).

A necessidade de métodos mais seguros, menos agressivos ao homem e ao meio ambiente, tem estimulado a busca de novos acaricidas a partir de extratos vegetais, já que estes podem propiciar um desenvolvimento bem mais lento da resistência e a redução do problema de resíduos devido a sua característica biodegradável (IANNACONE; LAMAS, 2002; MORALES; GARCÍA, 2000; ROEL, 2001).

Uma das plantas pesquisadas para o controle do carrapato é o *Eucalyptus*. Esse gênero é descrito como o mais cultivado em todo o mundo, sendo que no Brasil estima-se que tenham sido plantados seis milhões de hectares o que representa mais da metade da área reflorestada (EMBRAPA, 2000). Dentre as espécies comerciais, o *C. citriodora* é uma das mais utilizadas para a produção de carvão vegetal, postes, madeira, mourões de cerca, lenha, sendo a principal espécie utilizada para a produção de óleos essenciais (VITTI; BRITO, 2003). O uso de óleo de eucalipto como repelente ou inseticida é descrito por alguns autores (BRITO et al., 2006; CHAGAS et al., 2002; CLEMENTE et al., 2007; 2010; VERÍSSIMO; PIGLIONE, 2008), porém todos esses estudos foram realizados *in vitro*. Há, no entanto, poucas pesquisas associando experimentações feitas em laboratório e *in vivo* no controle do carrapato, bem como de possíveis efeitos do uso do produto sobre os animais e de produtos como o leite.

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia do óleo de eucalipto (*Corymbia citriodora*) como carrapaticida em bovinos leiteiros, valendo-se de experimentações *in vitro* e *in vivo*, e verificando possíveis efeitos do produto em variáveis fisiológicas dos animais e sobre as propriedades organolépticas do leite.

MATERIAL E MÉTODOS

O eucalipto utilizado (*Corymbia citriodora*) foi cultivado na mesorregião Noroeste do Rio Grande do Sul. O óleo foi extraído da parte aérea de plantas (folha e ramos), na usina de extração de óleos essenciais por arraste a vapor do Pólo Oleoquímico de Três Passos, pertencente à Universidade do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ), tendo apresentado rendimento de 1,6%, aproximadamente. A análise cromatográfica do óleo foi realizada no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), apresentando, como princípio ativo mais importante, o citronelal (70,4%). Outros compostos de um total de 11 perfizeram 29,6%.

Para a experimentação *in vitro* foram coletadas fêmeas ingurgitadas, com comprimento superior a 4,5mm, retiradas de animais da raça Holandesa,

naturalmente infestados, pertencentes ao Laboratório de Bovinocultura de Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria.

Os tratamentos foram constituídos pelo grupo controle e por diferentes concentrações do óleo de eucalipto (0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0 e 100,0%). Para o grupo controle (testemunha, sem óleo) e para a complementação das demais soluções (até o nível de 50%) usou-se água destilada. As fêmeas ingurgitadas foram colocadas aleatoriamente em grupos de 10 em cada placa de Petri, sendo usadas três placas (repetições) por tratamento, submetidas ao teste do biocarrapaticidograma (à semelhança de DRUMMOND et al., 1973), realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias da UFSM. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições (placa de Petri).

O experimento *in vivo* foi realizado no Laboratório de Bovinocultura de Leite (DZ, UFSM). Foram constituídos três tratamentos: amitraz, a 0,025% (grupo controle positivo), óleo de eucalipto a 3,5% e testemunha (grupo controle negativo). A opção pelo amitraz deveu-se por não haver resistência da cepa de carrapatos utilizada a esse produto. Para a concentração com óleo de eucalipto, o nível utilizado 3,5%, teve como base os resultados da experimentação *in vitro*, sendo submetidos à análise de regressão polinomial, estimando-se um valor de 95% de eficácia. O óleo de eucalipto utilizado foi o mesmo daquele utilizado nos testes *in vitro*.

Nas avaliações foram utilizadas 18 vacas em lactação da raça Holandesa, com cerca de 518 kg de peso vivo e produção média de 19,7 kg de leite/vaca/dia. Os animais foram submetidos diariamente a duas ordenhas. A base da alimentação foi constituída de pastagens perenes de ciclo estival. A complementação alimentar foi feita com concentrado (18% PB) à razão de 5 kg/vaca/dia, dividida entre as ordenhas da manhã e da tarde. Foram utilizadas seis vacas por tratamento. O critério para utilização de cada animal foi a infestação de carrapatos, sendo usadas vacas que apresentavam no mínimo dez teleóginas (média de três dias consecutivos). O preparo das soluções foi feito momentos antes e aplicada após a ordenha da tarde, utilizando-se de pulverizador costal. Para ambos os tratamentos, a quantidade de calda usada, foi de 4 litros/vaca.

Nas avaliações foram efetuadas contagens de carrapato, considerando-se os ínstares com tamanho superior a 4,5mm de comprimento, na metade do corpo do animal, multiplicando-se o valor por dois para a obtenção da infestação total (WHARTON et al., 1970). As contagens foram feitas no 1º, 2º, 3º, 5º, 7º, 10º, 14º e

21^o dia após a aplicação dos produtos. Para calcular a eficácia do produto foi utilizada a seguinte fórmula: Eficácia = $[(N^o \text{ de teleóginas de pré-tratamento} - N^o \text{ de teleóginas do dia de pós-tratamento}) * 100 / N^o \text{ de teleóginas de pré-tratamento}]$. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo que, para o variável número de teleóginas, os dados foram analisados após a transformação logarítmica de base 10.

