

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – *CAMPUS* RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA - PPGAq

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE EXTRATOS VEGETAIS
E UTILIZAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL**

Autora: Ana Cláudia Cardoso Ataides
Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Pereira

Rio verde - GO
Maio– 2016

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – *CAMPUS* RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA - PPGAq

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE EXTRATOS VEGETAIS E UTILIZAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AGROQUÍMICA, no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *Campus* Rio Verde - Área de concentração “Agroquímica Orgânica”.

Autora: Ana Cláudia Cardoso Ataidés
Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Pereira
Coorientadores: Prof. Dr. Fabiano Guimarães Silva
Prof.^a Dr.^a Flávia Dionísio Pereira

RIO VERDE - GO
Maio – 2016

A862c Ataides, Ana Claudia Cardoso
Caracterização fotoquímica de extratos vegetais e utilização em
produção animal / Ana Cláudia Cardoso Ataides. – Rio Verde. –
2016.
119 f: il.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal Goiano –
Campus Rio Verde, 2016.
Orientador: Dr. Paulo Sérgio Pereira

Bibliografia

1. Carrapato. 2. Fotoquímica. 3. Aditivos botânicos.
2. 4. Acaricidas botânicos I. Título.
3. II. Instituto Federal Goiano – *Campus* Rio Verde.

CDD: 636.20894433

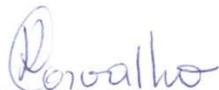
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE EXTRATOS
VEGETAIS E UTILIZAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL**

Autora: Ana Cláudia Cardoso Ataides
Orientador: Paulo Sérgio Pereira

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica – Área de concentração
Agroquímica.

APROVADA em 18 de setembro de 2015.


Prof.^a Dr.^a Isabel Dias Carvalho
Avaliadora externa
UniRV


Prof. Dr. Francisco Ribeiro Araújo
Neto
Avaliador interno
IF Goiano/RV


Prof. Dr. Paulo Sérgio Pereira
Presidente da banca
IF Goiano/RV

“Boa terra, velha esfera, que nos leva aonde for
Pro futuro, quem nos dera, que te dessem mais valor.”
Mês de Maio, Almir Sater e Paulo Simões.

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais Beatriz e
Luziano, ao meu irmão José Eduardo, a minha comissão
orientadora e a todos que contribuíram para a realização
deste estudo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por permitir que nesta vida eu passasse por este caminho e conviver com pessoas que contribuem tanto para a minha evolução.

A minha família, meus pais, Luziano Ataides de Oliveira e Beatriz Lima Cardoso Ataides, pelo amor fraterno e incondicional, apoio e incentivo durante toda minha caminhada acadêmica, pela força diante das dificuldades, e exemplo de vida. Ao meu irmão José Eduardo Cardoso Ataides, pelo carinho, paciência em me ajudar nas questões tecnológicas, companheirismo nas horas alegres e quando me encontrava em desespero e por cuidar de mim.

Ao Djan Goulart Moraes, pelo incentivo, carinho, companhia e pelo amor dedicado, todo meu amor e gratidão.

Aos meus familiares que me proporcionaram muitas alegrias através do convívio desde minha meninice, avós e avôs, tios e tias, primos e primas, meus sinceros agradecimentos.

A Prof.^a Dr.^a Flavia Dionísio Pereira, pela coorientação e orientação de mãe, sem a sua incansável dedicação, busca da perfeição no fazer e auxílio na conclusão deste não seria possível e a companhia nos fins de semana no laboratório, grande amizade, minha eterna gratidão.

A Nyanne Rodrigues de Oliveira e Marcos Antônio Sales de Lima, pela eterna amizade construída entre horas de trabalho no laboratório, cantorias nos fins de semana, contando e pesando carrapatos, grande auxílio nas coletas de folhas, na busca implacável por carrapatos, meu muitíssimo obrigado!

Ao Prof. Dr. Paulo Sérgio Pereira, pela amizade fraterna e por me proporcionar grande alegria em ser meu orientador, por cada ensinamento, cada palavra de incentivo, cada puxão de orelha que sempre foram dados no intuito de fazer de mim uma pessoa melhor, levarei os ensinamentos do senhor sempre comigo, eterna admiração e gratidão.

A todos os Laboratórios do IFGoiano – *Campus* Rio Verde, aos quais recorri nas horas de “equipamentos com defeito” e “falta de material”, foram poucos os que não fui, em especial a equipe do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e a equipe do Laboratório de Nutrição de Ruminantes.

Ao Prof. Dr. Ipojucan de Goiás Brasil, por todo ensinamento e conhecimento pessoal e profissional passado, pelas conversas da “hora do café”, pelas experiências de coletas de carrapatos que passamos junto, pela amizade fraterna construída durante este período, meus sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Fabiano Guimarães Silva, pelo incentivo a seguir nesta área, pela orientação e coorientação, admiráveis conselhos, gratidão.

Aos professores dos Programas de Pós-Graduação em Agroquímica e Zootecnia por todo conhecimento passado, em especial a Prof.^a Cássia por me ensinar a gostar de química orgânica.

Ao Prof. Elis Aparecido Bento, por todo apoio.

Ao Prof. Caio Márcio de Oliveira Monteiro da Universidade Federal de Juiz de Fora e a equipe da Embrapa gado de leite, pela colaboração fundamental para a execução dos experimentos deste trabalho.

Ao Prof. Francisco Ribeiro de Araújo Neto, pelo auxílio e conversas construtivas, pela amizade e por todo apoio.

A Prof.^a Dr.^a Karen Martins Leão, pela orientação e acompanhamento do estágio em docência e pelo exemplo profissional e pessoal, minha admiração.

A Prof.^a Dr.^a Isabel Dias Carvalho da Universidade de Rio Verde (Unirv), pela contribuição e participação da banca.

Aos produtores rurais da região de Rio Verde, Morrinhos e Urutaí, que se mobilizaram e disponibilizaram suas propriedades na busca por carrapatos.

Ao Instituto Federal Goiano -*Campus* Rio Verde e todos os seus Profissionais que foram de extrema importância para a realização desta pesquisa.

Ao zootecnista Nelson George Wentzel, da Fazendas Reunidas, por acreditarem no projeto e viabilizarem a sua execução.

As minhas/meus companheir@s e amig@s de labuta, Olivia, Patrícia, Thanyelli, Hiago, Fernanda, Luciana, Aurélio, Juliana, Paula, Mariluz, Elisvânia, Andressa, Waleska, Juliana Dantas, Marcelo, Leonnardo Furquim, Nargela, Fabiano Bastos, Vitor Vidal, Alisson, pela amizade cativada, conversas de intervalo e aulas, horas incansáveis de estudo de química orgânica, produtos naturais, auxílios em estatística, cafezinhos no laboratório, em especial a Karolyna que desde o início da graduação me forneceu sua amizade e mão amiga, gratidão a todos.

As agências de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos e financiamento do projeto para realização desta Dissertação de Mestrado.

A todos que por mim passaram, levando um pouco de mim e deixando um pouco de si, contribuindo de alguma forma para a conclusão deste.

Gratidão!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Ana Cláudia Cardoso Ataides, filha de Beatriz Lima Cardoso Ataides e Luziano Ataides de Oliveira, nasceu no município de Rio Verde – GO, no dia 27 de maio de 1989. Formou-se no curso Técnico em Agropecuária pelo Instituto Federal Goiano *Campus* em dezembro de 2006. Ingressou no curso de graduação em Zootecnia pelo Instituto Federal Goiano *Campus* – Rio Verde, em 2008. Teve o primeiro contato com a pesquisa, através da orientação do Prof. Dr Gilberto Colodro, com o projeto Quantificação do estoque de fitomassa de eucalipto sob formas de preparo para plantio em um Neossolo Quartzarênico no ano de 2010 a 2011. No ano de 2011 a 2012, ingressou no programa de iniciação científica, foi bolsista PIBIC, sob orientação do Prof. Dr. Marco Antônio Pereira da Silva, coordenador do projeto Uso da Solução Alcoólica de Própolis no Controle da Mastite Subclínica em Vacas Leiteiras. Iniciou no projeto Controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) utilizando inseticidas botânicos e Desenvolvimento de acaricidas vegetais, para o controle de fêmeas ingurgitadas e larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* sendo bolsista de PIBIC, depois bolsista do Programa Especial do Rhae Inovação no 1º semestre de 2013. Formou-se em agosto de 2013. Ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, no mesmo ano, sob orientação do Prof. Dr. Fabiano Guimarães Silva, foi bolsista DTI e em 2014 passando a ser orientada pelo Prof. Dr. Paulo Sérgio Pereira.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	xvi
RESUMO.....	xviii
ABSTRACT.....	xx
1 INTRODUÇÃO.....	22
1.1 O carrapato <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> (CANESTRINI, 1887).....	23
1.2 Ciclo biológico do <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	25
1.3 Prejuízos causados na pecuária nacional.....	26
1.4 Controle e resistência do <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	27
1.5 Aditivos na produção de ruminantes.....	30
1.6 Espécies botânicas: aspectos relacionados a metabólitos especiais e utilização na produção animal.....	32
1.6.1 Guapeva (<i>Pouteria gardneriana</i> Radlk) (Sapotaceae).....	35
1.6.2 Caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizz.) (Anacardiaceae).....	37
1.6.3 Santa bárbara (<i>Melia azedarach</i> L.) (Meliaceae).....	39
1.6.4 Nim (<i>Azadirachta indica</i> L.) (Meliaceae).....	40
1.6.5 Capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf) (Poaceae).....	42
1.6.6 Gênero <i>Hyptis</i> spp. (Lamiaceae).....	44
1.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
2 OBJETIVO GERAL.....	63
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	63
3 CAPÍTULO I.....	64
RESUMO.....	64
3.1 INTRODUÇÃO.....	65
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	66
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
3.4 CONCLUSÃO.....	95
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
4 CAPÍTULO II.....	98
RESUMO.....	98
4.1 INTRODUÇÃO.....	99
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	100
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	102

4.4 CONCLUSÃO.....	104
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104
5 CAPÍTULO III.....	107
5.1 INTRODUÇÃO.....	108
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	109
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	111
5.4 CONCLUSÃO.....	115
5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115
6 CONCLUSÃO GERAL.....	119

ÍNDICE DE TABELAS

		Páginas
TABELA 1	Classificação dos carrapaticidas pelo sítio de ação primário e suas bases químicas.	29
TABELA 2	Peso das fêmeas antes da postura, peso da massa de ovos, percentual de eclosão, eficiência reprodutiva e índice de produção de ovos (IPO) de fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> tratados com extrato aquoso das espécies de <i>Anacardium othonianum</i> Rizz. (AO); <i>Azadirachta indica</i> L. (AI); <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. (CC); <i>Melia azedarach</i> L. (MA); <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG) na concentração de 10%, Rio Verde – GO, 2015.....	72
TABELA 3	Taxa de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> tratados com extrato etanólico e aquosos das espécies de <i>Anacardium othonianum</i> Rizz. (AO); <i>Azadirachta indica</i> L. (AI); <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. (CC); <i>Melia azedarach</i> L. (MA); <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG) Rio Verde – GO, 2015.....	73
TABELA 4	Peso das fêmeas antes da postura, peso da massa de ovos, percentual de eclosão, eficiência reprodutiva e índice de produção de ovos (IPO) de fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> tratados com extrato etanólico das espécies de <i>Anacardium othonianum</i> Rizz. (AO); <i>Azadirachta indica</i> L. (AI); <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. (CC); <i>Melia azedarach</i> L. (MA); <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG) na concentração de 5%, Rio Verde – GO, 2015.....	73
TABELA 5	Peso das fêmeas antes da postura, peso da massa de ovos, percentual de eclosão, índice de produção de ovos (IPO), reprodução estimada e percentual de controle (%C) de <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> tratados com extrato bruto, fração A, B e C das espécies de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. (CC) e <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG) concentração de 2,5%(p/v), em condições de laboratório a 27±1°C e UR>80%, Rio Verde – GO, 2015.....	75
TABELA 6	Peso das fêmeas antes da postura, peso da massa de ovos e percentual de eclosão de <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> tratados com óleos essenciais das espécies de bamburral (<i>Hyptis suaveolens</i> (L) Poit) (HS), hortelã-do-campo (<i>Hyptis marrubioides</i> EPL) (HM) e sambacaitá (<i>Hyptis pectinata</i> (L) Poit) (HP) nas concentrações de 0,5, 1 e 2%, Rio Verde – GO, 2015.....	102
TABELA 7	Índice de produção de ovos (IPO), Eficiência reprodutiva e Taxa de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> tratados com óleos essenciais das espécies de bamburral (<i>Hyptis suaveolens</i> (L) Poit) (HS), hortelã-do-campo (<i>Hyptis marrubioides</i> EPL) (HM) e sambacaitá (<i>Hyptis pectinata</i> (L) Poit) (HP) nas concentrações de 0,5, 1 e 2%, Rio Verde – GO, 2015.....	103
TABELA 8	Resumo das análises de variância, considerando os p-valores dos efeitos inclusos no modelo e a média do tratamento fatorial e adicional (média FAT – média AD) dos teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), hemicelulose (HEM), celulose (CEL) da silagem de milho com diferentes concentrações (6, 8 e 10 %) das espécies de <i>Anacardium othonianum</i> Rizz. (AO); <i>Azadirachta indica</i> L. (AI); <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. (CC); <i>Melia azedarach</i> L. (MA); <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG), Rio Verde – GO, 2015.....	111
TABELA 9	Resumo das análises de variância, considerando os p-valores dos efeitos inclusos no modelo e a média do tratamento fatorial e adicional (média FAT – média AD) dos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria	

mineral (MM), pH e digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (DIVMS) da silagem de milho com diferentes concentrações (6, 8 e 10 %) das espécies de <i>Anacardium othonianum</i> Rizz. (AO); <i>Azadirachta indica</i> L. (AI); <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. (CC); <i>Melia azedarach</i> L. (MA); <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG), Rio Verde – GO, 2015.....	112
---	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

		Páginas
FIGURA 1	Classificação taxonômica de teleógina.....	24
FIGURA 2	Ciclo biológico de <i>Boophilus microplus</i>	26
FIGURA 3	Esquema da reação de clivagem da acetilcolina pela acetilcolinesterase.....	30
FIGURA 4	Principais fatores que podem influenciar o acúmulo de metabólitos secundários em plantas.....	33
FIGURA 5	Guapeva (<i>Pouteria cf. gardneriana</i> Radlk).....	37
FIGURA 6	Caju-de-árvore-do-cerrado (<i>Anacardium othonianum</i> Rizz.).....	38
FIGURA 7	Santa Bárbara (<i>Melia azedarach</i> L.).....	40
FIGURA 8	Nim (<i>Azadirachta indica</i> L.).....	42
FIGURA 9	Capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf).....	44
FIGURA 10	Bamburral (<i>Hyptis suaveolens</i> (L) Poit (Laminaceae).....	46
FIGURA 11	Hortelã-do-campo (<i>Hyptis marrubioides</i> EPL.).....	47
FIGURA 12	Sambacaitá (<i>Hyptis pectinata</i> (L) Poit.).....	48
FIGURA 13	Reação da acetilcolinesterase com o acetato de naftila e a subsequente formação da coloração púrpura no ensaio de TLC.....	69
FIGURA 14	CCDC de extrato etanólico das espécies de <i>Azadirachta indica</i> (AI)(1); <i>Melia azedarach</i> (MA)(2); <i>Anacardium othonianum</i> (AO)(3); <i>Pouteria gardneriana</i> (PG)(4); <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(5); extratos aquosos, das espécies de <i>Pouteria gardneriana</i> . (PG)(6) fração A(7), B(8) e C(9) e <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(10) fração A(11), B(12) e C(13). Fase Móvel: Hexano:AcOEt (7:3); Revelador: A – UV 254 nm; B – UV 365 nm.....	77
FIGURA 15	CCDC de extrato etanólico das espécies de <i>Azadirachta indica</i> (AI)(1); <i>Melia azedarach</i> (MA)(2); <i>Anacardium othonianum</i> (AO)(3); <i>Pouteria gardneriana</i> (PG)(4); <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(5); extratos aquosos, das espécies de <i>Pouteria gardneriana</i> . (PG)(6) fração A (7), B(8) e C(9) e <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(10) fração A (11), B(12) e C(13). Fase Móvel: CHCl ₃ :MeOH (9:1); Revelador: A – UV 254 nm; B – UV 365 nm.....	77
FIGURA 16	CCDC de extrato etanólico das espécies de <i>Azadirachta indica</i> (AI)(1); <i>Melia azedarach</i> (MA)(2); <i>Anacardium othonianum</i> (AO)(3); <i>Pouteria gardneriana</i> (PG)(4); <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(5); extratos aquosos, das espécies de <i>Pouteria gardneriana</i> . (PG)(6) fração A (7), B(8) e C(9) e <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(10) fração A (11), B(12) e C(13). Fase Móvel: BAW; Revelador: A – UV 254 nm; B – UV 365 nm.....	78
FIGURA 17	CCDC das frações A, B e C obtidas dos extratos aquosos das espécies de <i>Pouteria gardneriana</i> (PG) e <i>Cymbopogon citratus</i> (CC). Fase Móvel: BAW; Revelador: Vanilina sulfúrica. A – PG FA (1), FB (2-3) e FC (4-5); B – CC FA(1), FB (2-3) e FC (4-5).....	78
FIGURA 18	CCDC de extrato etanólico das espécies de <i>Azadirachta indica</i> (AI)(1); <i>Melia azedarach</i> (MA)(2); <i>Anacardium othonianum</i> (AO)(3); <i>Pouteria gardneriana</i> (PG)(4); <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(5); extratos aquosos, das	

	espécies de <i>Pouteria gardneriana</i> . (PG)(6) fração A (7), B(8) e C(9) e <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(10) fração A (11), B(12) e C(13). Fases Móveis: A- Hexano:AcOEt (7:3), B – CHCl ₃ :MeOH (9:1) e C – BAW; Revelador: AChE/Naftila/Sal Fast Blue B.....	79
FIGURA 19	CCDC de extrato etanólico das espécies de <i>Azadirachta indica</i> (AI)(1); <i>Melia azedarach</i> (MA)(2); <i>Anacardium othonianum</i> (AO)(3); <i>Pouteria gardneriana</i> (PG)(4); <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(5); extratos aquosos, das espécies de <i>Pouteria gardneriana</i> . (PG)(6) fração A (7), B(8) e C(9) e <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(10) fração A (11), B(12) e C(13). Fases Móveis: A – CHCl ₃ :MeOH (9:1) e B – BAW; Revelador: AChE extraída carrapato/Naftila/Sal Fast Blue B.....	80
FIGURA 20	CCDC de extrato etanólico das espécies de <i>Azadirachta indica</i> (AI)(1); <i>Melia azedarach</i> (MA)(2); <i>Anacardium othonianum</i> (AO)(3); <i>Pouteria gardneriana</i> (PG)(4); <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(5); extratos aquosos, das espécies de <i>Pouteria gardneriana</i> . (PG)(6) fração A(7), B(8) e C(9) e <i>Cymbopogon citratus</i> (CC)(10) fração A(11), B(12) e C(13). Fase Móvel: BAW; Revelador:NP (A - luz visível, B - luz UV 254 nm e C - luz UV 365 nm).....	81
FIGURA 21	Cromatograma e espectros no UV do extrato etanólico de <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG).....	82
FIGURA 22	Cromatograma e espectros no UV do extrato etanólico de <i>Anacardium othonianum</i> Rizz. (AO).....	84
FIGURA 23	Cromatograma e espectros no UV do extrato etanólico de <i>Melia azedarach</i> L. (MA).....	85
FIGURA 24	Cromatograma e espectros no UV do extrato etanólico de <i>Azadirachta indica</i> L. (AI).....	85
FIGURA 25	Cromatograma e espectros no UV do extrato etanólico de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. (CC).....	86
FIGURA 26A	Cromatograma do extrato aquoso de <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG) PG-FA.....	87
FIGURA 26B	Cromatograma da fração A do extrato aquoso de <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG).....	87
FIGURA 26C	Cromatograma da fração B do extrato aquoso de <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG).....	87
FIGURA 26D	Cromatograma da fração C do extrato aquoso de <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG).....	88
FIGURA 26E	Espectro no UV do pico em 25,2 min da fração C do extrato aquoso de <i>Pouteria gardneriana</i> Radlk. (PG).....	88
FIGURA 27A	Cromatograma do extrato aquoso <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. (CC).....	88
FIGURA 27B	Cromatograma da fração A do extrato aquoso <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. (CC).....	89
FIGURA 27C	Cromatograma da fração B do extrato aquoso <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. (CC).....	89
FIGURA 27D	Cromatograma da fração C do extrato aquoso <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf. (CC).....	89
FIGURA 28	Cromatograma e espectro no UV de kaempferol-3-rutinosídeo (29,0 min) (Padrão).....	90
FIGURA 29	Cromatograma e espectro no UV de rutina (26,4 min) (Padrão).....	91
FIGURA 30	Cromatograma e espectro no UV de ácido gálico (6,3 min) (Padrão).....	92
FIGURA 31	Cromatograma e espectro no UV de ácido ferúlico (22,6 min)	

FIGURA 32	(Padrão).....	93
	Cromatograma e espectro no UV de miricetina (28,3 min)	
	(Padrão).....	94

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

AOAC	Association Official Analytical Chemists
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
AcOEt	Acetato de Etila
AO	<i>Anacardium othonianum</i>
AI	<i>Azadirachta indica</i>
BAW	n-butanol:ácido acético:água
CC	<i>Cymbopogon citratus</i>
Cm	Centímetros
CEL	Celulose
CCDC	Cromatografia em camada delgada comparativa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DIVMS	Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca
EE	Extrato Estéreo
EtOH	Etanol
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
g	Gramas
g/L	Gramas por litro
HEM	Hemicelulose
HM	<i>Hyptis marruboides</i>
HP	<i>Hyptis pectinata</i>
HS	<i>Hyptis suaveolens</i>
HCL	Ácido clorídrico
H ₂ O	Água
ha	Hectare
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IPO	Índice de produção de ovos
Kg	Quilogramas
L	Litros
m	Metros
Mm	Milímetros
MA	<i>Melia azedarach</i>
MM	Matéria Mineral
MS	Matéria Seca
mL	Mililitros
min	Minutos
MeOH	Metanol
mg	Miligramas
nm	Nanômetro
PB	Proteína bruta
PG	<i>Pouteria gardneriana</i>
pH	Potencial Hidrogênionico
RE	Reprodução estimada
Rpm	Rotação por minuto
sp.	Espécie
spp.	Espécies
TPB	Tristeza parasitaria bovina
UR	Umidade relativa

UV	Ultravioleta
°C	Graus Celsius
%	Por cento
%EC	Porcentagem de eclosão
%C	Porcentagem de controle
US\$	Dólar
(p/v)	Peso por volume
(v/v)	Volume por volume
μL	Microlitros
β	Beta
α	Alfa
λ	Lambda

RESUMO

ATAIDES, ANA CLÁUDIA CARDOSO. Instituto Federal Goiano – *Campus* Rio Verde – GO, setembro de 2015. **Caracterização fitoquímica e avaliação acaricida de extratos vegetais.** Orientador: Paulo Sérgio Pereira. Coorientadores: Flávia Dionísio Pereira, Fabiano Guimarães Silva.

Até quando iremos continuar insistindo em utilizar químicos de maneira incorreta comprometendo todo ecossistema? A demanda de produtos de origem animal em massa tem levado ao uso massivo de produtos químicos sintéticos no manejo nutricional e sanitário, para obter alimentos de qualidade e com a necessidade de combater as fases parasitárias do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é basicamente feito por ectoparasiticidas, sendo que o ideal é que se utilize um programa estratégico em conjunto com os metabólitos das plantas, diminuindo as aplicações químicas. Percebe-se que erros decorrentes do mau uso destes químicos se agravam constatado com a resistência adquirida pelos carrapatos. Vê-se então, a necessidade de pesquisas multidisciplinares para que aconteçam de forma alternativa aos agroquímicos. Com isso, objetivou-se com este trabalho preparar, caracterizar e determinar a atividade biológica em produção animal de extratos aquosos e etanólicos, das espécies de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.) e nim (*Azadirachta indica* L.), e óleos essenciais das espécies *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis marruboides* EPL. Foram preparados extratos aquosos e etanólicos das espécies capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.) e nim (*Azadirachta indica* L.) a caracterização do perfil químico por análises por cromatografia em coluna e em camada delgada comparativa CCDC, cromatografia líquida de alta eficiência CLAE, caracterização de inibidores de acetilcolinesterase. Procedeu-se avaliação da qualidade químico-bromatológica de silagem de milho, utilizando as folhas das espécies a cima como aditivos. Realizou-se a extração do óleo essencial das espécies *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis marruboides* EPL. Foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: peso da fêmea antes da postura, peso da massa de ovos e percentual de eclosão de larvas. A partir desses valores será calculado o percentual de controle. Os resultados obtidos indicam que os extratos das folhas de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk),

caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.), nim (*Azadirachta indica* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), são potencialmente úteis para o controle de carrapatos *Rhipicephalus B. microplus*, com destaque aos inibidores de acetilcolinesterase. A inclusão das folhas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), nim (*Azadirachta indica* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), santa bárbara (*Melia azedarach* L.), e guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) como aditivo para silagem de milho, apesar de não ter diferença significativa entre as espécies, o nim foi a espécie que se sobressaiu sobre as demais nos parâmetros avaliados. Estudos devem ser realizados no intuito de avaliar a influência dos metabolitos secundários sobre a atividade microbiológica no processo fermentativo de silagens de milho. O óleo essencial das espécies de bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit), hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL) e sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) teve controle parcial em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus Boophilus microplus*.

PALAVRAS-CHAVES: carrapatos, fitoquímica, aditivos botânicos, acaricidas botânicos.

ABSTRACT

How long we will continue insisting to use chemical products incorrectly compromising all ecosystem? The high demand for animal products has led to the massive use of chemosintetics products in the nutritional and health management to provide quality food. The need to combat the parasitic stages of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* is done by ectoparasiticides and the ideal is that we used a strategic program in conjunction with plants metabolites, reducing chemical applications. The errors resulting from the misuse of these chemicals are aggravated and noticed by the acquired resistance of ticks. We see then, the need for multidisciplinary research to take place alternatively to agrochemicals. Thus, the aim of this study was to prepare, characterize and determine the biological activity in animal production of aqueous and ethanol extracts of species of lemon grass (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), cashew-of-tree-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.) and neem (*Azadirachta indica* L.), and essential oils of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., *Hyptis pectinata* (L.) Poit. and *Hyptis marruboides* EPL. Water and ethanol extracts of lemon grass (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), cashew-tree-of-the-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.) neem (*Azadirachta indica* L.) species were prepared as well as was done the chemical characterization of the profile by column chromatography and comparative thin layer CCDC and high-performance liquid chromatography HPLC, characterization acetylcholinesterase inhibitor. It was determined the chemical quality of corn silage, using the leaves of the evaluated species as additives. Essential oil extraction was performed from *Hyptis suaveolens* species (L.) Poit., *Hyptis pectinata* (L.) Poit. and *Hyptis marruboides* EPL. We evaluated the following biological parameters: female weight before laying, the mass weight of eggs and larvae hatching percentage. From these values it was calculated the control percentage. The results indicate that extracts of guapeva leaves (*Pouteria gardneriana* Radlk), cashew-tree-of-the-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach*), neem (*Azadirachta indica* L.) and grass lemon (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), are potentially useful for the control of *Rhipicephalus B. microplus* ticks, especially the acetylcholinesterase inhibitor. The inclusion of leaves of cashew-tree-of-the-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), neem (*Azadirachta indica* L.), lemon grass (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), santa bárbara (*Melia azedarach*), and guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) as an additive to corn silage, although there was no significant difference between species, neem was the species that

stood out over the others in the evaluated parameters. Studies should be carried out in order to assess the influence of secondary metabolites on the microbiological activity in the fermentation process of corn silage. The essential oil of species bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit), mint-of-field (*Hyptis marrubioides* EPL) and sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) had partial control on engorged female *Rhipicephalus Boophilus microplus*.

KEY WORDS: ticks, phytochemical, botanical additives, botanical acaricide.

1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva da bovinocultura brasileira destaca - se dentre as áreas de produção animal, pela produção de rebanho bovino estimado, no ano de 2014, em 212, 34 milhões de cabeças, com acréscimo de 569 mil animais em relação a 2013. Constituindo o segundo maior rebanho de bovinos do mundo, atrás apenas da Índia (IBGE, 2014).

Muitos fatores atingem significativamente a produtividade de um rebanho, a aplicação de práticas adequadas de manejo nutricional, reprodutivo e sanitário, conduzem ao sucesso da pecuária bovina brasileira. Com isso, para se obter excelentes resultados zootécnicos tem - se utilizado de forma intensiva e indiscriminada agentes e aditivos químicos. A necessidade do uso destes agroquímicos advém da redução na produtividade e perdas econômicas causadas, entre outros fatores pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI, IXODIDAE) (MARTINS et al., 2006ab).

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ectoparasita hematófago originário da Ásia, sendo o mais difundido no Brasil. O clima favorável das regiões tropicais do mundo favorece a ampla distribuição deste ectoparasito, contribuindo com a sua manutenção e sobrevivência, em função da temperatura e umidade mais elevadas. Esta espécie foi introduzida no Brasil com a colonização, encontra-se distribuído na maioria dos estados, e todo território é potencialmente favorável à sua sobrevivência (SANTARÉM e SARTOR, 2003; SILVA et al., 2005).

Estratégias de controle, normalmente, enfocam a utilização de fórmulas sintéticas existentes no mercado, rotação de pastagens e uso de tratamentos em períodos específicos (estratégica) ou descontroladamente pelos pecuaristas (PEREIRA et al., 2008). O uso deliberado destes produtos químicos refletiu no aumento da população de carrapatos resistentes aos princípios ativos convencionais. Prejudicando o controle futuro destes parasitas, mesmo sendo desenvolvidos novos produtos, há ainda riscos de gerações de estirpes resistentes (FRAGA et al., 2003; ANDREOTTI et al., 2011b). Devido a crescente resistência as diferentes moléculas disponíveis no

mercado, e com o aumento da importância da segurança alimentar como atributo decisivo no momento da aquisição do produto pelo consumidor, com progressiva demanda por produtos saudáveis e produzidos sob preceitos ambientais, têm acelerado a busca por biocidas naturais.

Espécies vegetais da flora brasileira têm grande potencial terapêutico, fazendo parte da vida do homem desde os primórdios, e já utilizavam plantas medicinais tanto na saúde do homem como na criação dos animais (TESKE e TRENTINI, 1995). A fitoterapia no manejo nutricional e sanitário animal tem sido uma alternativa promissora no uso de produtos oriundos da indústria química deste segmento.

Estas substâncias do metabolismo secundário de espécies botânicas, produzidas para garantir a sobrevivência, são alternativas promissoras na produção animal, por ter ações medicinais, inseticidas, repelentes, antimicrobianas, entre outras. É um fator mais rentável ao pequeno produtor da região cerradeira que possui grande biodiversidade, podendo levar a economia no controle do referido parasita. Obtidos de fontes renováveis são biodegradáveis, diminuindo o risco de contaminação e resíduos nos alimentos, impacto ambiental e de pequena toxicidade ao homem e a organismos não alvo (MOREIRA et al., 2007; OLIVO et al., 2008; BAGAVAN et al., 2009).

As pesquisas utilizando os compostos químicos provenientes de extratos vegetais, isolados ou em sinergia ou mesmo a utilização de extratos vegetais na nutrição e manejo de ruminantes tornou-se importante nos últimos anos, apesar dos dados obtidos ainda não serem conclusivos. O modo de ação e a função de cada extrato vegetal dependerá do composto químico predominante e de sua concentração na composição química da planta (BENCHAAR et al., 2008).

Sabe-se que os efeitos no manejo sanitário em ectoparasitas podem ser diversos como repelência, inibição de oviposição, distúrbios no desenvolvimento, infertilidade, mortalidade e letalidade, totalmente dependentes da dosagem utilizada, podendo causar redução das populações em longo prazo (ROEL, 2001). No manejo nutricional de ruminantes podem ser utilizados como aditivos botânicos na dieta melhorando a digestibilidade e desempenho animal e equilibrando a flora intestinal ou na produção de silagens potencializando o processo fermentativo e a composição bromatológica (BENKEBLIA, 2004).

Assim, investigações nesse sentido podem servir de base para seleção de diferentes princípios ativos que sejam eficazes, fornecendo informações que no futuro, possam contribuir na elaboração de táticas que permitam que tais produtos sejam utilizados em conjunto em estratégias de manejo sanitário e nutricional.

1.1 O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887)

Pertencente ao filo Artropoda, classe Aracnida, ordem Acarina, subordem Metastigmata, superfamília Ixodidea, família Ixodidae, gênero *Rhipicephalus*, subgênero *Boophilus* e espécie *B. Microplus* (através de estudos filogenéticos reclassificaram os carrapatos do gênero *Boophilus microplus*, tornando *Boophilus* um subgênero de *Rhipicephalus* (BARKER e MURREL, 2008).

Pela solidez de estudos realizados por mais de uma centena de anos no que condizem as características morfológicas definidas para os gêneros *Rhipicephalus* e *Boophilus*, CAEIRO (2006) discorda de autores que se baseiam em resultados que as técnicas de biologia molecular revelam. Considerando que espécie do gênero *Boophilus* tem sua fase de vida parasitária em apenas um hospedeiro, espécies do gênero *Rhipicephalus* completam seu ciclo de vida em dois ou três hospedeiros.

