

Universidade Federal de Juiz de Fora
Pós-Graduação em Ciências Biológicas
Mestrado em Comportamento e Biologia Animal

Fernanda Calmon

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE SOLVENTES E SURFACTANTE SOBRE
OS ESTÁGIOS IMATUROS DE *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* E
AMBLYOMMA CAJENNENSE (ACARI: IXODIDAE) E ESTUDOS
PRELIMINARES SOBRE ECTOPARASITOS DE AVES SILVESTRES DE
FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA DA ZONA DA MATA DE MINAS
GERAIS**

Juiz de Fora
2013

Fernanda Calmon

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE SOLVENTES E SURFACTANTE SOBRE
OS ESTÁGIOS IMATUROS DE *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* E
AMBLIOMMA CAJENNENSE (ACARI: IXODIDAE) E ESTUDOS
PRELIMINARES SOBRE ECTOPARASITOS DE AVES SILVESTRES DE
FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA DA ZONA DA MATA DE MINAS
GERAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Erik Daemon

Co-orientador: Msc. CaioMárcio de Oliveira Monteiro

Juiz de Fora

2013

Calmon, Fernanda.

Avaliação da Toxicidade de Solventes e Surfactantes sobre os Estágios Imaturos de *Rhipicephalus Sanguineus* e *Amblyomma Cajennense* (Acari: Ixodidae) e Estudos Preliminares sobre Ectoparasitos de Aves Silvestres de Fragmentos de Mata Atlântica da Zona da Mata de Minas Gerais./
Fernanda Calmon.

– 2013.

48 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas-Comportamento e Biologia Animal)-Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

1. Carrapato vermelho do cão. 2. Carrapato estrela. 3. Solventes. 4. Surfactante

Fernanda Calmon

**AValiação da Toxicidade de Solventes e Surfactante sobre
OS ESTÁGIOS IMATUROS DE *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* E
AMBLIOMMA CAJENNENSE (ACARI: IXODIDAE) E ESTUDOS
PRELIMINARES SOBRE ECTOPARASITOS DE AVES SILVESTRES DE
FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA DA ZONA DA MATA DE MINAS
GERAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas-Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre

Aprovada em: ___/___/___

Banca Examinadora

Prof. Dr. Erik Daemon (Orientador)
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr^a Ana Carolina de Souza Chagas
Pesquisadora Embrapa Pecuária Sudeste – Parasitologia

Prof. Dr. Roberto Junio Pedroso Dias
Universidade Federal de Juiz de Fora

À minha mãe (*in memoriam*).

Agradecimentos

À Deus por existir e ser tão maravilhoso pra mim.

À Universidade Federal de Juiz de Fora, pelo apoio e qualidade do curso e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade federal de Juiz de Fora- Comportamento e Biologia Animal.

Ao Prof. Dr. Erik Daemon por ser orientador, amigo, por vezes pai, irmão, conselheiro, guru e estar presente nas nossas vidas de forma radiante.

Ao grande amigo e co-orientador Caio Monteiro por ser meu amigo, é uma honra ser sua amiga....Muito obrigada por tudo, pelos puxões de orelha, conselhos, companhia, conversas e correções! Valeu Caio, Você é muito especial.

Aos amigos do coração Tati Souza, Vivi Zeringota, Renata Pretinha, Diego Melo, Aline Faza, por me aturarem e tornarem minha vida mais feliz.

À Capes pelo apoio e parceria sem a qual seria muito difícil ingressar no projeto.

À todos que torceram e contribuíram para a realização deste trabalho

Meu muito obrigada de coração.

“Os animais foram criados pela mesma mão caridosa de Deus que nos criou. É nosso dever protegê-los e promover o seu bem-estar.”

Madre Teresa

Sumário

	Lista de tabelas.....	X
	Lista de ilustrações.....	XI
	Resumo.....	XII
	Abstract.....	XIII
1	Introdução.....	13
2	Revisão de Literatura.....	15
3	Referências.....	20
4	Avaliação da toxicidade de solventes e surfactante sobre os estágios imaturos de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Acari: Ixodidae).....	23
4.1	Resumo.....	23
4.2	Introdução.....	24
4.3	Material e Métodos.....	25
4.4	Resultados.....	26
4.5	Discussão.....	29
4.6	Referências.....	31
5	Avaliação da toxicidade de solventes e surfactante a larvas ingurgitadas e ninfas não ingurgitadas e ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> (Acari: Ixodidae).....	33
5.1	Resumo.....	33
5.2	Introdução.....	34

5.3	Material e Métodos.....	35
5.4	Resultados.....	37
5.5	Discussão.....	38
5.6	Referências.....	41
6	Estudos preliminares sobre ectoparasitos de aves silvestres de fragmentos de Mata Atlântica da Zona da Mata de Minas Gerais.....	44
6.1	Introdução.....	44
6.2	Material e Métodos.....	44
6.3	Resultados.....	45
6.4	Conclusão.....	46
6.5	Referências.....	47

Lista de tabelas

Tabela1	Mortalidade média de larvas não ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> tratadas com diferentes solventes e surfactante em condições de laboratório (27±1°C e UR>80±10%).....	27
Tabela2	Mortalidade média de larvas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> tratadas com diferentes concentrações de solventes e surfactante em condições de laboratório (27±1°C e UR>80±10%).....	27
Tabela3	Mortalidade média de ninfas não ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> tratadas com diferentes solventes e surfactante em condições de laboratório (27±1°C e UR>80±10%).....	28
Tabela4	Mortalidade média de ninfas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> tratadas com diferentes concentrações de solventes e surfactante em condições de laboratório (27±1°C e UR>80±10%).....	28
Tabela5	Mortalidade média de larvas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> tratadas com diferentes concentrações de solventes e surfactante sob condições de laboratório (27±1°C e UR>80±10%).....	37
Tabela6	Mortalidade média de ninfas não ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> tratadas com diferentes solventes e surfactante.....	38
Tabela7	Mortalidade média de ninfas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> tratadas com diferentes concentrações de solventes e surfactante sob condições de laboratório (27±1°C e UR>80±10%).....	38

Lista de ilustrações

Gráfico1	Números de espécimes correspondentes às famílias examinadas.....	45
	.	
Gráfico2	Número de aves que apresentaram ectoparasitos.....	46
	.	

Resumo

O presente estudo objetivou avaliar a toxicidade de diferentes solventes e do Tween 80 sobre os estágios imaturos de *Rhipicephalus sanguineus* e sobre larvas e ninfas ingurgitadas e ninfas não ingurgitadas de *Amblyomma cajennense*. Para larvas não ingurgitadas de *R. sanguineus* foi utilizado o teste de pacote de larvas modificado e a mortalidade foi avaliada após 24 horas. O mesmo teste foi adaptado para a realização do experimento com ninfas não ingurgitadas das duas espécies e nesses dois experimentos foram testados os solventes etanol, metanol e acetona puros e dimetilsufóxido e tween 80 na concentração de 50µl/ml. Em relação aos testes com larvas e ninfas ingurgitadas foi utilizada a metodologia de imersão e a mortalidade foi avaliada após 15 dias. Os solventes etanol, metanol e acetona foram testados nas concentrações de 50, 250, 500, 750 e 1000 µl/ml, enquanto que o solvente dimetilsufóxido e o surfactante Tween foram testados somente a 50µl/ml, no entanto, para *A.cajennense* o surfactante foi acrescido com a concentração de 25µl/ml para os estágios ingurgitados. Para cada teste foi feito um controle com água destilada. Foram feitas dez repetições por tratamento e os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$). Para *R. sanguineus* a acetona se mostrou tóxica nos estágios ingurgitados na maior concentração, o etanol e metanol foram tóxicos na maior concentração apenas para larvas ingurgitadas; para as larvas ingurgitadas de *A. cajennense* o etanol, metanol e a acetona forma tóxicos na maior concentração e o Tween matou 52 e 80% das larvas para as concentrações de 25 e 50µl/ml respectivamente, já para ninfas ingurgitadas o metanol matou 17,4 e a acetona 100% quando testados em qualidade pura, as ninfas não ingurgitadas não demonstraram sensibilidade aos solventes testados. Quanto a observação preliminar sobre a presença de ectoparasitos em aves silvestres, foram examinadas 58 aves de 5 famílias com prevalência de 15,5% de ectoparasitos.

Palavras-Chave: Carrapato vermelho do cão, carrapato estrela, solventes, surfactante

Abstract

The present study aimed to evaluate the toxicity of different solvents and of Tween 80 in immature stages of *Rhipicephalus sanguineus* and in larvae and engorged and non engorged nymphs of *Amblyomma cajennense*. For non engorged larvae of *R. sanguineus* it was utilized the larval packet test modified and mortality was evaluated after 24 hours. The same test was adapted for non engorged nymphs of both species and in both assays were tested ethanol, methanol and acetone in its pure concentrations and dimethylsulphoxide and Tween 80 in a concentration of 50µl/ml. For engorged larvae and nymphs it was utilized the immersion test and mortality was available after 15 days. The solvents ethanol, methanol and acetone were testes at concentrations of 50, 250, 500, 750 and 1000 µl/ml, while dimethylsulphoxide and the surfactant Tween were tested at concentrations of 50µl/ml, however, in the assays with *A.cajennense* engorged stages, the surfactant was added with a concentration of 25µl/ml. Ten repetitions were made for each treatment and the experimental groups were maintained in a BOD incubator ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$). For each test it was made a control group with distilled water. For *R. sanguineus* acetone showed toxic effects in engorged stages at the higher concentration, ethanol and methanol were toxic at higher concentration only for engorged larvae; to engorged larvae of *A. cajennense* the ethanol, methanol and acetone were toxic in the higher concentrations and the Tween caused mortality of 52 and 80% of larvae in concentrations of 25 and 50µl/ml respectively, for engorged nymphs, methanol caused a mortality of 17,4 and acetone of 100% when tested in pure concentrations, the tested solvents did not show any effect in engorged nymphs. As a preliminary remark on the presence of ectoparasites in wild birds, 58 birds were examined from 5 families with a prevalence of 15.5% of ectoparasites.