Para a análise das características sensoriais do leite e iogurte e a avaliação das variáveis fisiológicas, conduziu-se outra experimentação, mantendo-se os mesmos tratamentos.

Na análise das características sensoriais do leite e iogurte, as amostras de pré, da 1^a e 2^a ordenhas após o banho com óleo de eucalipto, foram avaliadas no Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos (UFSC). Para análise da cor, odor, sabor e aparência geral, utilizou-se uma escala hedônica não estruturada de sete pontos: 1 - desgostei muito; 2 - desgostei regularmente; 3 - desgostei; 4 - indiferente, nem gostei, nem desgostei; 5 - gostei; 6 - gostei regularmente; 7 - gostei muito. Para o teste de sabor em relação ao padrão, utilizando leite comercial, foi realizado um teste de comparação múltipla (para o leite e iogurte), com escala de sete pontos: 1 - extremamente pior que o controle; 2 - muito pior que o controle; 3 - regularmente pior que o controle; 4 - nenhuma diferença do controle; 5 - regularmente melhor que o controle; 6 - muito melhor que o controle; 7 - extremamente melhor que o controle (DUTCOSKY, 2007). Os testes foram realizados por vinte provadores, sendo que cada um recebeu uma ficha para a avaliação dos parâmetros descritos.

As amostras de leite foram submetidas à análise de gordura, lactose, proteína, sólidos não gordurosos e acidez, realizadas em triplicata, segundo os métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos definidos pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento (BRASIL, 2006).

As variáveis fisiológicas foram aferidos antes e às 3; 6 e 24 horas após a aplicação dos tratamentos. As frequências cardíaca e respiratória foram verificadas mediante auscultação com estetoscópio. Para aferir as temperaturas de globo ocular e da superfície da pele utilizou-se equipamento com infravermelho (TI 890 Instron com resolução de 50x).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo os tratamentos constituídos pelos grupos controle negativo e positivo (com produto químico a base de amitraz) além da solução com 3,5% de óleo de eucalipto, estimada

a partir da análise de regressão, para controlar 95% do carrapato. As unidades experimentais foram constituídas pelas vacas em lactação

Para ambos os experimentos (*in vitro* e *in vivo*) os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade do erro. Foi utilizado o seguinte modelo matemático: $Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$, em que, Y_{ij} representa a variável dependente; i = o índice de tratamentos; j = o índice de repetições; μ é a média de todas as observações; T_i corresponde ao efeito dos tratamentos; ε_{ij} é o efeito do erro. Os dados foram analisados com auxílio do programa estatístico SAS (1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à experimentação *in vitro* (Tabela 1) observa-se que houve efeito ($P < 0,05$) a partir de 2% de óleo de eucalipto, sobre a eclodibilidade das larvas. Não houve eclodibilidade com níveis de concentração a partir de 5% de óleo. Os dados submetidos à análise de regressão demonstram efeito inicial descendente para eclodibilidade a medida que se aumenta a concentração do óleo de eucalipto nas soluções, $y = 92,224 + 4,802x - 4,651x^2$; $R^2 = 0,99$; $P = 0,0012$.

Para eficácia houve efeito ($P < 0,05$) a partir da solução com nível de 0,5% de óleo de eucalipto. A partir de 5% de óleo de eucalipto, a eficácia foi de 100%. Os dados submetidos à análise de regressão demonstraram efeito quadrático com início ascendente $y = 11,875 + 53,426x - 8,479x^2$; $R^2 = 0,88$; $P = 0,0042$. Em pesquisas conduzidas com a mesma espécie de eucalipto, mas utilizando o etanol como solvente, foram observados resultados inferiores para os níveis de 5, 10, e 20% (CHAGAS et al., 2002).

Em pesquisa realizada *in vitro*, na qual utilizaram vários óleos, entre eles o óleo de eucalipto (*C. citriodora*) e de citronela (*C. nardus*) em soluções, utilizando água como solvente, contendo 50; 25; 12,5 e 6,25% de óleo foi observada ação acaricida de 93,98; 80,23; 72,23 e 49,66% para o eucalipto e 77,56; 65,53; 31,23 e 30% para a citronela, no controle do *R. (B.) microplus* (CLEMENTE et al., 2007). Para os autores o resultado superior do eucalipto já era esperado em virtude do maior teor de citronelal, substância com ação inseticida comprovada. Também Chagas et al.

(2002), atribuíram a ação acaricida do óleo de citronela ao princípio ativo citronelal. Em outra pesquisa utilizando um nível de óleo de eucalipto (*C. citriodora*) na concentração de 6,25%, em solução aquosa, Clemente et al. (2010), obteve mortalidade larval de 10,8 e 20,1% para as espécies de carrapato *Amblyomma cajennense* e *Anocentor nitens*, respectivamente.

Para eficácia no controle de teleóginas (Tabela 2), observa-se que a ação do produto químico foi mais rápida, implicando em controle superior a 90% a partir 2º dia pós-banho, sendo superior ($P < 0,05$) em relação à solução de óleo de eucalipto, até o 7º dia pós-banho. Na avaliação feita no 21º dia, observa-se que a eficácia do óleo de eucalipto manteve-se acima de 95%, sendo superior ($P < 0,05$) ao grupo tratado com amitraz. Esse resultado demonstra que o óleo de eucalipto também age sobre as formas imaturas do carrapato, diferentemente do amitraz que tem menor ação sobre elas (HEIMERDINGER et al., 2006; MASKE et al., 1994; MEKONNEN, 2001).