Na classificação taxonômica, família Ixodidae compreende os carrapatos duros, a maioria dos parasitas de interesse zootécnico. O macho possui escudo que recobre todo o dorso do animal e nas fêmeas, larvas e ninfas o escudo dorsal não vão além do propodossoma, região do corpo entre o primeiro e segundo par de pernas, tem corpo achatado dorso-ventralmente, duas divisões gnatossoma e idiossoma, fases de vida no ambiente e no animal (BARKER e MURREL, 2008), (Figura 1).

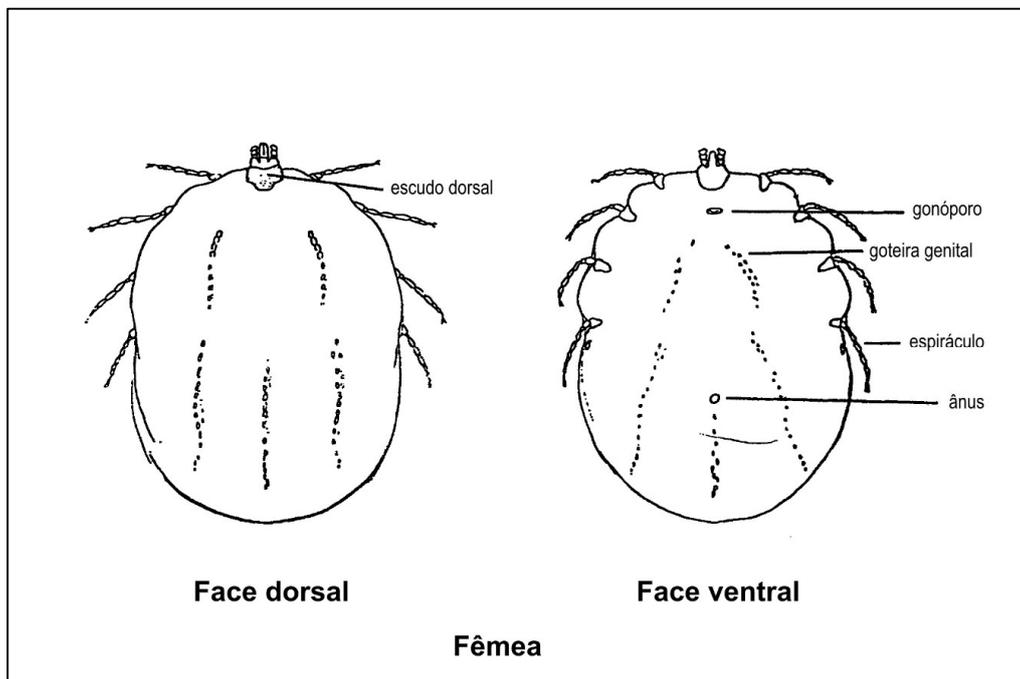


FIGURA 1- Classificação taxonômica de teleógina. Fonte: WALL e SHEARER, 2001.

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ectoparasita hematófago originário da Ásia. Sendo o mais difundido no Brasil, tem ampla distribuição mundial, ocorre na América Central, América do Sul, pequenas regiões da América do Norte, Austrália, Oriente, sul e leste da África, situando-se entre os paralelos 32 N (Norte) e 32 S (Sul) (SILVA et al., 2005). O clima

tropical destas regiões favorece a manutenção e sobrevivência, em função da temperatura e umidade mais elevadas. Introduzida no Brasil com a colonização, encontra-se distribuído na maioria dos estados, e todo território é potencialmente favorável à sua sobrevivência (SANTARÉM e SARTOR, 2003).

No período seco, baixas temperaturas diminuem a velocidade de desenvolvimento dos parasitas que se encontram nas pastagens, alongando seu ciclo vital. Já, no período chuvoso, ocorre um rápido desenvolvimento de carrapatos na pastagem e o ciclo reduz (LÁU e COSTA, 2006).

1.2 Ciclo biológico do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Por ser um parasita monóxeno, isto é, depende de apenas um hospedeiro no ciclo de vida, em especial os bovinos. Tem um ciclo biológico que varia em torno de 28 a 51 dias na fase de vida livre e 21 dias na fase parasitária (DAEMON et al., 2009).

Compreende apenas duas fases, a parasitária que se inicia pela subida da larva infestante no bovino, fixando-se na base da cauda, barbela, peito e parte posterior das coxas, locais que favorecem seu desenvolvimento, ingerindo linfa, substratos teciduais e sangue (PEREIRA et al., 2008).

Com a troca de cutícula ocorre diferenciação em ninfa que se alimenta de sangue, sofre uma muda e se transforma em metaninfa, posteriormente em adulto ocorrendo o dimorfismo sexual, neandro o macho e neógina a fêmea. Após o acasalamento, a fêmea inicia o ingurgitamento, enquanto os machos se alimentam ocasionalmente, porém, não se ingurgitam de sangue (FURLONG e PRATA, 2005).

No estágio de teleógina tem a capacidade de transformar sangue em ovos, sugando em torno de 3 mL de sangue e transformando de 52% a 60% de sua massa em ovos, sabe-se que em um grama de ovos produz 20000 larvas, podendo colocar de 2000 a 4000 ovos (PEREIRA et al., 2008).

Na fase de vida livre, que ocorre com a queda da teleógina no solo, depois do seu ingurgitamento, não necessita mais se alimentar, sobrevivendo apenas de suas reservas. A oviposição ocorre em locais com sombra, podendo durar vários dias, de três dias para a pré-postura e três a seis semanas para a postura. Terminada a oviposição, a fêmea, agora denominada quenógina, morre (FURLONG e PRATA, 2005).

Iniciando o ciclo não parasitário, que pode durar vários dias de acordo com as condições climáticas (temperatura e umidade ideais de 27°C e 80%). Após a eclosão dos ovos, as larvas necessitam de dois a três dias para o fortalecimento de suas cutículas, transformam-se em larvas infestantes (LABRUNA, 2008). Estas larvas são muito vivazes e sobem rapidamente nas folhas e hastes da forrageira, têm comportamento de geotropismo negativo, aguardando a passagem de um

hospedeiro para se fixarem, preferencialmente onde a pele é mais fina, como axilas, entre as patas, região genital e sob a cauda (PEREIRA et al., 2008) (Figura 2).

Durante o ciclo, o parasita passa a maior parte do tempo no ambiente do que sobre o bovino, existem mais carrapatos no ambiente do que no animal. Ressalta-se que de forma geral, 95% dos carrapatos de uma população estão no ambiente e apenas 5% estão sobre os animais (FURLONG e PRATA, 2005).

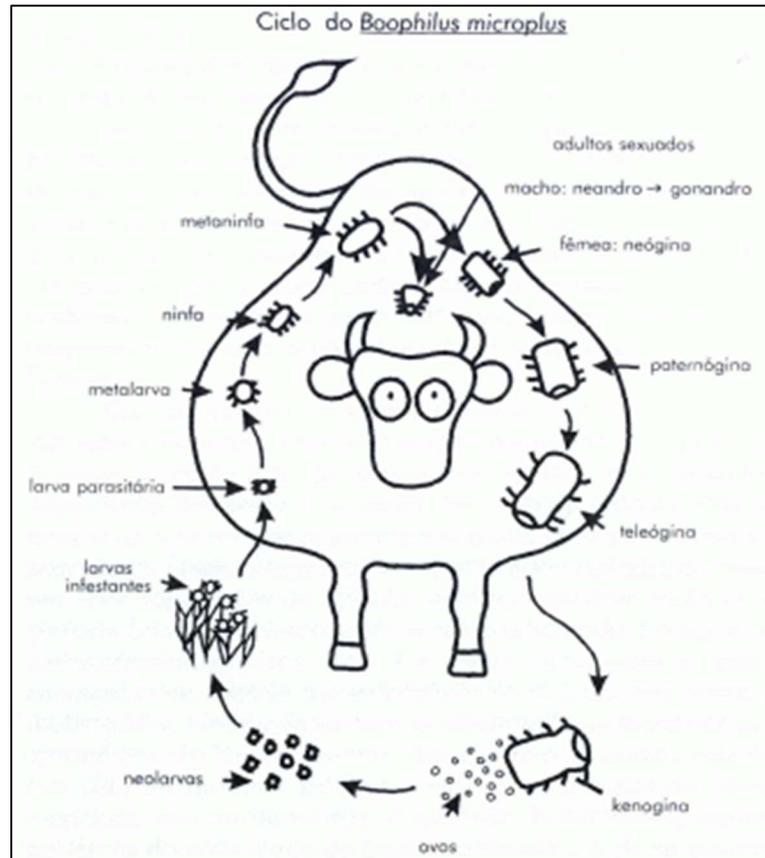


FIGURA 2- Ciclo biológico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Cepa CAMCORD. *Boophilus microplus*, Cuba, 1989. <http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/medicina-da-producao/prejuizos-economicos-causados-pelos-carrapatos-16680n.aspx>

1.3 Prejuízos causados na pecuária nacional

Estudos relativos aos impactos econômicos do parasitismo bovino no Brasil têm sido realizados por Grisi e colaboradores desde o ano de 2002, sendo uma importante fonte de dados sobre a resistência econômica de endo e ectoparasitas que infligem o gado, especialmente do ponto de vista do produtor. Estimaram que as perdas econômicas totais pelos ectoparasitas como o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* foram de US\$ 2.650 milhões (GRISI et al., 2002; SILVA et al., 2005).

Com um coeficiente de produção estimado em 212,34 milhões de cabeças de bovino no ano de 2014, distribuídas ao longo de 8 milhões de quilômetros quadrados de terra (IBGE, 2014). Este cenário da pecuária nacional mudou, novos dados sobre as perdas de produção pelos parasitas foram atualizados a partir de muitas regiões do país.

Assim, a perda econômica sobre o impacto desta espécie de parasita para as respectivas populações de gado que foram consideradas em risco, foi estimada em US\$ 3,23 milhões. As potenciais perdas econômicas anuais por causa de cinco grandes ectoparasitas e vermes gastrintestinais de bovinos no Brasil atingiram o montante impressionante de US \$ 13,9 bilhões (GRISI et al., 2014).

A baixa qualidade extrínseca das peles brasileiras determinam o prejuízo dos danos causados ao couro, através da espoliação sanguínea do ectoparasita no hospedeiro durante a infestação, em 2010, o Brasil produziu 40 milhões de peles e exportou apenas 68% (KLAFKE et al., 2006).

Apenas 10% das espécies são consideradas de importância médico-veterinária, envolvidas na epidemiologia de doenças de humanos e animais. Os carrapatos transmitem maior variedade de agentes infecciosos do que qualquer outro grupo de artrópodes hematófagos (KLAFKE et al., 2006). Em todas as fases larvais, são vetores da *Rickettsia*, *Anaplasma* sp. e do protozoário *Babesia* sp. responsáveis pelo complexo conhecido como Tristeza Parasitaria Bovina, estas hemoparasitoses causam anemia, diminuição no ganho de peso, redução na produção de leite e podem, em casos mais graves levar os animais a morte (PEREIRA et al., 2008; ANDREOTTI, 2011a).

Isso reflete as condições ambientais favoráveis, tanto para o gado e seus parasitas neste país. A situação é agravada pelos gargalos de controle do parasita. Quando distribuídos por todo o rebanho bovino nacional (mais de 212 milhões de cabeças), uma perda anual de US\$ 65,49 por cabeça foi encontrada, o que pode parecer mais tolerável. No entanto, considerando a média de idade de abate de 36 a 42 meses, esse impacto anual na verdade representa 32% do preço de venda de gado de corte (CEPEA, 2013a, b, c), tornando assim o dano potencial pelo parasitismo inaceitável para os produtores e indústria de bovinos.

1.4 Controle e resistência do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Desde a década de 1950 no Brasil, um dos métodos de controle mais utilizados são os acaricidas sintéticos que agem ou por interação em alvos específicos do sistema nervoso (neurotóxicos) ou no processo bioquímico de síntese de quitina (inibidores de desenvolvimento) (LEAL et al., 2003). Tradicionalmente, estes produtos químicos foram usados para controlar parasitas, com um impacto sobre o bem-estar e a saúde dos animais domésticos, incluindo animais de produção (OLIVEIRA et al., 2012).

A maioria destes acaricidas comerciais disponíveis tem atuação no sistema nervoso do carrapato, como os pertencentes a classes químicas dos organofosforados (clorpirifós), piretroides (deltametrina, cipermetrina), formamidinas (amitraz), fenilpirazóis (fipronil), lactonas macrocíclicas (avermectinas: ivermectina, doramectina e milbemicinas: oxima milbemicina) e as espinosinas (espinosada), que tem como alvo canais iônicos, receptores de neurotransmissores ou enzimas (LEAL et al., 2003).

O sistema nervoso dos carrapatos é constituído de uma massa compacta de tecido nervoso chamada de singânglio de onde partem nervos para várias partes do corpo. O singânglio está localizado logo atrás do gnatossoma, sendo atravessado pelo esôfago, dividindo em um gânglio dorsal (supraesofageano) e outro ventral (subesofageano). Nos insetos, há uma variedade de transmissores e moduladores neurais, no entanto nos carrapatos alguns destes não estão com suas funções bem definidas (LEES e BOWMAN, 2007).

Na Tabela 1, está descrito a classificação dos carrapaticidas de acordo com o sítio de ação primário, no qual se incluiu as bases químicas e alguns de seus princípios ativos.

A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor excitatório, sendo considerado como um dos mais importantes do sistema nervoso de insetos, seus receptores ocorrem de duas formas, nicotínicos (*n*-AChR) e muscarínicos (*m*-AChR) (SATTELLE, 1980; VENTER et al., 1988).

O sistema colinérgico tem sido validado quimicamente nos carrapatos, sendo um alvo acaricida *bona fide*, visto que os organofosforados são potentes agentes químicos de controle dos mesmo. A síntese de ACh pela colina acetilcolinesterase foi demonstrada em larvas e adultos de *R. B. microplus* (SMALLMAN e SCHUNTNER, 1972). A presença da ACh no singânglio de carrapatos foi confirmada em adultos de *R. B. microplus* (SMALLMAN e SCHUNTNER, 1972), assim como a atividade da acetilcolinesterase (AChE) foi demonstrada em homogenados de larvas e no singânglio de adultos de *R. B. microplus* (ROULSTON et al., 1966).

Tabela 1- Classificação dos carrapaticidas pelo sítio de ação primário e suas bases químicas.

SÍTIO DE AÇÃO PRIMÁRIO	GRUPO e/ou SUBGRUPO QUÍMICO Exemplo(s) de Ingrediente(s) Ativo(s)
Inibidores de acetilcolinesterase	ORGANOFOSFORADOS (Clorpirifós) CARBAMATOS
Moduladores de canais de sódio	PIRETROIDES (Deltametrina, Cipermetrina) PIRETRINAS (Piretrina I, Piretrina II) CLORADOS (DDT)
Agonistas de receptores de octopamina	FORMAMIDINA (Amitraz)
Antagonistas de canais de cloro mediados pelo GABA	FENILPIRAZÓIS (Fipronil)
Ativadores de canais de cloro	LACTONAS MACROCÍCLICAS: AVERMECTINAS (Ivermectina, Doramectina) MILBEMICINAS (Milbemicina oxima)
Agonistas de receptores nicotínicos da acetilcolina	NICOTINOIDES (Nicotina) NEONICOTINOIDES (Imidacloprida)
Ativadores alostéricos de receptores nicotínicos da acetilcolina	ESPINOSINAS (Espinosade)
Inibidores do complexo da cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria	ROTENOIDES (Rotenona)
Compostos com modo de ação desconhecido	AZADIRACTINA
Inibidores da formação de quitina	BENZOILUREIAS (Fluazuron)

Fonte: Adaptado do Comitê Brasileiro de Ação a Resistência a Inseticidas. Disponível em WWW.irac-br.org.br

A AChE cliva a ACh em colina e ácido acético (Figura 3), o que ocorre em duas etapas, primeiro através da aciclação da enzima, seguida de desaciclação envolvendo uma molécula de água. Quando em contato com um inseticida inibidor de AChE, tornando-se fosforilada irreversivelmente inativa. Esse processo acontece no sítio ativo localizado no interior da enzima, denominado tríade catalítica, formado pela serina, histidina e glutamato, sendo covalentemente fosforilada (SOREQ e SEIDMAN, 2001). Os organofosforados e carbamatos se ligam à enzima AChE, impedindo que esta hidrolise a acetilcolina. O acúmulo de acetilcolina nas sinapses provoca uma hiperatividade do sistema nervoso, desencadeando o colapso do mesmo. Até o aparecimento da resistência, os organofosforados foram usados intensamente e com sucesso no controle de *R. B. microplus* (GEORGE et al., 2004; GRAF et al., 2004).

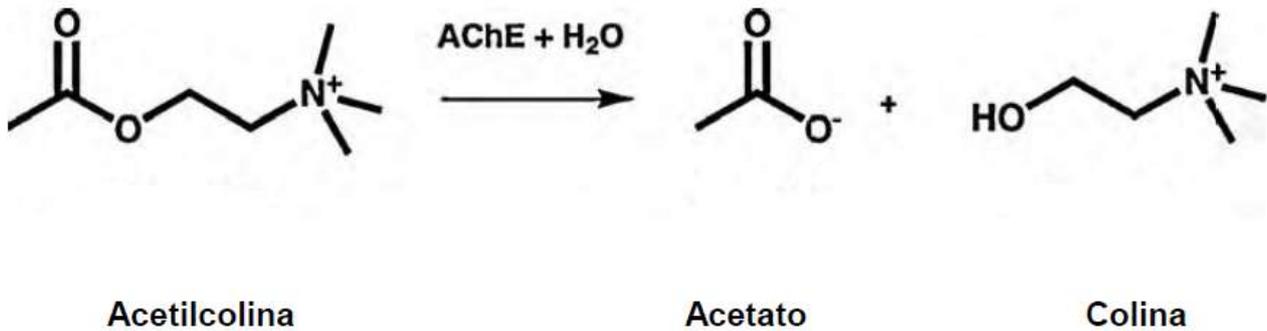


Figura 3- Esquema da reação de clivagem da acetilcolina pela acetilcolinesterase. Fonte: Lees e Bowman, 2007.

A forma de controle mais indicada é a utilização dos carrapaticidas dentro de um programa estratégico, que se baseia no conhecimento da biologia e interações deste carrapato, planejando banhos carrapaticidas em períodos desfavoráveis para a sobrevivência deste ixodídeo na pastagem, respeitando os intervalos de banho de acordo com o período residual do produto utilizado. A escolha do produto também é de fundamental importância e o ideal é que o carrapaticida seja escolhido com base em resultado de teste de sensibilidade (FURLONG e MARTINS, 2005; LABRUNA, 2008).

Os carrapaticidas de contato podem ser administrados por aspersão, imersão ou “pour on”, pertencendo a diversas bases químicas como os piretroides, organofosforados, fenilpirazóis, amidínicos e “naturalyte”. Já os acaricidas sistêmicos são aplicados por aspersão e injeções subcutâneas ou intramusculares, podendo ser compostos dos grupos das lactonas macrocíclicas e benzofenilureas. A combinação de mais de uma substância desses grupos também pode ser encontrada (FURLONG et al., 2007).

No entanto, o uso incorreto e indiscriminado dos acaricidas tem acelerado o processo de seleção de resistência as diferentes bases químicas, refletindo no aumento da população de carrapatos resistentes. (KAPLAN e VIDYASHANKAR, 2012; CASTRO-JANER et al., 2012). Prejudicando o controle futuro destes parasitas, mesmo sendo desenvolvidos novos produtos, ainda há riscos de geração de resistência (ANDREOTTI et al., 2011b).

No Brasil, o Rio Grande do Sul, em 1953, foi o primeiro estado a relatar casos de resistência a quase todos os grupos químicos de carrapaticidas, exceto a benzoilfenilureia (Fluazuron) (CASTRO-JANER et al., 2010) e espinosinas (JONSSON et al., 2010).

1.5 Aditivos na produção de ruminantes

A criação de ruminantes no Brasil é condicionada na maior parte pelas condições extensivas, durante o ano todo. No período de seca, reduz a qualidade da forragem, aumentando a parcela de produtores que adotam a produção de silagem como estratégia de suplementação volumosa. O milho é cada vez mais recomendado, entre as várias plantas que se prestam à produção de silagem, pela sua composição bromatológica favorável, de teor de MS entre 30 – 35 %, e no mínimo 3% de carboidratos solúveis na matéria original, baixo poder tampão, adequada fermentação microbiana no silo, além de boa aceitação por parte dos animais e ganhos de peso satisfatórios em confinamento (GOMES et al. 2002; OLIVEIRA et al. 2007)

O processo de ensilagem consiste em armazenar a forragem em ambiente anaeróbico, para preservação através da fermentação com a presença de ácido láctico, tendo uma perda mínima da qualidade (PATRIZI et al., 2004). Nas últimas décadas, intensificaram os esforços para melhorar os índices de produtividade e qualidade, e com isso, a adoção de tecnologias torna-se essencial. Dentro das possibilidades tecnológicas disponíveis para o produtor no intento de melhorar a qualidade do alimento, eficiência alimentar e/ou ganho diário dos animais, os aditivos são alternativa para se obter bons resultados (GOES et al., 2005).

O termo aditivo refere-se a toda substância, microrganismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente a dieta dos animais, que não é utilizado normalmente como ingrediente, possua ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou mesmo dos produtos de origem animal, e ainda, melhore o desempenho dos animais sadios, atenda às necessidades nutricionais ou tenha efeito anticoccidiano (BRASIL, 1976).

Segundo a EFSA (Autoridade Europeia da Segurança do Alimento, 2003) os extratos vegetais são classificados como aditivos zootécnicos (melhoradores da digestibilidade – juntamente com enzimas e ácidos orgânicos; equilibradores de flora intestinal – probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, nutracêuticos; melhoradores de desempenho – antibióticos, ionóforos, repartidores de nutrientes, hormônios; botânicos – ervas, especiarias, extratos vegetais e óleos essenciais) e aditivos anticoccidianos.

Segundo Oliveira et al. 2005, dentre os aditivos liberados e utilizados no Brasil para ruminantes destacam-se os ionóforos, antibióticos não ionóforos, probióticos, prebióticos e leveduras. Tamponantes, enzimas fibrolíticas, óleos essenciais, ácidos graxos e orgânicos, bem como, própolis e extratos de plantas vêm sendo estudados como possíveis aditivos na alimentação animal.

Recentemente tem-se observado o aumento da preocupação dos consumidores sobre a segurança e a qualidade de produtos de origem animal. Em função disso, cada vez mais, tem-se buscado aditivos naturais que visem aumento da produtividade animal, diminuição dos riscos de

transferência de patógenos zoonóticos, diminuição da carga antibiótica e limitação na excreção de poluentes (MORAIS et al., 2011).

Com isso, os metabólitos especiais das plantas tornam-se alternativas naturais para modificar a fermentação. Taninos e saponinas têm efeitos adversos sobre a população microbiana e saúde animal e tem potencial para melhorar a fermentação ruminal. Pode ser fornecido diretamente no alimento por extratos extraídos e adicionados à dieta dos bovinos (MORAIS et al., 2011).

Autores ressaltam que esses aditivos botânicos ou fitogênicos vêm como mais uma alternativa ao uso de antibióticos como promotores de crescimento, sendo importantes na modulação da microbiota, estabelecendo uma população de micro-organismos mais “saudáveis” em detrimento de espécies mais nocivas (GAGGIA et al., 2010). No entanto, assim como nos demais aditivos, os resultados obtidos com sua adoção ainda são contraditórios.

1.6 Espécies botânicas: aspectos relacionados a metabólitos especiais e utilização na produção animal

O uso medicinal associado às plantas é significativamente maior nos países de terceiro mundo, especialmente naqueles que possuem florestas tropicais extensas, como é o caso da biodiversidade da flora brasileira. Que se resalta como uma fonte renovável apropriada a produção de fitoterápicos como alternativa econômica para o desenvolvimento sustentável da região, com reais perspectivas de geração de agentes medicinais (FAZOLIN et al., 2006).

O conhecimento cultural popular tem sido uma importante fonte de inspiração dessas investigações, segundo a Organização Mundial da Saúde - OMS, 2002 que reconhece o empirismo como forma de desenvolvimento de novos produtos farmacológicos, tornando-o uma alternativa promissora, a utilização de agroquímicos existentes no mercado principalmente na produção animal, no que diz respeito aos manejos sanitários e nutricionais (BAKKALI et al., 2008).

Uma das características dos seres vivos é a presença de atividade metabólica. O metabolismo nada mais é do que o conjunto de reações químicas que ocorrem no interior das células. No caso das células vegetais, o metabolismo costuma ser dividido em primário e secundário. Geralmente são mecanismos de defesas que se baseiam na liberação de compostos químicos, chamados de metabólitos secundários, que proporcionam diferentes ações dependendo da espécie e do composto produzido por ela (OLIVO et al., 2008).

Entende-se por metabolismo primário o conjunto de processos metabólicos que desempenham uma função essencial no vegetal, tais como a fotossíntese, a respiração e o transporte de solutos. Os compostos envolvidos no metabolismo primário possuem uma distribuição universal

nas plantas. Esse é o caso dos aminoácidos, dos nucleotídeos, dos lipídios, carboidratos e da clorofila (BALANDRIN et al., 1985).

Embora o metabolismo secundário nem sempre seja necessário para que a planta complete seu ciclo de vida, ele desempenha papel importante na interação das plantas contra a herbivoria, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de sementes e microrganismos simbióticos. Os principais fatores que podem coordenar ou alterar a taxa de produção de metabólitos secundários são a sazonalidade, ritmo circadiano, desenvolvimento, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica e indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos (Figura 4) (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Estes metabólitos podem ser encontrados em todos os tecidos das plantas, incluindo folhas, flores, frutos, raízes, rizomas, caules e sementes (FERREIRA e AQUILA, 2000; BRAZ FILHO 2010). Além disso, são liberados por diversos caminhos e diferem de espécie para espécie, de planta para planta, sendo influenciado também em sua concentração. (SARTOR et al., 2009)

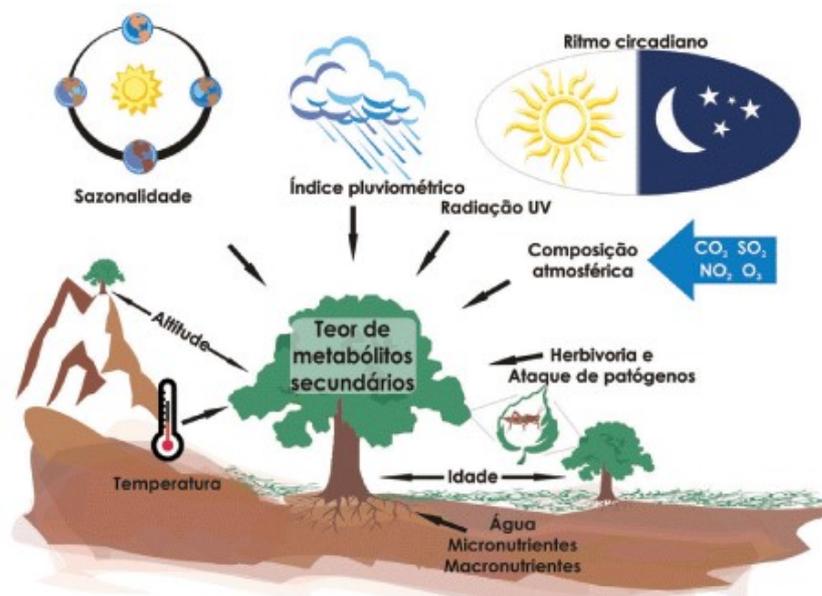


Figura 4- Principais fatores que podem influenciar o acúmulo de metabólitos secundários em plantas. Fonte: GOBBO-NETO e LOPES, 2007.

A relativa facilidade de coleta, a condição ambiental favorável para desenvolvimento sustentável, a biodiversidade estrutural de substâncias orgânicas naturais e a possibilidade de descoberta de princípios ativos entre tais constituintes químicos permitem diagnosticar e destacar as plantas brasileiras como a principal fonte renovável para o surgimento e desenvolvimento de novos fármacos, além de outros produtos que podem ser utilizados para finalidades sociais adicionais (BRAZ FILHO, 2010).

Diversas plantas tropicais têm utilização na medicina popular caseira e encontram-se documentadas por dados etnobotânicos. A elucidação dos componentes ativos presentes nas plantas, bem como seus mecanismos de ação, vem sendo um dos maiores desafios para a química farmacêutica, bioquímica e a farmacologia (GEBHARDT, 2000).

Estes metabolitos secundários dão base ao novo grupo de aditivos fitogênicos, provenientes principalmente de ervas, especiarias entre outras plantas de uso comum entre os seres humanos, vem apresentando, resultados positivos na substituição de antibióticos e acaricidas no manejo nutricional e sanitário (HASHEMI e DAVOODI, 2011). A produção de compostos fenólicos, principalmente tanino pelas plantas como forma de proteção contra patógenos, é uma das explicações para estas finalidades (EFRAIM et al., 2006).

Espécies frutíferas do cerrado têm grande potencial de uso agrícola; o consumo *in natura* é utilizado na produção de sucos, licores, doces e sorvetes (SILVA et al., 2008). Mesmo com substâncias bioativas em pequenas quantidades tem propriedades funcionais (LIMA et al., 2002 e 2004). Estas substâncias bioativas extraídas dos vegetais podem ter diversos efeitos nos organismos dos animais, desde ações antifúngica, analgésica, anti-inflamatória, bactericida, antimicrobiana, acaricida e inseticida (MELO et al., 2008).

Atualmente, são conhecidos aproximadamente cem mil compostos naturais ecoquimicamente ativos. Os óleos essenciais (SCHWOB et al., 2004; PITAREVIC et al., 1984), lactonas sesquiterpênicas (ZIDORN e STUPPNER, 2001; SCHMIDT et al., 1998), ácidos fenólicos (ZIDORN e STUPPNER, 2001; GRACE et al., 1998), flavonoides (BROOKS e FEENY, 2004), cumarinas (WILT e MILLER, 1992), saponinas (NDAMBA et al., 1993), alcaloides (ELGORASHI et al., 2002; ROCA-PÉREZ et al., 2004), taninos (SALMINEN et al., 2001), graxas epicuticulares (FAINI e LABBÉ, 1999), iridoides (MENKOVIC et al., 2000), glucosinolatos (AGERBIRK et al., 2001) e glicosídeos cianogênicos (KAPLAN et al., 1983) são exemplos de alguns desses compostos produzidos pelas plantas.

Para diminuir a presença de resíduos nos alimentos, no ambiente e a toxicidade ao homem do campo, os metabólitos secundários têm sido utilizados como pesticidas ou modelos para pesticidas sintéticos, como o toxafeno, as piretrinas, a nicotina e a rotenona, nas indústrias agrícolas e pecuárias. Técnicas, nas quais se inclui o uso de plantas, têm sido empregadas por apresentarem diferentes funções e mecanismos de ação (CHAGAS et al., 2002). Estes produtos atendem as exigências de agências alimentícias de alguns países.

Os fitoquímicos utilizados na alimentação animal são divididos em quatro subclasses: 1) ervas - produto da floração de plantas não anuais e não lenhosas; 2) botânicos - partes inteiras de uma planta, por exemplo, raiz, folhas, cascas; 3) óleos essenciais – obtidos por vaporização ou destilação; 4) oleorresinas - extratos com base em solventes não aquosos (WINDISCH, 2008).

A utilização de extratos naturais na dieta animal depende de muitos fatores, tais como espécie animal, idade e finalidade da produção, assim como fatores inerentes ao indivíduo como estado nutricional, presença de infecções, composição da dieta e condições ambientais em que ele se encontra (GIANNENAS et al., 2003).

O modo de ação e a função de cada extrato vegetal dependerá do composto químico predominante e de sua concentração na composição química da planta (BENCHAAR et al., 2008). De modo geral, o fitogênico atua sobre o ecossistema da microflora intestinal, controlando potenciais agentes patogênicos. Como o hospedeiro não precisa desviar nutrientes para que o sistema imunológico atue na defesa do organismo contra agentes patogênicos, haverá maior disponibilidade de nutrientes essenciais para a absorção intestinal, promovendo maior desempenho produtivo por parte do animal (WINDISCH, 2008; HASHEMI e DAVOODI, 2011).

Os terpenos são feitos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico ou ácido mevalônico. Por fim, os alcaloides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina) (DZUBAK et al., 2006; SPARG et al., 2004).

Para Borges et al., (2011), as investigações sobre o uso de extratos vegetais e a utilização da fitoterapia no campo da veterinária têm se intensificado nas últimas décadas, tanto no Brasil quanto em outros países.

1.6.1 Guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) (Sapotaceae)

Dentre as frutíferas nativas dos cerrados de Goiás destacam-se as do gênero *Pouteria* e pertencente à família Sapotaceae que possui cerca de 325 espécies, e tem ampla distribuição nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo (FERREIRA, 1975). A guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) é encontrada principalmente em solos mais úmidos, com distribuição na faixa de separação cerrados-veredas, também distribuídas em matas de galeria, cerradão e cerrado. (RIBEIRO et al., 1992)

É uma espécie arbórea, chegando na fase adulta com 20 a 30 metros de comprimento e 60 a 100cm de diâmetro. A produção por planta é de 1000 a 3000 frutos, estes possuem de 4 a 5cm de comprimento, a cor da casca é amarelada, quando maduro. As frutas nativas brasileiras, especialmente as de ocorrência na região Centro-Oeste, podem ser utilizadas para o consumo *in natura* ou para a produção de doces, geleias, sucos e licores, além de serem utilizadas com sucesso na recuperação de áreas desmatadas e degradadas, controle de erosão e no plantio de áreas de

proteção ambiental, também têm sido utilizadas na construção civil e medicina popular (MONTEIRO et al., 2007) (figura 5).