Key-words: Brown dog tick, star tick, solvents, surfactant

1 Introdução

Rhipicephalus sanguineus, popularmente conhecido como carrapato vermelho do cão, é uma espécie nativa do continente africano que deve sua distribuição pelo mundo pela peregrinação do homem levando consigo o cão doméstico (Leonard et al. 2002). Trata-se de um parasito de três hospedeiros, tendo se tornado praga em ambiente urbano. Seus principais hospedeiros são os cães e outros mamíferos embora possa ser encontrado parasitando aves e répteis, causando danos diretos (espoliação sanguínea) e indiretos (transmissões de agentes patogênicos) aos hospedeiros (Labruna 2004; Dantas-Torres 2008) assim como a transmissão de patógenos para os seres humanos (Sousa e Bacelar 2004; Matsumoto et al. 2005).

Amblyomma cajennense, comumente conhecido por “carrapato estrela”, é um ixodídeo que se encontra amplamente difundido desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (Guglielmone et al. 2006). Os hospedeiros preferenciais deste carrapato são os equinos e capivaras, entretanto, devido à sua baixa especificidade parasitária, principalmente dos estágios imaturos, pode parasitar outros mamíferos domésticos e silvestres, além de aves e do próprio ser humano (Guimarães et al. 2001; Oliveira 2004; Souza et al. 2004; Martins et al. 2004; Labruna et al. 2007). O parasitismo ocasiona espoliação sanguínea, podendo ainda provocar lesões e transmitir patógenos (Leite et al. 1998; Oliveira 2004; Prata 2005). Constitui-se também risco significativo em saúde pública, já que é o principal vetor da *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da febre maculosa na América do Sul (Lane & Crosskey 1993, Lemos et al. 1997).

O uso de carrapaticidas sintéticos é o método tradicional, de controle de ambas as espécies; entretanto, o uso de substâncias extraídas de plantas vem despertando grande interesse entre a comunidade científica, devido a inúmeras vantagens, quando comparado ao uso de produtos químicos sintéticos: os inseticidas naturais são obtidos a partir de recursos renováveis e são rapidamente degradáveis e o desenvolvimento da resistência de pragas a essas substâncias também se faz de forma mais lenta (Baladrin et al. 1985; Chagas 2004). No entanto, a extração de óleos essenciais e outras substâncias a partir de plantas requer metodologias de solubilização; para os testes com essas substâncias são necessários o uso de solventes que devem ter pouco ou nenhum efeito sobre as espécies do carrapato alvo, de modo que os resultados reflitam a real atividade acaricida da substância a ser testada (Beadles et al. 1973; Ravidran et al. 2011).

Estudos sobre a sensibilidade de carrapatos aos solventes e agentes tensoativos foram realizadas em larvas de *Dermacentor nitens* e *Amblyomma cajennense* (Resende et al. 2012), fêmeas ingurgitadas de *D. nitens* (Beadles et al. 1973), larvas não ingurgitadas e fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* (Chagas et al. 2003; Gonçalves et al. 2007) e fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus annulatus* (Ravidran et al. 2011). Os resultados demonstram que a susceptibilidade varia de acordo com a natureza do solvente ou tensoativo, e com o estágio de desenvolvimento do carrapato; dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação de diferentes solventes e de um surfactante sobre os estágios imaturos de *R. sanguineus* e sobre larvas e ninfas ingurgitadas e ninfas não ingurgitadas de *A. cajennense*.

2 Revisão de literatura

2.1 *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)

Rhipicephalus sanguineus, popularmente conhecido como carrapato vermelho do cão, é espécie nativa do continente africano, com ampla distribuição mundial (Leonard et al. 2002). Trata-se de um parasito heteroxeno, tendo se tornado praga em ambiente urbano. Seus principais hospedeiros são os cães e outros mamíferos embora possa ser encontrado parasitando aves e répteis causando danos diretos (espoliação sanguínea, prurido, estresse) e indiretos (transmissões de agentes patogênicos) como *Ehrlichia canis*, *Babesiose canis*, *Hepatozoon canis*, aos hospedeiros (Labruna 2004; Dantas-Torres 2008) assim como a transmissão de patógenos para os seres humanos (Sousa e Bacelar 2004; Matsumoto et al. 2005).

Nas últimas décadas tanto a prevalência quanto a intensidade das infestações por esse carrapato em cães vem aumentando, hoje em dia já se encontram no mercado vários produtos de diferentes bases químicas que são específicos para o controle de *R. sanguineus* (Labruna, 2004), atualmente junto com as pulgas esse carrapato é considerado o principal ectoparasito de cães em todo o Brasil.

2.2 *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787)

Amblyomma cajennense, comumente conhecido por “carrapato estrela”, é um ixodídeo que se encontra amplamente difundido desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (Guglielmone et al. 2006). Os hospedeiros preferenciais deste carrapato são os equinos e capivaras, entretanto, devido à sua baixa especificidade parasitária, principalmente dos estágios imaturos, pode parasitar outros mamíferos domésticos e silvestres, além de aves e do próprio ser humano (Guimarães et al. 2001; Oliveira 2004; Souza et al. 2004; Martins et al. 2004; Labruna et al. 2007). O parasitismo ocasiona espoliação sanguínea, podendo ainda provocar lesões e transmitir patógenos (Leite et al. 1998; Oliveira 2004; Prata 2005). Constitui-se também risco significativo em saúde pública, já que é o principal vetor da *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da febre maculosa na América do Sul (Lane & Crosskey 1993, Lemos et al. 1997).

O uso de carrapaticidas com base em princípios ativos sintetizados ainda é a forma mais utilizada para o controle desse carrapato; no entanto, as desvantagens do uso indiscriminado e sem orientação técnica adequada aumentam o impacto negativo sobre meio ambiente e pode levar à seleção de carrapatos resistentes àquelas bases químicas (Ravindran et al. 2011).

2.3 Solventes e tensoativos

O uso de carrapaticidas sintéticos com base em princípios ativos sintetizados, é o método tradicional no controle dos carrapatos; entretanto, o uso de substâncias extraídas de plantas vem despertando grande interesse entre a comunidade científica, devido às inúmeras vantagens, quando comparado ao uso de produtos químicos sintéticos: os inseticidas naturais são obtidos a partir de recursos renováveis e são rapidamente degradáveis e o desenvolvimento da resistência de pragas a essas substâncias também se faz de forma mais lenta (Baladrin et al. 1985; Chagas 2004). No entanto, a extração de óleos essenciais e outras substâncias a partir de plantas requerem metodologias de solubilização, para os testes com essas substâncias são necessários o uso de solventes que devem ter pouco ou nenhum efeito sobre as espécies do carrapato alvo, de modo que os resultados reflitam a real atividade acaricida da substância a ser testada (Beadles et al. 1973; Ravindran et al. 2011).

Solventes são substâncias químicas ou uma mistura líquida de substâncias químicas capazes de dissolver outro material de utilização industrial. Geralmente o termo “solvente” se refere a um composto de natureza orgânica. Apesar de suas composições químicas serem tão diversas, os solventes têm certo número de propriedades comuns: são compostos líquidos lipossolúveis, possuem grande volatilidade, são muitos inflamáveis, e produzem importantes efeitos tóxicos (National, 2010). No presente estudo foram utilizados os solventes: Etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$); metanol (CH_3OH); acetona ($(\text{CH}_3)_2\text{CO}$) e dimetilsulfóxido (DMSO) ($\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$) em diferentes concentrações que variou de acordo com o estágio do carrapato a ser testado.

Os tensoativos são moléculas anfifílicas, ou seja, possuem, na sua estrutura, duas regiões de polaridade opostas: uma polar (hidrofílica) e outra apolar (hidrofóbica). A presença destas duas regiões distintas em uma mesma molécula possibilita adsorções nas interfaces ar-água, óleo-água e sólido-água. A região

hidrofílica é constituída por grupos polares de caráter iônico ou não-iônico ligados a uma ou mais cadeias alquílicas (região hidrofóbica), onde o número de carbonos varia entre oito a dezoito átomos. De acordo com suas características peculiares, os tensoativos atuam como detergentes agentes emulsificantes, dispersantes ou solubilizantes (Rossi et al., 2006). Foi utilizado para os testes do presente estudo o tensoativo Tween 80 ($C_{64}H_{124}O_{26}$) na concentração de 50 μ l/ml, comumente utilizada em testes e ao ocasionar mortalidade de algum estágio, optou-se por verificar a concentração de 25 μ l/ml.

Estudos sobre a sensibilidade de carrapatos aos solventes e agentes tensoativos foram realizadas em larvas de *Dermacentor nitens* e *Amblyomma cajennense* (Resende et al. 2012), fêmeas ingurgitadas de *D. nitens* (Beadles et al. 1973), larvas de *Rhipicephalus microplus*, fêmeas ingurgitadas (Chagas et al. 2003; Gonçalves et al. 2007) e fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus annulatus* (Ravidran et al. 2011). Os resultados demonstram que a susceptibilidade varia de acordo com a natureza do solvente ou tensoativo, e com o estágio de desenvolvimento do carrapato.

Dessa forma torna-se necessário a determinação da toxicidade dos solventes utilizados em testes com carrapatos, a fim de que a atividade carrapaticida das substâncias testadas não seja mascarada.

2.4 Avaliação da sensibilidade de ixodídeos a solventes e tensoativo

Poucos são os trabalhos que investigaram a sensibilidade dos diferentes estágios dos ixodídeos em relação aos solventes e tensoativos, o que se torna relevante uma vez que a maioria dos produtos advindos de plantas, necessitam de solventes para sua solubilização e homogeneização.