A solução constituída pelo óleo de eucalipto a 3,5% apresentou desempenho semelhante ao amitraz a partir do 10º dia, e superior no 21º dia pós-banho para o controle da infestação de carrapatos. Os resultados entre a eficácia obtida *in vitro*, de 95% (para o nível estimado de 3,5% de óleo de eucalipto, mediante análise de regressão), foram superiores ao valor verificado *in vivo*, na média dos dias pós-banho, porém os valores do 14º e 21º dia são superiores a 90%, o que comprova o efeito do produto nas formas inferiores e também como repelente. Esta ação de repelência do citronelal foi comprovado contra barata (NGOH et al., 1998) e cupim (CORNELIUS et al., 1997 e SHARMA et al., 1994). Porém o citronelal é um dos óleos que apresenta maior volatilidade (ZHU et al., 2001), e o aumento na atividade de repelência de óleos essenciais é altamente dependente da composição do produto, portanto, formulações à base de cremes, misturas de polímeros, ou microcápsulas de liberação controlada, proporcionam um aumento da duração da repelência (CHANG et al., 2006; DUA et al., 1996; NENTWIG, 2003; SHARMA; ANSARI, 1994).

Quanto à análise sensorial do leite (Tabela 3), não foram observadas diferenças entre tratamentos. Os valores obtidos, em torno de quatro, são considerados adequados para o leite pasteurizado. Na avaliação do iogurte foram observadas diferenças ($P < 0,05$) para os parâmetros sabor e aparência geral, na 1ª ordenha pós-banho, com menor valor nas vacas tratadas com óleo de eucalipto, embora os valores obtidos tenham ficado entre os padrões indiferente e gostei, considerados adequados nessa escala de avaliação.

Para as variáveis fisiológicas não foram observadas diferenças entre o controle e os animais banhados com a solução constituída por óleo de eucalipto (Tabela 4). Os valores levantados na avaliação inicial, antecedendo a aplicação do tratamento, às 9:00h, demonstram que os animais apresentavam variáveis fisiológicas próximas da normalidade (SMITH, 1994). Observa-se, no entanto, que nos dois grupos houve elevação dos valores da frequência cardíaca entre às 12:00 e às 15:00h, apontando que os animais apresentavam estresse moderado, devido a elevação da temperatura ambiental (FERREIRA et al., 2006). Com a frequência respiratória, verificou-se a mesma tendência, indicando estresse térmico (HAHN; MADER, 1997). Também houve elevação das temperaturas do globo ocular e da pele entre às 12:00 e às 15:00h do dia, comprovando que os animais tiveram um período de estresse térmico durante o dia.

Os resultados podem ser importantes como estratégias de controle do carrapato em diferentes sistemas de produção, uma vez que o produto fitoterápico demonstrou ter ação sobre a cepa de carrapato testada. Constata-se, no entanto, a necessidade de se realizar novos estudos para otimizar a utilização do óleo de eucalipto, mediante novas formulações, especialmente na avaliação com emulsionantes, na forma de aplicação e no intervalo de utilização do produto constituído.

CONCLUSÕES

As soluções contendo níveis crescentes de óleo de eucalipto avaliados *in vitro* apresentam efeito quadrático ascendente no controle do carrapato.

Houve similaridade entre as avaliações *in vitro* e *in vivo* referente ao nível de 3,5% de óleo de eucalipto para 95% de eficácia de controle do carrapato.

Houve similaridade entre os grupos de animais não tratados e os que foram banhados com solução contendo óleo de eucalipto, tanto nas propriedades organolépticas do leite quanto nas variáveis fisiológicas dos animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: Angra FNP Pesquisas, 2009. 360p

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa 68 de 12 de dezembro de 2006. **Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos**. Brasília- DF, 2006.

BRITO, J.P. et al. Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.6, n.1, p.96-103, 2006.

CHAGAS, A.C.S. et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.39, n.5, p.247-253, 2002.

_____ Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n.1, p.156-60, 2004.

CHANG, K.S. et al. Repellency of *Cinnamomum cassia* bark compounds and cream containing cassia oil to *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) under laboratory and indoor conditions. **Pest Management Science**, v.62, n.11, p.1032-1038, 2006.

CLEMENTE, M.A, et al. Avaliação do potencial de plantas medicinais no controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Biociências**, v.1, s.2, p.516–518, 2007.

_____ et al. Acaricidal activity of the essential oils from *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon nardus* on larvae of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) and *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.107, n.4, p.987-992, 2010.

CORNELIUS, M.L. et al. Toxicity of Monoterpenoids and Other Natural Products to the Formosan Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal of Economic Entomology**, v.90, n.2, p.320-325, 1997.

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

DUA, V.K. et al. Repellency of *Lantana camara* (Verbenaceae) flowers against *Aedes* mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, v.12, n.1, p.406-408, 1996.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2. ed. Curitiba: Champagnat, 2007. 239p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Florestas (Colombo, PR). **Plantio de Eucalipto na Pequena Propriedade Rural**. Curitiba, 2000. 32p. (EMBRAPA – CNPF. Documentos, 54).

FERREIRA, F. et al. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.732-738, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. Carrapatos: resistência acaricida: gestão de diagnóstico e prevenção em: **Diretrizes de manejo da resistência e controle de parasitas integrados em ruminantes**. FAO Produção Animal e Divisão de Saúde, Roma, 2004.