O aumento do consumo de frutas deu-se principalmente em razão de elas apresentarem propriedades funcionais, atribuídas à presença de substâncias bioativas que, mesmo em pequenas quantidades, podem apresentar efeitos fisiológicos adicionais, por meio de sua ação antioxidante (LIMA et al., 2002 e 2004; MELO et al., 2008). Atividades biológicas também são reportadas às espécies desse gênero, tais como, o tratamento de hiperlipidemias e obesidade (SILVA et al., 2010) e suas raízes são empregadas para tratar verminoses, disenteria, dor e inflamação (CONDESSA, 2011). Apresenta potencial anti-inflamatório e antinociceptivo (FONTES JÚNIOR, 2009), citotóxico (SILVA et al., 2009), antimicrobiano, antifúngico (COSTA et al., 2003) e potencial antioxidante e fotoprotetor (SILVA, 2007a).

Estas propriedades funcionais podem ser atribuídas pela presença de compostos fenólicos nas plantas e estão relacionados, principalmente, com a proteção, conferindo alta resistência a microrganismos e pragas. Nos alimentos, estes compostos podem influenciar o valor nutricional e a qualidade sensorial, conferindo atributos como cor, textura, amargor e adstringência. Na maioria dos vegetais, os compostos fenólicos constituem os antioxidantes mais abundantes (EVERETTE et al., 2010).

Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Estão amplamente distribuídos no reino vegetal, englobando desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização, geralmente estão associados ao mecanismo de adaptação e resistência da planta ao meio ambiente (SOARES et al., 2010).

Um dos métodos de identificação é o da vanilina que é empregado com o objetivo de detectar uma classe mais limitada de compostos fenólicos que apresentam ligação simples na posição 2,3 e grupos hidroxila em posições alternadas no anel A, embora possa detectar tanto flavonoides monoméricos quanto poliméricos. Neste método, tanto as leucoantocianidinas (catequinas) quanto as proantocianidinas (taninos condensados) reagem com a vanilina na presença de HCl para produzir um produto de condensação vermelho, que é detectado espectrofotometricamente (AGOSTINI-COSTA et al., 2003).

As frutas de espécies nativas do cerrado, analisadas pela primeira vez neste estudo, apresentam elevados teores de compostos fenólicos totais e de taninos condensados, sendo que os taninos condensados predominam nas espécies do gênero *Anacardium* e *P. gardneriana* (ROCHA et al., 2011).

A diversidade de atividades reportada para as folhas de *P. ramiflora* pode estar ligada às diferentes classes de metabólitos secundários. Para as espécies da família Sapotaceae é citada a

ocorrência de flavonoides e triterpenos. Especificamente, os flavonoides são apontados como marcadores quimiotaxonômicos (miricitrina) para o gênero *Pouteria*, com maior frequência nas folhas e os triterpenos, encontrados além das folhas, nos demais órgãos (SILVA et al., 2009). Estudos fitoquímicos realizados com espécies da família Sapotaceae têm revelado a ocorrência de flavonoides, terpenoides, compostos fenólicos, alcaloides, benzenoides e fenilpropanoides (MONTENEGRO et al., 2006).

Os flavonoides são apontados como os principais constituintes químicos do gênero, em conjunto com os terpenoides, principalmente para as folhas (SILVA et al., 2006).



Figura 5- Guapeva (*Pouteria. gardneriana* Radlk). Fonte: Ana Cláudia Cardoso Ataides.

1.6.2 Caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) (Anacardiaceae)

Dentre as espécies nativas do cerrado brasileiro, destaca-se o gênero *Anacardium* pela importância econômica para região em que se encontra. O cajuzinho (*Anacardium othonianum* Rizz.) pertence à família Anacardiaceae, tem porte arbóreo, com 3 a 4 metros de altura. É espécie de ocorrência em cerrado e cerradão, sendo mais típica da primeira formação (SILVA et al., 1994). Os pseudofrutos maduros têm coloração variando do amarelado ao vermelho vivo e polpa branco amarelada. Segundo Silva et al. (1994), as dimensões dos pseudofrutos seriam 2 a 4 cm de comprimento por 2 a 3 cm de diâmetro, e os frutos tem peso entre 5 e 12 g (figura 6).

O comprimento médio das plantas e o diâmetro de sua copa estão em torno de 3 a 4 metros. A planta tolera bem os períodos de secas e os solos pobres, com pH entre 4,5 a 6,5. As folhas são elípticas, coriáceas, glabras, com base subcordata e pecíolos medindo 4 mm a 8 mm. As flores são reunidas em panículas amplas, as brácteas são foliosas, pilosas e as pétalas estreitas, alongadas e avermelhadas. As flores são hermafroditas e unissexuais (masculinas), sendo que as

masculinas aparecem no início da floração, as hermafroditas no final e são polinizadas por abelhas e vespas ocorrendo o florescimento entre junho e outubro (LIMA et al., 2002).

O aproveitamento alimentar do pseudofruto de *A. othonianum* Rizz. é feito principalmente na forma de polpa *in natura* ou em forma de suco, licor, doces, geleias, rapaduras, produtos cristalizados e infusões em aguardente. A castanha (fruto verdadeiro) torrada é consumida com sal ou na forma de paçoca doce ou salgada, tem alto teor de óleo (LIMA et al., 2007). Há grande demanda dos frutos para comercialização e consumo *in natura* ou industrializados, sendo aproveitados de várias formas diferentes (CORREA et al., 2008).

Também possuem propriedades terapêuticas, na medicina popular a planta é usada nas inflamações de garganta (casca), como purgante (raiz), como antidiarreico (folha), em calosidades, verrugas, dor de dente e manchas de pele (resina), além da confecção do gel dental com as cinzas (POTT e POTT, 1994). Atividades medicinais foram reportadas em *Anacardium humile* e *Anacardium occidentale* como, antidiabético (URZÊDA et al., 2013), antiúlcera gênico (FERREIRA et al., 2008) e antioxidantes (RAZALI et al., 2008).

Segundo Canuto et al., (2010), os pedúnculos ou pseudofrutos das espécies de cajueiros nativos do Cerrado (*A. nanum* e *A. othonianum*) apresentaram teores de compostos fenólicos e taninos condensados, a relação entre compostos fenólicos totais e taninos condensados é variável, indicando que os compostos fenólicos se encontram predominantemente na forma de taninos condensados que, provavelmente, estão associados à adstringência dos frutos. Estes compostos fenólicos geralmente estão associados ao mecanismo de adaptação e resistência da planta ao meio ambiente (ROCHA et al., 2011).



Figura 6- Caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.). Fonte: Ana Cláudia Cardoso Ataides.

1.6.3 Santa bárbara (*Melia azedarach* L.) (Meliaceae)

Nativo da região nordeste da Índia e da China, o gênero *Melia*, hoje se encontra distribuído em quase todos os países tropicais é membro da família Meliaceae, a espécie *Melia azedarach* L., é conhecida popularmente como cinamomo, pára-raios, lírio, lilás da Índia ou santa bárbara é uma árvore caducifólia aclimatada em diversas regiões e conhecida mundialmente. No Brasil, a planta está amplamente distribuída nas regiões subtropicais (LORENZI, 2003) (Figura 7).

É uma árvore de porte médio e copa pouco irregular de 6m a 12m; algumas variedades podem alcançar mais de 10m a 20m de comprimento médio, com folhas alternadas que são pinadas com folíolos lanceolados, ficando com coloração verde vivo antes da queda. Suas flores são pequenas, em grandes panículas eretas e multifloras, cheirosas, de tonalidade violácea e de anteras amarelas. Os frutos são drupas, caracteriza a espécie pela ausência de folhas no período de amadurecimento (SANTOS e TEIXEIRA, 2001; BRAGA, 1976). Cresce rapidamente, quer por semente, quer por estaca.

Conforme Gajmer et al. (2002) esta espécie é portadora de substâncias inseticidas e anti-helmínticas. As variedades tóxicas têm propriedades inseticidas, sendo as folhas e frutos secos usados para proteger roupas armazenadas. Possui também propriedades medicinais (MCGRAW et al. 2000).

M. azedarach tem atividade medicinal e inseticida, atribuídas aos limonóides, piretrinas e azadiractina (Meliaceae), que possui ação antialimentar em insetos (HUANG et al., 1995). Classificado como um dos compostos mais promissores extraídos de *Azadirachta indica* A. Juss e *M. azedarach*. Os limonoides são tetranotriterpenoides que têm como precursor um triterpeno, que perde quatro carbonos ao originá-lo (SIMÕES et al., 2007). Estes compostos são capazes de inibir o crescimento ou a alimentação de insetos (MATIAS et al., 2002).

As plantas que possuem limonoides têm, além da atividade inseticida, muitas outras aplicações como antitumorais, antifúngicas, bactericidas, acaricidas e antivirais, sugerindo o papel de defesa das plantas contra determinados microrganismos (CHAMPAGNE et al., 1992). Segundo Matias et al. (2002), além dos limonoides, outras classes de metabólitos (triterpenoides e esteroides, alcaloides, proteínas, fenóis e fitoesteróis) também estão presentes nos órgãos de *M. azedarach*.

Em certas regiões da Índia é forragem comum dos bovinos, ovinos e caprinos, além de ser utilizada como árvore de sombra é usada frequentemente como medicinal, por ser possuidora de inúmeras propriedades. Diversas atividades são atribuídas a esta espécie, efeito alelopático (TUR et al., 2010), inseticida (BRUNHEROTTO e VENDRAMIM, 2001; LOVATTO et al., 2012), toxicidade (PIRES JÚNIOR et al., 2012), acaricida (BORGES et al., 2005; SOUSA et al., 2011)



Figura 7- Santa Bárbara (*Melia azedarach* L.). Fonte: Ana Cláudia Cardoso Ataides.

1.6.4 Nim (*Azadirachta indica* L.) (Meliaceae)

Originária da Ásia o Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) é uma planta milenar nativa da Índia, que hoje está presente em áreas subtropicais e tropicais da África, da América e da Austrália (SCHMUTTERER,1990). Introduzida no Brasil a partir de 1993 quando os primeiros plantios, em nível experimental, foram estabelecidos na região do cerrado do estado de Goiás (NEVES, 2004). Pertencente à família Meliaceae, alcança de 10m a 15m de comprimento médio e 2,5m de circunferência (figura 8). Os galhos formam as copas de até 10m de diâmetro e seu tronco geralmente é reto e curto, dotado de uma casca grossa e enrugada (SOARES et al., 2010). É capaz de resistir a longos períodos secos e floresce, até mesmo, em solos pobres em nutrientes, porém, não suporta locais encharcados e salinos. O pH ideal do solo é de 6,2 a 7,0 (SOARES et al., 2010).

As folhas, sempre abundantes, exceto em períodos de seca prolongado, são verde-escuras, compostas e imparipenadas com frequente aglomeração na extremidade dos ramos simples. As flores são hermafroditas, possuem coloração branca e são aromáticas, estando reunidas em inflorescências densas, bastante procuradas pelas abelhas que desempenham importante papel na polinização, se não prejudicadas nessa atividade. O fruto é uma baga ovalada, com 1,5 a 2,0cm de comprimento e quando maduro, apresenta polpa amarelada e casca branca, contendo óleo marrom no interior da semente (NEVES et. al., 2003).

Atualmente, diversas pesquisas conduzidas em várias partes do mundo tentam estabelecer os mecanismos de ação de compostos obtidos a partir de Meliáceas, principalmente da espécie *Azadirachta indica*, sobre os insetos. Os compostos presentes nos extratos do Nim exercem atividade nos processos reprodutivos, comportamentais, alimentares e de crescimento dos artrópodes (SCHMUTTERER, 1990).

O potencial de aproveitamento do Nim é bastante variado. A azadiractina, fundamental princípio ativo, encontrado em grande quantidade nos frutos e em menores quantidades nas outras partes das plantas pertencente à família Meliaceae, tem sido aplicada no combate às pragas agrícolas, com possíveis aplicações na medicina e na indústria de cosméticos. O Nim constitui também uma excelente opção para o reflorestamento de áreas degradadas, sua madeira é uma grande alternativa para a construção civil (SALLES e RECH, 1999).

A azadiractina é um limonoide de ocorrência restrita em duas plantas, *Azadirachta indica*, conhecida na Índia como Nim e *Melia azedarach*, também de origem asiática, mas introduzida em vários países, inclusive o Brasil, em que é conhecida como cinamomo ou santa bárbara, além de várias outras denominações vulgares. A azadiractina é considerada como o mais recente inseticida natural (KUSARI et al., 2012).

Os limonoides, substâncias também conhecidas como meliacinas ou tetranortriterpenoides, apresentam atividade contra insetos, principalmente na intervenção de seu crescimento por inibição de sua alimentação, conhecida como atividade fago-inibidora, interfere nas glândulas endócrinas que controlam a metamorfose e impedem o desenvolvimento da ecdise (CORRÊA e VIEIRA, 2007). Essa substância também pode inibir a vitelogenina durante a ovogênese de artrópodes (JONSSON e PIPER, 2007).

Além disso, os extratos de folhas e de sementes de nim e santa bárbara possuem cerca de quatro compostos ativos, dos quais azadiractina, salanina, meliantriol e nimbina são os principais e possuem comprovada ação inseticida, antitumoral, citotóxica, antihelmíntica e antiviral. As salaninas são triterpenoides que têm sido descritas como compostos biologicamente ativos em insetos, encontrados em plantas da família Meliaceae, como *A. indica* e *M. azedarach* (KUSARI et al., 2012).

Diversos autores relatam as atividades atribuídas a esta espécie, tanto uso de extratos /e ou óleos essenciais de diferentes órgãos da planta, principalmente contra insetos e ácaros (COSTA et al., 2008; BROGLIO-MICHELETTI et al., 2009, 2010; GIGLIOTI et al., 2011; SANTOS et al., 2012; EMERENCIANO et al., 2013; ANDRADE et al., 2013).



Figura 8- Nim (*Azadirachta indica* L.). Fonte: Ana Cláudia Cardoso Ataides.

1.6.5 Capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) (Poaceae)

Nativo da Índia, o *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf é uma planta herbácea, cespitosa e perene, pertencente à família Poaceae, que compreende aproximadamente 500 gêneros e 8000 espécies de plantas (BARBOSA et al., 2008). É conhecido popularmente no Brasil como capim-limão, capim-cidrô, capim-cheiroso, capim-cidreira, capim-cidrão, citronela-de-java e erva-cidreira.

O capim-limão é uma planta que tem de 1 a 2 m de comprimento, com caule ramificado a partir da base, formando touceiras. As folhas são de um verde intenso na parte superior e verde claro na parte inferior, pecioladas, opostas, ovais, de margens crenadas e com nervuras salientes (figura 9). As flores se formam nas axilas das folhas, sendo inicialmente brancas ou amareladas e, quando adultas, permanecem brancas rosadas ou brancas manchadas de rosa. O fruto é um aquênio oblongo ou oval, castanho, liso e sem pelos. Quando ainda jovem, a planta toda libera um suave e agradável odor de limão; quando esmagada, esse odor fica mais forte. O sabor é adocicado e pouco amargo. Entretanto, a planta idosa exala um odor que não é muito agradável (PARIKH e DESAI, 2011).

A propagação desta espécie pode se dá por sementes com posterior transplante, como ocorre na Índia, local onde floresce durante os meses de novembro e dezembro. No Brasil, a sua propagação é vegetativa, dando-se por meio da divisão de touceiras nos meses de setembro a janeiro (MARTINS et al., 1994). Recomenda-se que se faça o primeiro corte no sexto mês após o plantio, com a frequência de três cortes por ano. Além disso, os cortes devem ser feitos com 20 a 30cm dependendo da espécie para se obter alto valor de matéria seca e rendimento em óleo essencial (CHOUDHURY e GHOSH 1995).

É uma planta medicinal e aromática, o óleo essencial possui aroma forte e penetrante, semelhante ao de limão, é largamente utilizado como agente aromatizante na indústria de perfumaria e cosmética, na preparação de sabonetes, colônias e desodorantes, bem como na indústria química (SILVA, 2003). No Brasil é utilizado como sedativo, sudorífero, carminativo, febrífugo, diurético, antipirético e antirreumático (BRAGA, 1976).

Por terem além do metabolismo primário, responsável pela síntese de substâncias importantes para a realização das funções vitais do vegetal, os chamados metabólitos secundários, que realizam biossíntese de estruturas complexas com atividades biológicas, como alcaloides, terpenoides, derivados de fenilpropanoides, flavonoides, carotenoides, taninos, glicosinolatos, pigmentos, ceras, óleos, esteróis e clorofila (TAIZ e ZEIGER, 2009), que não é um metabólito secundário, mas que sempre é estudado juntamente com os pigmentos vegetais, sendo todos chamados de compostos bioativos. Cada material vegetal contém variedade e quantidade de compostos que fortalecem suas características como medicinal, tais características são verificadas pelos teores de compostos bioativos, que são os principais responsáveis pelos efeitos terapêuticos (SIMÕES et al. 2007; PEREIRA e CARDOSO, 2012).

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). O citral isolado tem atividade antiespasmódica e relaxante muscular, além de apresentar atividade antibacteriana e fungicida.

Por causa do seu impacto econômico, a maioria dos estudos fitoquímicos são centradas nos compostos voláteis das folhas do capim-limão e apenas a composição química do óleo essencial é bem conhecida (KASALI et al., 2001). No entanto, muitas das atividades terapêuticas sugeridas tem sido atribuídas aos compostos fenólicos não voláteis presentes nas folhas, que ganharam atenção especialmente pelas suas atividades antioxidantes e de remoção de radicais. Este fato tem aumentado o interesse tanto acadêmico quanto industrial nos compostos não voláteis da planta (FIGUEIRINHA et al., 2008; PALENZUELA et al., 2004).

Atualmente, detectou-se a presença de grande variedade de componentes em suas folhas, tais como os ácidos fenólicos, alcaloides, álcoois, polifenóis e mais importante, os flavonoides e taninos, que podem ser responsáveis por algumas atividades terapêuticas, tais como atividade anti-inflamatória (FIGUEIRINHA et al., 2010; GARCIA et al., 2015). A atividade antibacteriana é causada pela presença de compostos com reconhecida ação como os terpenos, podendo ser utilizados frente a linhagens Gram-positivas e Gram-negativas (LUCENA et al., 2015).

Além destas atividades, diversos autores relatam vários efeitos que podem ser relacionados com a ação dos metabólitos secundários do capim-limão para controle de parasitoses bovinas, principalmente sobre o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (HEIMERDINGER et al.,

2006; SILVA et al., 2007b; CHAGAS et al., 2011). Ainda na produção animal, podem ser utilizados na alimentação de ruminantes (ARAUJO, 2010).



Figura 9- Capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). Fonte: Ana Cláudia Cardoso Ataides.

1.6.6 Gênero *Hyptis* spp. (Lamiaceae)

Lamiaceae é uma vasta família com cerca de 300 gêneros e 7500 espécies, distribuídas desde o sul dos Estados Unidos, através da região do Caribe e América Central, até o sul da Argentina (SOUZA e LORENZI, 2008). Muitas espécies de diferentes gêneros da família Lamiaceae são importantes para extração de óleos essenciais, entre estes destaca-se *Hyptis* spp. tanto para uso cosmético, aromático, caseiro tanto para chás, condimentos e/ou medicinal com as mais diversas propriedades (FALCÃO e MENEZES, 2003).

O gênero *Hyptis* Jacq. (Lamiaceae) é composto por aproximadamente 580 espécies, sendo elas subarbustos, arbustos ou raramente, pequenas árvores. Os caules geralmente são quadrangulares, as folhas opostas, simples ou partidas, pecioladas, sésseis ou curtamente pedunculadas, contendo substâncias aromáticas (BORDIGNON, 1990). Muitas das espécies deste gênero, possuem grande importância econômica e etnofarmacológica (FALCÃO e MENEZES, 2003). Frequentemente utilizadas para diversos fins medicinais, não só no Brasil (BARBOSA e RAMOS, 1992), mas também no México (FRAGOSO-SERRANO et al., 2005), China, Índia, oeste da África, Gana (ASASE et al., 2005).

A acumulação de óleos essenciais em algumas espécies da família Lamiaceae está associada com a presença de estruturas secretoras altamente especializadas, conhecidas como tricomas glandulares, presentes principalmente nas folhas e cálices (CAVALCANTI, 1997).

Dentre as espécies do gênero com propriedades medicinais destacam-se *H. suaveolens* e *H. albida*, com propriedades antissépticas comprovadas; *H. capitata*, usada contra resfriados, febre e asma; *H. verticillata* com propriedades anti-infecciosas, antihelmíntica e expectorante; *H. pectinata* com propriedades antibacteriana e antimicótica; *H. mutabilis* usada contra distúrbios gastrointestinais e malária (FALCÃO e MENEZES, 2003). Além de serem utilizadas na medicina tradicional, as plantas do gênero também apresentam inúmeras atividades biológicas comprovadas como, antifúngica (OLIVEIRA et al., 2004); antiulcerogênica (BARBOSA e RAMOS, 1992); antibacteriana (SOUZA et al., 2003); antidepressiva (BUENO et al., 2006) e atividade larvicida frente às larvas de *Aedes aegypti* (COSTA et al., 2005). As espécies, bamburral *Hyptis suaveolens* (L) Poit, hortelã-do-campo *Hyptis marruboides* EPL. e sambacaitá *Hyptis pectinata* (L) Poit são melhor descritas abaixo.

1.6.6.1 Bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit) (Lamiaceae)

A *Hyptis suaveolens* (L.) Poit é conhecida no Brasil como bamburral (nordeste) e erva canudo (sudeste e sul) e é considerada invasora de lavouras de milho e de pastagens. Esta planta é encontrada em locais onde os solos foram drasticamente alterados e está amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais, sendo utilizada na medicina popular como carminativa e usada no tratamento de distúrbios gastrointestinais, entre outras várias propriedades. (MARTINS e POLO, 2009). Além de ser encontrada no Brasil, essa planta também é citada em outros países como a Austrália e é considerada uma importante planta invasora, sendo alvo de programas de controle biológico.

Como outras espécies da família Lamiaceae, *H. suaveolens* é uma planta semilenhosa, com poucos ramos laterais, caule quadrangular e filotaxia oposta. A epiderme de todos os órgãos aéreos apresenta alta densidade de tricomas glandulares (figura 10). Tais anexos epidérmicos armazenam uma mistura de, principalmente, terpenoides no interior de uma cápsula situada no ápice da estrutura. Esta mistura perfaz o óleo essencial, cuja constituição vem sendo extensivamente investigada. Este óleo essencial tem sido avaliado quanto a sua ação antisséptica, anticarcinogênica, antibacteriana, antifúngica, acaricida contra o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CASTRO et al., 2011), larvicida contra *Aedes aegypti* e nematicida (MARTINS e POLO, 2009).

Com relação aos aspectos químicos, esta família é bem estudada. Com respeito ao metabolismo especial, apresenta grande variedade de classes de micromoléculas, existindo representantes da via do ácido acético, da via do ácido chiquímico e provenientes de biossíntese mista (FALCÃO, MENEZES, 2003).

A espécie *Hyptis suaveolens* (L.) Poit é altamente terapêutica. A utilização dessa espécie medicinal é muito comum no Brasil, mas há poucas informações sobre seu comportamento quando submetidas às técnicas de produção agrícola, visto que vários fatores podem afetar a produção de biomassa e de produtos metabólitos dessas plantas (MAIA et al.,2008).



Figura 10- Bamburral (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit (Lamiaceae). Fonte: Ana Cláudia Cardoso Ataides.

1.6.6.2 Hortelã-do-campo (*Hyptis marrubioides* EPL) (Lamiaceae)

Hortelã-do-campo como é conhecida popularmente a espécie *Hyptis marrubioides* EPL., que é pertencente à família Lamiaceae, endêmica da região do Cerrado brasileiro, e o interesse farmacológico tem aumentado, por ter elevado potencial devido aos seus constituintes bioativos (figura 11) (RODRIGUES e CARVALHO, 2001). Possui vários efeitos biológicos, como atividades bactericidas (KANG et al., 1992), anti-inflamatórias (SHIMIZU, 1990), antitumorais (ZHENG et al., 1992). São conhecidos também pelas propriedades antimicrobianas, inseticidas e citotóxicas (JACOBSON et al., 1990; KUHNT et al., 1995).

Estas atividades estão relacionadas com a presença de compostos bioativos, o *Hyptis marrubioides* EPL. por ser uma planta aromática é utilizada para produção de óleos essenciais. Os componentes químicos destes óleos foram estudados por Sales et al., 2007, detectaram a presença de compostos voláteis como cariofila-4(14),8(15) -dien-5 β -ol, eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol, óxido de cariofileno e (β)-cariofileno.

Observando as diferenças quantitativas ao longo das estações Botrel et al., 2010, encontraram os monoterpenoides α -tujona e β -tujona como componentes majoritários no óleo essencial. Os sesquiterpenoides oxigenados (cedrol e cariofilenol) e não oxigenados (α -copaeno, α -cariofileno, germacreno D e cadaleno) foram encontrados em menores quantidades. A atividade inseticida do óleo essencial foi contatada por Mello et al., 2014.



Figura 11- Hortelã-do-campo (*Hyptis marrubioides* EPL.) Fonte: Ana Cláudia Cardoso Ataides.

1.6.6.3 Sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) (Lamiaceae)

A espécie *Hyptis pectinata* é popularmente conhecida como sambacaitá ou canudinho, como outras espécies do gênero, é reconhecida como planta medicinal de grande importância em várias partes do mundo, inclusive no Brasil. Na Tanzânia, as folhas são usadas contra tosse e como cataplasma em furúnculos, enquanto no oeste da Índia, as folhas são utilizadas na forma de chá, para dores estomacais (figura 12) (BOALINO et al., 2003).

Formulações de *H. pectinata* são usadas na medicina popular como remédio doméstico de múltipla finalidade (FRAGOSO-SERRANO et al., 2005). No nordeste do Brasil a planta é popularmente utilizada para diferentes enfermidades, tais como rinfaringites, desordens gástricas e anti-inflamatório. Pesquisas comprovaram efeitos antinociceptivos e antiedematogênico do extrato aquoso de folhas, além da atividade antimicrobiana do óleo essencial (ARRIGONI-BLANK et al., 2010).

Estudos realizados com *Hyptis pectinata* na Costa do Marfim (África), mostraram o p-cimeno (33,7%) e timol (26,0%) como componentes principais (SANTOS et al., 2008), enquanto em espécimes colhidos no Ceará, os componentes majoritários foram o b-pineno (8,16%), p-cimeno (17,5%), b-cariofileno (21,5%) e espatulenol (15,0%) (ARRIGONI-BLANK et al., 2008).



Figura 12- Sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit.). Fonte: Ana Cláudia Cardoso Ataides

1.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agerbirk N, Olsen CE, Nielsen JK (2001) Seasonal variation in leaf glucosinolatos and insect resistance in two types of *Bararea vulgaris* ssp. arcuate. *Phytochemistry* 58: 91 – 100. doi:10.1016/S0031-9422(01)00151-0
- Agostini-Costa TS, Lima A, Lima MV (2003) Determinação de taninos em pedúnculo de caju: método da vanilina *versus* método do butanol ácido. *Quim Nova* 26: 763-765. doi:10.1590/S0100-40422003000500022
- Andrade FWA, Soares NWG, Bezerra CIT, Souza MG, Silva FMFM, Almeida JRGS, Horta MC (2013) Avaliação da eficácia de extratos vegetais no controle do *Rhipicephalus sanguineus* provenientes do município de Juazeiro, Bahia. *Evolvere Scientia* 2: 1-8
- Andreotti R, Perez De León A, Dowd SE, Guerrero FD, Bendele LG, Scoles GA (2011a) Assessment of bacterial diversity in the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* through tag-encoded pyrosequencing. *BMC Microbiol* 11: 1-11. doi: 10.1186/1471-2180-11-6
- Andreotti R, Soares MA, Barros JC, Robert JM, Pérez De León A (2011b) Acaricide resistance of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 20: 127-33. doi:10.1590/S1984-29612011000200007
- ANUALPEC (2011) Anuário estatístico da pecuária de corte. FNP Consultoria e Comércio, São Paulo
- A.O.A.C (2000) Association of official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis. EUA
- Araujo RC (2010) Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal *in vitro*. Tese, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo
- Arrigoni-Blank MF, Antonioli AR, Caetano LC, Campos DA, Blank AF, Alves PB, (2008) Antinociceptive activity of the volatile oils of *Hyptis pectinata* L. Poit. (Lamiaceae) genotypes. *Phytomedicine* 15: 334–339. doi:10.1016/j.phymed.2007.09.009
- Arrigoni-Blank MF, Blank AF, Costa AG, Alves PB, Costa AS (2010) Influência do horário de colheita e de secagem no óleo essencial de *Hyptis pectinata* L. Poit (Lamiaceae). *Scientia Plena* 6: 1-5
- Asase A, Oteng-Yeboah AA, Odamtten GT, Simmonds MSJ (2005) Ethnobotanical study of some Ghanaian antimalarial plants. *J Ethnopharmacol* 99: 273-279. doi:10.1016/j.jep.2005.02.020
- Bagavan A, Kamaraj C, Elango G, Zahir AA, Rahuman AA (2009) Adulticidal and larvicidal efficacy of some medicinal plant extracts against tick, fluke and mosquitoes. *Vet Parasitol* 166: 286-292. doi:10.1016/j.vetpar.2009.09.007
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008) Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem Toxicol* 26: 446-475. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106

- Balandrin MF, Klocke JA, Wurtele ES, Bollinger WH (1985) Natural plant chemicals: sources of industrial and medical materials. *Science* 228: 1154-1160, 1985. DOI: 10.1126/science.3890182
- Barbosa PPP, Ramos CP (1992) Studies on the antiulcerogenic activity of the essential oil of *Hyptis mutabilis* Briq in rats. *Phytother Res* 6: 114-115. doi: 10.1002/ptr.2650060214
- Barbosa LCA, Pereira UA, Martinazzo AP, Maltha CRA, Teixeira RR, Melo EDC (2008) Evaluation of the chemical composition of Brazilian commercial *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf samples. *Molecules* 13: 1864-1874. doi:10.3390/molecules13081864
- Barker SC, Murrell A (2008) Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. In: Bowman AS, Nuttall PA (Cambridge University Press) *Ticks biology, disease and control*, 1^a ed. United States of America by Cambridge University Press, New York, pp 1 – 40
- Benchaar C, Mcallister TA, Choulnard PY (2008) Digestion, rumen fermentation, ciliate protozoa populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extracts. *J Dairy Sci* 91: 4777 – 4786. doi: 10.3168/jds.2008-1338
- Benkeblia N (2004) Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *Lebensm Wiss u Technol* 37: 263-268. doi:10.1016/j.lwt.2003.09.001
- Braga R (1976) Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 3^a Edição comemorativa ao II Congresso Brasileiro de Florestas Tropicais, Fortaleza - CE
- Brasil Decreto nº 76.986, de 6 de janeiro de 1976, que regulamenta a Lei nº 6.198, de 26 de dezembro de 1974, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização obrigatória dos produtos destinados à alimentação animal
- Braz Filho R (2010) Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Quim Nova* 33: 229-239. doi: 10.1590/S0100-40422010000100040
- Boalino DM, Connolly JD, McLean WF, Reynolds WF, Tinto WF (2003) α -Pyrones and a 2(5H)-furanone from *Hyptis pectinata*. *Phytochemistry* 64: 1303-1307. doi:10.1016/j.phytochem.2003.08.017
- Bordignon SAL (1990) O gênero *Hyptis* Jacq. (Lamiaceae) no Rio Grande do Sul. Dissertação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
- Borges FML, Ferri HP, Silva CW, Silva JW, Melo SL, Souza DAL, Soares FS, Faria AK, Gomes AN, Mori A, Silva FN (2005) Ação do extrato hexânico de frutos maduros de *Melia azedarach* (Meliaceae) sobre *Boophilus microplus* (ACARI: IXODIDAE) em bezerros infestados artificialmente. *Revista de patologia tropical* 34: 53-59. doi:10.5216/rpt.v34i1.2137
- Borges FML, Sousa DAL, Barbosa BSC (2011) Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev Bras Parasitol Vet* 20: 89-96. doi: 10.1590/S1984-29612011000200001

- Botrel PP, Pinto JEBP, Ferraz V, Bertolucci SKV, Figueiredo FC (2010) Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epl. Lamiaceae em função da sazonalidade. *Acta scientiarum. Agronomy*. 32: 533-538. doi: 10.4025/actasciagron.v32i3.3415
- Broglio-Micheletti FMS, Valente NCE, Souza AL, Pérez GK, Trindade PCR (2009) Control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (ACARI: IXODIDAE) com extractos vegetales. *Rev Colomb Entomol* 35: 145-149.
- Broglio-Micheletti FMS, Dias SN, Valente NCE, Souza AL, Lopes POD, Santos MJ (2010) Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. *Rev Bras Parasitol Vet* 19: 44-48. doi:10.4322/rbpv.01901008
- Brooks JS, Feeny P (2004) Seasonal variation in *Daucus carota* leaf-surface and leaf-tissue chemical profiles. *Biochem Syst Ecol*. 32: 769-782. doi:10.1016/j.bse.2004.01.004
- Brunherotto R, Vendramim JD (2001) Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meurick) (Lepidóptera; Gelechiidae) em tomateiro. *Neotrop Entomol* 30: 455-459. doi:10.1590/S1519-566X2001000300019
- Bueno AX, Moreira ATS, Silva FT, Estevam CS, Marchioro M (2006) Effects of the aqueous extract from *Hyptis pectinata* leaves on rodent central nervous system. *Rev Bras Farmacogn* 16: 317-323. doi: 10.1590/S0102-695X2006000300007
- Caeiro V (2006) Reflexão sobre a taxonomia actual dos Ixodidae. A sistemática morfológica versus sistemática molecular - o género *Rhipicephalus* e o género *Boophilus*. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* 101: 557- 558
- Canuto GAB, Xavier AAO, Neves LC, Benassi MT (2010) Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade antirradical livre. *Rev Bras Frutic* 32: 1.196-1.205. doi:10.1590/S0100-29452010005000122.
- Castro-Janer E, Sato TTS, Klafke GM, Rifran L, González P, Niell C, Namindone A, Gil A, Piaggio J, Martins JR, Mendes MC, Miller RJ (2012) Garrapata: resistencia a Fipronil e Ivermectina en rodeos vacunos de Uruguay y Brasil. INIA, Montevideo
- Castro-Janer E, Martins JR, Mendes MC, Namindome A, Klafke GM, Schumaker TTS (2010) Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) using *in vitro* larval bioassays. *Vet Parasitol* 173: 300-306. doi:10.1016/j.vetpar.2010.06.036
- Castro KNC, Vasconcelos LC, Costa JV, Santos RC, Andrade IM, Ribeiro VQ (2011) Extratos vegetais no controle *in vitro* do carrapato dos bovinos. *Cadernos de Agroecologia* 6: 1-5
- Cavalcanti ESB (1997) Contribuição ao conhecimento químico de plantas nativas do Nordeste *Mentha villosa* Backer e *Bursera leptophlebos* e síntese de derivados do eugenol. Tese, Universidade Federal do Ceará
- Champagne DE, Koul O, Isman MB, Scudder GGE, Towers GHN (1992) Biological activity of limonoids from the rutales. *Phytochemistry* 31: 377-394
- CEPEA (2013a) Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - ESALQ/ USP. Bezerro <http://cepea.esalq.usp.br/bezerro/>. Acessado em 14 de abril de 2013

CEPEA (2013b) Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - ESALQ/ USP. Boi <http://cepea.esalq.usp.br/boi/>. Acessado em 14 de abril de 2013

CEPEA (2013c) Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - ESALQ/ USP. Leite <http://cepea.esalq.usp.br/leite/>. Acessado em 14 de abril de 2013

Chagas ACS, Passos WM, Prates HT, Furlong J, Leite RC (2002) Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. Braz J Vet Res Anim Sci 39: 247-253. doi: 10.1590/S1413-95962002000500006

Chagas SCA, Barros DL, Contiguiba F, Furlan M, Giglioti R, Oliveira SCM, Bizzo RH (2011) *In vitro* efficacy of plant extracts and synthesized substances on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). Parasitol Res 110: 295-303. doi 10.1007/s00436-011-2488-z

Choudhury SN, Ghosh AC (1995) Effect of clipping height on the oil content of Java citronella (*C. winterianus*). Indian Journal Agronomy 40: 486-490

Condessa MB (2011) Avaliação da atividade antioxidante e alelopática de plantas medicinais. Dissertação, Universidade de Brasília

Corrêa AG, Vieira PC (2007) Produtos naturais no controle de insetos. EdUFSCar, São Carlos, SP

Correa GC, Naves RV, Rocha MR, Chaves LJ, Borges JD (2008) Determinações físicas em frutos e sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.), cajuzinho (*Anacardium othonianum* Rizz.) e pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), visando melhoramento genético. Biosci J 24: 42-47

Costa AF, Silva GF, Escudero MC (2003) Estudo comparativo entre produtos químicos preservantes e licores pirolenhosos na inibição de fungos emboloradores. Brasil Florestal, Brasília

Costa JGM, Rodrigues FFG, Angélico EC, Silva MR, Mota ML, Santos NKA, Cardoso ALH, Lemos TLG (2005) Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. Rev Bras Farmacogn 15: 304-309. doi: 10.1590/S0102-695X2005000400008

Costa FB, Vasconcelos PSS, Silva AMM, Brandão VM, Silva IA, Teixeira WC, Guerra RMSN, Santos ACG (2008) Eficácia de fitoterápicos em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, provenientes da mesorregião Oeste do Maranhão, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet 17: 83-86.