Dentre os estudos que já foram publicados, destaca-se Chagas et al. (2003) que testaram o etanol, metanol, acetona, acetato de etila, DMSO, Triton x-100 e o xilol em qualidade pura e também na presença e ausência de azeite de oliva, sobre larvas não ingurgitadas e fêmeas de *Rhipicephalus microplus*, quando a mortalidade apresentada era superior a 5% eram testados em concentrações menores, nesse estudo, solventes de baixo peso molecular e pouca viscosidade, como o álcool metílico e o álcool etílico, não interferiram na mortalidade média em testes biológicos de *R. microplus*, principalmente em concentrações inferiores a 76%, foi

utilizado o teste de papel impregnado para larvas e o teste de imersão para larvas e fêmeas, sendo que o teste de papel impregnado demonstrou a menor taxa de mortalidade 30,4% para as larvas, enquanto a imersão de larvas foi de 40,5% e a imersão de fêmeas 55,1%.

Gonçalves et al. (2007) em seu trabalho testaram os solventes metanol, acetona e etanol em pureza analítica, DMSO e Tween em concentração de 1% e o triton x-100 a 5%, sobre larvas e fêmeas de *R. microplus* em testes de imersão, sendo as larvas submersas em pacotes de TNT por 5 minutos e observaram maior resistência das larvas, com mortalidade de 10% apenas no solvente acetona, enquanto que para as fêmeas o etanol matou 14,2%, o metanol 45,3% e a acetona matou 100% das fêmeas.

Ravindran et al. (2011) em teste de imersão com fêmeas de *Rhipicephalus annulatus* testaram os solventes hexano, éter, butanol, álcool isopropílico, clorofórmio, glicerol, acetato de etilo, acetona, etanol e metanol e concluíram que o metanol foi o menos tóxico para as fêmeas de *R. annulatus* enquanto que o hexano, clorofórmio, n-butanol e a acetona foram os mais tóxicos chegando a 100% de mortalidade.

Em contrapartida Resende et al. (2012) em teste de pacote de larvas não ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* e *Dermacentor nitens*, testaram os solventes etanol, metanol, acetona em qualidade pura, xilol, DMSO e tween em concentração de 1% e observaram mortalidade significativa apenas para o uso do xilol que apesar da baixa concentração apresentou mortalidade de 90% para ambas as espécies.

Tendo em vista a discrepância de resultados apresentados devemos levar em consideração as diferenças inter e intraespecíficas uma vez que estamos tratando de espécies distintas de ixodídeos e de estágios diferentes de uma mesma espécie e de espécies diferentes também.

O carrapato ao iniciar o repasto sanguíneo sofre uma distensão da cutícula e uma deposição de cera, no entanto a epicutícula parece ser de uma estrutura uniforme sobre todo o animal e parece ser o mesmo em larvas, ninfas e adultos, diferenças na propriedade são devidas a diferenças na procutícula, que abriga profundas dobras zig zag que podem variar de profundidade dependendo do estágio do carrapato (Hackman, 1982), já que a alimentação da larva se faz de forma mais lenta o aumento do tamanho e da cutícula secretada também se faz de forma mais lenta o que poderia estar relacionado com uma menor quantidade de ceras e

consequentemente uma menor degradação da cutícula frente a utilização de solventes lipossolúveis.

Referências

- BALANDRIN, M.; KLOCKE, J.; WURTELE, E.; BOLLINGER, W. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. **Science**, v.228, n.4704, p.1154–1160, 1985.
- BEADLES, M.L.; DRUMMOND, R.O.; WHETSTONE, T.M. Tropical horse tick: effects of solvents on oviposition. **Journal Economic Entomology**, v.66, p.125-127, 1973.
- CHAGAS, A.C.S.; LEITE, R.C.; FURLONG, J.; PRATES, H.T.; PASSOS, W.M. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. **Ciência Rural**, v.33, n.1, p. 109-114, 2003.
- CHAGAS, A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, p.156-160, 2004.
- DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v. 152, p.173-185, 2008.
- GONÇALVES, K.; TOIGO, E.; ASCOLI, B.; VON POSER, G.; RIBEIRO, V. Effects of solvents and surfactant agents on the female and larvae of cattle tick *Boophilus microplus*. **Parasitology Research**, v.100, p.1267–1270, 2007.
- GUGLIELMONE, A.A.; SZABÓ, M.P.J.; MARTINS, J.R.S.; ESTRADA-PEÑA, A. Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal. In: BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. (Eds.) **Carrapatos de Importância médico veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**, Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, 2006. p. 115–138.
- GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. **Ectoparasitos de Importância Veterinária**, Plêiade, São Paulo, p. 213, 2001.
- HACKMAN, R.H. Structure and function in tick cuticle. **Annual Review of Entomology**, v.27, p. 75-95, 1982.
- LABRUNA, M.B. Biologia-Ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, suplemento 1, 2004.
- LABRUNA, M.B.; MACHADO, R.Z. Agentes transmitidos por carrapatos na região neotropical. In: BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. (eds) **Carrapatos de importância médico veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, p. 155–164, 2006.
- LANE, R.P.; CROSSKEY, R.W. Medical insects and arachnids. Londres: **Chapman & Hall**, p.597-631, 1993.

LEITE, R.C. *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiogeográficas da baixada do Grande-Rio e Rio de Janeiro. Uma abordagem epidemiológica. 151f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. 1988.

LEMOS, T.L.G.; MONTE, F.J.Q.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; CRAVEIRO, A.A.; BARBOSA, R.C.S.B.; LIMA, E.O. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants. **Fitoterapia**, v. 63, p. 266–268, 1992.

LEONARD, J.A.; WAYNE, R.K.; WHEELER, J.; VALADEZ, R.; GUILLEN S & VILA C. Ancient DNA evidence for Old World origin of New World dogs. **Science**, v. 298, p.1613-161, 2002.

MARTINS, J.R.; MEDRI, I.M.; OLIVEIRA, C.M.; GUGLIELMONE, A. Ocorrência de carrapatos em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá mirim (*Tamandua tetradactyla*) na região do Pantanal Sul Mato-Grossense, Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p. 293-295, 2004.

MATSUMOTO, K.; BROUQUI, P.; RAOULT, D.; PAROLA, P. Experimental infection models of ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* group with *Rickettsia conori*. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v.5, p.363–372, 2005.

National Institute for Occupational Safety and Health Education and Information Division. Centers for Disease Control and Prevention. **Organic solvents**. July 20, 2010. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/niosh/topics/organsolv/>>. Acesso em: 02 out. 2012.

OLIVEIRA, P.R. Biologia e controle de *Amblyomma cajennense*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, suplemento 1, 2004.

PRATA, M.C.A. Carrapato estrela: problemas e soluções para animais e humanos. In: Furlong J (Ed.) Carrapato: problemas e soluções. **Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora**, p. 51–65, 2005.

RAVINDRAN, R.; JULIET, S.; KUMAR, K.G.A.; SUNIL, A.R.; NAIR, N.S.; AMITHAMOL, K.K.; RAWAT, A.K.S.; GHOSH, S. Toxic effects of various solvents against *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. **Ticks Tick-borne Diseases**, v.2, n.3, p.160–162, 2011.

RESENDE, J.D.R.A.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C.M.O.; MATURANO, R.; PRATA, M.C.A.; RODRIGUES, A.F.S.F. Toxicity of solvents and surfactants to *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae) larvae. **Experimental Parasitology**, v.131, n.2, p. 139–142, 2012.

ROSSI, C.G.F.T.; DANTAS, T.N. DE C.; NETO, A.A.D.; MACIEL, M.A.M. Tensoativos: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. **Revista Universidade Rural, Série Ciências Exatas e da Terra**, Seropédica, RJ: EDUR, v. 25, n.1-2, p. 73-85, 2006.

SOUSA, R.; BACELLAR, F. Morbi-Mortalidade por *Rickettsia conorii* em Portugal. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, p.180–184, 2004.

SOUZA, C.E.; CALLE, S.B.; CAMARGO, M.C.G.O. O papel da capivara *Hydrochaeris hydrochaeris* na cadeia epidemiológica da febre maculosa brasileira. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, p. 203–204, 2004.

4 Avaliação da toxicidade de solventes e surfactante sobre os estágios imaturos de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae)

Fernanda Calmon¹, Tatiane de Oliveira Souza Senra¹, Viviane Zeringóta¹, Renata da Silva Matos¹, Diego Melo¹, Caio Márcio de Oliveira Monteiro², Erik Daemon¹

1 – Programa de Pós-graduação em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, Brasil.

2 – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

4.1 Resumo

O presente estudo objetivou avaliar a toxicidade de diferentes solventes e o surfactante tween 80 sobre larvas e ninfas de *Rhipicephalus sanguineus*. Para larvas não ingurgitadas foi utilizado o teste de pacote de larvas modificado e a mortalidade foi avaliada após 24 horas. O mesmo teste foi adaptado para a realização do experimento com ninfas não ingurgitadas e nesses dois experimentos foram testados os solventes etanol, metanol e acetona puros e dimetilsufóxido e tween 80 na concentração de 50 µl/ml. Em relação aos testes com larvas e ninfas ingurgitadas foi utilizada a metodologia de imersão e a mortalidade foi avaliada após 15 dias. Os solventes etanol, metanol e acetona foram testados nas concentrações de 50, 250, 500, 750 e 1000 µl/ml, enquanto o solvente dimetilsufóxido e o surfactante tween 80 foram testados somente a 50 µl/ml. Para cada teste foi feito um controle com água destilada. Foram feitas dez repetições por tratamento e os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$). Para larvas não ingurgitadas não houve mortalidade; já para larvas ingurgitadas os solventes etanol e metanol foram tóxicos na concentração pura enquanto a acetona apresentou toxicidade a partir concentração de 500 µl/ml. Para as ninfas não ingurgitadas e ingurgitadas não houve mortalidade que diferisse estatisticamente ($p>0,05$) do grupo controle, com exceção a acetona, que pura matou 88% das ninfas ingurgitadas. Assim, podemos concluir que larvas ingurgitadas foi o ínstar mais sensível, seguido pelas ninfas ingurgitadas e que a acetona foi o solvente mais tóxico.