GEORGE, J. E. et al. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. **Parasitology**, v.129, s.1, p.353–366, 2004.

HAHN, G.L.; MADER, T.L. Heat waves in relation o thermoregulation, feeding behavior, and mortality of feedlot cattle. In: INTERNATIONAL LIVESTOCK ENVIRONMENT SYMPOSIUM, 5, Minnesota, 1997. **Proceedings...** St. Joseph: ASAE, 1997. p.125-129.

HEIMERDINGER, A. et al. Extrato alcoólico de capim-cidreira no controle do *Boophilus microplus* em bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.1, p.37-39, 2006.

IANNACONE, J.; LAMAS, G. Efecto de dos extractos botánicos y um insecticida convencional sobre el depredador *Chrysoperla externa*. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, v.65, n.1, p.92-101, 2002.

JONSSON, N. N.; PIPER, E. K. **Integrated control programs for ticks on cattle**. Queensland: The University of Queensland, 2007. 163p.

MARTINEZ M.L. et al. Association of BoLA-DRB3.2 alleles with tick (*Boophilus microplus*) resistance in cattle. **Genetics and Molecular Research**, v.5, n.3, p.513–524, 2006.

MARTINS, J.R.S et al. Controle de carrapatos. In: BARROS-BATTESTI, DMB; ARZUA, M.; BECHARA, GH (Org) **carrapatos de importância médico-Veterinário da Região Neotropical**. Um Guia ilustrado para a Identificação de espécies. São Paulo: Instituto Butantam, 2006. p.145-153.

MASKE, D.K. et al. In-vitro trials of amitraz against *Boophilus microplus*. **Journal of Bombay Veterinary College**, v.5, n.1/2, p.55-58, 1994.

MEKONNEN, S. In vivo evaluation of amitraz against ticks under field conditions in Ethiopia. **Journal of the South African Veterinary Association**, v.72, n.1, p.44-45, 2001.

MENDES, M.C. et al. Sensitivity of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) to pyrethroids and organophosphate in farms in the Vale do Paraíba region, São Paulo, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.2, p81-85, 2007.

MORALES, S.; GARCÍA, C.M. Metodología para la evaluación del potencial insecticida de especies forestales. **Revista Facultad Nacional Agronomía**, v.53, n.1, p.787-800, 2000.

NENTWIG, G. Use of repellents as prophylactic agents. **Parasitology research**, v.90, n.1, p.40-48, 2003.

NGOH, S.P. et al. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the american cockroach, *Periplaneta Americana*(L.). **Pesticide science**, v. 54, n. 3, p.261-268, 1998.

PATARROYO, J. H. S.; LOMBANA, C. G. Resposta imune a vacinas sintéticas anti *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, s.1, p.129–134, 2004.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v.1, n.2, p.43-50, 2001.

SAS, **Statistical Analysis System: User's Guide**, Stat. 2.ed. Cary: SAS Institute, 1997. 456p.

SHARMA, R. N. et al. Vapour toxicity and repellency of some oils and terpenoids to the termite, *Odontotermes brunneus*. **Journal of Tropical Insect Science**, v.15, n.4-5, p.495-498, 1994.

SHARMA, V.P.; ANSARI, M.A. Personal protection from mosquitoes (Diptera: Culicidae) by burning neem oil in kerosene. **Journal of Medical Entomology**, v.31, n.3, p.505-507, 1994.

SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. 2. Ed. São Paulo: Manole, 1994. 1738p.

VERÍSSIMO, C.J.; PIGLIONE, R. Comportamento de larvas de carrapato diante de uma substância repelente. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.65, supl. p.75, 1998.

VITTI, A.M.S; BRITO, J.O. **Óleos essenciais de eucalipto**. Documentos florestais, n.17, ESALQ, Piracicaba, 2003. 26p.

WALKER, A.R. et al. **Ticks of Domestic Animals in Africa: A guide to identification of species**. Edinburgh: University of Edinburgh, 2003. 221p.

WHARTON, R.H. et al. Assessment of the efficiency of acaricides and their mode of application against the cattle tick *Boophilus microplus*. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.21, n.5, p.985-1006, 1970.

ZHU, B.C.R. et al. Evaluation of vetiver oil and seven insect-active essential oils against the formosan subterranean termite. **Journal of Chemical Ecology**, v.27, n.8, p.1617-1625, 2001.

Tabela 1 - Médias percentuais de eclodibilidade de larvas e da eficácia das soluções constituídas por diferentes concentrações de óleo de eucalipto (*Corymbia citriodora*) aplicado sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pela técnica do biocarrapaticidograma. Santa Maria, RS, 2011.

Óleo de eucalipto (%)	Eclodibilidade (%)	Eficácia do produto (%)
0,0 (controle)	98,5 ^a	0,0 ^d
0,5	92,5 ^{ab}	30,5 ^c
1,0	84,0 ^a	75,5 ^b
2,0	82,5 ^b	91,0 ^a
5,0	0,0 ^c	100,0 ^a
10,0	0,0 ^c	100,0 ^a
20,0	0,0 ^c	100,0 ^a
50,0	0,0 ^c	100,0 ^a
100,0	0,0 ^c	100,0 ^a
CV (%)	6,40	4,28

Médias com letras distintas, na coluna, indicam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; Óleo de eucalipto oriundo do Laboratório de Óleos Essenciais (UNIJUÍ – Ijuí, RS), do Pólo Oleoquímico de Três Passos, RS. CV= Coeficiente de variação.