Daemon E, Monteiro CMO, Rosa LS, Clemente MA, Arcoverde A (2009) Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari:Ixodidae). Parasitol Res 105: 495-497. doi: 10.1007/s00436-009-1426-9

Oliveira CMA, Silva MRR, Katoa L, Silva CC, Ferreira HD, Souza LKH (2004) Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of *Hyptis ovalifolia* Benth. (Lamiaceae). J Braz Chem Soc 15: 756-759. doi: 10.1590/S0103-50532004000500023

Dzubak P, Hajduch M, Vydra D, Hustova A, Kvasnica M, Biedermann D, Markova L, Urban M, Sarek J (2006) Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. Nat Prod Rep 23: 394-411. doi: 10.1039/B515312N

- Efraim P, Tucci ML, Pezoa-García NH, Haddad R, Eberlin MN (2006) Teores de compostos fenólicos de sementes de cacauzeiro de diferentes genótipos. *Braz J Food Technol* 9: 229-236
- Elgorashi EE, Drewes SE, Staden JV (2002) Organ-to-organ and seasonal variation in alkaloids from *Crinum macowanii*. *Fitoterapia* 73: 490–495. doi:10.1016/S0367-326X(02)00164-8
- Emerenciano PD, Cruz MA, Pereira SDJ, Moura VFM, Maciel MAM (2013) Determinação da Propriedade Antioxidante e Teores de Minerais Presentes nas Folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. *Revista Fitos* 8: 147-156. doi 10.5935/1808-9569.20130001
- Everette JD, Bryant QM, Green AM, Abbey YA, Wangila GW, Walker RB (2010) Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. *J Agric Food Chem* 58: 8.139-8.144. doi: 10.1021/jf1005935
- Faini F, Labbé C, Coll J (1999) Seasonal changes in chemical composition of epicuticular waxes from the leaves of *Baccharis linearis*. *Biochem Syst Ecol* 27: 673-679. doi:10.1016/S0305-1978(98)00131-8
- Falcão DQ, Menezes FS (2003) Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero *Hyptis*. *Rev Bras Farmacogn* 84: 69-74.
- Fazolin M, Estrela JLV, Catani V, Costa CR (2006) Potencialidade da Pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.): Características gerais e resultados de pesquisa. Embrapa, Rio Branco
- Ferreira MB (1975) Frutos comestíveis nativos do Distrito Federal. (IV). Cerrado, Brasília
- Ferreira AG, Aquila MEA (2000) Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. *Braz. J. Plant Physiol* 12: 175-204
- Ferreira AL, Cola-Miranda M, Barbastefano V, Hiruma-Lima CA, Vilegas W, Brito ARMS (2008) Should *Anacardium humile* St. Hil be used as an antiulcer agent? A scientific approach to the traditional knowledge. *Fitoterapia* 79: 207-209. doi:10.1016/j.fitote.2007.11.006
- Figueirinha A, Paranhos A, Perez-Alonso JJ, Santos-Buelga C, Batista MT (2008) *Cymbopogon citratus* leaves: Characterization of flavonoids by HPLC-PDA-ESI/MS/MS and an approach to their potential as a source of bioactive polyphenols. *Food Chem* 110: 718-728. doi:10.1016/j.foodchem.2008.02.045
- Figueirinha A, Cruz MT, Francisco V, Lopes MC, Batista MT (2010) Anti-inflammatory activity of *Cymbopogon citratus* leaf infusion in lipopolysaccharide-stimulated dendritic cells: Contribution of the polyphenols. *J Med Food* 13: 681-690. doi:10.1089/jmf.2009.0115.
- Fontes Júnior EA, Souza PJC, Nascimento JLM, Santos SN, Espíndola LS, Ferreira VMM (2009) Antinociceptive and antiinflammatory properties of the ethanolic extract of *Pouteria ramiflora* Roots. *Latin American Journal of Pharmacy* 28: 812-818
- Fraga AB, Alencar MM, Figueiredo LA, Razook AG, Cyrillo JNSG (2003) Análise de fatores genéticos e ambientais que afetam a infestação de fêmeas bovinas da raça Caracu por carrapatos (*Boophilus microplus*). *R Bras Zootec* 32: 1578-1586 doi: 10.1590/S1516-35982003000700006

- Fragoso-Serrano M, Gibbons S, Pereda-Miranda R (2005) Anti-staphylococcal and cytotoxic compounds from *Hyptis pectinata*. *Planta Med* 71: 278-280. doi: 10.1055/s-2005-837831
- Furlong J, Prata MCA (2005) Conhecimento básico para controle do carrapato-dos-bovinos. In: Furlong J (Org.) Carrapatos: problemas e soluções. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, pp 9-20
- Furlong J, Martins JRS (2005) Resistência dos carrapatos aos carrapaticida. In: FURLONG J (Org.) Carrapatos: problemas e soluções. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, pp 7-17
- Furlong J, Martins JRS, Prata MCA (2007) O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? Controle estratégico do carrapato dos bovinos. *A Hora Veterinária* 27: 53–56
- Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B (2010) Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int J Food Microbiol* 141: S15–S28. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031
- Gajmer T, Singh R, Saini RK, Kalidhar SB (2002) Effect of methanolic extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and bakain (*Melia azedarach*) seeds on oviposition and egg hatching of *Earias vittella* (Fab) (Lep., Noctuidae). *Journal Applied Entomology* 126: 238-243. doi: 10.1046/j.1439-0418.2002.00649.x
- Garcia R, Ferreira PJ, Costa G, Santos T, Branco F, Caramona M, Carvalho R, Dinis MA, Batista TM, Castel-Branco M, Figueiredo VI (2015) Evaluation of Anti-inflammatory and Analgesic Activities of *Cymbopogon citratus* in vivo-Polyphenols Contribution. *Research Journal of Medicinal Plant* 1: 1-13. doi: 10.3923/rjmp.2015.1.13
- Gebhardt R (2000) *In vitro* screening of plant extracts and phytopharmaceuticals: novel approaches for the elucidation of active compounds and their mechanisms. *Planta Med* 66: 99-105. doi: 10.1055/s-2000-11134
- George JE, Pound JM, Davey RB (2004) Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitology* 129: S353-S366
- Giannenas I, Florou-Paneri P, Papazahariadou M, Christaki E, Botsoglou NA, Spais AB (2003) Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Arch Anim Nutr* 57: 99–106. doi:10.1080/0003942031000107299
- Giglioti R, Forim MR, Oliveira HN, Chagas ACS, Ferrezini J, Brito LG, Falcoski TORS, Albuquerque LG, Oliveira MCS (2011) *In vitro* acaricidal activity of nem (*Azadirachta indica*) seed extracts with known azadirachtin concentrations against *Rhipicephalus microplus*. *Vet Parasitol* 181: 309-315. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.03.053.
- Gobbo-Neto L, Lopes NP (2007) Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim Nova* 30: 374-381. doi: 10.1590/S0100-40422007000200026
- Goes RHTB, Alves DD, Valadares Filho SC, Marson EP (2005) Utilização de aditivos alimentares microbianos na alimentação de bovinos de corte e leite: Revisão. *Arquivo de Ciência Veterinária e Zoolologia* 8: 47-56
- Gomes MS, Von Pinho RG, Oliveira JS, Viana AC (2002) Avaliação de cultivares de milho para a produção de silagem: parâmetros genéticos e interação genótipos por ambientes. In:

Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, Goiânia-GO. Documento 113. Embrapa Arroz e Feijão, Goiania

Graf JK, Gogolewski R, Leach-Bing N, Sabatini GA, Molento MB, Bordin EI, Arantes GJ (2004) Tick control: an industry point of view. *Parasitology* 129: S427-S442

Grace SC, Logan BA, Adams, WW (1998) Seasonal differences in foliar content of chlorogenic acid, a phenylpropanoid antioxidant, in *Mahonia repens*. *Plant Cell Environ* 21: 513-521. doi: 10.1046/j.1365-3040.1998.00282.x

Grisi L, Massard CL, Moya Borja GE, Pereira JB (2002) Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária* 21: 8–10

Grisi L, Leite RC, Martins JRDS, Barros ATM, Androtti R, Cançado, PHD, León AAP, Pereira JB, Villela HS (2014) Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 23: 150-156. doi.org/10.1590/S1984-29612014042

Hashemi SR, Davoodi H (2011) Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Vet Res Commun* 35: 169–180. doi: 10.1007/s11259-010-9458-2

Heimerdinger A, Olivo CJ, Molento MB, Agnolim CA, Ziech MF, Scaravelli LFB, Skomieski FR, Both JF, Charão PS (2006) Extrato alcoólico de Capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) no controle de *Boophilus microplus* em bovinos. *Rev Bras Parasitol Vet* 15: 37-39.

Huang RC, Okamura H, Iwagawa T, Tadera K, Nakatani M (1995) Azedarachin C, a limonoid antifeedant from *Melia azedarach*. *Phytochemistry* 38: 593-594

IBGE (2014) Sistema do instituto brasileiro de geografia e estatística de recuperação automática SIDRA. IBGE Efetivos/ Rebanhos Brasil. <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2>. Acessado em 11 de abril de 2016

Jacobson M (1990) Glossary of Plant-derived insect deterrents. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida

Jonsson NN, Piper EK (2007) Integrated control programs for ticks on cattle. The University of Queensland, Queensland

Jonsson NN, Miller RJ, Kemp DH, Knowles A, Ardila AE, Verrall RG, Rothwell JT (2010) Rotation of treatments between spinosad and amitraz for the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* populations with amitraz resistance. *Vet Parasitol* 169: 157-164. doi:10.1016/j.vetpar.2009.12.026

Klafke GM, Sabatini GA, Albuquerque TA, Martins JR, Kemp DH, Miller RJ, Schumaker TTS (2006) Larval immersion tests with ivermectina in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from state of São Paulo. *Vet Parasitol* 142: 386 – 390. doi:10.1016/j.vetpar.2006.07.001

Kaplan MAC, Figueiredo MR, Gottlieb OR (1983) Variation in cyanogenesis in plants with season and insect pressure. *Biochem Syst Ecol* 11: 367-370. doi:10.1016/0305-1978(83)90038-8

- Kaplan RM, Vidyashankar AN (2012) An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. *Vet Parasitol* 186: 70-8. doi:10.1016/j.vetpar.2011.11.048
- Kang R, Helms R, Stout MJ, Jaber H, Nakatsu T (1992) Vietnamese culinary herbs in the United States. *J Agric Food Chem* 40: 2328-2332
- Kasali AA, Oyedeji AO, Ashilokun AO (2001) Volatile leaf oil constituents of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. *Flavour Fragr J* 16: 377-378. doi: 10.1002/ffj.1019
- Kuhnt M, Pröbstle A, Rimpler H, Bauer B, Heinrich M (1995) Biological and pharmacological activities and further constituents of *Hyptis verticillata*. *Planta Med* 61: 227-232, 1995. doi: 10.1055/s-2006-958061
- Kusari S, Verma VC, Lamshoeft M, Spiteller M (2012) An endophytic fungus from *Azadirachta indica* A. Juss. that produces azadirachtin. *World J Microbiol Biotechnol* 28:1287–1294. doi:10.1007/s11274-011-0876-2
- Labruna MB (2008) Combate contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In: Pereira MC, Labruna MB, Szabo MPJ, Klafke GM (Ed) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Biologia, Controle e Resistência. Medvet, São Paulo, pp 15–56
- Láu HD, Costa NA (2006) Manejo Sanitário. In: Teixeira Neto JF, Costa NA (Eds) Criação de bovinos de corte no estado do Pará, Embrapa, Belém, pp 135-145
- Leal AT, Freitas DR, Vaz Júnior IS (2003) Perspectivas para o controle do carrapato bovino. *Acta Sci Vet* 31: 1-11
- Lees K, Bowman AS (2007) Neurobiology: recent advances and the post-genomic era. *Invert Neurosci* 7: 183-198. doi: 10.1007/s10158-007-0060-4
- Lima VLAG, Mélo EA, Lima DES (2002) Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. *Sci Agric* 59: 447-450. doi: 10.1590/S0103-90162002000300006
- Lima VLAG, Mélo EA, Maciel MIS, Silva GSB, Lima DES (2004) Fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato aquoso de broto de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.). *Revista de Nutrição* 17: 53-57. doi: 10.1590/S1415-52732004000100006
- Lima RE, Neto AR, Lima DP, Ximenes FA, Santana JG, Silva FG (2007) Estabelecimento *in vitro* de caju-de-árvore-do-cerrado a partir de segmentos nodais sob diferentes concentrações de sais. *Anais do IV Jornada de Iniciação Científica e I Congresso de Iniciação Científica do CEFET de Rio Verde*, pp. 29-29
- Lorenzi H (2003) Árvores exóticas do Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas. Instituto Plantarum, Nova Odessa
- Lovatto PB, Martinez EA, Mauch CR, Schiedeck GA (2012) Utilização da espécie *Melia azedarach* L. (Meliaceae) como alternativa à produção de insumos ecológicos na região sul do Brasil. *Rev Bras Agroecol* 7: 137- 149
- Lucena BFF, Tintino SR, Figueredo FG, Oliveira CDM, Aguiar JJS, Cardoso EM, Aquino PEA, Andrade JC, Coutinho HDM, Matias EFF (2015) Avaliação da atividade antibacteriana e

moduladora de aminoglicosídeos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Acta biol. Colomb 20: 39-45. doi:10.15446/abc.v20n1.41673.

Maia SSS, Pinto JEBP, Silva FN, Oliveira C (2008) Influência da adubação orgânica e mineral no cultivo do bamburral (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). Revista Brasileira de Ciências Agrárias 3: 327-331. doi: 10.5039/agraria.v3i4a331

Martins ER, Castro DM, Castellani DC, Dias JE (1994) Plantas medicinais. Impr. Uni. Viçosa, MG.

Martins JRS, Furlong J, Leite RC (2006a) Controle de carrapatos. In: BarrosbattestI DMB, Arzua M, Bechara GH, (Org.) Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para a identificação de espécies, Instituto Butantan, São Paulo pp 145-153

Martins RM (2006b) Estudio in vitro de la acción acaricida del aceite esencial de la gramínea citronela de java (*cymbopogon winterians* jowitt) en la garrapato *Boophilus microplus*. Rev. Bras. Pl. Med 8: 71-78.

Martins FT, Polo M (2009) Desenvolvimento reprodutivo de (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit. relação entre fotoperíodo, densidade celular meristemática e padrão de expressão de um ortólogo putativo de gene LEAFY de arabidopsis. Rev Bras Bot 32: 131-142.

Matias R, Solon S, Resende UM, Gomes A, Koller WW (2002) *Melia azedarach*, uso popular x estudos químicos e farmacológicos: breve revisão. Ensaios e Ciência 6: 91-121

McGraw LJ, Jäger AK, Van Staden J (2000) Antibacterial, anthelmintic and antiamebic activity in South African medicinal plants. J Ethnopharm 72: 247-263. doi:10.1016/S0378-8741(00)00269-5

Melo EA, Maciel MIS, Lima VLAG, Nascimento RJ (2008) Capacidade antioxidante de frutas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 44: 193 - 201. doi: 10.1590/S1516-93322008000200005

Mello MB, Botrel PP, Teixeira IRV, Figueiredo FC, Pinto JEBP, Bertolucci SKV (2014) Atividade inseticida do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* no controle de *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae). Revista Agrogeoambiental v. 6, n. 1 - Abril 2014. doi: 10.18406/2316-1817v6n12014549

Menkovic N, Savikin-Fodulovic K, Savin K (2000) Chemical Composition and Seasonal Variations in the Amount of Secondary Compounds in *Gentiana lutea* Leaves and Flowers. Planta Med 66: 178-180. doi: 10.1055/s-0029-1243126

Monteiro MHDA, Neves LJ, Andreato RHP (2007) Levantamento e distribuição das espécies de *Pouteria* Aubl. (Sapotaceae) do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Rev Bras Biocienc 5: 369-371

Montenegro LHM, Oliveira PES, Conserva LM, Rocha EMM, Brito AC, Araújo RM, Trevisan MTS, Lemos RPL (2006) Terpenóides e avaliação do potencial antimalárico, larvicida, anti-radicalar e anticolinesterásico de *Pouteria venosa* (Sapotaceae). Rev Bras Farmacogn 16: 611-617. doi: 10.1590/S0102-695X2006000500005

- Morais JAS, Berchielli TT, Reis RA (2011) Aditivos. In: Nutrição de ruminantes, 2ª ed. FUNEP, Jaboticabal
- Moreira MD, Picanço MC, Martins JC, Campos MR, Chediak M (2007) Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. In: Zambolin L, Lopes CA, Picanço MC, Costa H (Suprema Gráfica e Editora) Manejo integrado de doenças e pragas, Visconde do Rio Branco, Brasil. pp 577-606
- Ndamba J, Lemmich E, Mølgaard P (1993) Investigation of the diurnal, ontogenetic and seasonal variation in the molluscicidal saponin content of *Phytolacca dodecandra* aqueous berry extracts. *Phytochemistry* 35: 95-99. doi:10.1016/S0031-9422(00)90515-6
- Neves BP, Oliveira IP, Nogueira JCM (2003) Cultivo e Utilização do Nim Indiano. Embrapa Arroz e Feijão. Circular técnica, 62. Santo Antônio de Goiás, GO
- Neves EJM (2004) Importância dos fatores edafoclimáticos para o uso do nim (*Azadirachta indica* A. Juss) em programas florestais e agroflorestais nas diferentes regiões do Brasil. Embrapa Florestas, Colombo.
- Oliveira JP Torres P, Silva JR, Diniz BZ, Caldas ED (2012) Knowledge, attitudes, practices and biomonitoring of farmers and residents exposed to pesticides in Brazil. *Int J Environ Res Public Health* 9: 30-68. doi: 10.3390/ijerph9093051
- Oliveira JS, Zanine AM, Santos EM (2005) Uso de aditivos na nutrição de ruminantes. *Revista Electronica de Veterinaria* 11: 1-23
- Oliveira JS, Sobrinho FS, Reis FA (2007) Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho destinados à silagem em bacias leiteiras do estado de Goiás. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 1: 45-50
- Olivo CJ, Carvalho NM, Silva JHS, Vogel FF, Massariol P, Meinerz G, Agnolin C, Morel AF, Viau LV (2008) Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. *Ciência Rural* 38: 406-410. doi: 10.1590/S0103-84782008000200018
- Palenzuela B, Arce L, Macho A, Munoz E, Rios A, Valcarcel M (2004) Bioguided extraction of polyphenols from grape marc by using an alternative supercritical-fluid extraction method based on a liquid solvent trap. *Anal Bioanal Chem* 378: 2021-2027. doi: 10.1007/s00216-004-2540-2
- Parikh JK, Desai MA (2011) Hydrodistillation of essential oil from *Cymbopogon flexuosus*. *International Journal of Food Engineering* 7: 1-9. doi: 10.2202/1556-3758.2067
- Patrizi CRF, Madruga Júnior TP, Minetto EE, Nogueira MG (2004) Efeito de aditivos biológicos comerciais na silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum). *Arq Bras Med Vet Zootec* 56: 392-397. doi: 10.1590/S0102-09352004000300016
- Pereira MC, Labruna MB, Szabó MP, Klafke GM (2008) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Biologia, Controle e Resistência. MedVet, São Paulo
- Pereira RJ, Cardoso MG (2012) Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *Journal of Biotechnology and Biodiversity* 3:146-152

- Pires Júnior BH, Borges FML, Sousa DAL, Cunha CL, Lino Júnior SR, Melo AFD, Pereira EM (2012) Avaliação da toxicidade aguda do extrato hexânico de frutos de *Melia azedarach* (Meliaceae) em camundongos. *Ciência animal brasileira* 13: 512-519
- Pitarevic I, Kuftinec J, Blaevic N, Kuštrak DJ (1984) Seasonal variation of essential oil yield and composition of dalmatian sage, *Salvia officinalis*. *J Nat Prod* 47: 409–412. doi: 10.1021/np50033a002
- Pott A, Pott VJ (1994) Plantas do Pantanal. Embrapa. Brasília
- Razali N, Razab R, Sarni Mat Junit MS, Aziz AA (2008) Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale*). *Food Chemistry* 111: 38–44. doi:10.1016/j.foodchem.2008.03.024
- Ribeiro JF, Silva JA, Fonseca CEL (1992) Espécies frutíferas da região do cerrado. In: Donadio LC, Martins ABG, Valente JP (ed) *Fruticultura tropical*, FUNEP, Jaboticabal, pp 159-189
- Roca-Pérez L, Boluda R, Gavidia I, Pérez-Bermúdez P (2004) Seasonal cardenolide production and *Dop5βr* gene expression in natural populations of *Digitalis obscura*. *Phytochemistry* 65: 1869–1878. doi:10.1016/j.phytochem.2004.05.004
- Rocha SW, Lopes MR, Silva BD, Vieira FR, Silva PJ, Agostini-Costa ST (2011) Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. *Rev Bras Frutic* 33: 4, p. 1215-1221. doi: 10.1590/S0100-29452011000400021
- Rodrigues VEG, Carvalho DA (2001) Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domíniodo cerrado na região do alto Rio Grande –Minas Gerais. *Ciênc. Agrotec* 25: 102- 123.
- Roel AR (2001) Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Revista Internacional de Desenvolvimento Local* 1: 43-50
- Roulston WJ, Schuntner CA, Schnitzerling HJ (1966) Metabolism of coumaphos in larvae of the cattle tick *Boophilus microplus*. *Aust J Biol Sci* 19: 619-633. doi:10.1071/BI9660619
- Sales JF, Pinto JEBP, Botrel PP, Oliveira CBA, Ferri PH, Paula JR, Seraphin JCJ (2007) Composition and chemical variability in the essential oil of *Hyptis marrubioides* Epl. *J. Essential Oils Res* 19: 552-556. doi:10.1080/10412905.2007.9699329
- Salles L, Rench N (1999) Efeitos de extratos de nim (*Azadiractha indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). *Revista Brasileira de Agrociência* 5: 225-227
- Salminen JP, Ossipov V, Haukioja E, Pihlaja K (2001) Seasonal variation in the content of hydrolysable tannins in leaves of *Betula pubescens*. *Phytochemistry* 57: 15-22. doi:10.1016/S0031-9422(00)00502-1
- Smallman BN, Schuntner CA (1972) Authentication of the cholinergic system in the cattle tick *Boophilus microplus*. *Insect biochemistry* 2: 67-77. doi:10.1016/0020-1790(72)90068-6
- Santarém VA, Sartor IF (2003) Fase de vida livre e flutuação sazonal do *Boophilus microplus* em Botucatu, São Paulo, Brasil. *Ciências Agrárias* 24: 11-20

- Santos NRZ, Teixeira IF (2001) Arborização de vias públicas: ambiente x vegetação. Ed. Pallotti, Porto Alegre
- Santos PO, Costa MJC, Alves JAB, Nascimento PFC, Melo DLFM, Barbosa Júnior AM, Trindade RC (2008) Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Hyptis pectinata* Poit. Quim Nova 31: 1648-1652. doi:10.1590/S0100-40422008000700009
- Santos VA, Oliveira AR, Albuquerque RG (2012) Efeito *in vitro* do extrato de nim (*Azadirachta indica*) e óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Rev Bras Med Vet 34: 111-115
- Sparg SG, Light ME, Van Studen JJ (2004) Biological activities and distribution of plant saponins. J Ethnopharmacol 94: 219–243, 2004. doi:10.1016/j.jep.2004.05.016
- Sartor LR, Adami PF, Chini N, Martin TN, Marchese JA, Soares AB (2009) Alelopatia de acículas de *Pinus taeda* na germinação e no desenvolvimento de plântulas de *Avena strigosa*. Cienc Rural 39: 1653 - 1659. doi: 10.1590/S0103-84782009000600004
- Sattelle DB (1980) Acetilcoline receptors of insects. Adv In Insect Phys 15: 213-215
- Schmidt TJ, Bomme U, Alfermann AW (1998) Sesquiterpene Lactone Content in Leaves of *in vitro* and Field Cultivated *Arnica montana*. Planta Med. 64: 268-270. doi: 10.1055/s-2006-957423
- Schmutterer H (1990) Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Annu Rev Entomol 35: 271-297. doi:10.1146/annurev.en.35.010190.001415
- Schwob I, Bessiere JM, Masotti V, Viano, J (2004) Changes in essential oil composition in Saint John's wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. Biochem Syst Ecol 32: 735. doi:10.1016/j.bse.2003.12.005
- Silva JA, Silva DB, Junqueira NT, Andrade LRM (1994) Frutas nativas dos cerrados. Embrapa / CPAC, Brasília
- Silva DJ, Queiroz AC (2002) Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. Imprensa Universitária da UFV, Viçosa
- Silva PA, Blank AF, Arrigoni-Blank MF, Barretto MCV (2003) Efeitos da adubação orgânica e mineral na produção de biomassa e Óleo essencial do capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf). Cienc Agron 34: 5-9
- Silva WW, Athayde ACR, Araújo GMB, Santos VD, Silva Neto AB (2005) Resistência de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (ACARI :IXODIDAE) a carrapaticidas no semi-árido paraibano: efeito da cipermetrina e do amitraz. Agropecuária Científica no Semi-árido 1: 59-62
- Silva GB, Martim L, Silva CL, Young MCM, Ladeira AM (2006) Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do Cerrado. Hoehnea 33: 331-338
- Silva, CAM (2007a) Contribuição ao estudo químico e biológico de *Pouteria gardnerii* (Mart. & Miq.) Baehni (Sapotaceae). Dissertação, Universidade de Brasília

- Silva WW, Athayde ACR, Rodrigues OG, Araújo GMB, Santos VD, Neto ABS, Coelho MCO, Marinho ML (2007b) Efeitos do neem (*Azadirachta indica* A. Juss) e do capim santo [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf] sobre os parâmetros reprodutivos de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) no semiárido paraibano. Rev. Bras. Pl. Med 9: 1-5.
- Silva MR, Lacerda DBCL, Santos GG, Martins DMO (2008) Caracterização química de frutos nativos do cerrado. Cienc Rural 38: 1.790-1.793. doi: 10.1590/S0103-84782008000600051
- Silva CAM, Simeoni LA, Silveira D (2009) Genus *Pouteria*: Chemistry and biological activity. Rev Bras Farmacogn 19: 501-509. Doi: 10.1590/S0102-695X2009000300025
- Silva MAB, Melo LVL, Ribeiro RV, Souza JPM, Lima JCS, Martins DTO, Silva RM (2010) Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. Rev Bras Farmacogn 20: 549-562. Doi: 10.1590/S0102-695X2010000400014
- Simões CMO, Mentz LA, Schenkel EP (1998) Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul. Ed. Da Universidade/UFRGS, Porto Alegre
- Simões CMO, Schenkel EP, Gosman G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (2007) Farmacognosia: da planta ao medicamento. Editora da UFSC, Florianópolis
- Shimizu M (1990) Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants. Chem. Pharm. Bull. 38: 2283-2287.
- Soares FP, Paiva R, Nogueira RC, Oliveira LM, Paiva PDO, Silva DRG (2010) Cultivo e usos do nim (*Azadirachta indica* A. Juss). Editora ufla, Lavras
- Soreq H, Seidman S (2001) Acetylcholinesterase—new roles for an old actor. Nat Rev Neurosci 2: 294-302. doi:10.1038/35067589
- Sousa DAL, Pires Júnior BH, Soares FS, Ferri HP, Ribas P, Lima ME, Furlong J, Bittencourt PERV, Perinotto SMW, Borges FML (2011) Potential synergistic effect of *Melia azedarach* fruit extract and *Beauveria bassiana* in the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in cattle infestations. Veterinary Parasitology 175, 320–324. doi:10.1016/j.vetpar.2010.10.012
- Souza LKH, Oliveira CMA, Ferri PH, Oliveira Júnior JG, Souza Júnior AH, Fernandes OFL, Silva MRR (2003) Antimicrobial activity of *Hyptis ovalifolia* towards dermatophytes. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 98: 963-965. doi: 10.1590/S0074-02762003000700018
- Souza CV, Lorenzi H (2008) Botânica Sistemática. Instituto Plantarum, São Paulo
- Taiz L, Zeiger E (2009) Fisiologia Vegetal. Artmed, Porto Alegre
- Teske M, Trentini AMM (1995) Herbarium Compêndio de Fitoterapia. Herbarium Laboratório Botânico, Curitiba

- Tur CM, Borella J, Pastorini LH (2010) Alelopatia de extratos aquosos de *Duranta repens* sobre a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa* e *Lycopersicum esculentum*. Revista Biotemas 23: 13-22
- Urzêda AM, Marcussi S, Pereira SLL, França CS, Pereira SMA, Pereira SP, Silva LS, Guimarães SLC, Calderon AL, Stábili GR, Soares MA, Couto L (2013) Evaluation of the hypoglycemic properties of *Anacardium humile* aqueous extract. Evid Based Complement Alternat Med doi: 10.1155/2013/191080
- Venter JCD, Di Portio U, Robison AD, Shreeve SM, Lai J, Kerlavage AR, Fracker JR, Lentjes KU, Frases CM (1988) Evolution of neurotransmitter receptor systems. Prog Neurobiol 30: 105-169. doi:10.1016/0301-0082(88)90004-4
- Wall R, Shearer D (2001) Veterinary Ectoparasites: Biology, Pathology and Control. Blackwell Publishing Limited, Oxford
- Wilt FM, Miller GC (1992) Seasonal variation of coumarin and flavonoid concentrations in persistent leaves of wyoming big sagebrush (*Artemisia tridentata* ssp. *wyomingensis*: Asteraceae) Biochem Syst Ecol 20: 53-67. doi:10.1016/0305-1978(92)90072-L
- Windisch WM, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A (2008) Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. J Anim Sci 86: E140–E148. doi:10.2527/jas.2007-0459
- Zheng GQ, Kenney PM, Lam LKT (1992). Sesquiterpenes from Clove (*Eugenia caryophyllata*) as Potential Anticarcinogenic Agents. Nat. Prod 55: 999-1003. doi: 10.1021/np50085a029
- Zidorn C, Stuppner H (2001) Chemosystematics of taxa from the *Leontodon* section *Oporinia* Biochem Syst Ecol 29: 827–837. doi:10.1016/S0305-1978(01)00019-9

2 OBJETIVO GERAL

Preparar, caracterizar e determinar a atividade biológica em produção animal de extratos aquosos e etanólicos, das espécies de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.) e nim (*Azadirachta indica* L.), e de óleos essenciais das espécies *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis marrubioides* EPL.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar, caracterizar e determinar a atividade acaricida de extratos aquosos e etanólicos, das espécies de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.) e nim (*Azadirachta indica* L.).
- Determinar a atividade acaricida das frações A, B e C dos extratos aquosos das espécies capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk).
- Preparar e determinar a atividade acaricida de óleos essenciais das espécies *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis marrubioides* EPL. para que possam ser utilizados no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.
- Avaliar os efeitos bromatológicos da adição de diferentes níveis de folhas das espécies de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.) e nim (*Azadirachta indica* L.) como aditivos botânicos em silagem de milho.