Palavras-chave: Carrapato vermelho do cão, solventes, surfactantes.

4.2 Introdução

Rhipicephalus sanguineus, popularmente conhecido como carrapato vermelho do cão, é espécie nativa do continente africano, com ampla distribuição mundial (Leonard et al. 2002). Trata-se de um parasito heteroxeno, tendo os cães como hospedeiros preferenciais, causando danos diretos (espoliação sanguínea) e indiretos (transmissões de agentes patogênicos) para esses animais (Labruna 2004; Dantas-Torres 2008). Esse ixodídeo também pode transmitir patógenos para o homem, sendo incriminado como vetor da bactéria *Rickettsia rickettsii* nos EUA e México e da bactéria *Rickettsia conorii* na região mediterrânea (Sousa e Bacelar 2004; Matsumoto et al. 2005).

O uso de carrapaticidas sintéticos com base em princípios ativos sintetizados é o método tradicional utilizado no controle de *R. sanguineus*; entretanto, o uso de substâncias extraídas de plantas vem despertando grande interesse na comunidade científica, devido à inúmeras vantagens, quando comparado ao uso de produtos químicos sintéticos; entre essas podemos citar o fato dos inseticidas naturais serem obtidos a partir de recursos renováveis e serem rapidamente degradados. Além disso, o desenvolvimento da resistência de pragas a essas substâncias também se faz de forma mais lenta (Baladrin et al. 1985; Chagas 2004). No entanto, para a realização de testes com óleos, extratos e substâncias puras extraídas de plantas, é necessário o uso de solventes ou surfactantes para solubilização dessas substâncias. Esses agentes de solubilização devem ter pouco ou nenhum efeito sobre as espécies do carrapato alvo, de modo que os resultados reflitam a real atividade acaricida da substância a ser testada (Beadles et al. 1973; Ravidran et al. 2011).

Estudos sobre a sensibilidade de carrapatos aos solventes e agentes tensoativos foram realizadas para larvas de *Dermacentor nitens* e *Amblyomma cajennense* (Resende et al. 2012), fêmeas ingurgitadas de *D. nitens* (Beadles et al. 1973), larvas e fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* (Chagas et al. 2003; Gonçalves et al. 2007) e fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus annulatus* (Ravidran et al. 2011a) e *Haemaphysalis bispinosa* (Ravidran et al. 2011b). Os resultados demonstram que a susceptibilidade varia de acordo com a natureza do solvente ou tensoativo, e com o estágio de desenvolvimento e espécie de carrapato. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação de diferentes solventes e de um surfactante sobre larvas e ninfas não ingurgitadas e ingurgitadas de *R. sanguineus*.

4.3 Material e Métodos

4.3.1 Local de desenvolvimento do estudo e obtenção dos carrapatos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Minas Gerais, Brasil. Para a realização dos testes foram utilizadas larvas e ninfas provenientes da colônia mantida através de infestações artificiais em coelhos segundo técnica de Neitz et al. (1971). Os solventes etanol, metanol, acetona, dimetilsulfóxido (DMSO) e o tensoativo tween 80 foram obtidos da empresa Vetec Química Fina®.

4.3.2 Experimentos

4.3.3 Teste de pacote

O teste utilizado para larvas não ingurgitadas foi baseado na metodologia de Stone e Haydoc (1962) adaptada por Monteiro et al (2012), em que aproximadamente 100 larvas foram colocadas no centro de uma folha de papel de filtro de medição de 6 x 6 cm, que foi dobrado ao meio e selado nas bordas com cliques. Em seguida, o exterior de cada lado do pacote foi umedecido uniformemente com 90 µl das substâncias testadas. Os solventes etanol, metanol e acetona foram testados na concentração de 1000 µl/ml, enquanto o solvente dimetilsulfóxido (DMSO) e surfactante tween 80 foram utilizados na concentração de 50 µl/ml. Também foi formado um grupo controle tratado com água destilada. Para cada concentração foram feitas dez repetições e todos os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada (27°C±1 e UR 80±10%). Após 24 foi feita a avaliação da mortalidade e o percentual foi obtido com a utilização da fórmula: $Mortalidade (\%) = (ninfas\ mortas\ total / total\ de\ ninfas) \times 100$.

No teste com ninfas não ingurgitadas utilizou-se o mesmo método, sendo colocadas cinco ninfas em cada pacote.

4.3.4 Teste de Imersão

Nesse procedimento os solventes etanol, metanol e acetona foram utilizados nas concentrações de 50, 250, 500, 750 e 1000 µl/ml, enquanto o DMSO e o surfactante tween 80 foram testados na concentração 50 µl/ml.

Para larvas ingurgitadas, foi utilizado o teste de imersão em que 850 carrapatos foram distribuídas em 17 grupos com 50 espécimes (cada grupo = um tratamento). Estes grupos foram imersos em 20 ml das soluções a serem testadas durante cinco minutos, em adaptação do teste de imersão de fêmeas ingurgitadas descrito por Drummond et al. (1973). Após o período de imersão, cada grupo foi dividido em 10 subgrupos com cinco larvas acondicionados em tubos de ensaio (cada subgrupo = uma unidade experimental), vedados com algodão e mantidos em câmara climatizada (27 ± 1 °C e UR > $80\pm 10\%$). Dessa forma, foram feitas dez repetições por grupo. No controle, as fêmeas foram imersas por cinco minutos em água destilada. Após 15 dias foi feita a avaliação da mortalidade e o percentual foi calculado pela seguinte fórmula: Mortalidade (%) = (total de larvas mortas/total de larvas) x 100.

No teste com ninfas ingurgitadas foi utilizado o mesmo procedimento experimental.

4.3.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o programa Biostat versão 5.0. Os valores percentuais foram transformados em $\sqrt{\text{arco seno } x}$ e comparados pelo teste de Kruskal-Wallis e Student Newman-Keuls testes ($p < 0,05$).

4.4 Resultados

No teste com larvas não ingurgitadas, não foi verificada mortalidade em nenhum dos grupos tratados ($p > 0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1 – Mortalidade média de larvas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* tratadas com diferentes solventes e surfactante em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).

Tratamentos	Média \pm Desvio padrão
Controle	0,0 \pm 0,0
Etanol - 1000 $\mu\text{l/ml}$	0,0 \pm 0,0
Metanol - 1000 $\mu\text{l/ml}$	0,0 \pm 0,0
Acetona - 1000 $\mu\text{l/ml}$	0,0 \pm 0,0
*DMSO - 50 $\mu\text{l/ml}$	0,0 \pm 0,0
Tween 80 - 50 $\mu\text{l/ml}$	0,0 \pm 0,0

*DMSO – dimetilsufóxido

Para larvas ingurgitadas, a mortalidade foi baixa para etanol e metanol nas concentrações de 50, 250, 500 e 750 $\mu\text{l/ml}$, sendo observados valores estatisticamente semelhantes ($p>0,05$) ao verificados para o grupo controle. Entretanto, a utilização desses mesmos solventes na concentração de 1000 $\mu\text{l/ml}$ resultou em alta mortalidade ($p<0,05$) (68 e 41% para etanol e metanol, respectivamente) (Tabela 2). Para a acetona, mortalidade elevada foi verificada a partir da concentração de 500 $\mu\text{l/ml}$ ($p<0,05$), chegando a 98% na maior concentração (1000 $\mu\text{l/ml}$) (Tabela 2). Nos grupos tratados com DMSO e tween 80 na concentração de 50 $\mu\text{l/ml}$ a mortalidade foi de 0% e 4%, evidenciando ausência de diferenças significativas ($p<0,05$) em relação ao grupo controle (Tabela 2).

Tabela 2 – Mortalidade média de larvas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* tratadas com diferentes concentrações de solventes e surfactante em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$).

Tratamentos	Etanol	Metanol	Acetona	*DMSO	Tween 80
Controle	0,0 ^a \pm 0,0	0,0 ^a \pm 0,0	0,0 ^a \pm 0,0	0,0 ^a \pm 0,0	0,0 ^a \pm 0,0
50 $\mu\text{l/ml}$	2,0 ^a \pm 6,3	0,0 ^a \pm 0,0	0,0 ^a \pm 0,0	0,0 ^a \pm 0,0	4,7 ^a \pm 9,0
250 $\mu\text{l/ml}$	1,4 ^a \pm 4,5	0,0 ^a \pm 0,0	1,6 ^a \pm 5,2	-	-
500 $\mu\text{l/ml}$	7,1 ^a \pm 9,3	3,3 ^a \pm 10,5	6,0 ^{ab} \pm 9,6	-	-
750 $\mu\text{l/ml}$	6,0 ^a \pm 13,5	10,3 ^a \pm 15,7	28,1 ^b \pm 23,6	-	-
1000 $\mu\text{l/ml}$	68,2 ^b \pm 21,7	41,3 ^b \pm 22,7	98,0 ^c \pm 6,3	-	-

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem significativamente ao nível de 5%.

Com relação às ninfas não ingurgitadas, nenhuma das substâncias testadas resultou em percentual de mortalidade superior a 5%, não sendo constatadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos tratados e o controle (Tabela 3).

Tabela 3 – Mortalidade média de ninfas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* tratadas com diferentes solventes e surfactante em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR} > 80 \pm 10\%$).

Tratamentos	Média \pm Desvpad
Controle	2,0 ^a \pm 6,3
Etanol - 1000 $\mu\text{l/ml}$	4,0 ^a \pm 8,4
Metanol - 1000 $\mu\text{l/ml}$	3,7 ^a \pm 7,8
Acetona - 1000 $\mu\text{l/ml}$	4,5 ^a \pm 9,6
*DMSO - 50 $\mu\text{l/ml}$	4,0 ^a \pm 8,4
Tween 80 - 50 $\mu\text{l/ml}$	4,0 ^a \pm 8,4

Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5%.