Tabela 2 – Efeito do uso de solução aquosa contendo óleo de eucalipto (*Corymbia citriodora*) e do amitraz no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos da raça Holandesa. Santa Maria, RS, 2011.

Avaliações	Número de teleóginas/vaca ¹			CV (%)
	Controle ²	Eucalipto ³	Amitraz ⁴	
Pré-tratamento	30,4 ^b	60,4 ^a	47,6 ^{ab}	10,6
Pós-tratamento				
1 ^o dia	42,0 ^a	49,6 ^a	16,6 ^b	12,9
2 ^o dia	43,6 ^a	27,4 ^b	3,2 ^c	18,5
3 ^o dia	50,0 ^a	23,2 ^b	0,8 ^c	10,3
5 ^o dia	39,6 ^a	15,0 ^b	2,2 ^b	26,4
7 ^o dia	37,6 ^a	13,2 ^b	2,0 ^c	21,9
10 ^o dia	33,4 ^a	7,2 ^b	4,8 ^b	37,7
14 ^o dia	32,0 ^a	5,8 ^b	1,2 ^b	38,8
21 ^o dia	35,4 ^a	2,0 ^b	14,2 ^{ab}	29,6
Média Pós-tratamento	39,2 ^a	17,9 ^b	5,6 ^c	27,4
	Eficácia no controle de teleóginas (%)			
Pré-tratamento	0,0	0,0	0,0	0,0
Pós-tratamento				
1 ^o dia	0,0 ^c	18,0 ^b	64,4 ^a	36,2
2 ^o dia	0,0 ^c	52,2 ^b	93,6 ^a	31,1
3 ^o dia	0,0 ^c	58,0 ^b	98,8 ^a	32,2
5 ^o dia	0,0 ^c	73,0 ^b	96,6 ^a	21,0
7 ^o dia	0,0 ^c	77,2 ^b	96,6 ^a	10,1
10 ^o dia	0,0 ^b	88,4 ^a	91,4 ^a	7,5
14 ^o dia	0,0 ^b	90,8 ^a	97,2 ^a	6,3
21 ^o dia	0,0 ^c	96,4 ^a	69,0 ^b	16,9
Média Pós-tratamento	0,0 ^b	69,2 ^b	88,4 ^a	25,5

Médias com letras distintas, na linha, indicam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey;¹ dados de número de teleóginas analisados após a transformação logarítmica de base 10; ² Controle = grupo controle negativo; ³ Eucalipto = solução aquosa contendo 3,5% de óleo de eucalipto; ⁴ Amitraz = 0,025% de amitraz, grupo controle positivo.

Tabela 3 - Dados médios da análise sensorial do leite cru e do iogurte após a aplicação de solução contendo óleo de eucalipto (*Corymbia citriodora*) no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em vacas da raça Holandesa. Santa Maria, RS, 2011.

Períodos	Grupos	Análise sensorial do leite				
		Cor	Odor	Sabor	Aparência Geral	Sabor / padrão
8 horas pós-banho	Controle ¹	4,4	3,9	3,5	4,4	4,3
	Eucalipto ²	4,9	4,5	3,9	5,0	4,8
24 horas pós-banho	Controle	4,8	4,3	4,2	4,6	5,5
	Eucalipto	4,5	4,7	3,9	4,7	4,8
Média	Controle	4,6	4,1	3,8	4,5	4,9
	Eucalipto	4,7	4,6	3,9	4,8	4,8
CV(%)		21,7	24,3	35,6	24,7	39,0
Análise sensorial do iogurte						
8 horas pós-banho	Controle	4,9	5,0	5,4 ^a	5,3 ^a	6,1
	Eucalipto	4,9	4,7	4,4 ^b	4,7 ^b	6,0
24 horas pós-banho	Controle	4,7	4,5	4,7	4,4	6,4
	Eucalipto	4,8	4,9	4,8	4,7	6,6
Média	Controle	4,8	4,7	5,0	4,9	6,2
	Eucalipto	4,8	4,8	4,6	4,7	6,3
CV(%)		17,6	19,8	28,4	22,1	28,2

Propriedades físico-químicas do leite: gordura (%)= 2,5 e 3,4; lactose(%)= 4,0 e 4,2; proteína (%)= 3,2 e 3,3; Sólidos não gordurosos (%)= 9,4 e 9,8; acidez (° Dornic)= 15,4 e 15,3 para o grupo controle e óleo de eucalipto, respectivamente. Médias com letras distintas, na coluna, indicam diferença significativa (P<0,05) pelo teste F; ¹ Controle = grupo controle negativo; ² Eucalipto = solução aquosa contendo 3,5% de óleo de eucalipto.

Tabela 4 - Variáveis fisiológicas de vacas da raça Holandesa, submetidas à aplicação de soluções aquosa contendo 3,5% de óleo de eucalipto (*Corymbia citriodora*) para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Santa Maria, RS, 2011.