3 CAPÍTULO I

Caracterização fitoquímica de espécies botânicas com evidência acaricida sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

RESUMO

Em virtude da resistência e os danos causados pelos acaricidas comerciais, novos trabalhos na área de produtos naturais vêm sendo estudados. Percebe-se grandes chances de sucesso na combinação do uso prudente e racional dos produtos vegetais disponíveis na vasta flora brasileira, o que levaria à manutenção de populações parasitárias abaixo do seu limiar econômico com um mínimo impacto ambiental. Com isso, objetivou-se com este trabalho realizar a caracterização fitoquímica e avaliar a eficácia dos extratos etanólicos e aquosos de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.), nim (*Azadirachta indica* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), bem como as frações dos extratos aquosos de guapeva e capim-limão para que possam ser utilizados no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: peso da fêmea antes da postura, peso da massa de ovos, percentual de eclosão de larvas, eficiência reprodutiva, índice de produção de ovos. A partir desses valores foi calculado o percentual de controle. Para as análises fitoquímicas, procedeu-se o preparo dos extratos vegetais, o fracionamento dos extratos de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), a caracterização do perfil químico por análises de cromatografia em coluna e em camada delgada comparativa CCDC e cromatografia líquida de alta eficiência CLAE, caracterização de inibidores de acetilcolinesterase. Os resultados obtidos indicam que os extratos das folhas de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.), nim (*Azadirachta indica* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), são potencialmente úteis para o controle de carrapatos *Rhipicephalus B. microplus*, com destaque aos inibidores de acetilcolinesterase.

PALAVRAS-CHAVES: carrapatos, cromatografia, acetilcolinesterase, acaricidas vegetais.

3.1 INTRODUÇÃO

Com coeficiente de produção estimado em 212,34 milhões de cabeças de bovino no ano de 2014, distribuídas ao longo de 8 milhões de quilômetros quadrados de terra (IBGE, 2014). Este cenário da pecuária nacional mudou, novos dados sobre as perdas de produção pelos parasitas foram atualizados a partir de muitas regiões do país.

Assim, a perda econômica sobre o impacto do parasita *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para as respectivas populações de gado que foram consideradas em risco, foi estimada em US\$ 3,23 milhões de dólares (GRISI et al., 2014).

É um ectoparasita hematófago originário da Ásia, sendo bastante difundido no Brasil (ANDREOTTI et al., 2011). Estas perdas econômicas causadas na produção animal, por este ectoparasito, são através de processos como espoliação de sangue, transmissão de doenças, como é o caso da tristeza parasitária bovina causada pelo hemoprotozoário *Babesia* ssp. (MONTEIRO et al., 2009; HIRATA et al., 2012).

O principal meio de controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é por meio de aplicação de acaricidas sintéticos, porém com a má utilização desses produtos, resultou em seleção de populações de carrapatos resistentes (FURLONG et al., 2007; AMARAL et al., 2011ab).

Para controlar este problema o produtor rural faz uso de produtos químicos convencionais à base, principalmente, de piretroides, formamidinas, lactonas macrocíclicas, tiazolidinas, organofosforados e fenilureias. Essa estratégia, no entanto, nem sempre é efetiva e sustentável. Geralmente as dosagens empregadas são maiores que as recomendadas, por problemas relacionados à resistência, além da aplicação não seguir normas básicas de segurança na aplicação de agrotóxicos (ALVES et al., 2012).

Devido à resistência e os danos causados pelos acaricidas comerciais, novos trabalhos na área de produtos naturais vêm sendo estudados, entre eles o uso de produtos originados de plantas, como extratos vegetais no controle de carrapatos bovinos.

As pesquisas com produtos naturais fazem parte de uma área em crescimento constante e de extrema relevância, com avanço significativo na descoberta de novos ativos que venham promover uma formulação com base em tais produtos. Tais formulações necessitam destas metodologias para garantir a descoberta de ativos naturais (NEWMAN e CRAGG, 2012). A comprovação científica do uso de fitoterápicos é extremamente relevante e necessária mediante a diversidade de plantas que os biomas brasileiros possuem.

Objetivou-se com este estudo avaliar a atividade acaricida das espécies guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara

(*Melia azedarach* L.), nim (*Azadirachta indica* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Bionanotecnologia (BINATE) e Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) ambos no Instituto Federal Goiano – *Campus* Rio Verde, (20° 45' 53" S; 51° 55' 53" O, com altitude média de 748 m).

Preparo do material vegetal – extratos aquosos e etanólicos

Coleta e Secagem. Folhas de: guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.), nim (*Azadirachta indica* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), foram coletados no parque do IFGoiano *Campus* Rio Verde, GO. Este material foi seco em estufa com circulação de ar, a 45°C, até atingir peso constante. Posteriormente, foram triturados em moinho de facas com peneira de 5mm. As exsiccatas das espécies em estudo estão depositadas no herbário do Instituto Federal Goiano *Campus* Rio Verde (IFgoiano/Rio Verde) com os respectivos números 149, 495, 330, 336 e 152.

Preparo dos extratos botânicos. Após coleta das folhas realizada sempre nos horários matutinos antes das 09h, estes foram submetidos a secagem em estufa de circulação e renovação de ar a 45°C, até peso constante e em seguida procedeu-se a extração overnight, com água e etanol. Para a extração feita através de infusão na primeira extração, os pós-finos foram pesados, para a concentração de 10% (p/v). Água em ebulição foi adicionada aos pós-finos e deixado sob maceração por 24 horas. Após este período os extratos foram filtrados e o filtrado submetido aos ensaios acaricidas. Nas preparações de extratos aquosos para purificação dos extratos, os pós-finos foram submetidos a extração com água em ebulição e deixados sob maceração na proporção de 200 g /L de água. Depois de filtrados as biomassas úmidas foram secas em estufa e armazenadas para posterior extração com solventes de polaridades diferentes. Os filtrados foram liofilizados e armazenados para ensaios de bioatividade e purificações.

Para obtenção do extrato etanólico foi utilizado o solvente etanol, utilizando as folhas secas e trituradas pelo método de maceração. O material vegetal foi alocado em um recipiente de vidro, juntamente com o solvente etanol (EtOH), agitando-se 2 vezes por dia, durante 3 dias. Em seguida, foi filtrado e acrescentado mais solvente na biomassa repetindo o processo até que a coloração permanecesse clara e translúcida. Os filtrados foram levados para o rotaevaporador, obtendo-se os

extratos brutos. A partir do extrato bruto foi feita as diluições para se obter o extrato etanólico a 5% para os bioensaios.

Fracionamento dos extratos de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). Extratos aquosos de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) foram fracionados por cromatografia e as frações submetidas a teste de bioatividade.

Parte do extrato aquoso liofilizado das folhas (10 g) foi dissolvido em 20 mL de acetona: H₂O(1:3). O extrato diluído foi então fracionado através de cromatografia em coluna, por exclusão molecular, utilizando Sephadex® LH-20 (100g) como fase estacionária, em coluna de 5cm de diâmetro e 25cm de altura e (Acetona:H₂O), como fase móvel. Após fracionamento, as frações foram reunidas segundo este perfil e concentradas em rotaevaporador, resultando em três frações do extrato bruto de folhas, que foram colocadas em rotaevaporador para evaporação do solvente, obtendo Fração A (5,080g), Fração B (1,526g) e Fração C (3,363g). Todas as frações foram caracterizadas fitoquimicamente através de CCDC, em placas de sílica gel (10 x 20 cm ou 5 x 10 cm Si₂₅₀F®), com fases móveis Hexano:AcOEt (7:3), Clorofórmio:Metanol (9:1) e BAW (n-butanol:ácido acético:água, 4:1:5; fase superior) e também foram utilizadas em ensaios biodirecionados, na concentração de 2,5% (p/v).

Caracterização do perfil químico e teste de bioatividade

Testou-se, em laboratório, a bioatividade dos extratos vegetais em fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*. As teleóginas coletadas foram distribuídas em grupos, fazendo-se a seleção baseada na, motilidade, integridade física e ingurgitamento. As teleóginas foram submetidas ao banho de imersão, das soluções (extratos vegetais). Foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: peso inicial, peso da postura, percentual de eclosão (%EC), índice de produção de ovos (IPO), eficiência reprodutiva (RE), percentual de controle (%C).

Coleta e Armazenamento das Teleóginas. As fêmeas ingurgitadas do *R. (B.) microplus*, foram coletadas manualmente, de bovinos mestiços (Holandês x Zebu) naturalmente infestados. Em diversas propriedades rurais do município de Rio Verde – Goiás, Urutaí – GO e Morrinhos – GO. Foi realizada a triagem das teleóginas, verificando mobilidade, ingurgitamento, agilidade e/ou presença de traumatismos. Em seguida, foram lavadas com água destilada e água sanitária 0,01%, secas em folhas de papel germitest para absorção do líquido e acondicionadas em câmara climatizada com temperatura de 27±1°C e umidade de 80±10%, por 24 horas.

Teste *in vitro* com Teleóginas de *R. (B.) microplus*. Para a avaliação da eficácia dos extratos sobre as fêmeas ingurgitadas foram realizados testes de imersão preconizados por DRUMMOND et al. (1973) e BENNETT (1974). Fêmeas ingurgitadas foram pesadas e separadas

em grupos com pesos homogêneos de 10 teleóginas e imersas nas soluções previamente preparadas. Após cinco minutos, foram retiradas, secas e acondicionadas em placas de Petri de 12 cm de diâmetro para dar continuidade no acompanhamento da biologia da fase não parasitária destes carrapatos. Sendo que foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos:

Peso inicial: peso da fêmea ingurgitada (peso da teleógina);

Peso da postura: peso total da massa de ovos de cada fêmea;

Percentual de eclosão (%EC): estimativa visual de larvas eclodidas em relação à massa de ovos de cada fêmea;

Índice de produção de ovos (IPO): o índice será obtido de acordo com a equação proposta por BENNETT (1974). $IPO = \text{massa de ovos} \times 100 / \text{peso inicial}$. O IPO avalia quanto do sangue ingerido será convertido em ovos;

Eficiência reprodutiva (RE) – obtida pela fórmula: $(\text{Peso da postura} / \text{Peso inicial}) \times \%EC \times 20.000$ (DRUMMOND et al., 1973);

Percentual de controle (%C): foi obtido segundo a fórmula de DRUMMOND et al. (1973): $\% C = (\text{RE grupo controle} - \text{RE grupo tratado}) / \text{RE grupo controle} \times 100$. Este índice avalia a eficácia dos tratamentos.

Os tratamentos consistiram em extratos aquosos na concentração de 10% (p/v) e etanólico na concentração de 5% (p/v), das espécies, guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.), nim (*Azadirachta indica* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), mais o controle (teleóginas em água destilada). E das frações A, B e C das espécies guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), mais o controle (teleóginas em água destilada). O experimento foi implantado com 10 fêmeas distribuídas em placas de petri para cada uma das três repetições dos tratamentos, em delineamento inteiramente ao acaso.

Os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada (27±1°C e 80±10% UR). As massas de ovos de cada fêmea foram acondicionadas individualmente em seringas de 10ml devidamente identificadas, com a parte distal cortada, vedadas com algodão hidrófilo e mantidas em câmara climatizada nas mesmas condições de temperatura citadas anteriormente.

Os dados foram analisados através do programa estatístico R, para o experimento - extratos etanólicos e aquosos foram 11 tratamentos, com 3 repetições por tratamento. Para experimento realizado com as frações foram 9 tratamentos, com 3 repetições por tratamento. Variáveis em porcentagem foram transformadas e analisadas. As médias dos diferentes parâmetros foram comparadas por teste não paramétrico de Kruskal Wallis ($p < 0,05$), por não constatar normalidade nos dados.

Teste de inibidores de acetilcolinesterase (Bioautografia). Este teste se baseia na clivagem pela acetilcolinesterase do 1- acetato de naftila, para formar o 1-naftol, que reage com o sal Fast Blue B, para dar a coloração púrpura de diazônio (Fig. 13). É um método que oferece rápido acesso a informações sobre a atividade e a localização da atividade relacionada à planta, pois os constituintes separados podem ser diretamente detectados nas placas de CCD, uma vez que as regiões da placa que contêm inibidores da acetilcolinesterase aparecem como marcas brancas no fundo púrpura (MARSTON et al., 2002). Neste, foram utilizadas as seguintes amostras: Extratos brutos etanólico das folhas de cada espécie; Extrato bruto aquoso das folhas de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) e suas frações A, B e C.

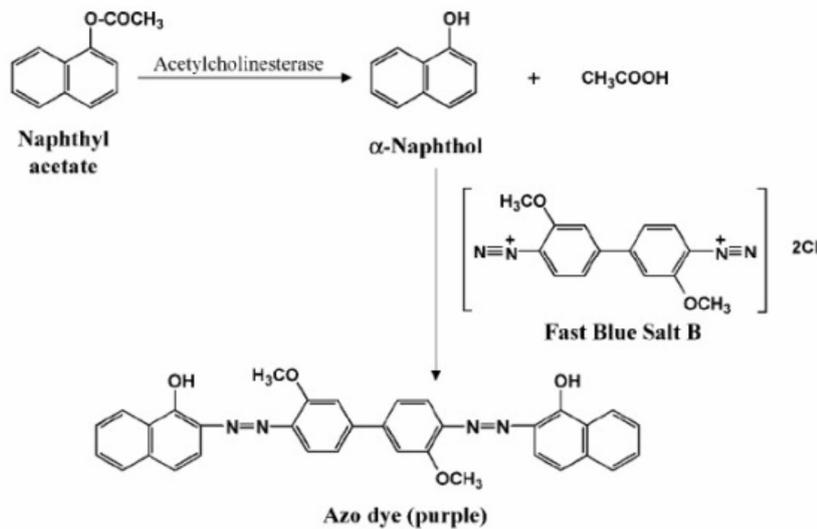


Figura 13. Reação da acetilcolinesterase com o acetato de naftila e a subsequente formação da coloração púrpura no ensaio de TLC. (MARSTON et al., 2002).

Análises por CCDC e CLAE foram realizadas para caracterização do perfil químico dos constituintes nos extratos e frações das amostras. Utilizou-se 50mg de amostra dos extratos brutos etanólico das folhas das cinco espécies; extrato bruto aquoso das folhas de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) e suas frações A, B e C foram solubilizadas em 1mL de metanol, para monitoramento das amostras, foram aplicadas em placas de CCDC (10 x 10 cm ou 10 x 20 cm, $\text{Si}_{250}\text{F}^{\text{®}}$) com fases móveis: Hexano:AcOEt (7:3), Clorofórmio:Metanol (9:1) e BAW (n-butanol:ácido acético:água, 4:1:5; fase superior) e foram visualizadas por lâmpadas de UV (254 e 365 nm) e reveladas através de reações com vanilina sulfúrica e NP (difenilboriloxietilamina 1,0% em metanol, p/v).

Estas amostras também foram analisadas por CLAE nas seguintes condições: Os extratos etanólicos e aquosos e frações foram filtrados em membranas 0,45 μm antes das análises em CLAE comparativa. O sistema de cromatografia líquida foi Shimadzu[®], com detector DAD modelo SPD-M20A e coluna LC18 (25cm x 4,6mm, 5 μm , Supelcosil[®]). A fase móvel foi composta por mistura

de: (A) água/ácido acético (0,1%; v/v) e (B) MeOH, com fluxo de 1,0 mL min⁻¹. A eluição foi de 10 a 66% B (0-32min), 66 a 10% B (32-35min) e 10% B por 5 min, com volume de injeção de 20 µL. O perfil químico cromatográfico foi monitorado a $\lambda=254\text{nm}$.

A caracterização de inibidores de acetilcolinesterase foi realizada de acordo com a metodologia descrita por MARSTON et al. (2002), utilizando Acetilcolinesterase (500 U) dissolvida em 75mL de tampão Tris-HCl 0,05 M (pH 7.8), sendo adicionado albumina de soro bovina (BSA) (75 mg) à solução para estabilização da enzima (solução já preparada).

As amostras preparadas anteriormente (50mg/mL) dos extratos brutos etanólico das folhas das cinco espécies; extrato bruto aquoso das folhas de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) e capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) e suas frações A, B e C foram aplicadas (15 µL) em placas de CCDC (10 x 20 cm ou 5 x 10 cm, Si₂₅₀F[®]) eluídas com fases móveis: Hexano:AcOEt (7:3), Clorofórmio:Metanol (9:1) e BAW (n-butanol:ácido acético:água, 4:1:5; fase superior).

Após a secagem das placas eluídas, elas foram borrifadas com a solução estoque da enzima e secas novamente, seguindo-se a incubação, em que as placas foram mantidas em câmara climatizada a 37 °C por 20 minutos, para estabilização da enzima. Para a detecção da enzima, soluções de 1-acetato de naftila (25 mg) em etanol (10 mL) (A) e de sal Fast Blue B (100 mg) em água destilada (40 mL) (B), foram utilizadas (soluções já preparadas). Logo após a incubação, 1 mL da solução A e 4 mL da solução B foram misturadas e borrifadas na placa, observando-se os halos (brancos) de inibição após algum tempo.

Extração de acetilcolinesterase (AChE) do carrapato bovino. Um dos métodos utilizados para detecção e monitoramento da resistência de insetos a pesticidas é o bioquímico que permite determinar a atividade de enzimas destoxicadoras de pesticidas presentes em indivíduos das populações testadas, podendo ser identificado o mecanismo enzimático de resistência, em que existem três grupos principais de enzimas destoxicadoras atuando no organismo: as monoxigenases dependentes do citocromo P450, as esterases e as glutationa-S-transferases (RIBEIRO et al., 2007).

Estudo realizado por GUERRERO et al. (2002) utilizando populações mexicanas do carrapato *Boophilus microplus* fizeram a diagnose de resistência de pela expressão e atividade de uma enzima da família das esterases que têm a capacidade de hidrolisar vários compostos tóxicos.

Um novo método de extração de acetilcolinesterase, por sonicação, a partir de cérebro do carrapato *B. microplus*, possibilita um diagnóstico mais eficiente e rápido para detectar resistência a pesticidas em populações dessa espécie. Por meio da determinação da atividade enzimática da acetilcolinesterase, podem-se discriminar indivíduos resistentes, particularmente ao grupo dos organofosforados. Tal método está sendo usado pelo USDA para monitoramento e detecção de possíveis populações resistentes na fronteira entre os EUA e o México (PRUETT e POUND, 2006).

Este método foi adaptado e utilizado para extração da AChE por requerer um número menor de carrapatos e utilização de qualquer estágio de desenvolvimento do ácaro.

Machos de *R. (B.) microplus* foram coletados, lavados em água destilada para eliminar qualquer contaminante. Para extração da enzima acetilcolinesterase foi utilizado como solvente a solução tampão Tris-HCl 0,05 M (pH 7.8), sob maceração. Após filtragem em algodão hidrófilo, foi centrifugado (UNIVERSAL 320/320 R Hettich Zentrifugen) a -4°C e 9000 rpm por cinco minutos, para separação dos sólidos e armazenado a -4°C até aplicação nas placas cromatográficas.

As amostras preparadas anteriormente (50mg/mL) dos extratos brutos etanólico das folhas das cinco espécies; extrato bruto aquoso das folhas de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) e suas frações A, B e C foram aplicadas (15 μL) em placas de CCDC (5 x 10 cm, Si₂₅₀F[®]) e eluídas com fases móveis: Clorofórmio:Metanol (9:1) e BAW (n-butanol:ácido acético:água, 4:1:5; fase superior). Após a secagem das placas eluídas, elas foram borrifadas com a solução estoque da enzima e secas novamente, seguindo-se a incubação, em que as placas foram mantidas em câmara climatizada a 37°C por 20 minutos, para estabilização da enzima. Para a detecção da enzima, soluções de 1-acetato de naftila (25 mg) em etanol (10 mL) (A) e de sal Fast Blue B (100 mg) em água destilada (40 mL) (B), foram utilizadas (soluções já preparadas). Logo após a incubação, 1 mL da solução A e 4 mL da solução B foram misturadas e borrifadas na placa, observando-se os halos (brancos) de inibição após algum tempo).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Bioatividade dos extratos aquosos e etanólicos. Todas as fêmeas ingurgitadas utilizadas nesse experimento tinham um peso padrão entre 197,3 e 213,8 mg antes da postura. Com isso os resultados do teste de imersão usando os extratos aquosos das espécies em estudo são descritos na tabela 2. A eficácia dos extratos aquosos e etanólicos contra fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus Boophilus microplus* foi avaliada por determinação da porcentagem de mortalidade de fêmeas ingurgitadas, eficiência reprodutiva, índice de produção de ovos e percentual de controle.

O peso médio da massa de ovos foi significativo ($p < 0,05$) em relação ao valor encontrado para o controle. O índice de produção de ovos obtido no teste de imersão de fêmeas ingurgitadas variou de 55,3 a 48,6% sendo registrado o menor valor para a espécie *Anacardium othonianum* Rizz.

Segue na Tabela 2, os dados da eficiência reprodutiva das fêmeas tratadas com o extrato aquoso, obtidos através do cálculo de Drummond et al., (1973), A média do percentual de eclosão do grupo controle foi de 54,7% estatisticamente iguais aos valores encontrados para os grupos 53,5% (AI), 65,4% (CC) e 62,6% (PG) extrato aquoso, sendo significativo ($p > 0,05$) quando comparados aos grupos tratados com extrato aquoso de 33,3% (AO), 74,0% (MA). O percentual de controle dos tratamentos com extrato aquoso foram 42,8% (AO), -2,3% (AI), -19,8% (CC), -44,6% (MA) e -12,2% (PG).

Tabela 2: Peso das fêmeas antes da postura, peso da massa de ovos, percentual de eclosão, eficiência reprodutiva e índice de produção de ovos (IPO) de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus Boophilus microplus* tratados com extrato aquoso das espécies de *Anacardium othonianum* Rizz. (AO); *Azadirachta indica* L. (AI); *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC); *Melia azedarach* L. (MA); *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG) na concentração de 10%, Rio Verde – GO, 2015.

	Peso da fêmea antes da postura (mg)	Peso da massa de ovos (mg)	Percentual de eclosão (%)	+Eficiência Reprodutiva	*IPO (%)
Controle	205,4 ±34,5 (30)	106,2 ^a ±41,4 (30)	54,7 ^a ±28,0 (30)	565756,6	51,7
AO	201,2 ±30,4 (30)	100,6 ^{bcd} ±32,5 (27)	33,5 ^{be} ±28,5 (27)	323341,9	48,6
AI	200,2 ±34,5 (30)	108,2 ^{bd} ±27,3 (30)	53,5 ^{bd} ±28,1 (30)	578570,1	54,0
CC	201,5 ±36,4 (30)	104,3 ^{bcd} ±35,4 (29)	65,4 ^{bcd} ±29,3 (29)	677604,2	51,7
MA	200,1 ±37,6 (30)	110,6 ^{bcd} ±38,0 (30)	74,0 ^{bc} ±22,0 (30)	818153,8	55,3
PG	197,3 ±35,7 (30)	100,0 ^{cd} ±29,0 (30)	62,6 ^{bcd} ±23,8 (30)	634561,2	50,7

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis ($p < 0,05$). () – Tamanho da amostra. (Valores da média ± desvio padrão). + - Calculado segundo Drummond et al. (1973). *- Calculado segundo Bennett et al. (1974).

As porcentagens de mortalidade causada nas fêmeas ingurgitadas tratadas com os extratos aquosos variaram de 0,0 a 10% e para os extratos etanólicos foram de 20% para *Anacardium othonianum* Rizz. e 46,7% para *Azadirachta indica* L. tabela (3)

A porcentagem de mortalidade causada pelo extrato etanólico das espécies variaram de 16,7 a 46,7% sendo a maior taxa *Azadirachta indica* L (AI). Os resultados dos tratamentos utilizando extratos etanólicos são referidos na tabela 4. Entre os extratos etanólicos a propriedade de inibição da reprodução de fêmeas de *Rhipicephalus Boophilus microplus* foi expressa pelo extrato de *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG), seguida pelas espécies *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC); *Melia azedarach* L. (MA); *Anacardium othonianum* Rizz. (AO) e *Azadirachta indica* L. (AI).

Tabela 3: Taxa de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus Boophilus microplus* tratados com extrato etanólico e aquosos das espécies de *Anacardium othonianum* Rizz. (AO); *Azadirachta indica* L. (AI); *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC); *Melia azedarach* L. (MA); *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG) Rio Verde – GO, 2015.

	Mortalidade (%)	
	Extrato Aquoso (10%)	Extrato Etanólico (5%)
AO	10	20
AI	0	46,7
CC	0,33	26,7
MA	0	36,7
PG	0	16,7

Tabela 4: Peso das fêmeas antes da postura, peso da massa de ovos, percentual de eclosão, eficiência reprodutiva e índice de produção de ovos (IPO) de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus Boophilus microplus* tratados com extrato etanólico das espécies de *Anacardium othonianum* Rizz. (AO); *Azadirachta indica* L. (AI); *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC); *Melia azedarach* L. (MA); *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG) na concentração de 5%, Rio Verde – GO, 2015.

	Peso da fêmea antes da postura (mg)	Peso da massa de ovos (mg)	Percentual de eclosão (%)	+Eficiência Reprodutiva	*IPO (%)
Controle	205,4 ±34,5 (30)	106,2 ^a ±41,4 (30)	54,7 ^a ±28,0 (30)	565756,6	51,7
AO	206,9 ±26,5 (30)	59,4 ^{bce} ±18,6 (24)	3,5 ^{be} ±10,6 (24)	20204,5	28,7
AI	210,0 ±24,9 (30)	71,8 ^{bc} ±16,4 (16)	3,3 ^{bd} ±7,2 (16)	22738,6	34,2
CC	209,8 ±26,0 (30)	57,1 ^{bce} ±25,9 (22)	7,2 ^{bcd} ±15,1 (22)	39080,2	27,2
MA	211,5 ±25,3 (30)	58,3 ^{bce} ±26,1 (19)	12,5 ^{bc} ±27,3 (19)	68858,1	27,5
PG	213,8 ±30,6 (30)	45,9 ^{ce} ±28,5 (25)	1,4 ^{bcd} ±3,8 (25)	5837,8	21,5

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis (p<0.05). () – Tamanho da amostra. (Valores da média ± desvio padrão). + - Calculado segundo Drummond et al. (1973). *- Calculado segundo Bennett et al. (1974).

Quanto a porcentagem de eclosão, a inibição foi reduzida quando utilizado extrato etanólico das espécies (PG), (AI), (AO), (CC) e (MA), tendo os valores de 1,4 a 12,5%. Para o percentual de controle dos tratamentos com extratos etanólicos teve os seguintes valores 96,4% (AO), 96,0% (AI), 93,1% (CC), 87,8% (MA) e 99,0% (PG). Estudo semelhante por (BROGLIO-MICHELETTI et al. 2009) com extrato alcoólico de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC) na concentração de 2% mostrou eficácia de 18,35%, contrastando com resultado obtido no presente estudo o valor encontrado de eficácia de 93,7% superior ao referido estudo. Além disso, houve redução significativa na produção de ovos em carrapatos tratados com extratos etanólicos, refletindo o efeito nas fêmeas sobreviventes que foram ineficazes para produzir ovos viáveis.

Espécies da família Meliaceae produzem fitoderivados, que inclui *A. indica* (nim) e *M. azedarach* (santa bárbara) que tem como composto principal a Azadiractina. Estudos sobre controle de insetos usando este produto demonstraram o seu efeito sobre a oviposição e fecundidade dos indivíduos expostos nas espécies, com consequente interferência na reprodução (ISMAN, 1997; COPPING e MENN, 2000; VIEGAS JÚNIOR, 2003; BARRETO et al., 2006; BUSS e PARK-BROWN, 2006).

Em carrapatos, o hormônio da muda (ecdisteróides) desempenha um papel na regulação da função da glândula salivar, produção de feromônios, e oogênese e oviposição (REES, 2004). Este hormônio também desencadeia vitelogênese (SANKHON et al., 1999). Estudos realizados por Silva et al. (2007) avaliaram a eficácia de extratos de *A. indica* do fruto maduro e imaturo em larvas e fêmeas adultas de *R. (Boophilus microplus)* mostraram alta taxa de mortalidade de larvas, no entanto, não para fêmeas adultas, causando na segunda parcial ou total inibição da produção de ovos e da sua embriogênese.

Friesen e Kaufman (2003) relataram a inibição de vitelogênese e desenvolvimento de ovos em *A. haebraeum* por cipermetrina e atribuiu a causa como a inibição de liberação de 20-hidroxiecdisona pelo inseticida. É também possível que a substância ativa pode interferir com a produção de inibidores de auto oxidação de lipídios insaturados da área porosa da cera do ovo dessecando-a, causando assim ao ovo a morte do embrião (RAVINDRAN et al., 2011).

A forma como os extratos de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk.) e caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) interferiram nos parâmetros biológicos do *Rhipicephalus Boophilus microplus* até o momento não haviam sido relatados, sendo estes resultados importantes para acrescentar informações para o conhecimento de possíveis formas de controle destes artrópodes. Os resultados obtidos para os extratos das espécies possuem toxicidade e podem revelar-se promissores acaricidas à base de plantas.

Os resultados obtidos indicam que os extratos possuem toxicidade para *Rhipicephalus Boophilus microplus* podendo revelar-se promissores acaricidas à base de plantas.

Bioatividade das Frações dos extratos de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) e capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). Os valores referentes ao peso das fêmeas antes da postura variaram entre 217,4 e 142,2mg. O peso da massa dos ovos foram estatisticamente semelhantes ($p>0,05$) ao controle (70,3mg) e entre os extratos brutos de guapeva (PGEB) (64,6mg), capim-limão (CCEB) (53,0mg), e suas frações PGFA (70,7mg), PGFB (48,5mg), PGFC (50,6mg), CCFA (52,1mg), CCFB (53,1mg) e CCFC (54,7mg), sendo o menor valor para o grupo de fêmeas tratadas com a fração B da guapeva (PGFB). Os percentuais de eclosão dos grupos tratados variaram entre 2,9 e 19,6%, enquanto o valor obtido para o controle que foi de 27,8%, entretanto, não foi constatado diferenças significativas ($p>0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5: Peso das fêmeas antes da postura, peso da massa de ovos, percentual de eclosão, índice de produção de ovos (IPO), reprodução estimada e percentual de controle (%C) de *Rhipicephalus Boophilus microplus* tratados com extrato bruto, fração A, B e C das espécies de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC) e *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG) concentração de 2,5%(p/v), em condições de laboratório a $27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR>80%, Rio Verde – GO, 2015.

	Peso da fêmea antes da postura (mg)	Peso da massa de ovos (mg)	Percentual de eclosão (%)	*IPO (%)	+Eficiência Reprodutiva	+%C
Controle	217,4 \pm 26,8 (30)	70,3 ^{ab} \pm 33,3 (30)	27,8 ^a \pm 39,1 (30)	32,33	179734,40	-
CCEB	148,7 \pm 20,4 (30)	53,0 ^{abcd} \pm 13,2 (30)	6,5 ^{ab} \pm 15,4 (30)	35,62	46068,30	74,37
CCFA	150,8 \pm 20,1 (30)	52,1 ^{abcd} \pm 12,8 (28)	12,0 ^{ab} \pm 21,5 (28)	34,52	82730,69	53,97
CCFB	151,0 \pm 16,5 (30)	53,1 ^{abcd} \pm 16,5 (29)	18,7 ^{ab} \pm 32,4 (29)	35,15	131248,43	26,98
CCFC	209,1 \pm 29,6 (30)	54,7 ^{bcd} \pm 28,7 (19)	11,8 ^b \pm 29,5 (19)	26,17	61625,94	65,71
PGEB	215,7 \pm 30,8 (30)	64,6 ^{abc} \pm 30,8 (28)	19,6 ^{ab} \pm 34,5 (28)	29,95	117651,63	34,54
PGFA	215,6 \pm 32,9 (30)	70,7 ^a \pm 32,7 (29)	18,8 ^{ab} \pm 32,5 (29)	32,77	123196,25	31,46
PGFB	142,2 \pm 25,3 (30)	48,5 ^d \pm 11,9 (29)	7,2 ^{ab} \pm 14,7 (29)	34,12	49413,75	72,51
PGFC	153,1 \pm 17,4 (30)	50,6 ^{cd} \pm 11,9 (30)	2,9 ^{ab} \pm 6,0 (30)	33,05	19279,34	89,27

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis ($p<0,05$). () – Tamanho da amostra. (Valores da média \pm desvio padrão). *- Calculado segundo BENNETT et al. 1974. + - Calculado segundo Drummond et al. (1973).