Para ninfas ingurgitadas, os solventes etanol e metanol em todas as concentrações testadas causaram baixas taxas de mortalidade ($p > 0,05$) (Tabela 4). Para acetona, apenas o valor obtido com a utilização da maior concentração (1000 $\mu\text{l/ml}$) diferiu significativamente ($p < 0,05$) do controle, sendo observado percentual de mortalidade de 88% (Tabela 4). A mortalidade ocasionada pelo DMSO e o tween 80 foi de 2% e 6%, não sendo constatadas diferenças significativas em relação ao controle ($p > 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4 – Mortalidade média de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* tratadas com diferentes concentrações de solventes e surfactante em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR} > 80 \pm 10\%$).

	Etanol	Metanol	Acetona	*DMSO	Tween 80
Controle	6,0 ^a \pm 9,6	6,0 ^a \pm 9,6	6,0 ^a \pm 9,6	6,0 ^a \pm 9,6	6,0 ^a \pm 9,6
50 $\mu\text{l/ml}$	6,0 ^a \pm 13,5	2,0 ^a \pm 6,3	4,0 ^a \pm 8,4	2,0 ^a \pm 6,3	6,0 ^a \pm 9,7
250 $\mu\text{l/ml}$	2,0 ^a \pm 6,3	6,0 ^a \pm 9,6	4,0 ^a \pm 8,4	-	-
500 $\mu\text{l/ml}$	4,0 ^a \pm 6,3	0,0 ^a \pm 0,0	16,0 ^a \pm 12,6	-	-
750 $\mu\text{l/ml}$	6,0 ^a \pm 13,5	10,0 ^a \pm 10,5	10,0 ^a \pm 10,5	-	-
1000 $\mu\text{l/ml}$	10,0 ^a \pm 14,1	2,0 ^a \pm 6,3	88,0 ^b \pm 10,3	-	-

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem significativamente ao nível de 5%.

4.5 Discussão

A crescente preocupação a respeito das desvantagens do uso indiscriminado de carrapaticidas tem feito que muitos acarologistas direcionem suas pesquisas para a investigação de substâncias de origem vegetal com atividade carrapaticida, buscando novas alternativas de controle desses artrópodes (Clemente et al, 2010.; Mendes et al, 2011;. Borges et al, 2011; Gomes et al. 2012). Entretanto, poucos estudos têm foram realizados para avaliar o efeito dos solventes e surfactantes sobre carrapatos (Chagas et al, 2003; Gonçalves et al, 2007.), sendo esse o primeiro estudo a investigar a toxicidade para estágios imaturos de *R. sanguineus*. Os resultados obtidos aqui e discutidos na sequência são de fundamental importância, servindo como guia para eleição dos agentes de solubilização adequados, uma vez que o ideal é que esses solventes sejam eficientes e que não apresentem toxicidade para o carrapato, permitindo assim, avaliar a real atividade carrapaticida da substância de origem vegetal testada (Ravindran et al. 2011).

Para larvas não ingurgitadas de *R. sanguineus* os solventes etanol, metanol e acetona testados em qualidade pura e o DMSO e o tween 80 na maior concentração de 50 µm/ml não apresentaram toxicidade, não sendo observado mortalidade de nenhuma larva em todos os tratamentos. Esses resultados estão de acordo com os dados obtidos para *A. cajennense* e *D. nitens* em estudo conduzido por Resende et al. (2012), uma vez que essas mesmas substâncias também não apresentaram toxicidade para larvas não ingurgitadas desses ixodídeos. A baixa toxicidade do etanol, metanol, DMSO e tween 80, também foram verificado para larvas não ingurgitadas de *R. microplus*, diferindo do observado para a acetona, que causou mortalidade de 10% (Gonçalves et al. 2007). Tal diferença com relação à toxicidade da acetona pode estar relacionada com a diferença na susceptibilidade entre as espécies devido possíveis diferenças na constituição e permeabilidade da cutícula. Estudos avaliando o potencial de substâncias de origem vegetal tem demonstrado que larvas de *R. microplus* são mais sensíveis do que larvas de outros carrapatos quando desafiadas com diferentes concentrações de determinados monoterpenos e óleos essenciais (Scoralik et al. 2012; Daemon et al. 2012; Gomes et al. 2012).

Para ninfas ingurgitadas, também foi verificado que os solventes os solventes etanol, metanol e acetona em qualidade pura e o DMSO e o surfactante tween 80 na concentração 50 µl/ml apresentaram baixa toxicidade. Tal fato, pode estar

relacionado a similaridade na composição da cutícula das larvas e ninfas antes do ingurgitamento (Hackman 1982).

Para larvas ingurgitadas de *R. sanguineus* os solventes etanol e metanol se mostraram tóxicos na maior concentração e a acetona se mostrou tóxica a partir da concentração de 500 µl/ml. A epicutícula que é camada mais externa do carrapato é constituída principalmente de colesterol, que por sua vez é solúvel em acetona, etanol e metanol. Assim, esses solventes nas maiores concentrações podem ter degradado essa camada de colesterol, ocasionando a perda de água e a morte dos carrapatos por desidratação (Gonçalves et al. 2007; Odhiambo 1982), fato observado para fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus annulatus* (Ravindran et al. 2011a), *Haemaphysalis bispinosa* (Ravindran et al. 2011b) e *R. microplus* (Gonçalves et al. 2007).

Para ninfas ingurgitadas, apenas a acetona em qualidade pura foi tóxica, causando mortalidade de 88% das ninfas. Esse fato nos remete à hipótese de diferença na susceptibilidade entre os estágios, uma vez que para ninfas ingurgitadas os solventes etanol e metanol não provocaram mortalidade significativa em nenhuma das concentrações testadas, diferindo dos resultados observados para larvas ingurgitadas, em que o metanol e etanol na maior concentração também foram tóxicos. A acetona foi o solvente mais tóxico para fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* (Chagas et al. 2003; Gonçalves et al. 2007) e *R. annulatus* (Ravindran et al. 2011ab). Esses autores atribuem a maior toxicidade da acetona ao fato de ser o solvente mais polar entre os utilizados, destruindo assim, de forma mais eficiente o colesterol presente na epicutícula, causando a desidratação dos carrapatos.

O DMSO e o Tween 80 não apresentou toxicidade para nenhum dos estágios testados. Tal fato pode estar relacionado com a baixa concentração em que essas substâncias foram utilizadas, uma vez que nem mesmo a acetona que foi o solvente mais tóxico, teve algum efeito deletério para nenhum dos estágios quando utilizada na concentração de 50 µl/ml. Essas substâncias em baixas concentrações também apresentaram baixa toxicidade para fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* (Gonçalves et al. 2007) e *R. annulatus* (Ravindran et al. 2011c).

Os resultados do presente estudo evidenciam a maior susceptibilidade dos estágios ingurgitados assim como também, maior toxicidade da acetona para esses estágios.

Referências

- BALANDRIN, M.; KLOCKE, J.; WURTELE, E.; BOLLINGER, W. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. **Science**, v.228, n.4704, p.1154–1160, 1985.
- BEADLES, M.L.; DRUMMOND, R.O.; WHETSTONE, T.M. Tropical horse tick: effects of solvents on oviposition. **Journal Economic Entomology**, v.66, p.125–127, 1973.
- BORGES, L.M.F.; SOUSA, L.A.D.; BARBOSA, C.S. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.20, n.2, p.89-96, 2011.
- CHAGAS, A.C.S.; LEITE, R.C.; FURLONG, J.; PRATES, H.T.; PASSOS, W.M. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. **Ciência Rural**, v.33, n.1, p. 109-114, 2003.
- CHAGAS, A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, p.156-160, 2004.
- DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v. 152, p.173-185, 2008.
- GONÇALVES, K.; TOIGO, E.; ASCOLI, B.; VON POSER, G.; RIBEIRO, V. Effects of solvents and surfactant agents on the female and larvae of cattle tick *Boophilus microplus*. **Parasitology Research**, v.100, p.1267–1270, 2007.
- LABRUNA, M.B. Biologia-Ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, suplemento 1, 2004.
- LEONARD, J.A.; WAYNE, R.K.; WHEELER, J.; VALADEZ, R.; GUILLEN S & VILA C. Ancient DNA evidence for Old World origin of New World dogs. **Science**, v. 298, p.1613-161, 2002.
- MATSUMOTO, K.; BROUQUI, P.; RAOULT, D.; PAROLA, P. Experimental infection models of ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* group with *Rickettsia conorii*. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v.5, p.363–372, 2005.
- MENDES, A.S.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C.M.O.; MATURANO, R.; BRITO, F.C.; MASSONI, T. Acaricidal activity of thymol on larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.183, p.136–139, 2011.
- MONTEIRO, C.M.O.; MATURANO, R.; DAEMON, E.; CATUNDA-JUNIOR, F.E.A.; CALMON, F.; SENRA, T.O.S.; FAZA, A.; CARVALHO, M.G. Acaricidal activity of eugenol on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitology Research**, v.111, n.3, p.1295-1300, 2012.
- NEITZ, W.O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H.S. Laboratory investigations on the life cycle of the paralysis tick *Ixodes rubidicundus* (Neumann, 1904). **Onderstepoort Journal Veterinary Research**, v.38, p.215–224, 1971.

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

RAVINDRAN, R.; JULIET, S.; KUMAR, K.G.A.; SUNIL, A.R.; NAIR, N.S.; AMITHAMOL, K.K.; RAWAT, A.K.S.; GHOSH, S. Toxic effects of various solvents against *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. **Ticks Tick-borne Diseases**, v.2, n.3, p.160–162, 2011.