Período (hora do dia)	Grupo	Variáveis fisiológicas			
		Frequência cardíaca (bat/min.)	Frequência respiratória (mov/min.)	Temperatura globo ocular (°C)	Temperatura da pele (°C)
Antes (9:00)	Controle ¹	68,2	33,1	31,3	26,0
	Eucalipto ²	68,0	29,3	31,3	25,3
3 horas (12:00)	Controle	72,0	49,5	33,3	31,6
	Eucalipto	85,3	52,0	33,3	31,3
6 horas (15:00)	Controle	80,0	52,0	31,0	27,9
	Eucalipto	74,6	46,6	30,3	27,3
24 horas (9:00)	Controle	64,0	30,6	27,6	23,0
	Eucalipto	74,6	33,3	28,0	22,0
Média	Controle	71,0	41,3	30,8	27,2
	Eucalipto	75,6	40,3	30,7	26,4
CV(%)		12,0	31,1	6,6	12,9

Diferença não significativa entre grupos ($P>0,05$) pelo teste F; ¹ Testemunha = grupo controle negativo; ² Eucalipto = solução aquosa contendo 3,5% de óleo de eucalipto. Períodos: antes da aplicação, às 3 e 6 horas correspondem ao dia 27/06/2010 e 24 horas corresponde ao dia 28/06/2010. Temperatura mínima e máxima de 16 e 28°C e de 14 e 21°C, respectivamente para o dia 27 e 28/06/2010.

CAPITULO 6 – DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

6.1 Discussão Geral

Os estudos científicos realizados utilizando óleos essenciais no controle de carrapato em bovinos são na sua grande maioria realizados *in vitro*. Também se encontra trabalhos onde não está quantificada a forma de extração ou a análise dos principais constituintes do fitoterápico, pois é sabido que há variação dos constituintes, devido a vários fatores como a forma de extração, idade da planta, entre outros.

No experimento com óleo de capim limão *in vivo*, a redução no controle pode ser atribuída a alta volatilidade de seus constituintes, para isto tem-se a necessidade de se estudar outras formas de aplicação, bem como a associação deste óleo com produtos que permitam uma menor volatilização e também facilitem a penetração do produto no carrapato. Para os demais óleos, as respostas *in vivo* foram efetivas, ressaltando-se, no entanto, que a concentração de óleo de citronela utilizado é elevada.

Com relação às propriedades organolépticas do leite e iogurte, considerando a elevada variabilidade dos dados, recomendam-se novas pesquisas.

A utilização de fitoterápicos no controle de parasitas é vista hoje como uma forma de controle alternativo para produtores que trabalham na agricultura orgânica, bem como uma estratégia para a redução do desenvolvimento de populações de organismos nocivos resistentes aos produtos químicos sintéticos, além da redução nos custos de produção e na contaminação ambiental.

As plantas utilizadas neste trabalho são conhecidas e cultivadas no RS, e em grande parte do território brasileiro, podendo ser uma alternativa para o controle do carrapato, em diferentes sistemas de produção, tornando-se uma opção para o agricultor.

Os resultados obtidos no presente trabalho apontam para a necessidade de serem feitas outras pesquisas, considerando-se a região de plantio, as formas de extração dos óleos essenciais, sua conservação, formulações e técnicas de uso das soluções. Agrega-se, também, a necessidade de serem conduzidos estudos sobre os

componentes químicos da planta, avaliando-se individualmente seus efeitos no controle do carrapato.

6.2 Conclusão Geral

As soluções contendo níveis crescentes de óleo de capim limão, citronela e eucalipto avaliados *in vitro* apresentam efeito quadrático ascendente no controle do carrapato, já o óleo mineral apresenta elevada variabilidade.

Os resultados obtidos *in vivo*, em vacas em lactação, utilizando óleo de capim limão a 2%, apresentam controle parcial do carrapato dos bovinos, apontando baixa associação com os níveis avaliados *in vitro*. Já o óleo de citronela a 8,6% e o óleo de eucalipto a 3,5%, apresentam eficácia no controle do carrapato dos bovinos, guardando associação com os níveis avaliados *in vitro*, implicando em similaridade entre as avaliações *in vitro* e *in vivo* entre as soluções usadas com esses óleos.

Com relação às propriedades organolépticas do leite e as variáveis fisiológicas dos animais, houve similaridade entre os resultados obtidos de animais não tratados e os que foram banhados com solução contendo óleo essencial de capim limão, citronela e eucalipto.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M.A.O. et al. Efeitos dos extratos aquosos de folhas *Cymbopogon citratus* (DC.) Staph (Capim-santo) e de *Digitaria insularis* (L.) Fedde (capim- açu) sobre cultivos de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.12, n.3, p.125-129, 2003.

ANDREOTTI, R.; GOMES, A. **Situação Atual e Perspectivas no Controle do Carrapato em Bovinos por meio de vacina**. Campo Grande, Comunicado Técnico n.80, 3p. 2003.

ANGIONI, A. et al. Chemical Composition, Seasonal Variability, and Antifungal Activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *Stoechas* Essential Oils from Stem/Leaves and Flowers. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.12, p.4364-4370, 2006.

AVANCINI, C.A.M. **Sanidade animal na agroecologia**: atitudes ecológicas de sanidade animal e plantas medicinais em Medicina Veterinária. Porto Alegre: Fundação Gaia, 1994. 46p.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.2, p. 446-475, 2007.

BARKER, S.C.; MURRELL, A: Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. **Parasitology**, v.129, s.1, p.15-36, 2004.

BONNER, J. **The isoprenoids**. In: Bonner, J. & Varner, J. E. Plant Biochemistry. Academic Press, p.665-692, New York, 1961.

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

BRUM, J.G. **Carrapato dos Bovinos**, In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. D.C.; LEMOS, R. A. A. Doenças dos ruminantes e eqüinos, São Paulo: Varela, 572p., 2003.