Observou-se que a fração C do capim-limão (CCFC) levou a redução do índice de produção de ovos (IPO), com valor menor que os demais tratamentos (Tabela 5).

Ainda na tabela 5, a eficiência reprodutiva dos grupos de fêmeas tratadas com o extrato bruto e as frações das espécies em estudo tiveram redução em relação ao controle, sendo que os

valores menores foram encontrados para as frações B e C da guapeva e do extrato bruto e a fração C do capim-limão.

Quanto ao percentual de controle de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus B. microplus*, a fração C da guapeva PGFC teve o maior percentual de 89,27%, seguido do extrato bruto do capim-limão CCEB 74,37%, da fração B da guapeva PGEB 72,51, da fração C do capim-limão CCFC 65,71%, da fração A do capim-limão CCFA 53,97%, do extrato bruto da guapeva PGEB 34,54%, da fração A da guapeva PGFA 31,46%, e da fração B do capim-limão CCFB 26,98% (tabela 5).

Trabalhando com extratos etanólico e aquoso na concentração de 2%, e com a fração C de manjeroninha do campo (*Glechon spathulata* Benth.) sobre teleóginas de *Rhipicephalus B. microplus* (BUZATTI et al., 2011) observaram que os metabólitos interferiram nos aspectos reprodutivos dos ácaros, por terem apresentado diferenças na eclodibilidade dos ovos, já a fração C não apresentou atividade carrapaticida *in vitro*.

Tais comportamentos dos resultados podem ser devido ao estágio de desenvolvimento da planta, que também determina alterações em sua constituição química (BRUNHEROTTO e VENDRAMINI, 2001). Determinados mecanismos de ação de algumas substâncias somente são ativos quando há ingestão das mesmas pelos carrapatos, tornando a metodologia *in vitro* inadequada para avaliação destas substâncias (CHAGAS et al., 2011).

Caracterização do perfil químico e teste de bioatividade

Os extratos vegetais são constituídos por substâncias de diferentes classes de produtos naturais e funções químicas. A caracterização química destas substâncias pode ser realizada utilizando de diferentes estratégias e metodologias. Neste estudo os extratos foram obtidos utilizando de solventes polares como etanol e água. Portanto, as substâncias polares e de pesos moleculares elevados quantitativamente são as extraídas principalmente nestes tipos de solventes. Para caracterizar estes extratos são necessárias técnicas cromatográficas e espectroscópicas, bem como reações químicas e enzimáticas.

Nas Figuras 14 a 19, apresentam o perfil químico por CCDC. Nas Figuras 14A, 14B e 18A não foi visualizado substâncias eluídas com Hexano:AcOEt(7:3) confirmando que nos extratos polares não houve extração de substâncias apolares. Nas Figuras 15A, 15B, 16A, 16B, 17A, 17B, 18B, 18C e 19(A-B) verificou-se a presença de várias substâncias, as quais apresentou absorção sob a luz UV 254nm (15A e 16A) e UV 365nm (Fig. 15B e 16B), bem como halos brancos indicativos de inibição de acetilcolinesterase (Fig. 18B, 18C e 19A-B). Ao aplicar vanilina sulfúrica nas placas cromatográficas com as frações de extratos brutos aquosos das folhas de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) verificou-se que várias

substâncias apresentaram reações de coloração indicativas de taninos (vermelha), flavonoides (amarelo) e terpenos (azul) (Fig. 17A e 17B).

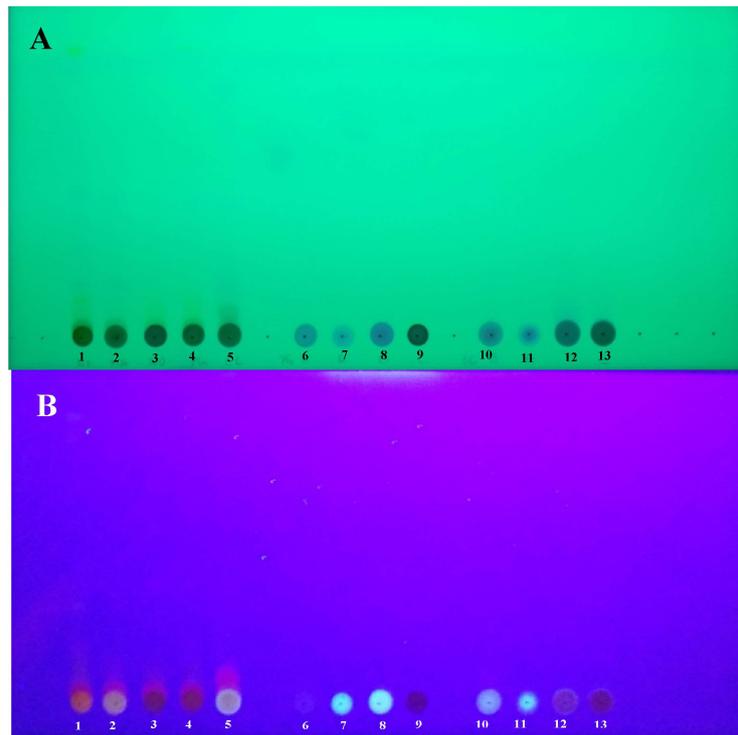


Figura 14. CCDC de extrato etanólico das espécies de *Azadirachta indica* (AI)(1); *Melia azedarach* (MA)(2); *Anacardium othonianum* (AO)(3); *Pouteria gardneriana* (PG)(4); *Cymbopogon citratus* (CC)(5); extratos aquosos, das espécies de *Pouteria gardneriana*. (PG)(6) fração A (7), B(8) e C(9) e *Cymbopogon citratus* (CC)(10) fração A (11), B(12) e C(13). Fase Móvel: Hexano:AcOEt (7:3); Revelador: A – UV 254 nm; B – UV 365 nm.

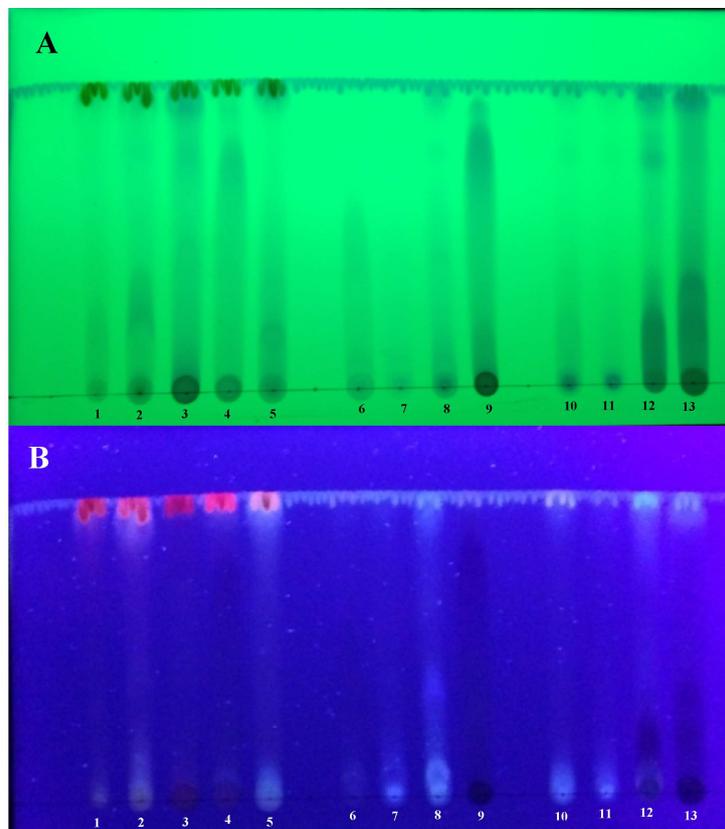


Figura 15. CCDC de extrato etanólico das espécies de *Azadirachta indica* (AI)(1); *Melia azedarach* (MA)(2); *Anacardium othonianum* (AO)(3); *Pouteria gardneriana* (PG)(4); *Cymbopogon citratus* (CC)(5); extratos aquosos, das

espécies de *Pouteria gardneriana*. (PG)(6) fração A (7), B(8) e C(9) e *Cymbopogon citratus* (CC)(10) fração A (11), B(12) e C(13). Fase Móvel:CHCl₃:MeOH (9:1); Revelador: A – UV 254 nm; B – UV 365 nm.

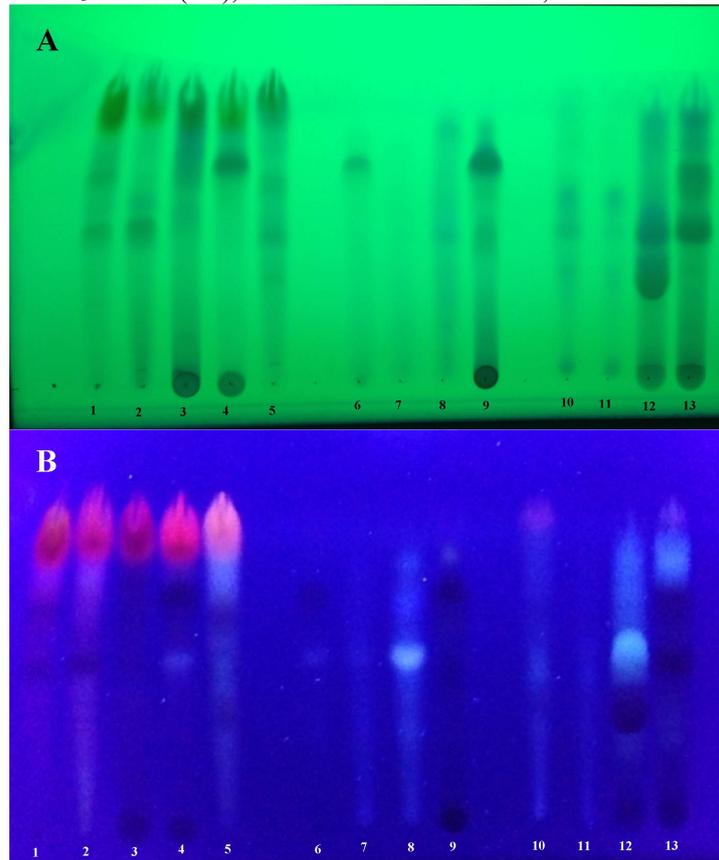


Figura 16. CCDC de extrato etanólico das espécies de *Azadirachta indica* (AI)(1); *Melia azedarach* (MA)(2); *Anacardium othonianum* (AO)(3); *Pouteria gardneriana* (PG)(4); *Cymbopogon citratus* (CC)(5); extratos aquosos, das espécies de *Pouteria gardneriana*. (PG)(6) fração A (7), B(8) e C(9) e *Cymbopogon citratus* (CC)(10) fração A (11), B(12) e C(13). Fase Móvel: BAW; Revelador: A – UV 254 nm; B – UV 365 nm.

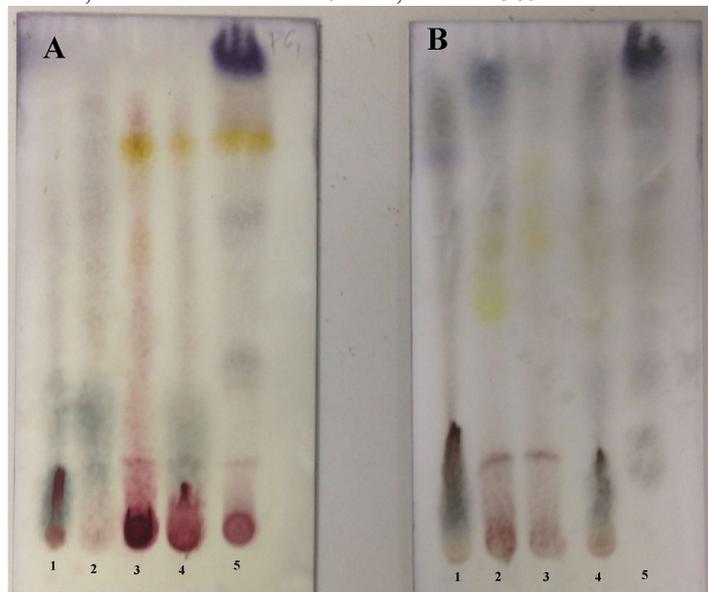


Figura 17. CCDC das frações A, B e C obtidas dos extratos aquosos das espécies de *Pouteria gardneriana* (PG) e *Cymbopogon citratus* (CC). Fase Móvel: BAW; Revelador: Vanilina sulfúrica. A – PG FA(1), FB (2-3) e FC (4-5); B – CC FA(1), FB (2-3) e FC (4-5).

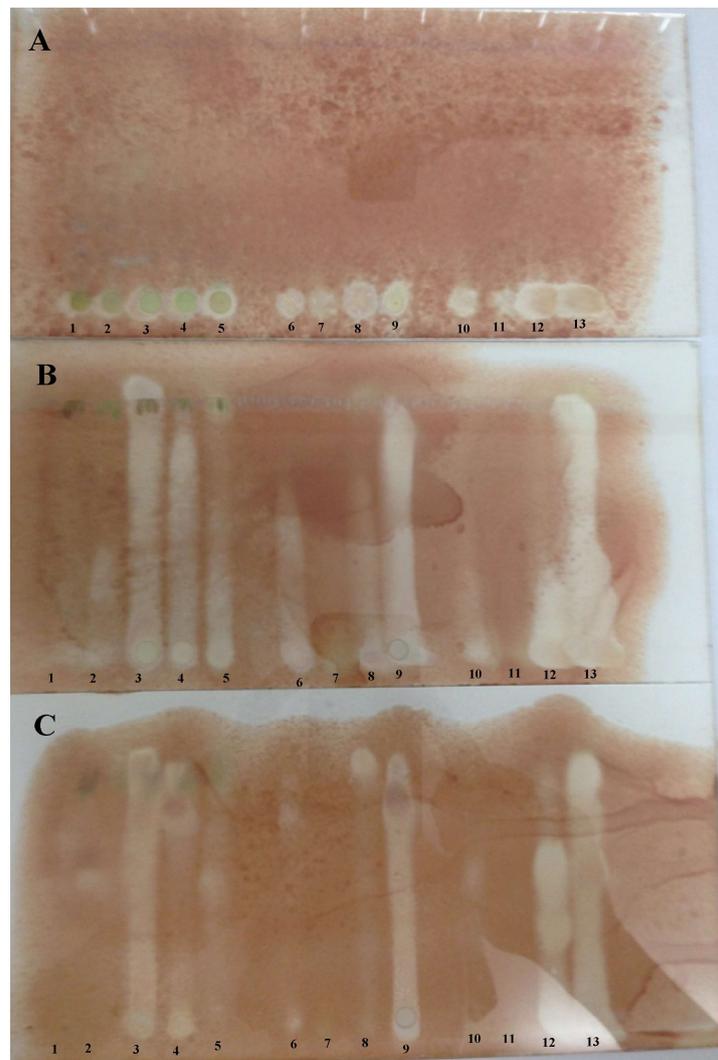


Figura 18. CCDC de extrato etanólico das espécies de *Azadirachta indica* (AI)(1); *Melia azedarach* (MA)(2); *Anacardium othonianum* (AO)(3); *Pouteria gardneriana* (PG)(4); *Cymbopogon citratus* (CC)(5); extratos aquosos, das espécies de *Pouteria gardneriana*. (PG)(6) fração A (7), B(8) e C(9) e *Cymbopogon citratus* (CC)(10) fração A (11), B(12) e C(13). Fases Móveis: A- Hexano:AcOEt (7:3), B – CHCl₃:MeOH (9:1) e C – BAW; Revelador: AChE/Naftila/Sal Fast Blue B.

Nos extratos etanólicos verificou a presença de inibidores de acetilcolinesterase, porém nos extratos de *Anacardium othonianum* Rizz. (AO); *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG) e *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC) os halos brancos foram mais acentuados. As substâncias inibidoras de AChE estão presentes nas frações B e C dos extratos aquosos purificados de *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG) e *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC). A figura 19 apresenta os resultados das reações enzimáticas de AChE extraídas de carrapatos e confirma a presença de substâncias inibidoras nas frações B e C de *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG) e *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC).

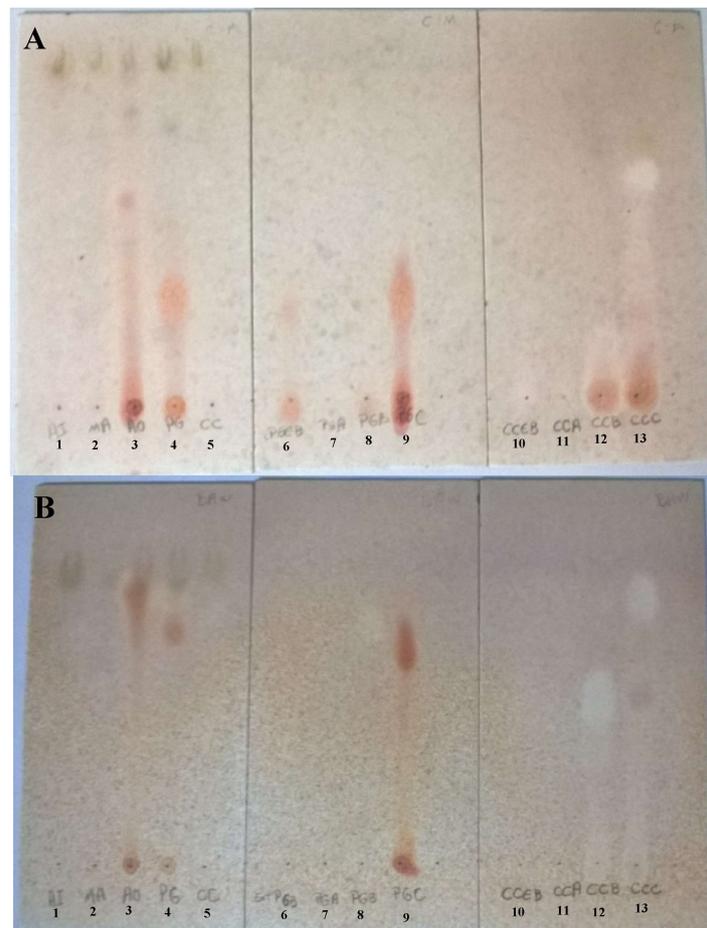


Figura 19. CCDC de extrato etanólico das espécies de *Azadirachta indica* (AI)(1); *Melia azedarach* (MA)(2); *Anacardium othonianum* (AO)(3); *Pouteria gardneriana* (PG)(4); *Cymbopogon citratus* (CC)(5); extratos aquosos, das espécies de *Pouteria gardneriana*. (PG)(6) fração A (7), B(8) e C(9) e *Cymbopogon citratus* (CC)(10) fração A (11), B(12) e C(13). Fases Móveis: A – CHCl₃:MeOH (9:1) e B – BAW; Revelador: AChE extraída carrapato/Naftila/Sal Fast Blue B.

O NP (difetilboriloxietilamina) é um reagente específico para compostos fenólicos, pois reage com estes formando complexos derivados fluorescentes. Este revelador é muito utilizado pela sua sensibilidade e especificidade. Quando visualizado sob luz ultravioleta nos comprimentos de ondas 365nm as colorações azul indicam a presença de Ácidos carboxílicos, fenólicos e cumarinas, azul-verde (cumarinas), cinza (Taninos), esverdeada (Taninos complexos), laranja (flavona e flavonol), verde escuro (glicosídeos de flavonas), alaranjada ou amarela (glicosídeos de flavonol), (WAGNER e BLADT, 1996). Na figura 20, mostra a reação de NP com constituintes dos extratos etanólicos e aquosos, bem como das frações. Todos os extratos etanólicos e aquosos apresentaram colorações indicativas de flavonoides. Na fração C de *Pouteria gardneriana* (PG) e as frações B e C de *Cymbopogon citratus* (CC) apresentaram substâncias reveladas com NP com colorações amarelas e laranja.

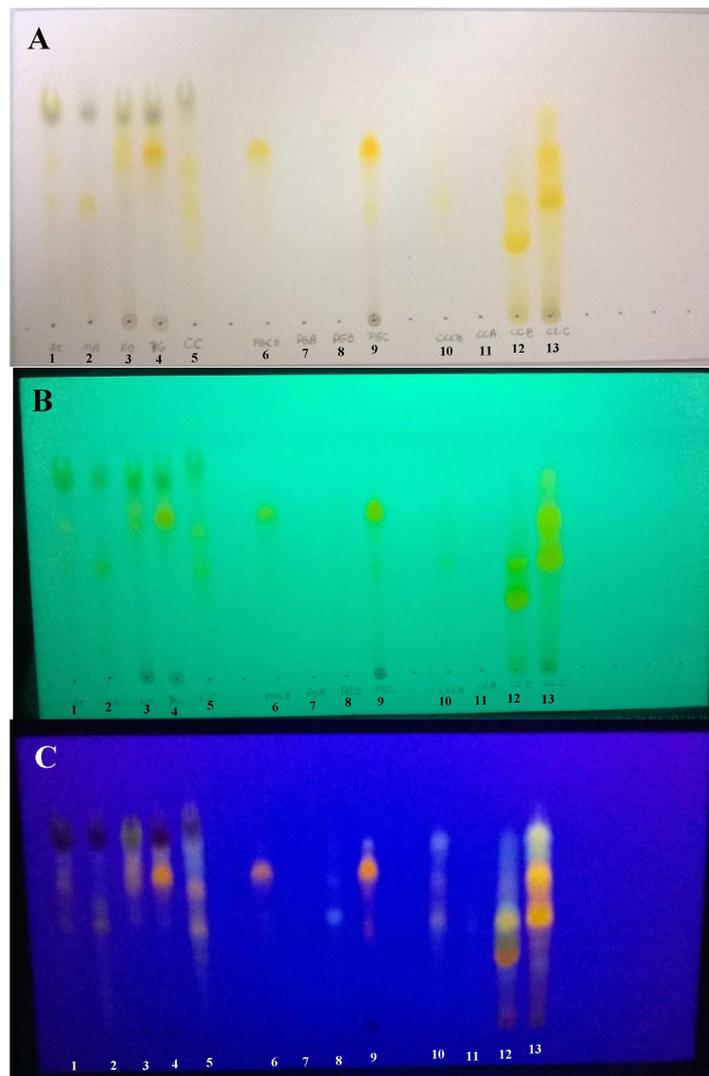


Figura 20. CCDC de extrato etanólico das espécies de *Azadirachta indica* (AI)(1); *Melia azedarach* (MA)(2); *Anacardium othonianum* (AO)(3); *Pouteria gardneriana* (PG)(4); *Cymbopogon citratus* (CC)(5); extratos aquosos, das espécies de *Pouteria gardneriana*. (PG)(6) fração A (7), B(8) e C(9) e *Cymbopogon citratus* (CC)(10) fração A (11), B(12) e C(13). Fase Móvel: BAW; Revelador:NP (A - luz visível, B – luz UV 254 nm e C – luz UV 365 nm).

A análise por CLAE confirmou a presença de vários constituintes químicos nos extratos brutos etanólicos (Figuras 21 a 27), respaldando a presença de grupos fenólicos, especificamente flavonoides. A técnica de modificação contínua dos solventes da fase móvel (água acidificada: metanol) no sistema gradiente proposto mostrou eficiência durante a corrida cromatográfica em relação à separação das amostras, principalmente para separação de misturas complexas de constituintes nos extratos com diferentes polaridades em que a afinidade de uma classe de constituintes químicos pela fase estacionária e consequentemente, seu tempo de retenção na coluna, foi controlado pela polaridade da fase móvel. Os cromatogramas e espectros de substâncias padrões (kaempferol-3-rutinosídeo, rutina, miricetina, ácido gálico e ácido ferúlico) permitiram avaliar e caracterizar os perfis químicos das amostras (Fig. 27 a 32).

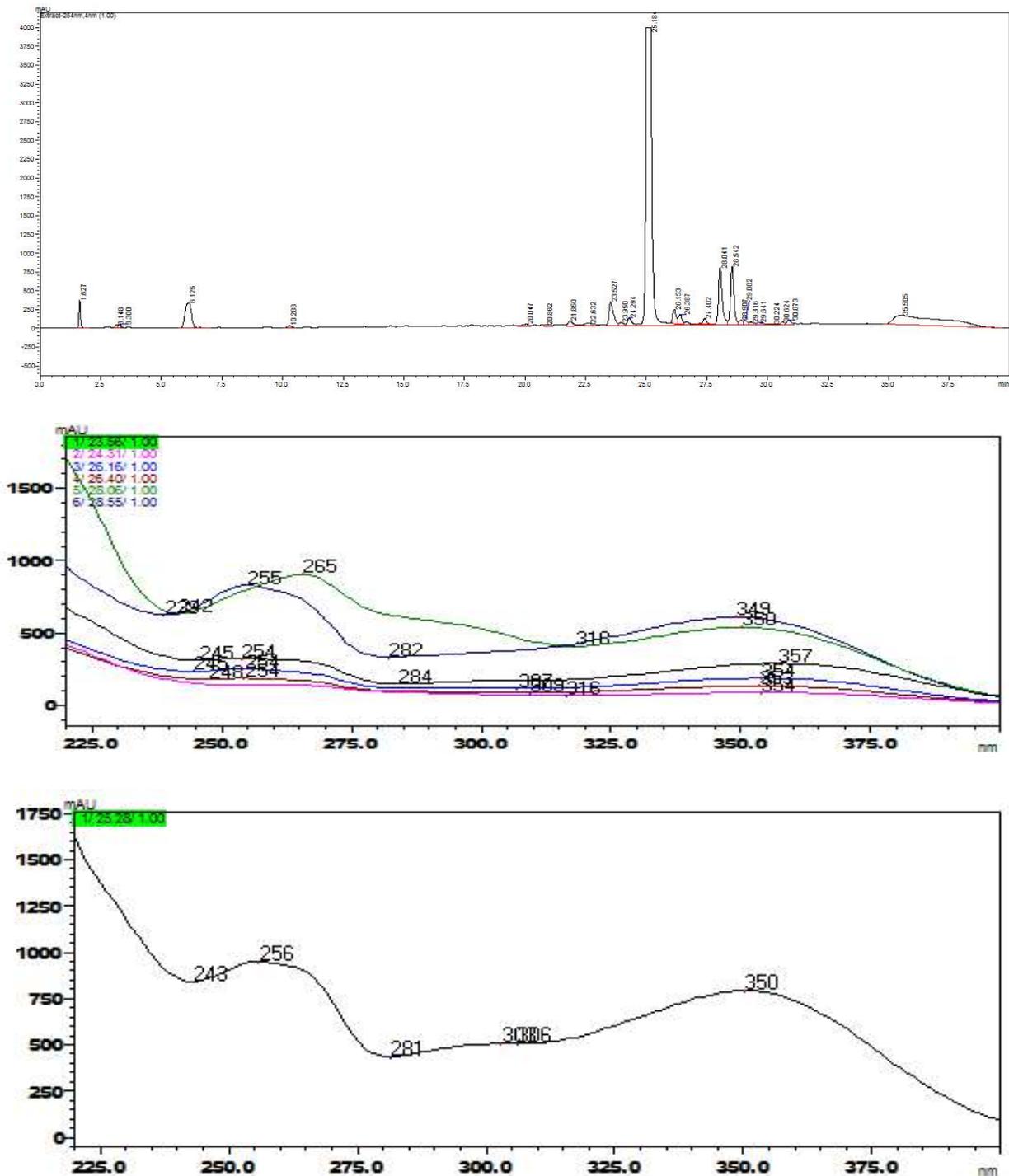


Figura 21. Cromatograma e espectros no UV do extrato etanólico de *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG).

No extrato etanólico de *Pouteria gardneriana* há um predomínio de substâncias características de flavonoides, como verificado nos espectros no UV entre 23 e 29 min. Os espectros de UV apresentam absorções em torno de 255 nm (Banda II) e 354 nm (Banda I) indicativo de flavonoides com posições 5,7-hidroxilados e posição 3-OH substituído,

respectivamente (MARKHAM, 1982). Estes flavonoides são derivados glicosilados de kaempferol ou quercetina.

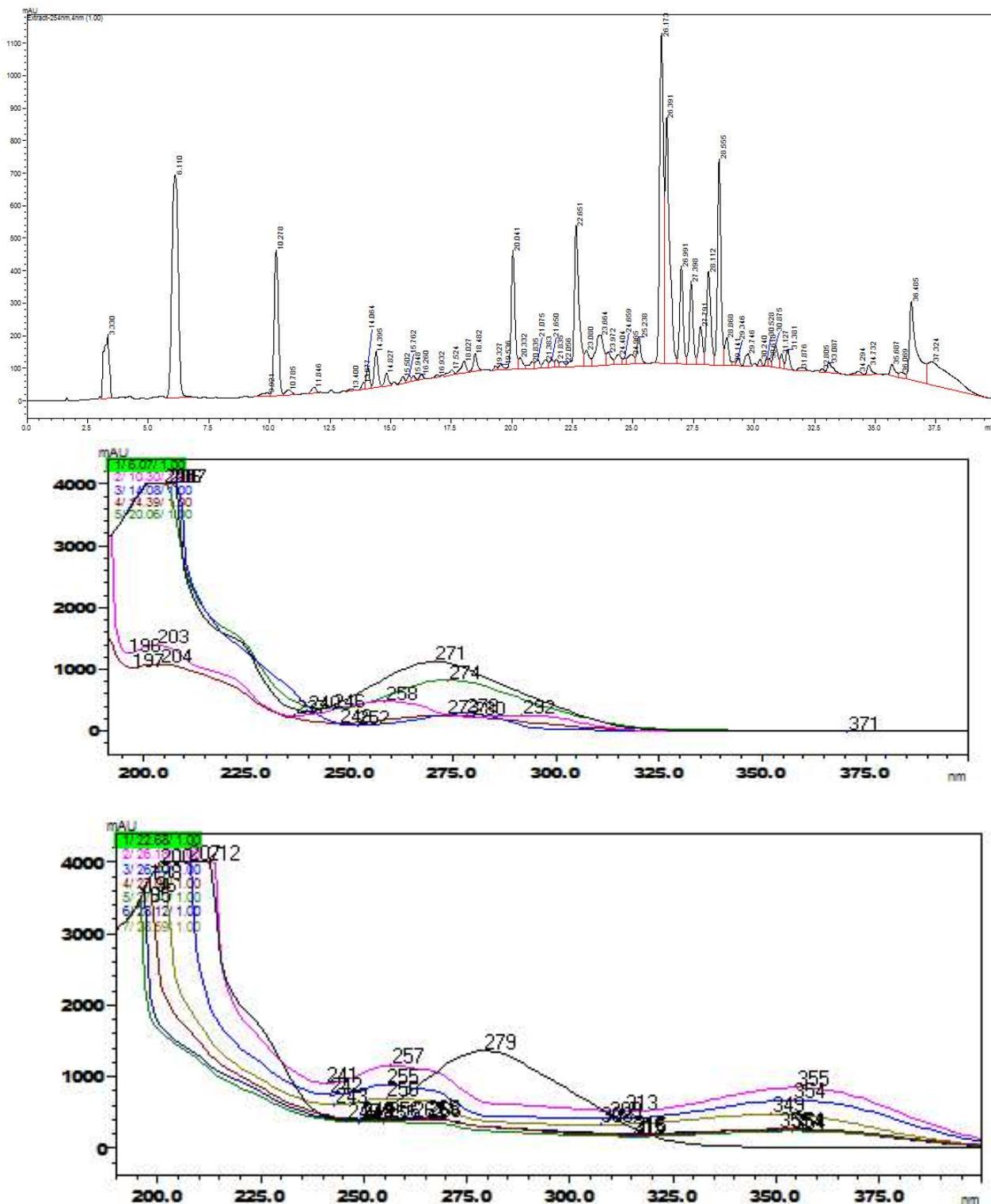


Figura 22. Cromatograma e espectros no UV do extrato etanólico de *Anacardium othonianum* Rizz. (AO).

Entre os tempos de retenção de 6 a 23 min verificou a presença de várias substâncias fenólicas e após 23 min predomina flavonoides de acordo com os espectros no UV.