RESENDE, J.D.R.A.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C.M.O.; MATURANO, R.; PRATA, M.C.A.; RODRIGUES, A.F.S.F. Toxicity of solvents and surfactants to *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae) larvae. **Experimental Parasitology**, v.131, n.2, p. 139–142, 2012.

SOUSA, R.; BACELLAR, F. Morbi-Mortalidade por *Rickettsia conorii* em Portugal. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, p.180–184, 2004.

STONE, B.F.; HAYDOCK, K.P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *B. microplus* (Canestrini). **Bulletin of Entomological Research**, v.53, p.563-578, 1962.

5 Avaliação da toxicidade de solventes e surfactante a larvas ingurgitadas e ninfas não ingurgitadas e ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae)

Fernanda Calmon¹, Tatiane de Oliveira Souza Senra¹, Viviane Zeringóta¹, Renata da Silva Matos¹, Diego Melo¹, Caio Márcio de Oliveira Monteiro², Erik Daemon¹

1 – Programa de Pós-graduação em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, Brasil.

2 – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

5.1 Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar a sensibilidade de larvas e ninfas de *A. cajennense* a diferentes solventes e um surfactante. Para larvas e ninfas ingurgitadas foi utilizado o teste de imersão e a mortalidade foi avaliada após 15 dias sendo utilizado os solventes etanol, metanol e acetona nas concentrações de 50, 250, 500, 750 e 1000 µl/ml e dimetilsulfóxido e Tween 80 nas concentrações de 25 e 50 µl/ml. Para o teste com ninfas não ingurgitadas foi feita adaptação do teste de pacote de larvas e a mortalidade foi avaliada após 24h e nesse procedimento os solventes etanol, metanol e acetona foram testados somente na concentração de 1000 µl/ml, enquanto o DMSO e Tween 80 foram testados na concentração 50 µl/ml. Para cada teste foi feito um grupo controle com água destilada. Foram feitas dez repetições por tratamento e os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR}>80\pm 10\%$). Para larvas ingurgitadas todos os solventes testados na maior concentração resultaram em mortalidade superior a 94%; entretanto, nas demais concentrações a mortalidade foi baixa, sendo estatisticamente semelhante ($p>0,05$) ao controle; a mortalidade utilizando o Tween foi de 52 e 80% para concentração de 25 e 50µl/ml, apresentando diferenças significativas ($p<0,05$) em relação ao controle; enquanto para o DMSO a mortalidade foi de 16 e 14% para as mesmas concentrações, sendo similar ao controle. Para ninfas não ingurgitadas, todas as substâncias testadas não foram tóxicas, apresentando mortalidade inferior a 4%. Para ninfas ingurgitadas, a acetona pura resultou em taxa de 100% de mortalidade, entretanto, nas demais concentrações a mortalidade foi baixa, sendo similar ($p>0,05$) ao observado ao controle. Ainda sobre ninfas ingurgitadas, todas as outras substâncias testadas foram pouco tóxicas, com exceção do metanol na maior concentração que causou mortalidade de 17%. Os resultados obtidos permitem escolher os solventes e as concentrações adequadas para realização de testes com substâncias de origem vegetal sobre estágio imaturos de *A. cajennense*.

Palavras- chave: Carrapato estrela, Acetona, Tween 80

5.2 Introdução

Amblyomma cajennense, comumente conhecido por “carrapato estrela”, é um ixodídeo que se encontra amplamente difundido desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (Guglielmone et al. 2006). Os hospedeiros preferenciais deste carrapato são os equinos e capivaras, entretanto, devido à sua baixa especificidade parasitária, principalmente dos estágios imaturos, pode parasitar outros mamíferos domésticos e silvestres, além de aves e do próprio ser humano (Guimarães et al. 2001; Oliveira 2004;. Souza et al. 2004; Martins et al. 2004; Labruna et al. 2007). O parasitismo ocasiona espoliação sanguínea, podendo ainda provocar lesões e transmitir patógenos (Leite et al.1998; Oliveira 2004; Prata 2005). Constitui-se também risco significativo em saúde pública, já que é o principal vetor da *Rickettsia rickettsii* na América do Sul (Lane & Crosskey 1993, Lemos et al. 1997, Guedes et al. 2005).

O uso de carrapaticidas com base em princípios ativos sintetizados ainda é a forma mais utilizada para o controle desse carrapato; no entanto, as desvantagens do uso indiscriminado e sem orientação técnica adequada aumentam o impacto negativo sobre meio ambiente e pode levar à seleção de carrapatos resistentes àquelas bases químicas (Ravindran et al. 2011).

Devido à necessidade de se buscar novas alternativas para o controle de ixodídeos, tem se intensificado os esforços pela busca de produtos de origem vegetal com atividade carrapaticida (Chagas et al. 2002; Chagas 2004; Fernandes e Freitas 2007; Ribeiro et al. 2007; Coskun et al. 2008; Sousa et al. 2008; Ferrarini et al. 2008. Soares et al. 2009. Apel et al. 2009). Substâncias de origem vegetal como óleos essenciais e substâncias isoladas apresentam baixa solubilidade em água, sendo necessária a utilização de solventes ou tensoativos que possam solubilizar essas substâncias para a realização de testes de verificação de atividade carrapaticida; entretanto, o solvente ou surfactante utilizado deve ter pouco ou nenhum efeito sobre as espécies de carrapato alvo, de modo que o resultado reflita a real atividade carrapaticida da substância testada (Beadles et al, 1973; Ravindran et al, 2011).

Estudos sobre a sensibilidade de carrapatos a solventes e surfactantes foram realizados para larvas não ingurgitadas e fêmeas ingurgitadas de *Dermacentor nitens* (Beadles et al., 1973; Resende et al. 2012) e *Rhipicephalus microplus* (Chagas et al, 2003;. Gonçalves et al, 2007), fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus annulatus* (Ravindran et al., 2011a) e *Haemaphysalis pispinosa* (Ravindran et al. 2011b) e larvas não ingurgitadas de *A. cajennense* (Resende et al. 2012). Os resultados demonstraram

que a susceptibilidade varia de acordo com a natureza do solvente ou surfactante e com o estágio de desenvolvimento, sendo as fêmeas ingurgitadas mais sensíveis do que as larvas não ingurgitadas (Chagas et al., 2003; Gonçalves et al., 2007). Como mencionado anteriormente, para *A. cajennense*, foram feitos apenas testes com larvas não ingurgitadas (Resende et al. 2012), sendo desconhecida a sensibilidade das outras fases desse ixodídeo para diferentes solventes e surfactantes. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a sensibilidade de larvas e ninfas ingurgitada e de ninfas não ingurgitadas de *A. cajennense* a diferentes solventes e tensoativo.

5.3 Material e Métodos

5.3.1 Local de realização do estudo e obtenção dos carrapatos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Minas Gerais, Brasil. As larvas e ninfas ingurgitadas e não ingurgitadas utilizadas no estudo foram provenientes da colônia mantida através de infestações artificiais em coelhos, segundo técnica de Neitz et al. (1971).

Foram testados os solventes etanol, metanol, acetona, dimetilsufóxido (DMSO) e o tensoativo Tween 80, adquiridos da empresa Vetec Química Fina®.

5.3.2 Testes

5.3.2.1 Teste de imersão

Este procedimento foi utilizado para larvas e ninfas ingurgitadas, sendo utilizada a metodologia de Drummond et al. (1973) adaptada por Daemon et al. (2009). Os solventes etanol, metanol e acetona foram testados nas concentrações de 50, 250, 500, 750 e 1000 µl/ml, enquanto DMSO e o surfactante Tween 80 foram diluídos em água destilada nas concentrações de 25 e 50 µl/ml, pois geralmente não se utiliza mais que 50 µl/ml desses solventes na solubilização de substâncias de origem vegetal (Gonçalves et al. 2007).

Para realização do teste, 850 carrapatos ingurgitados foram distribuídos em 17 grupos com 50 espécimes (cada grupo = um tratamento), sendo cada grupo tratado com

uma concentração de determinado solvente ou surfactante. Estes grupos foram imersos em 20 ml das soluções a serem testadas, durante cinco minutos, e após o período de imersão cada grupo foi dividido em 10 subgrupos (=dez repetições) com cinco carrapatos cada e acondicionados em tubos de ensaio (cada subgrupo = uma unidade experimental), vedados com algodão e mantidos em câmara climatizada ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR} > 80\pm 10\%$). No grupo controle os carrapatos foram tratados com água destilada seguindo a mesma metodologia.

Após 15 dias o percentual de mortalidade foi calculado com a seguinte fórmula: mortalidade (%) = (total de larvas mortas/total de larvas) x 100.

5.3.2.2 Teste de pacote de ninfas

Esse procedimento foi realizado para as ninfas não ingurgitadas, adaptando a técnica de pacote de larvas proposta por Monteiro et al. (2012). O etanol, metanol e acetona foram testados apenas puros devido à baixa toxicidade verificada para larvas não ingurgitadas deste artrópode (Resende et al. 2012). O dimetilsufóxido e o tensoativo Tween 80 foram utilizados na concentração de 50 µl/ml.

Nesse procedimento, cinco ninfas foram colocadas no centro de papel filtro (6 x 6 cm) dobrado ao meio e vedado nas bordas com cliques. Em seguida, o exterior de cada pacote foi umedecido uniformemente com 90 µl dos solventes e tensoativo testados. Foram feitas 10 repetições para cada tratamento. No grupo controle, os carrapatos foram tratados com água destilada. Todos os grupos foram mantidos em câmara climatizada ($27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR} > 80\pm 10\%$).

5.3.3 Análise estatística

A mortalidade foi avaliada após 24 horas e o percentual de mortalidade foi obtido pela fórmula: mortalidade (%) = (ninfas mortas total / total de ninfas) x 100.