CÁRCAMO, M. C. et al. Ação do citral e citronelal sobre larvas de *Lucilia sericata* (meigen, 1926) (Diptera: Calliphoridae), em condições de laboratório. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPEL, 2007, Pelotas. **Anais eletrônicos**... Pelotas: UFPel, 2007. Disponível em: <<http://www.ufpel.edu.br//anais/anais/edu.4>>. Acesso em: 12 nov. 2010.

CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Non-antibiotic therapies for infectious diseases. **Communicable Diseases Intelligence**, v.27, s.1, p.143–146, 2003.

CASTRO, H.G. et al. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Metabólitos Secundários**. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2004, 113p.

CASTRO, L.O.; CHEMALE, V.M. **Plantas medicinais, condimentares e aromáticas: descrição e cultivo**. Guaíba, 1995, 196p.

_____; RAMOS, R.L.D. **Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais**. Boletim Técnico da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO). Secretaria da Ciência e Tecnologia. Rio Grande do Sul. n.11, 2003, 28p.

CHAGAS, A.C.S. et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus spp.* em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.39, n.5, p.247-253, 2002.

CHUNGSAMARNYART, N.; JIWAJINDA, S. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and citronella grasses on tropical cattle ticks. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, Bangkok, v.26, n.5, p.46-51, 1992.

CINIGLIO, G. **Eucalyptus para a produção de óleos essenciais**, Piracicaba: ESALQ/USP/ Departamento de Ciências Florestais, 1993, 16p.

CORDOVÉS, C. O. **Carrapato: controle ou erradicação**. Guaíba: Agropecuária, 1997. 176p.

CORONADO, A.; MUJICA, F. Ovipositional pattern in amidine-resistant *Boophilus microplus* Canestrini, 1887 (Acari: Ixodidae) after treatment with amitraz. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.8, n.1, p.49-51, 1999.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 4ªed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v.1, 1986, 1131p.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of Lowe ring plants**. 2 ed. New York, The New York Botanical Garden. 1988. 279p.

DAVEY, R.B. et al. Comparison of the reproductive biology between acaricide-resistant and acaricide-susceptible *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.139, n.1/3, p.211–220, 2006.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: UNESP, 1996, 230p.

DONALD, A.D. Parasites, animal production and sustainable development. **Veterinary Parasitology**, v.54, n.1/3, p.27-47, 1994.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Florestas (Colombo,PR). **Plantio de Eucalipto na Pequena Propriedade Rural**. Curitiba, 2000. 32p. (EMBRAPA – CNPF. Documentos, 54).

ESTANISLAU, A.A. et al. Composição química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de cinco espécies de Eucalyptus cultivados em Goiás, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.11, n.2, p.95-100, 2001.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 2. ed., Porto Alegre:Sulina. 1993, 606 p.

_____ **Parasitologia Veterinária**. 3. ed., São Paulo:Ícone. 1997, 686 p.

FREITAS, M.G. **Entomologia e acarologia médica e veterinária**. Belo Horizonte: Precisa, 1982, 253p.

FRISCH, J.E. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. **International Journal for Parasitology**, v.29, n.1, p.57-71, 1999.

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

_____; PRATA, M. **Controle estratégico do carrapato de bovinos de leite**. Juiz de Fora, Circular Técnica n. 38, 2p., 2006.

_____; MASSARD, C. de A. Controle do carrapato dos bovinos. In: FURLONG, J. **Manejo sanitário, prevenção e controle de parasitoses e mamite em rebanhos de leite**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1994. p.37-48.

GARCIA, J.P.O.; LUNARDI, J.J. **Práticas alternativas de prevenção e controle das doenças dos bovinos**. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR, 2001, 46p.

GHEDINI, P.C. et al. Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no município de São João do Polêsine, RS. II – Emprego de preparações caseiras de uso medicinal. **Revista da Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais**, v.5, n.1, p.46-55, 2002.

GUENTHER, E. **History, Origin in Plants, Production and Analysis**. In: The Essential Oils, 4.ed. New York: Van Nostrand, v.2, 1977, 620p.

GRISI, L. et al. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, v.21, n.125, p.8-10, 2002.

GHOSH, S. et al. Control of ticks of ruminants with special emphasis on livestock farming system in India - present and future possibilities for integrated control: a review. **Experimental and Applied Acarology**, v.40, n.1, p.49-66, 2006.

GUSMAN, A.B. et al. Efeito do citronelol sobre a germinação e desenvolvimento do amendoim bravo (*Euphorbia heterophylla* L.). **Semina**, v.11, n.1, p.20-24, 1990.

HEIMERDINGER, A. **Extrato alcoólico de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*), no controle do carrapato (*Boophilus microplus*) de bovinos leiteiros**. 2005. 64p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

_____ et al. Extrato alcoólico de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*) no controle do *Boophilus microplus* em bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.1, p.37-39, 2006.

HERNÁNDEZ, L.E. et al. Acción repelente y acarida del *Melinis minutiflora* sobre el *Boophilus microplus*. **Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas**, v.16, n.1, p.17-21, 1987.

JONSSON, N.N. et al. Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. **Veterinary Parasitology**, v.78, n.1, p.65-77, 1998.

_____ The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. **Veterinary Parasitology**, v.137, n.1/2, p.1-10, 2006.

KESSLER, R.H.; SCHENCK, M.A.M. **Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1998. 157p.

LIMA, W.S. Controle de endo e ectoparasitos e relação custo/benefício em novilhas de rebanhos leiteiros de Minas Gerais. **A Hora Veterinária**, v.15, n.85, p.44-49, 1995.