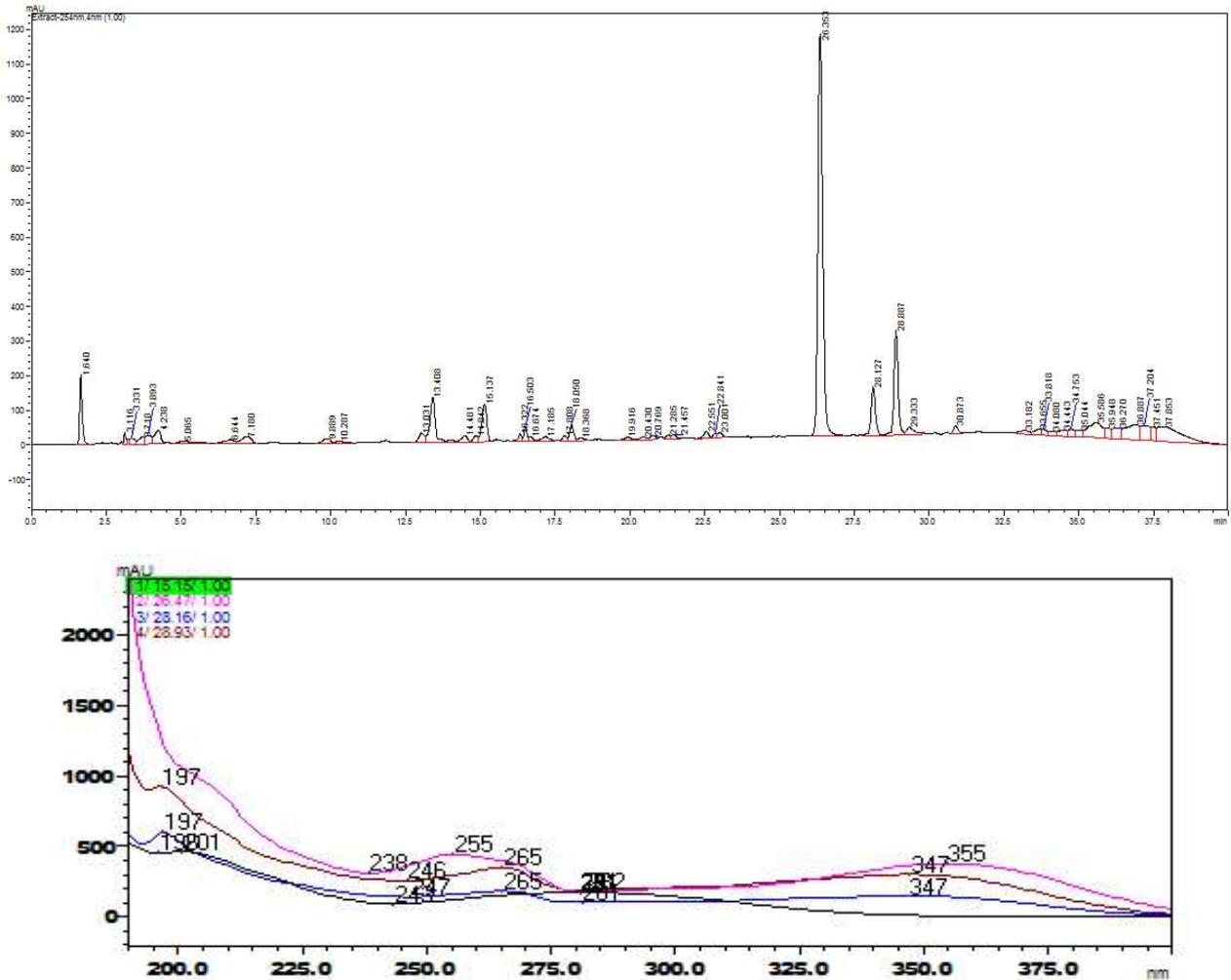


Figura 23. Cromatograma e espectros no UV do extrato etanólico de *Melia azedarach* L. (MA).

Os constituintes majoritários no extrato etanólico de *Melia azedarach* L. (MA) também apresentam perfis de flavonoides. Kumazawa et al (2013) descreveu o isolamento de três flavonoides glicosilados de folhas de *Melia azedarach*: rutina (quercetina 3-O-rutinosídeo), kaempferol 3-O-robinobiosídeo e kaempferol 3-O-rutinosídeo. Comparando as Figuras 23 e 29 verificamos que a substância com tempo de retenção em 26,4 min é a rutina presente neste extrato.

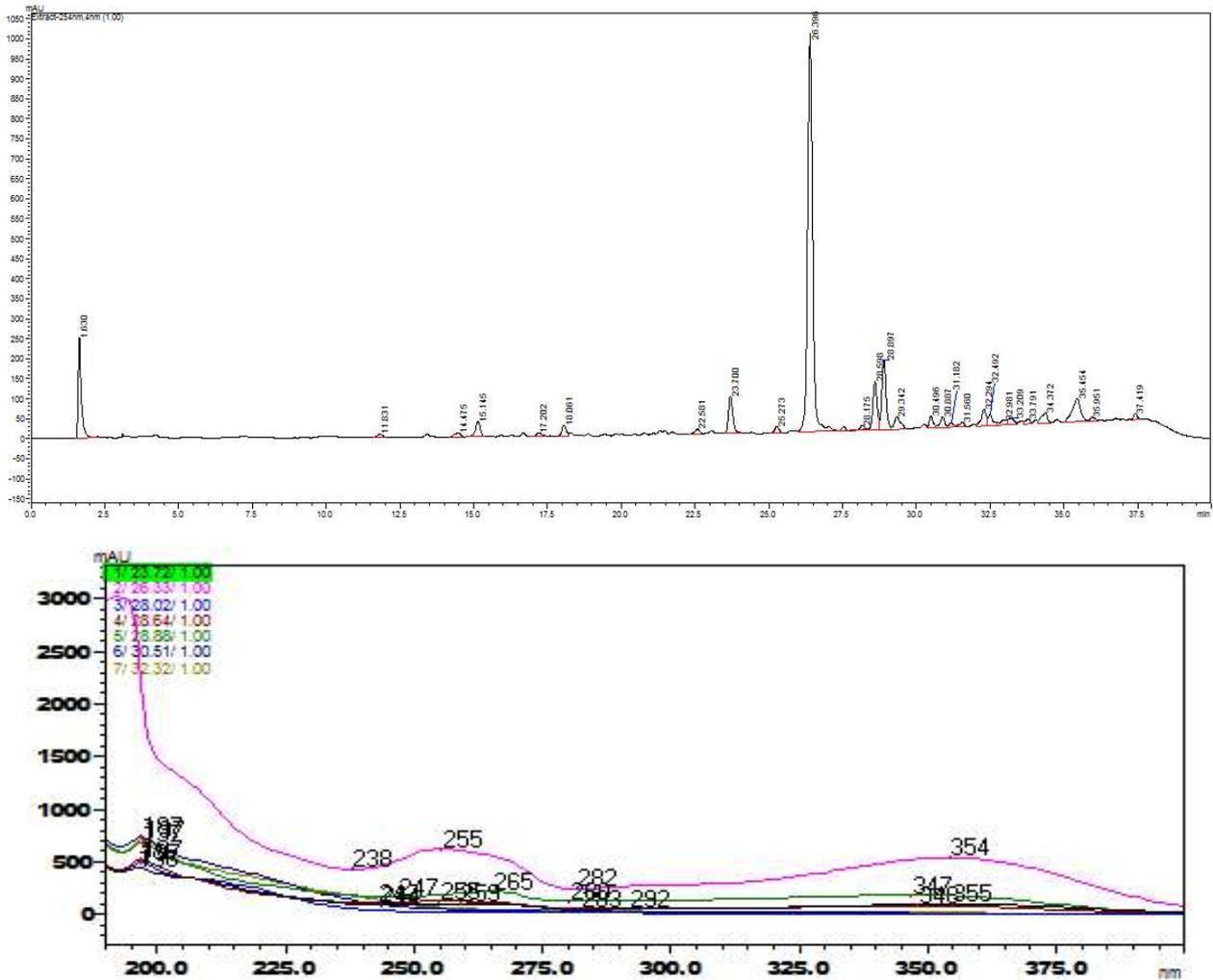


Figura 24. Cromatograma e espectros no UV do extrato etanólico de *Azadirachta indica* L. (AI).

Kitdamrongtham et al. (2014) descreve a presença de flavonoides prenilados em extratos de flores e Manosroi et al. (2014) identificou catequina e epicatequina em casca do caule de *Azadirachta indica* L. Portanto, ao analisar os espectros das principais substâncias identificadas no cromatograma acima (Fig. 24) verifica-se a presença de pelo menos 4 flavonoides.

No extrato etanólico de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC) predomina várias substâncias demonstradas no cromatograma da Figura 25, e evidenciados pelos espectros no UV característicos de derivados do ácido ferúlico (Fig. 32) e de flavonoides.

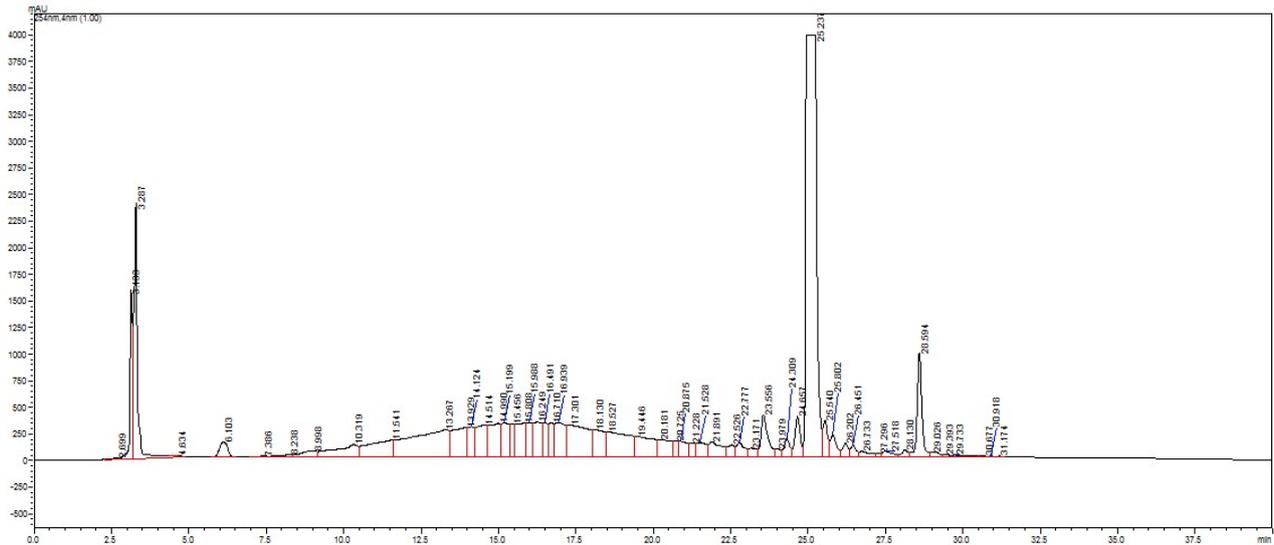


Figura 26D. Cromatograma da fração C do extrato aquoso de *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG).

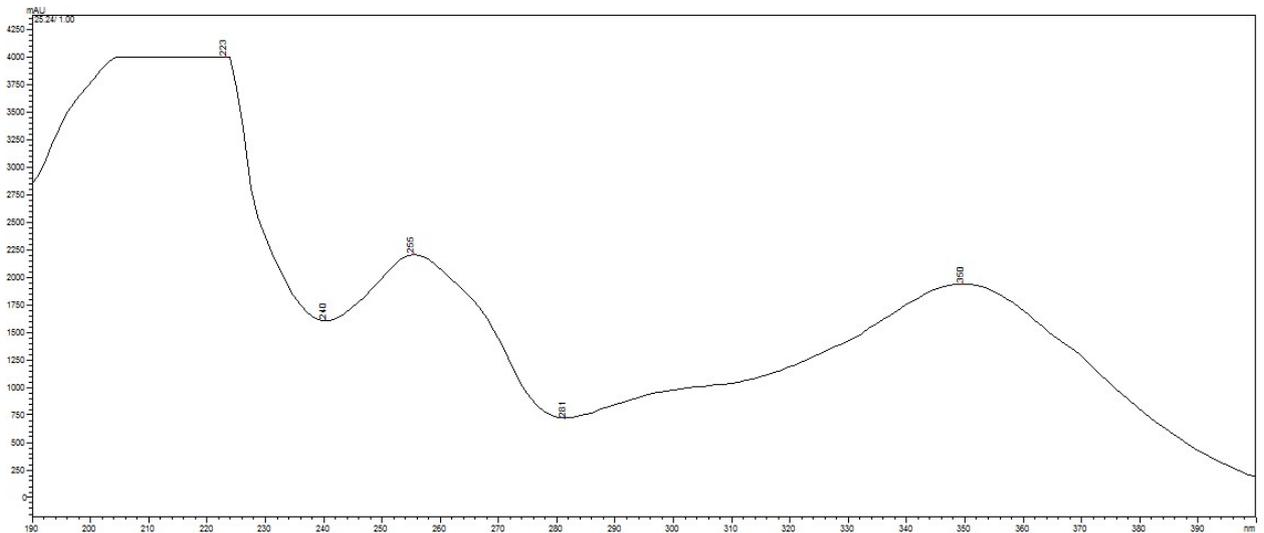


Figura 26E. Espectro no UV do pico em 25,2 min da fração C do extrato aquoso de *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG).

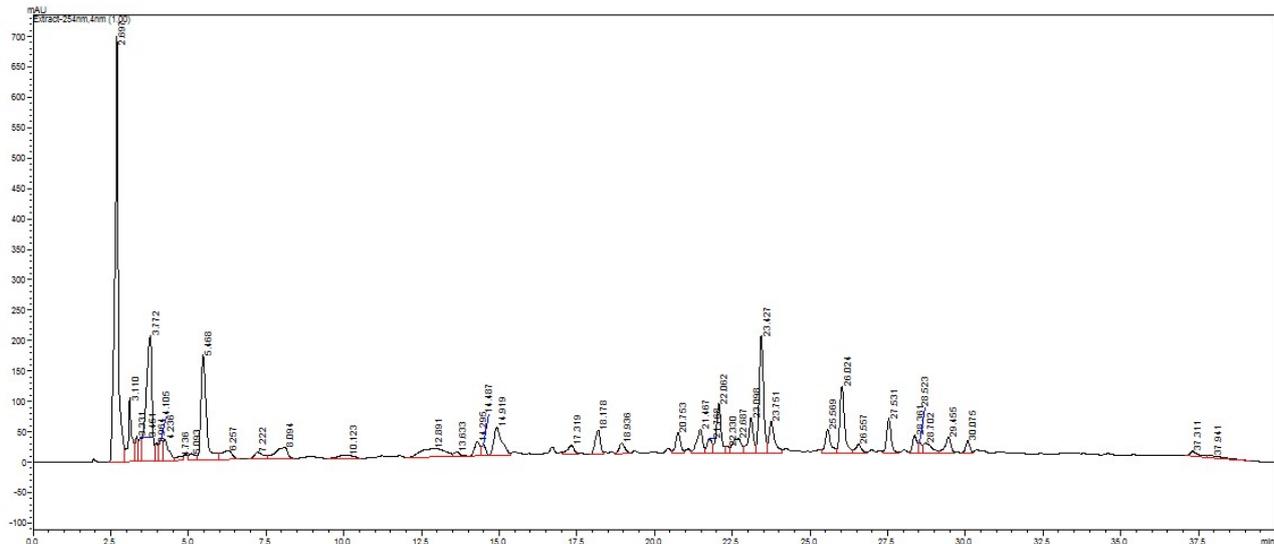


Figura 27A. Cromatograma do extrato aquoso *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC).

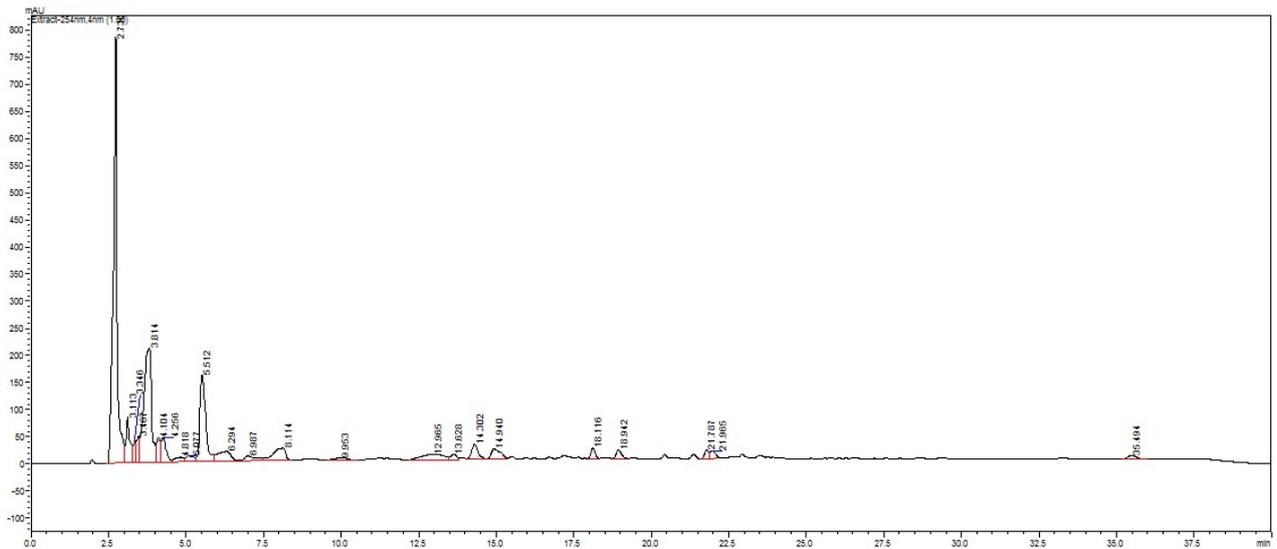


Figura 27B. Cromatograma da fração A do extrato aquoso *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC).

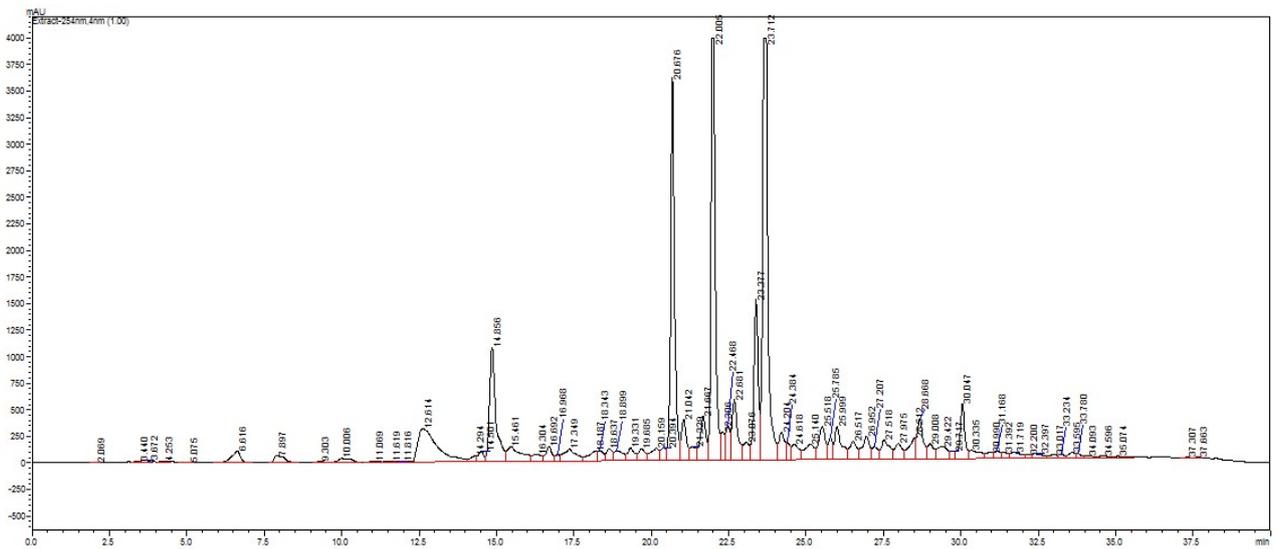


Figura 27C. Cromatograma da fração B do extrato aquoso *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC).

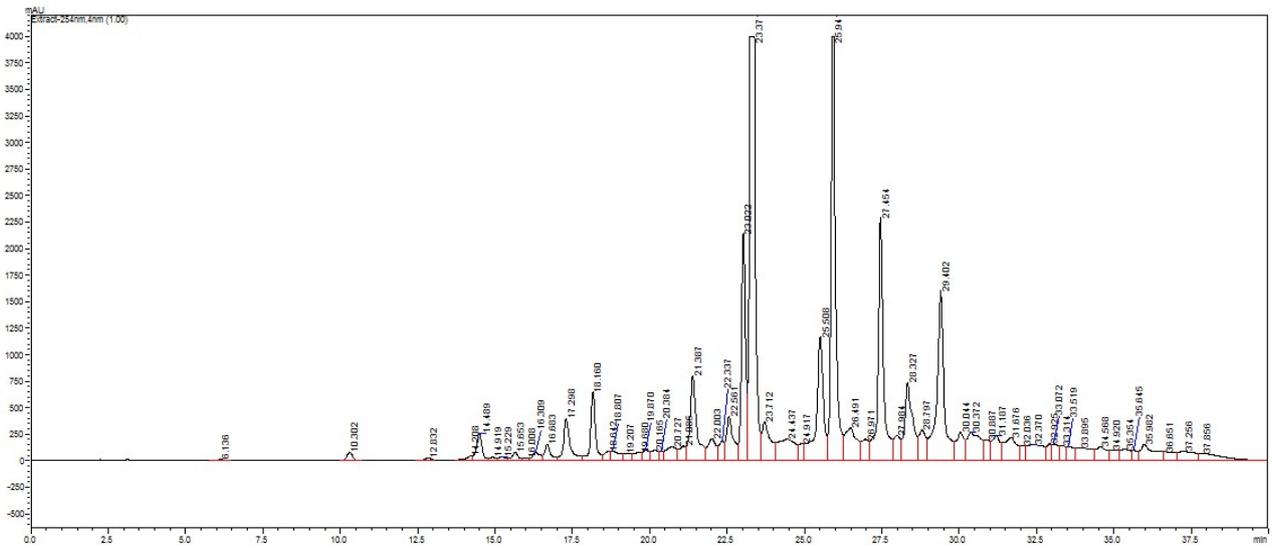


Figura 27D. Cromatograma da fração C do extrato aquoso *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC).

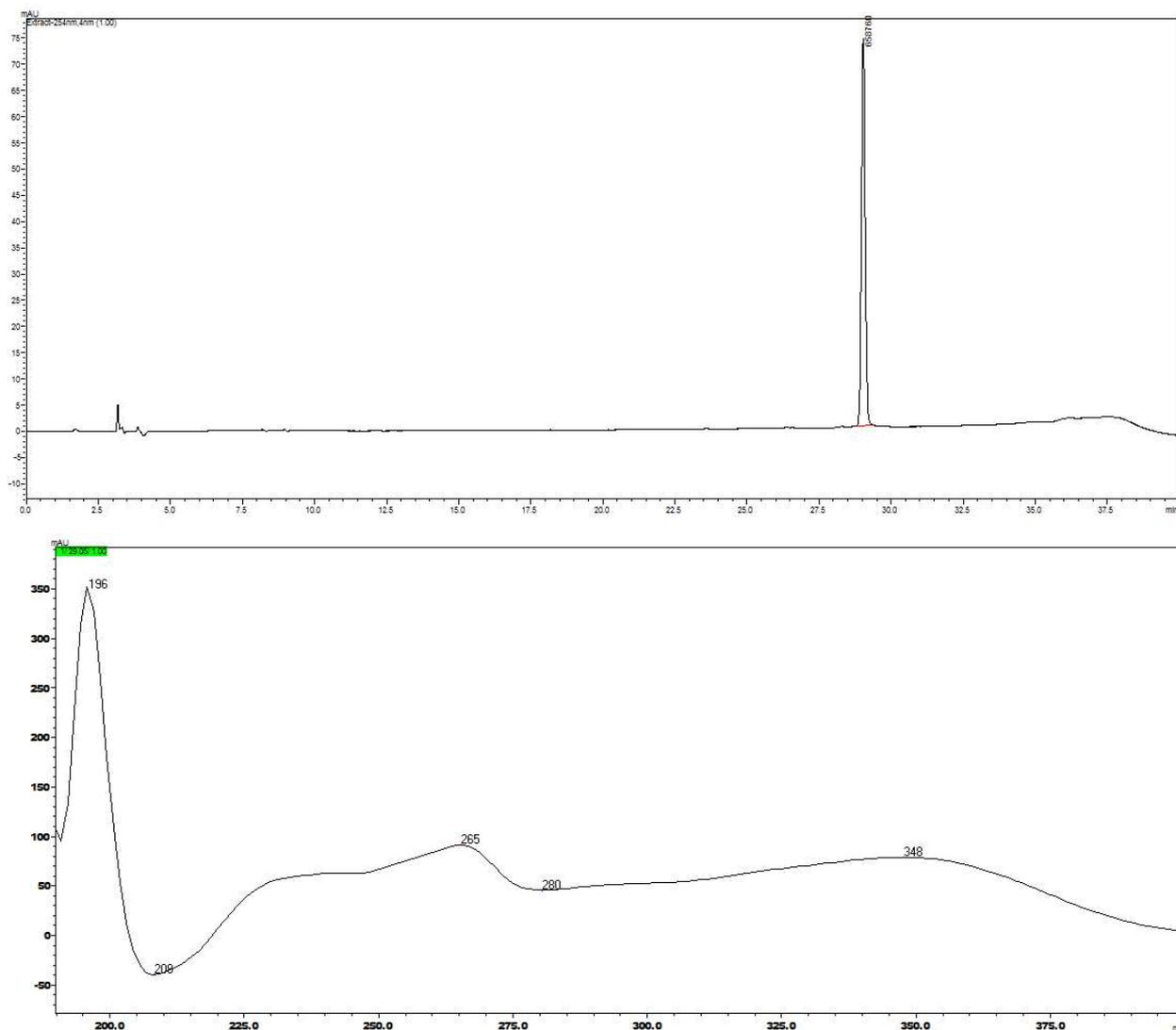


Figura 28. Cromatograma e espectro no UV de kaempferol-3-rutinosídeo (29,0 min) (Padrão).

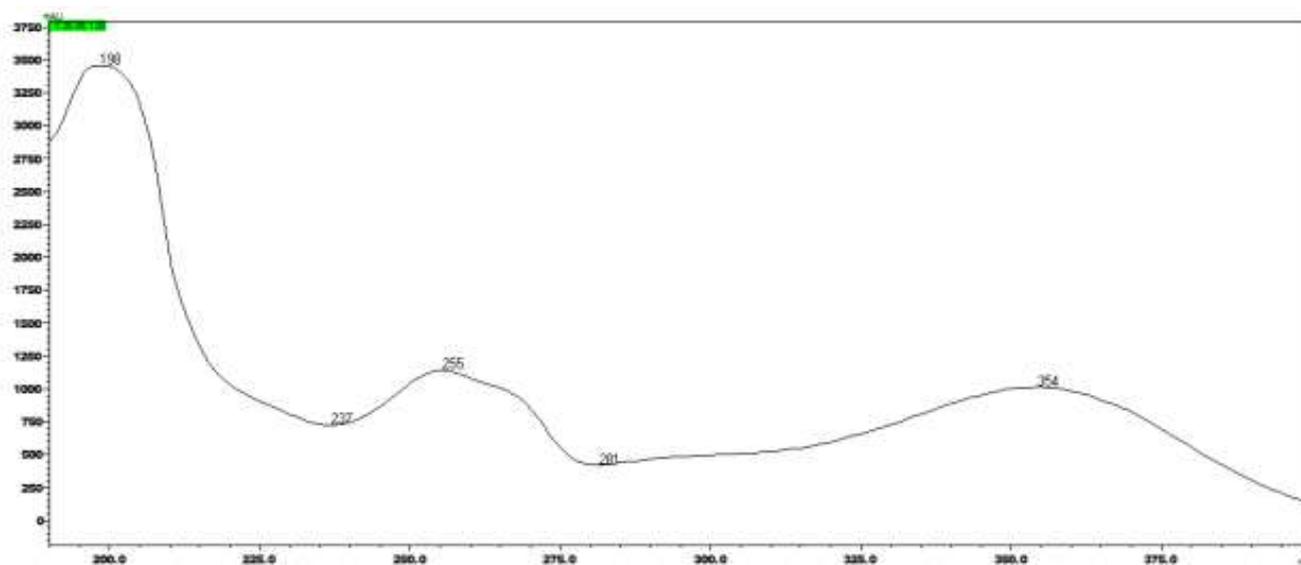
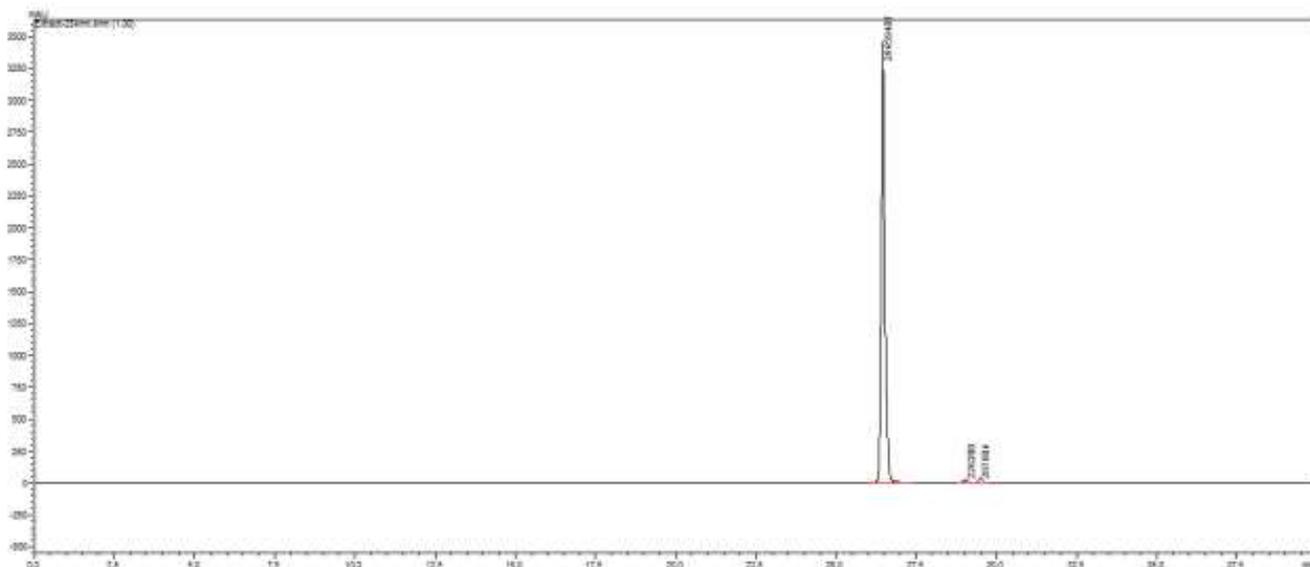


Figura 29. Cromatograma e espectro no UV de rutina (26,4 min) (Padrão).

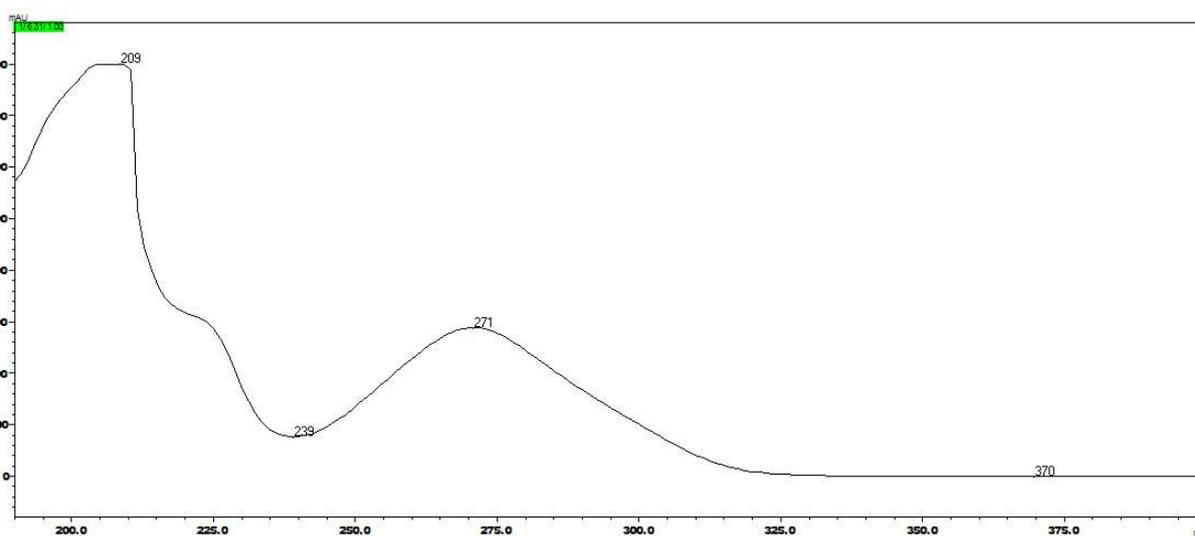
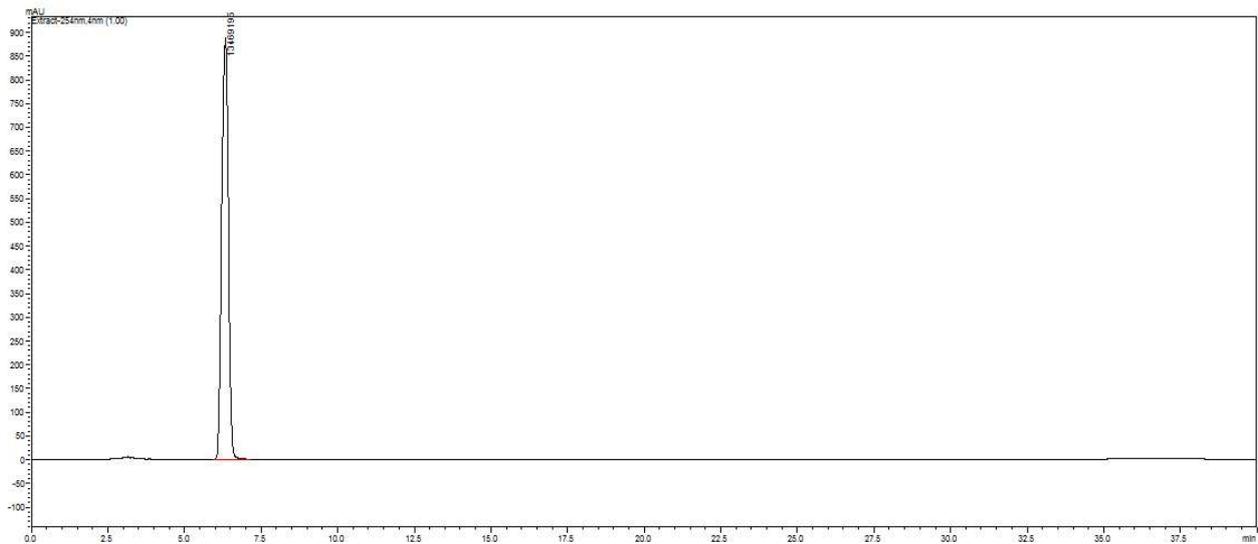


Figura 30. Cromatograma e espectro no UV de ácido gálico (6,3 min) (Padrão).