Para os dois experimentos a análise estatística foi realizada com o programa Biostat versão 5.0. Os valores percentuais foram transformados em arco seno \sqrt{x} e comparados pelos testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Student Newman-Keuls ($p < 0,05$).

5.4 Resultados

O percentual de mortalidade verificado para larvas ingurgitadas tratadas com etanol, metanol e acetona nas concentrações de 50, 250, 500 e 750 µl/ml foi baixo, apresentando valores estatisticamente similares ($p>0,05$) ao observado para o controle. Entretanto, a concentração de 1000 µl/ml desses mesmos solventes causou mortalidade superior a 90%, diferindo significativamente ($p<0,05$) do grupo controle. Para o DMSO, a mortalidade observada nas concentrações de 25 e 50 µl/ml foram de 16% e 14%, respectivamente, evidenciando ausência de diferenças significativas ($p<0,05$) em relação ao controle; no entanto, nas mesmas concentrações de Tween 80 as taxas de mortalidade registradas foram de 50% e 80%, diferindo significativamente do controle ($p<0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5 – Mortalidade média de larvas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* tratadas com diferentes concentrações de solventes e surfactante sob condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR $>80\pm 10\%$).

	Etanol	Metanol	Acetona	Dimetilsufóxido	Tween 80
Controle	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.0
25µl/ml	*	*	*	16.0 ^a ±30.98	52.0 ^b ±30.1
50µl/ml	2.0 ^a ±6.3	5.0 ^a ±10.54	1.6 ^a ±5.2	14.0 ^a ±21.18	80.0 ^b ±21.0
250µl/ml	4.0 ^a ±8.4	4.0 ^a ±12.6	4.0 ^a ±8.4	*	*
500µl/ml	3.3 ^a ±10.5	0.0 ^a ±0.0	6.0 ^a ±13.4	*	*
750µl/ml	7.0 ^a ±12.0	2.0 ^a ±6.3	9.0 ^a ±9.5	*	*
1000µl/ml	94.0 ^b ±13.4	96.0 ^b ±8.4	100.0 ^b ±0.0	*	*

Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5%.

*Concentração não realizada.

No teste realizado com ninfas não ingurgitadas, a mortalidade observada em todos os grupos foi inferior a 5%, sendo estatisticamente semelhante ao observado para o controle (0%) (Tabela 6).

Tabela 6 – Mortalidade média de ninfas não ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* tratadas com diferentes solventes e surfactante.

Tratamentos	Média ± DP
Controle	0.0 ^a ±0.0
Etanol - 1000 µl/ml	0.0 ^a ±6,3
Metanol - 1000 µl/ml	2.0 ^a ±0.0
Acetona - 1000 µl/ml	4.0 ^a ±8.4
DMSO - 50 µl/ml	2.0 ^a ±6.3
Tween 80 - 50 µl/ml	0.0 ^a ±0.0

Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5%

Para ninfas ingurgitadas apenas os valores referentes a mortalidade ocasionada pelo metanol e acetona na maior concentração diferiram significativamente ($p < 0,05$) do grupo controle, sendo observado mortalidade de 17 e 100, respectivamente. Nos demais tratamentos a mortalidade foi baixa, sendo estatisticamente similar ao controle ($p > 0,05$) (Tabela 7).

Tabela 7 – Mortalidade média de ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* tratadas com diferentes concentrações de solventes e surfactante sob condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR} > 80 \pm 10\%$).

	Etanol	Metanol	Acetona	Dimetilsufóxido	Tween 80
Controle	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.0
25 µl/ml	*	*	*	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.0
50 µl/ml	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.1	2.0 ^a ±6.32	4.0 ^a ±8.4	4.0 ^a ±8.4
250 µl/ml	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.1	2.0 ^a ±6.32	*	*
500 µl/ml	0.0 ^a ±0.0	0.0 ^a ±0.0	6.0 ^a ±9.66	*	*
750 µl/ml	2.0 ^a ±6.3	0.0 ^a ±0.0	10.0 ^a ±10.54	*	*
1000µl/ml	4.0 ^a ±8.4	17.4 ^b ±14.78	100.0 ^b ±0.00	*	*

Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% ($p > 0,05$).

*Concentração não realizada.

5.5 Discussão

O estudo da toxicidade dos solventes diante dos carrapatos se faz de grande importância, uma vez que é necessária a utilização de solventes e/ou surfactantes para a diluição de óleos, extratos vegetais e substâncias puras que possivelmente tenham atividade carrapaticida; assim, torna-se necessária a utilização de agentes de

solubilização que apresentem pouca ou nenhuma toxicidade para os carrapatos, permitindo a avaliação mais precisa do real potencial carrapaticida da substância de origem vegetal investigada (Ravindran et al. 2011; Mendes et al. 2011; Borges et al. 2011; Resende et al. 2012).

Dos solventes testados em larvas ingurgitadas, o etanol, metanol e a acetona se mostraram tóxicos na concentração de 1000 µl/ml, assim como o Tween 80 na concentração de 25 e 50 µl/ml. A mortalidade das larvas ingurgitadas ocorre provavelmente devido a destruição da camada de cera da epicutícula pela ação dos solventes lipossolúveis, fato verificado sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* (Gonçalves et al. 2007), *R. annulatus* e *H. binospinosa* (Ravindran et al. 2011a,b). Entretanto, cabe destacar que no estudo conduzido por Resende et al. (2012) foi verificado que esses solventes não foram tóxicos para larvas não ingurgitadas de *A. cajennense*. A maior resistência das larvas não ingurgitadas pode estar relacionada ao fato de possuírem menor acúmulo de cera na epicutícula, estando assim, menos susceptíveis à ação dos solventes lipossolúveis (Odihambo, 1982).

Para ninfas não ingurgitadas os solventes etanol, metanol e acetona, testados em qualidade pura e o DMSO e o surfactante Tween testados a 50 µl/ml, não apresentaram toxicidade. Como mencionado anteriormente, no estudo conduzido por Resende et al. (2012) também foi verificado que larvas não ingurgitadas foram resistentes à esses solventes. Tal aspecto pode estar relacionado à similaridade da composição da cutícula antes do ingurgitamento (Hackman, 1982).

Para ninfas ingurgitadas somente a acetona na maior concentração se mostrou altamente tóxica, causando mortalidade de 100%. Sendo a acetona de menor polaridade e de maior peso atômico, teria maior propriedade de solubilização em meios apolares (gordurosos), justificando a maior taxa de mortalidade frente a ninfas ingurgitadas.

Os resultados apresentados demonstram que os solventes etanol, metanol e acetona podem ser utilizados para ninfas não ingurgitadas em quaisquer concentrações; no entanto, as larvas ingurgitadas se mostraram sensíveis aos solventes em pureza analítica, que podem ser utilizados em concentrações mais baixas; já para ninfas ingurgitadas a acetona não deve ser utilizada pura. O surfactante Tween 80, que no presente estudo se mostrou tóxico para larvas ingurgitadas mesmo em baixas concentrações, não deve ser utilizado para as larvas ingurgitadas de *A. cajennense* uma vez que a alta mortalidade pode ser atribuída a alguma propriedade ou componente não elucidado nesse estudo. O DMSO nas concentrações testadas, que não provocou

mortalidade significativa, pode ser empregado para estudos envolvendo larvas e ninfas ingurgitadas e não ingurgitadas de *A. cajennense*.

Referências

- APEL, M.A.; RIBEIRO, V.L.S.; BORDIGNON, S.A.L.; HENRIQUES, A.T.; VON POSER, G. Chemical composition and toxicity of the essential oils from *Cunila* species (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Parasitology Research**, v.105, p.863–868, 2009.
- BORGES, L.M.F.; SOUSA, L.A.D.; BARBOSA, C.S. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.20, n.2, p.89-96, 2011.
- CARDOSO, M.F.DO.C. Métodos de preparação industrial de solventes e reagentes químicos. **Revista Virtual de Química**, v.3, n.4, p.344-352, 2011.
- CHAGAS, A.C.S.; LEITE, R.C.; FURLONG, J.; PRATES, H.T.; PASSOS, W.M. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. **Ciência Rural**, v.33, n.1, p. 109-114, 2003.
- CHAGAS, A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, p.156-160, 2004.
- COSKUN, S.; GIRISGIN, O.; KURKCUOGLU, M.; MALYER, H.; GIRISGIN, A.O.; KIRIMER, N.; BASER, K.H. Acaricidal efficacy of *Origanum onites* L. essential oil against *Rhipicephalus turanicus* (Ixodidae). **Parasitology Research**, v.103, p.259–261, 2008.
- DRUMMOND, R. O.; ERNST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **Journal Economic Entomology**, v.66, n.1, p.130-133, 1973.
- FERNANDES, F.F.; FREITAS, E.P.S. Acaricidal activity of an oleo resinous extract from *Copaifera reticulata* (Leguminosae: Caesalpinioideae) against larvae of the southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.147, p.150–154, 2007.
- FERRARINI, S.R.; DUARTE, M.O.; ROSA, R.G.; ROLIM, V.; EIFLER-LIMA, V.L.; VON POSER, G.; RIBEIRO, V.L.S. Acaricidal activity of limonene, limonene oxide and [beta]-amino alcohol derivatives on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.157, p.149-153, 2008.
- GONÇALVES, K.; TOIGO, E.; ASCOLI, B.; VON POSER, G.; RIBEIRO, V. Effects of solvents and surfactant agents on the female and larvae of cattle tick *Boophilus microplus*. **Parasitology Research**, v.100, p.1267–1270, 2007.
- GUEDES, E.; LEITE, R.C.; PRATA, M.C.A.; PACHECO, R.C.; WALKER, D.H.; LABRUNA, M.B. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v.100, p.841–845, 2005.

GUGLIELMONE, A.A.; SZABÓ, M.P.J.; MARTINS, J.R.S.; ESTRADA-PEÑA, A. Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal. In: BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. (Eds.) **Carrapatos de Importância médico veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**, Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, 2006. p. 115–138.