LIMA, E.O. et al. Propriedades antibacterianas de óleos essenciais de plantas medicinais, **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v.7, n.3, p.251-258, 2003.

LORENZI H.; MATOS F.J.A. 2002. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odesa, Instituto Plantarum, 2002, 252p.

MAFONG, E.A.; KAPLAN, L.A. Insect repellents. **Postgrad Medicine**, v.102, n.2, p.68-69, 1997.

MAKKAR, H.P.S. et al. Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. **Animal**, v.1, n.9, p.1371-1391, 2007.

MARTINS, R.M. Estudio in vitro de la acción acaricida del aceite esencial de la gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) em la garrapata *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.2, p.71-78, 2006.

MASKE, D.K. et al. In-vitro trials of amitraz against *Boophilus microplus*. **Journal of Bombay Veterinary College**, v.5, n.1/2, p.55-58, 1994.

MAY, A. et al. Influência do intervalo entre cortes sobre a produção de biomassa de duas espécies de capim limão. **Horticultura Brasileira**, v.26, n.3, p.379-382, 2008.

MOLENTO, M.B. et al. Método Famacha como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, p.1139-1145, 2004.

MURRAY, B.I. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v.19, n.8/10, p.603-608, 2000.

NICOLETTI, M.A. et al. Principais interações no uso de medicamentos fitoterápicos, **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.57, p. 32-40, 2007.

OLIVEIRA, R.A.G, et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.1, p.77-82, 2006.

OLIVO, C.J. et al. Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.406-410, 2008.

OLWOCH, J.M. et al. Climate change and the genus *Rhipicephalus* (Acari: Ixodidae) in Africa. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.74, n.1, p.45-72, 2007.

OZAKI M. et al. Perception of noxious compounds by contact chemoreceptors of the blowfly, *Phormia regina*: putative role of an odorant binding protein. **Chemical Senses**, v.28, n.4, p.349-359, 2003.

PATARROYO, J.H.S.; LOMBANA, C.G. Resposta imune a vacinas sintéticas anti *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, s.1, p.129 – 134, 2004.

PELLATI, F. et al. Enantioselective LC analysis of synephrine in natural products on a protein-based chiral stationary phase. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.37,n.5, p.839-849, 2005.

PETER, R.J. et al. Tick, fly, and mosquito control-Lessons from the past, solutions for the future. **Veterinary Parasitology** v.132 n.3/4, p.205-215, 2005.

RADOSTITS, O.M. et al. **Clínica Veterinária**: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos caprinos e eqüinos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

RAJA, N. et al. Effect of volatile oils in protecting stored *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleóptera: Bruchidae) infestation. **Journal of Stored Products Research**, v.37, n.2, p.127-132, 2001.

RAMESHWAR, R.S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection** v.29, n.9, p.913-920, 2010.

SHASANY, A.K. et al. Phenotypic and RAPD diversity among *Cymbopogon Winterianus* Jowitt accessions in relation to *Cymbopogon nardus* Rendle. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.47, n.5, p.553-559, 2000.

SILVA, P.H.M. et al. Estudo preliminar de novas espécies de *Eucalyptus* para produção de óleos essenciais no Brasil. In: Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002. **Resumos**. São Paulo: USP, 2002.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5.ed. Porto Alegre:Universidade/UFRGS, 1998. 173p.

_____ ; SPITZER,V. **Óleos Voláteis**. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 1.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 1999. p.387-416.

_____ ; SPITZER, V. **Óleos Voláteis**. In: SIMÕES C. M. O et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, p.468-495, 2004.

SIMON, J.E. New crop introduction: exploration, research and commercialization of aromatic plants in the new world. **Acta Horticulturae**, v.331, sn, p.209-221. 1993.

SINDAN. Sindicato Nacional da Indústria de produtos para Saúde Animal, 2010. **Mercado veterinário por classe terapêutica e espécie animal, 2009**. Disponível em: <<http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index.html> >. Acesso em: 04 set. 2010.

SONENSHINE, D.E. **Biology of ticks**. Oxford: University Press, 1991. 447p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 3. ed. Porto Alegre,. 2004. 719p.

TAYLOR, J.L.S. et al. Towards the scientific validation of traditional medicinal plants. **Plant Growth Regulation**, v.34, n.1, p.23-37, 2001.

TRONGTOKIT, Y. et al. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. **Phytotherapy Research**, v.19, n.4, p.303-309, 2005.

URQUHART, G.M. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990, 305 p.

VERÍSSIMO, C.J. **Controle do carrapato dos bovinos**. Jaboticabal: Fundação de Estudos e Pesquisas em Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FUNEP), 1993. 27p.

_____ et al. Método simplificado de contagem para avaliar a resistência de bovinos ao carrapato *Boophilus microplus*. **Boletim de Indústria Animal**, São Paulo, v.51, n.2, p.169-173, 1994.

WHARTON, R.H. et al. The current status and prospects for the control of ixodes ticks with special emphasis on *Boophilus microplus*. **Office International des epizooties**, v.81, n.1, p.65-85, 1974.

WONG, K.K. et al. Citronela as an insect repellent in food packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.11, p.4633-4636, 2005.

XAVIER, A. **Variabilidade genética de óleo essencial e de crescimento em progênies de meio-irmãos de *Eucalyptus citriodora* Hook**. 1993. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil,

ZAFALON, A.S. et al. **Influência de citral e citronelal, em diferentes concentrações, sobre larvas de musca doméstica (diptera: muscidae)**. XVI Congresso de Iniciação científica da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Pelotas, 2006.