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. **Ectoparasitos de Importância Veterinária**, Plêiade, São Paulo, p. 213, 2001.

HACKMAN, R.H. Structure and function in tick cuticle. **Annual Review of Entomology**, v.27, p. 75-95, 1982.

LABRUNA, M.B.; MACHADO, R.Z. Agentes transmitidos por carrapatos na região neotropical. In: BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. (eds) **Carrapatos de importância médico veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, p. 155–164, 2006.

LANE, R.P.; CROSSKEY, R.W. Medical insects and arachnids. Londres: **Chapman & Hall**, p.597-631, 1993.

LEITE, R.C. *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiogeográficas da baixada do Grande-Rio e Rio de Janeiro. Uma abordagem epidemiológica. 151f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. 1988.

LEMONS, T.L.G.; MONTE, F.J.Q.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; CRAVEIRO, A.A.; BARBOSA, R.C.S.B.; LIMA, E.O. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants. **Fitoterapia**, v. 63, p. 266–268, 1992.

MARTINS, J.R.; MEDRI, I.M.; OLIVEIRA, C.M.; GUGLIELMONE, A. Ocorrência de carrapatos em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá mirim (*Tamandua tetradactyla*) na região do Pantanal Sul Mato-Grossense, Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p. 293-295, 2004.

MENDES, A.S.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C.M.O.; MATURANO, R.; BRITO, F.C.; MASSONI, T. Acaricidal activity of thymol on larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.183, p.136– 139, 2011.

MONTEIRO, C.M.O.; DAEMON, E.; CLEMENTE, M.A.; ROSA, L.S.; MATURANO, R. Acaricidal efficacy of thymol on engorged nymphs and females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.105, p.1093-1097, 2009.

NEITZ, W.O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H.S. Laboratory investigations on the life cycle of the paralysis tick *Ixodes rubidicundus* (Neumann, 1904). **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.38, p.215–224, 1971.

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

OLIVEIRA, P.R. Biologia e controle de *Amblyomma cajennense*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, suplemento 1, 2004.

PRATA, M.C.A. Carrapato estrela: problemas e soluções para animais e humanos. In: Furlong J (Ed.) Carrapato: problemas e soluções. **Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora**, p. 51–65, 2005.

RAVINDRAN, R.; JULIET, S.; KUMAR, K.G.A.; SUNIL, A.R.; NAIR, N.S.; AMITHAMOL, K.K.; RAWAT, A.K.S.; GHOSH, S. Toxic effects of various solvents against *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. **Ticks Tick-borne Diseases**, v.2, n.3, p.160–162, 2011.

RESENDE, J.D.R.A.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C.M.O.; MATURANO, R.; PRATA, M.C.A.; RODRIGUES, A.F.S.F. Toxicity of solvents and surfactants to *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae) larvae. **Experimental Parasitology**, v.131, n.2, p. 139–142, 2012.

RIBEIRO, V.L.S.; TOIGO, E.; BORDIGNON, S.A.L.; GONÇALVES, K.; VON POSER, G. Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.147, p.199–203, 2007.

SOARES, S.F.; BORGES, L.M.F.; BRAGA, R.S.; FERREIRA, L.L.; LOULY, C.C.B.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R.; FERRI, P.H. Repellent activity of plant-derived compounds against *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs. **Veterinary Parasitology**, v.167, p.67–73, 2009.

SOUSA, L.A.D.; SOARES, S.F.; PIRES JUNIOR, J.R.; FERRI, P.H.; BORGES, L.M.F. Avaliação da eficácia de extratos oleosos de frutos verdes e maduros de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.17, n.1, p.36–40, 2008.

SOUZA, C.E.; CALLE, S.B.; CAMARGO, M.C.G.O. O papel da capivara *Hydrochaeris hydrochaeris* na cadeia epidemiológica da febre maculosa brasileira. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, p. 203–204, 2004.

STONE, B.F.; HAYDOCK, K.P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *B. microplus* (Canestrini). **Bulletin of Entomological Research**, v.53, p.563–578, 1962.

6 Estudos preliminares sobre ectoparasitos de aves silvestres de fragmentos de Mata Atlântica da Zona da Mata de Minas Gerais.

6.1 Introdução

O Brasil apresenta grande diversidade de aves com cerca de 1825 espécies (CBRO, 2009), o que equivale a aproximadamente 57% das espécies registradas na América do Sul; destas, 13% são endêmicas do Brasil, tornando-o um país importante para investimentos em conservação (Sick, 1997; CBRO, 2009).

A Mata Atlântica é um dos 25 hotspots mundiais de biodiversidade. Embora tenha sido em grande parte destruída, ela ainda abriga mais de 8.000 espécies endêmicas de plantas e animais (Myers et al., 2000).

As aves em ambientes naturais geralmente apresentam ectoparasitos, principalmente, insetos e ácaros, que podem ser encontrados em penas, pele, vias respiratórias e ninhos, e podem causar doenças e/ou servir como vetores (Santos, et al. 2008). O diagnóstico de ectoparasitos e endoparasitos em aves são importantes em virtude dos elevados índices de mortalidade causados por doenças parasitárias em muitas espécies, sendo algumas delas ameaçadas de extinção. Além disto, alguns parasitos de aves tem potencial zoonótico, o que se torna também um problema de saúde pública.

Dessa forma o estudo de ectoparasitos de aves possui importância ecológica, biológica e de saúde pública e requer atenção a fim de elucidar aspectos relacionados à interação parasito-hospedeiro, vetoração de patógenos e distribuição dos mesmos.

6.2 Material e Métodos

O presente trabalho está sendo desenvolvido no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP), localizado no Laboratório Avançado de Zoologia (LAZ) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Minas Gerais. Até o momento foram realizadas 30 incursões ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), município de Juiz de Fora, MG, em coletas semanais iniciadas no dia 18/11/2011. As aves estão sendo examinadas quanto a presença de ectoparasitos aderidos à superfície corporal e penas, como carrapatos, ácaros e

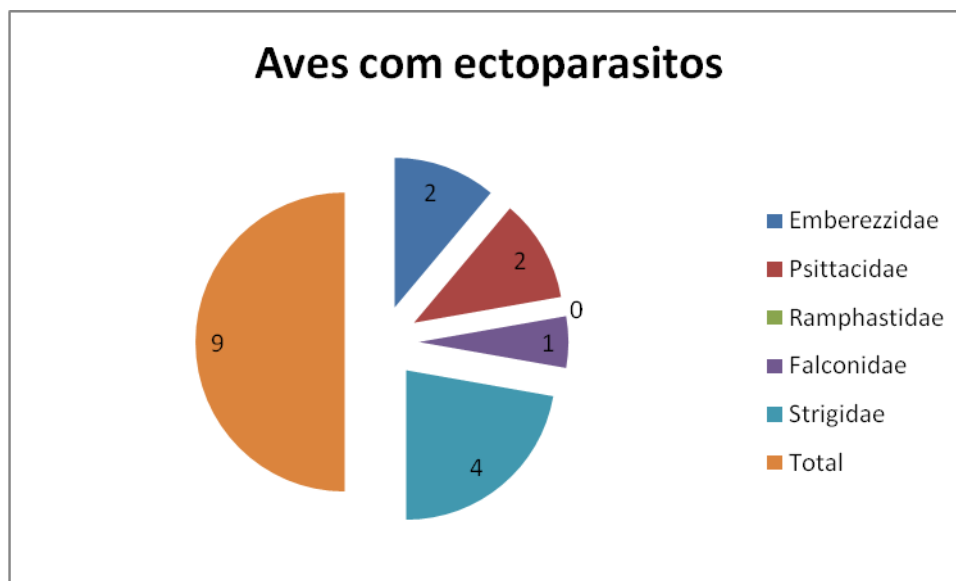
pioelhos. Estes são retirados manualmente com auxílio de pinça apropriada, acondicionados em fracos de polipropileno contendo álcool isopropílico, que são posteriormente encaminhados ao LAP para identificação sob microscópio estereoscópico, sendo utilizadas chaves adequadas para cada grupo de ectoparasitos.

6.3 Resultados

Até o momento foram examinadas 58 aves divididas em cinco famílias: Emberizidae, Psittacidae, Ramphastidae, Falconidae e Strigidae (gráfico 1). Das 58 aves examinadas 9 estavam infestadas com ectoparasitos como mostra o gráfico 2, sendo que pelo número de aves examinadas as famílias Strigidae e Emberezzidae apresentaram maior número de aves parasitadas .

Gráfico 1: Números de espécimes correspondentes as famílias examinadas



Gráfico 2 : Número de aves que apresentaram ectoparasitos

6.4 Conclusão

O presente estudo demonstrou que distintas Famílias apresentaram ectoparasitos, nas penas e pele. Entretanto, o baixo número de aves examinadas até o momento, bem como a ausência da identificação dos ectoparasitos, não permitem ainda a obtenção de resultados conclusivos, sendo necessárias etapas complementares que envolvem o processamento das amostras em laboratório (identificação, quantificação) que permitam a obtenção de tal êxito.

6.5 Referências

CBRO, 2009. **Listas das aves do brasil.** Disponível em: <http://www.cbro.org.br/CBRO/listabr.htm>. Acessado em: 17 de Junho de 2010.

MYERS, N. R.A.; MITTERMEIER, C.G.; MITTERMEIER, G.A.B.; FONSECA & J. KENT. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v.403, p.853-845, 2000.

SANTOS, G.C.; MATUELLA, G.A.; CORAIOLA, A.M.; SILVA, L.C.; LANGE, R.R. & SANTIN E. Doenças de aves selvagens diagnosticadas na Universidade Federal do Paraná, Brasil (2003-2007). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.11, p.565-570, 2008.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira.** Edição revista e ampliada por J. F. Pacheco. Rio de Janeiro: Nova Fronteira. 1997.