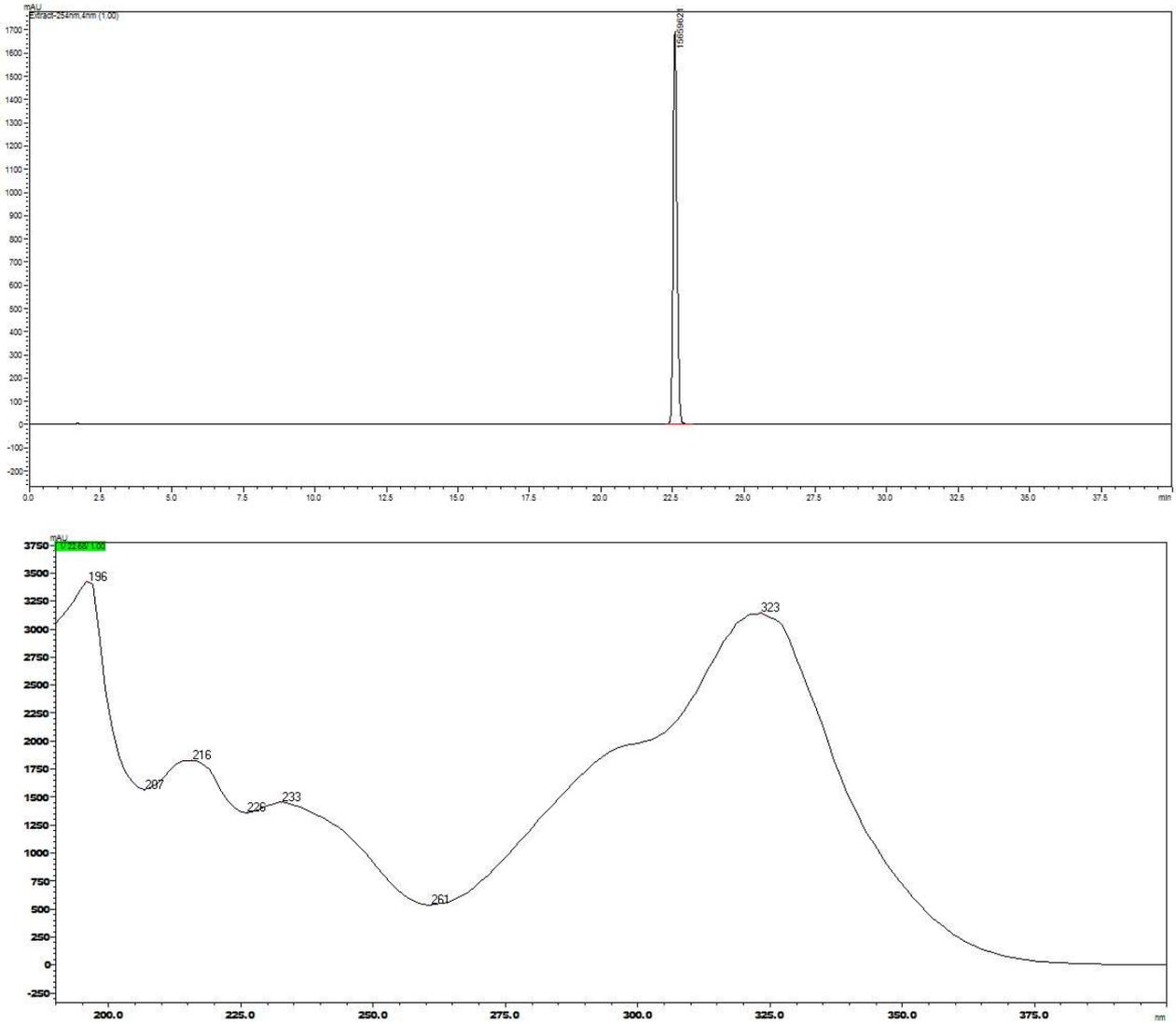


Figura 31. Cromatograma e espectro no UV de ácido ferúlico (22,6 min) (Padrão).

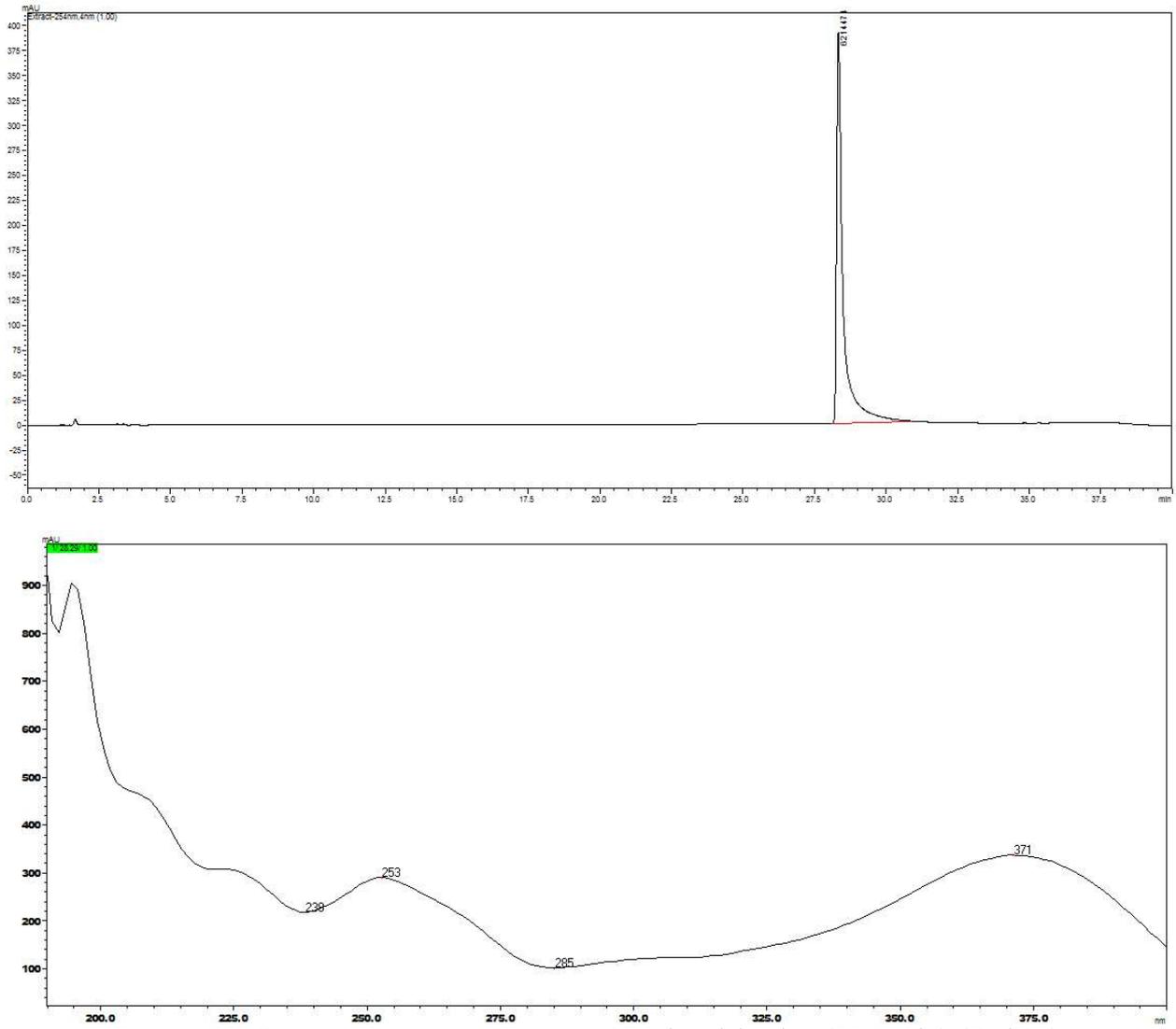


Figura 32. Cromatograma e espectro no UV de miricetina (28,3 min) (Padrão).

3.4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que os extratos das folhas de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.), nim (*Azadirachta indica* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), são potencialmente úteis para o controle de carrapatos *Rhipicephalus B. microplus*, com destaque aos inibidores de acetilcolinesterase.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves WV, Lorenzetti ER, Gonçalves FC (2012) Utilização de acaricidas a base de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: uma contribuição para a produção e desenvolvimento sustentável. Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável 2: 14-25. doi: 10.21206%2Frbas.v2i2.162

Amaral MAZ, Rocha CMBM, Faccini JLH, Furlong J, Monteiro CMO, Prata MCA (2011a) Strategic control of cattle ticks: milk producers perceptions. Rev Bras Parasitol Vet 20: 148-154. doi: 10.1590/S1984-29612011000200010

Amaral MAZ, Rocha CMBM, Faccini JLH, Furlong J, Monteiro CMO, Prata MCA (2011b) Perceptions and attitudes among Milk producers in Minas Gerais regarding cattle tick biology and control. Rev Bras Parasitol Vet 20: 194-201. doi: 10.1590/S1984-29612011000300003

Andreotti R, Soares MA, Barros JC, Robert JM, Pérez De León A (2011) Acaricide resistance of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in State of Mato Grosso do Sul, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 20: 127-33. doi:10.1590/S1984-29612011000200007

Barreto CF, Cavasin GM, Silva HHG, Silva IG (2006) Estudo das alterações morfo-histológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Diptera. Culicidae) submetidas ao extrato bruto etanólico de *Sapindus saponaria* Lin (Sapindaceae). Revista de patologia tropical. 35:37-57

Bennett GF (1974) Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae). Influence of tick size on egg production. Acarologia 6: 52 - 61

Broglio-Micheletti SMF, Valente ECN, DE Souza LA, Silva DN, Araujo AMN (2009) Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. Rev Bras Parasitol Vet 18: 44 – 48. doi:10.4322/rbpv.01804008

Brunherotto R, Vendramim JD (2001) Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meurick) (Lepidoptera; Gelechiidae) em tomateiro. Neotrop Entomol 30: 455-459. doi:10.1590/S1519-566X2001000300019

Buss EA, Park-Brown SG (2006) Natural products for insect pest management. University of Florida IFAS Extension, Florida

Buzatti A, Krawczak FS, Pivoto FL, Vogel FSF, Botton SA, Zanetti GD, Manfron MP, Sangioni LA (2011) Atividade acaricida *in vitro* de *Glechon spathulata* Benth. sobre teleóginas

de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Cienc Rural 41: 1813-1817. doi: 10.1590/S0103-84782011001000023

Chagas ACS, Georgetti CS, Carvalho CO, Oliveira MCS, Rodrigues RA, Foglio MA, Magalhães PM (2011) *In vitro* activity of *Artemisia annua* L (Asteraceae) extracts against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Rev Bras Parasitol Vet 20: 31-35. doi: 10.1590/S1984-29612011000100007

Copping LG, Menn JJ (2000) Biopesticides: A review of their action, applications and efficacy. Pest Manag Sci 56: 651 – 676. doi: 10.1002/1526-4998(200008)56:8<651::AID-PS201>3.0.CO;2-U

Drummond RO, Ernest SE, Trevino JL, Gradney WJ, Graham OH (1973) *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests of insecticides. Journal of Economy Entomology 66: 30–133. doi: 10.1093/jee/66.1.130

Furlong J, Martins JRS, Prata MCA (2007) O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? Controle estratégico do carrapato dos bovinos. A Hora Veterinária 27: 53–56

Friesen KJ, Kaufman WR (2003) Cypermethrin inhibits egg development in the ixodid tick, *Amblyomma hebraeum*. Pestic Biochem Physiol 76: 25 – 35. doi: 10.1016/S0048-3575(03)00032-4

Guerrero FD, Pruett JH, Li AY (2002) Molecular and biochemical diagnosis of esterase-mediated pyrethroid resistance in a Mexican strain of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). Exp Appl Acarol 28: 257-264. doi: 10.1007/978-94-017-3526-1_26

Grisi L, Leite RC, Martins JRDS, Barros ATM, Androtti R, Cançado, PHD, León AAP, Pereira JB, Villela HS (2014) Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Rev Bras Parasitol Vet 23: 150-156. doi.org/10.1590/S1984-29612014042

Hirata T, Czapar A, Brin L, Haritonova A, Bondeson DP, Linser P, Cabrero P, Thompson J, Dow J.A, Romero MF (2012) Ion and solute transport by Prestin in *Drosophila* and *Anopheles*. J Insect Physiol 58: 563-569. doi:10.1016/j.jinsphys.2012.01.009

IBGE (2014) Sistema do instituto brasileiro de geografia e estatística de recuperação automática SIDRA. IBGE Efetivos/ Rebanhos Brasil. <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2>. Acessado em 11 de abril de 2016

Isman MB (1997) Neem and other botanical insecticides: Barriers to commercialization. Phytoparasitica 25:339–344. doi: 10.1007/BF02981099

Kitdamrongtham W, Ishii K, Ebina K, Zhang J, Ukiya M, Koike K, Akazawa H, Manosroi A, Manosroi J, Akihisa T (2014) Limonoids and flavonoids from the flowers of *Azadirachta indica* var. *siamensis*, and their melanogenesis-inhibitory and cytotoxic activities. Chem Biodivers 11:73-84. doi: 10.1002/cbdv.201300266

Kumazawa S, Kubota S, Yamamoto H, Okamura N, Sugiyama Y, Kobayashia H, Nakanishi M, Ohta T (2013) Antiangiogenic activity of flavonoids from *Melia azedarach*. Nat Prod Commun 8:1719-20

Monteiro CMO, Daemon E, Clemente MA, Rosa LS, Maturano R (2009) Acaricidal efficacy of thymol on engorged nymphs and females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res* 105: 1093–1097. doi: 10.1007/s00436-009-1530-x

Markham KR (1982) *Techniques of flavonoid identification*. Academic Press, London

Marston A, Kissling J, Hostettmann KA (2002) A rapid CCD bioautographic method for the detection of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors in plants. *Phytochem Anal* 13:51-54. doi: 10.1002/pca.623

Manosroi A, Kitdamrongtham W, Ishii K, Shinozaki T, Tachi Y, Takagi M, Ebina K, Zhang J, Manosroi J, Akihisa R, Akihisa T (2014) Limonoids from *Azadirachta indica* var. *siamensis* extracts and their cytotoxic and melanogenesis-inhibitory activities. *Chem Biodivers* 11:505-31. doi: 10.1002/cbdv.201300406

Newman DJ, Cragg GM (2012) Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J Nat Prod* 75: 311-335. doi: 10.1021/np200906s

Pruett JH, Pound JM (2006) Biochemical diagnosis of organophosphate-insensitivity with neural acetylcholinesterase extracted by sonication from the adult tick synganglion. *Vet Parasitol* 135: 355-363. doi:10.1016/j.vetpar.2005.09.013

Ravindran R, Juliet S, Sunil AR, Ajith Kumar KG, Suresh NN, Amithamol KK, SHYNU M, Rawat AKS, Ghosh S (2011) Eclosion blocking effect of ethanolic extract of *Leucas aspera* (Lamiaceae) on *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. *Vet Parasitol* 179: 287 - 290. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.02.021

Rees HH (2004) Hormonal control of tick development and reproduction. *Parasitology* 129: S127 - S143. doi: 10.1017/S003118200400530X

Ribeiro BM, Machado MA, Novelli VM, Sato MA, Freitas-Astúa J (2007) Potencial de aplicação de técnicas alternativas para monitoramento e detecção de resistência a pesticidas em artrópodes-praga de citros. *Laranja* 28: 1-16

Sankhon N, Lockey T, Rosell RC, Rothschild M, Coons L (1999) Effect of methoprene and 20-hydroxyecdysone on vitellogenin production in cultured fat bodies and backless explants from unfed female *Dermacentor variabilis*. *J Insect Physiol* 45: 755 – 761. doi:10.1016/S0022-1910(99)00054-2

Silva WW, Athayde ACR, Rodrigues OG, Araújo GMB, Santos VD, Neto ABS, Coelho MCOC, Marinho ML (2007) Efeitos do neem (*Azadirachta indica* A. Juss) e do capim santo [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf] sobre os parâmetros reprodutivos de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) no semiárido paraibano. *Rev. Bras. Pl. Med* 9: 1-5.

Viegas Júnior C (2003) Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para o controle químico de insetos. *Quim Nova* 26:390–400. Doi: 10.1590/S0100-40422003000300017

Wagner H, Bladt S (1996) *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Springer, Berlin

4 CAPÍTULO II

Atividade acaricida do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis marrubioides* EPL. no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

RESUMO

O uso de óleos essenciais e a aplicação de métodos cientificamente comprovados, no controle de carrapatos, dependem fundamentalmente do desenvolvimento de protocolos eficientes e competitivos. O controle deste ectoparasita é normalmente realizado pelo uso de acaricidas sintéticos, a maioria deles produtos comerciais, que cada vez mais tem reduzido a eficiência devido ao desenvolvimento de estirpes resistentes, causadas por anos de uso indiscriminado, sem critérios técnicos adequados. Visando determinar tecnologias para a sua produção, tornando possível o fornecimento de um produto natural, renovável e biodegradável para ser incluído no processo de criação de gado dos agropecuaristas, despontando como alternativa rentável. Objetivou-se com este estudo avaliar a atividade acaricida do óleo essencial das espécies bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit), hortelã-do-campo (*Hyptis marrubioides* EPL) e sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: peso da fêmea antes da postura, peso da massa de ovos, percentual de eclosão de larvas, eficiência reprodutiva, índice de produção de ovos. A partir desses valores foi calculado o percentual de controle. O óleo essencial das espécies de bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit), hortelã-do-campo (*Hyptis marrubioides* EPL) e sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) teve controle parcial em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus Boophilus microplus*.

PALAVRAS-CHAVES: carrapatos, metabólitos secundários, controle estratégico, acaricidas botânicos.

4.1 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira conta com rebanho estimado em 212.343.932 de cabeças de bovino no ano de 2014 (IBGE, 2014), sendo 20% com finalidade de produção leiteira e 80% para corte. A produção atende às demandas internas e externas; entretanto, do ponto de vista zootécnico estes dados poderiam ser maiores, se as limitações nos níveis de produtividade no país não estivessem abaixo da sua real potencialidade. Um dos principais entraves para a pecuária brasileira são as perdas econômicas ocasionadas pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887), um ectoparasita hematófago que infesta principalmente bovinos (CONSTANTINOIU, 2010).

Estas perdas causadas por este ectoparasita são relacionados a baixa conversão alimentar, perda de peso crônica, redução da qualidade do couro, lesões na pele que favorecem desenvolvimento de miíases, anemia, vetor de patógenos causadores de doenças como a TPB (Tristeza parasitaria bovina) e gastos monetários com métodos de controle. Estimavas recente calculam que os prejuízos causados por carrapatos em bovinos podem chegar a US\$ 3.236.35 de dólares ao ano, somente no Brasil (GRISI et al. 2014).

O controle deste ectoparasita é normalmente realizado pelo uso de acaricidas sintéticos, mas a maioria deles produtos comerciais, ficando cada vez mais complicado, em função da baixa eficiência por causa do desenvolvimento de estirpes resistentes, causadas por anos de uso indiscriminado, sem critérios técnicos adequados (FURLONG et al. 2007; AMARAL et al. 2011).

No entanto, em decorrência desta procura por alternativas de controle promissoras o uso de extratos vegetais de plantas biocidas é utilizado como uma estratégia, visando o aproveitamento racional do seu potencial fitoterápico (MONTENEGRO et al., 2006). A produção de metabólitos especiais pelas plantas para defesa de invasores torna-se importante fonte de medicamentos, nos últimos anos, a investigação da atividade acaricida de óleos essenciais tem intensificado (RIBEIRO et al 2010; CLEMENTE et al 2010; PIRALI-KHEIRABADI e SILVA 2010; GAZIM et al. 2011).

As espécies do gênero *Hyptis sp.*(Lamiaceae) tradicionalmente usadas como anestésico, antiespasmódica, agente anti-inflamatório, e pode induzir o aborto em alta dosagem (SALES et al., 2007; ARRIGONI-BLANK et al., 2008; MARTINS e POLO, 2009; BOTREL et al. 2010).

Visando determinar tecnologias para a sua produção, tornando possível o fornecimento de um produto natural, renovável e biodegradável para ser incluído no processo de criação de gado dos agropecuaristas, despontando como uma alternativa rentável. Objetivou-se com este estudo avaliar a atividade acaricida do óleo essencial das espécies bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit), hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL) e sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bionanotecnologia (BINATE) e Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) ambos no Instituto Federal Goiano – *Campus* Rio Verde, (20° 45' 53'' S; 51° 55' 53'' O, com altitude média de 748 m).

Coleta e Secagem

Folhas de: *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis marrubioides* EPL. foram coletadas no Horto de Plantas Nativas do IFGoiano *Campus* Rio Verde, GO. Este material será seco em estufa com circulação de ar, a $34,7 \pm 1,5$ °C, até atingir peso constante. Posteriormente, triturado em moinho de facas. Obtendo os pós finos. As exsiccatas das espécies em estudo estão depositadas no herbário do Instituto Federal Goiano *Campus* Rio Verde (IFGoiano/Rio Verde) com os respectivos números 477, 492 e 476.

Preparo do óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada usando um aparelho Clevenger modificado adaptado a um balão de 3L pelo método de hidrodestilação, por arraste com vapor d'água. No balão foi colocada a amostra juntamente com 1 L de água destilada. Foram utilizadas aproximadamente 100 g de fitomassa seca e/ou *in natura*. O tempo de extração foi de 1 hora. Coletou-se o hidrolato, que em seguida foi centrifugado em centrífuga (UNIVERSAL 320/320 R Hettich Zentrifugen) a 5°C e 9000 rpm por cinco minutos. Retirou-se o óleo essencial com auxílio de uma micropipeta, acondicionando em um frasco de vidro âmbar envolto com papel alumínio, mantendo-o sobre refrigeração.

Posteriormente, o óleo essencial foi diluído em água destilada + 3% TWEN 80[®], nas concentrações 0,5, 1 e 2% para determinar qual tem maior atividade acaricida em relação ao carrapato.

Teste de bioatividade

As fêmeas ingurgitadas do *R. (B.) microplus*, foram coletadas manualmente, de bovinos mestiços (Holandês x Zebu) naturalmente infestados. Em diversas propriedades rurais do município de Rio Verde – Goiás, Urutaí – GO e Morrinhos – GO. Foi realizada a triagem das teleóginas, verificando-se mobilidade, ingurgitamento, agilidade e/ou presença de traumatismos. Em seguida, foram lavadas com água destilada e água sanitária 0,01%, secas em folhas de papel germitest para

absorção do líquido e acondicionadas em câmara climatizada com temperatura de $27\pm 1^\circ\text{C}$ e umidade de $80\pm 10\%$, por 24 horas.

Teste *in vitro* com Teleóginas de *R. (B.) microplus*

Para a avaliação da eficácia dos extratos sobre as fêmeas ingurgitadas foram realizados testes de imersão preconizados por DRUMMOND et al. (1973) e BENNETT (1974). Fêmeas ingurgitadas foram pesadas e separadas em grupos com pesos homogêneos de 10 teleóginas e imersas nas soluções previamente preparadas. Após cinco minutos, foram retiradas, secas e acondicionadas em placas de Petri de 12 cm de diâmetro para dar continuidade no acompanhamento da biologia da fase não parasitária destes carrapatos. Sendo que foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos:

Peso inicial: peso da fêmea ingurgitada (peso da teleógina);

Peso da postura: peso total da massa de ovos de cada fêmea;

Percentual de eclosão (%EC): estimativa visual de larvas eclodidas em relação à massa de ovos de cada fêmea;

Índice de produção de ovos (IPO): o índice será obtido de acordo com a equação proposta por BENNETT (1974). $\text{IPO} = \text{massa de ovos} \times 100 / \text{peso inicial}$. O IPO avalia quanto do sangue ingerido será convertido em ovos;

Eficiência reprodutiva (RE) – obtida pela fórmula: $(\text{Peso da postura} / \text{Peso inicial}) \times \% \text{EC} \times 20.000$ (DRUMMOND et al., 1973);

Percentual de controle (%C): foi obtido segundo a fórmula de DRUMMOND et al. (1973): $\% C = (\text{RE grupo controle} - \text{RE grupo tratado}) / \text{RE grupo controle} \times 100$. Este índice avalia a eficácia dos tratamentos.

Os tratamentos consistiram óleo essencial das espécies bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit), hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL) e sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) em três concentrações 0,5, 1 e 2% (v/v), mais o controle (água destilada + 3% TWEN 80®). O experimento foi implantado com 10 fêmeas distribuídas em placas de petri para cada uma das três repetições dos tratamentos, em delineamento inteiramente ao acaso.

Os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e $80\pm 10\%$ UR). As massas de ovos de cada fêmea foram acondicionadas individualmente em seringas de 10ml devidamente identificadas, com a parte distal cortada, vedadas com algodão hidrófilo e mantidas em câmara climatizada nas mesmas condições de temperatura citadas anteriormente.

Os dados foram analisados através programa estatístico R, contendo 10 tratamentos, com 3 repetições por tratamento. Variáveis em porcentagem foram transformadas e analisadas. As médias

dos diferentes parâmetros foram comparadas por teste não paramétrico de Kruskal Wallis ($p < 0,05$), por não constatar normalidade nos dados.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos parâmetros avaliados no teste de imersão usando os óleos essenciais das espécies em estudo são descritos na tabela (6). O peso padrão das fêmeas utilizadas neste experimento foi entre 267,57 a 273,50mg. Para o peso da massa de ovos os valores foram entre 32,33 a 76,96mg, e os valores do percentual de eclosão de 0,28 a 3,74% não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$).

Tabela 6: Peso das fêmeas antes da postura, peso da massa de ovos e percentual de eclosão de *Rhipicephalus Boophilus microplus* tratados com óleos essenciais das espécies de bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit) (HS), hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL) (HM) e sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) (HP) nas concentrações de 0,5, 1 e 2%, Rio Verde – GO, 2015.

	Concentração (%)	Peso da fêmea antes da postura (mg)	Peso da massa de ovos (mg)	Percentual de eclosão (%)
Controle		271,53±29,62 (30)	62,00±37,73 ^{abc} (25)	1,06±3,17 ^a (25)
HS	0,5	267,57±26,47 (30)	66,54±30,83 ^{abc} (26)	1,50±4,36 ^a (26)
HS	1	270,20±28,26 (30)	32,33±31,29 ^c (27)	1,61±5,22 ^a (27)
HS	2	268,87±27,61 (30)	68,20±28,32 ^{abc} (25)	1,09±3,54 ^a (25)
HM	0,5	273,20±23,35 (30)	63,52±30,76 ^{abc} (23)	3,74±10,07 ^a (23)
HM	1	272,10±27,99 (30)	76,96±30,76 ^a (27)	1,65±4,96 ^a (27)
HM	2	270,17±28,09 (30)	55,12±36,11 ^{bc} (25)	0,58±1,28 ^a (25)
HP	0,5	269,77±23,52 (30)	69,92±29,05 ^{ab} (25)	0,28±1,30 ^a (25)
HP	1	273,50±30,44 (30)	60,55±35,85 ^{abc} (22)	0,50±2,13 ^a (22)
HP	2	272,03±26,13 (30)	70,27±32,91 ^{ab} (22)	0,41±1,14 ^a (22)

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis ($p < 0,05$). () – Tamanho da amostra. (Valores da média ± desvio padrão).

A eficácia dos óleos essenciais contra fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus Boophilus microplus* foi avaliada por determinação do índice de produção de ovos, eficiência reprodutiva e porcentagem de mortalidade de fêmeas ingurgitadas, descritos na tabela (7).

Os valores obtidos para índice de produção de ovos foram calculados segundo (BENNETT et al., 1974). Já os parâmetros de eficiência reprodutiva e percentual de controle das fêmeas tratadas

com os óleos essenciais foram obtidos através do cálculo de Drummond et al., 1973. Ambos os cálculos utilizaram os dados contidos na tabela 7.

Tabela 7: Índice de produção de ovos (IPO), Eficiência reprodutiva e Taxa de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus Boophilus microplus* tratados com óleos essenciais das espécies de bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit) (HS), hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL) (HM) e sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) (HP) nas concentrações de 0,5, 1 e 2%, Rio Verde – GO, 2015.

Espécies	Concentração (%)	*IPO (%)	+Eficiência Reprodutiva	Mortalidade (%)
Controle		22,83	4840,66	16,67
HS	0,5	24,87	7460,40	13,34
HS	1	19,37	6240,92	10,00
HS	2	25,37	5519,58	16,67
HM	0,5	23,25	17387,71	23,34
HM	1	28,28	9323,51	10,00
HM	2	20,40	2366,66	16,67
HP	0,5	25,92	1451,45	16,67
HP	1	22,14	2213,73	26,67
HP	2	25,83	2113,56	26,67

*- Calculado segundo Bennett et al. (1974).

+ - Calculado segundo Drummond et al. (1973).

A mortalidade das fêmeas ingurgitadas causada pelo óleo essencial da espécie sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) (HP) na concentração de 1 e 2% foi de 26,67%, sendo os tratamentos que tiveram o maior valor para este parâmetro, para hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL) (HM) a 0,5% o valor encontrado foi de 23,34%. Para o controle o valor obtido foi de 16,67%, o mesmo para (HP) a 0,5%, bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit) (HS) e hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL) (HM) na concentração de 2%. Para (HS) a 0,5% o valor obtido foi de 13,34%, maior que os valores de 10,00% encontrados para (HM) e (HS) a 1%.

O percentual de controle dos óleos essenciais nas concentrações 0,5, 1 e 2% das espécies sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus Boophilus microplus* foi positivo e mais eficiente para a espécie sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) (HP) com os respectivos valores 70,02, 54,72 e 56,34%. A espécie hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL) (HM) nas mesmas concentrações teve -259,20, -92,61 e 51,11%. Para a espécie bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit) (HS) -54,12, -28,93 e -14,03.

Verificou-se através dos resultados obtidos dos cálculos de mortalidade que a maior taxa foi para a espécie (HP) nas maiores concentrações, podendo atribuir aos constituintes químicos presente, como monoterpenoides, sesquiterpenoides, lactonas (BOALINO et al., 2003),

triterpenoides (ARRIGONI-BLANK et al., 2010). Interferindo também na eficiência reprodutiva e consequentemente no índice de produção de ovos.

Olivo et al. (2008), comprovaram a atividade carrapaticida de citronela, verificaram que esta ação deve-se aos princípios ativos citronelal e geraniol. A atividade carrapaticida sobre *R. microplus* determinada pela alta mortalidade de fêmeas ingurgitadas e a redução do número e peso de ovos, diminuição de eclosão de larvas e mortalidade de larvas em baixas concentrações do óleo essencial da espécie *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) foi verificada em estudo realizado por Gazim et al. (2011).

4.4 CONCLUSÃO

O óleo essencial das espécies de bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit), hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL) e sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) teve controle parcial em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus Boophilus microplus*.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amaral MAZ, Rocha CMBM, Faccini JLH, Furlong J, Monteiro CMO, Prata MCA (2011b) Perceptions and attitudes among Milk producers in Minas Gerais regarding cattle tick biology and control. Rev Bras Parasitol Vet 20: 194-201. doi: 10.1590/S1984-29612011000300003

Arrigoni-Blank MF, Antonioli AR, Caetano LC, Campos DA, Blank AF, Alves PB, (2008) Antinociceptive activity of the volatile oils of *Hyptis pectinata* L. Poit. (Lamiaceae) genotypes. Phytomedicine 15: 334–339. doi:10.1016/j.phymed.2007.09.009

Arrigoni-Blank MF, Blank AF, Costa AG, Alves PB, Costa AS (2010) Influência do horário de colheita e de secagem no óleo essencial de *Hyptis pectinata* L. Poit (Lamiaceae). Scientia Plena 6: 1-5

Bennett GF (1974) Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae). Influence of tick size on egg production. Acarologia 6: 52 - 61

Boalino DM, Connolly JD, McLean WF, Reynolds WF, Tinto WF (2003) α -Pyrones and a 2(5H)-furanone from *Hyptis pectinata*. Phytochemistry 64: 1303-1307. doi:10.1016/j.phytochem.2003.08.017

Botrel PP, Pinto JEBP, Ferraz V, Bertolucci SKV, Figueiredo FC (2010) Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epl. Lamiaceae em função da sazonalidade. Acta scientiarum. Agronomy. 32: 533-538. doi: 10.4025/actasciagron.v32i3.3415

Clemente MA, Monteiro CMO, Scoralik MG, Gomes FT, Prata MCA, Daemon E (2010) Acaricidal activity of the essential oil from *Eucalyptus citriodora* and *Cymbopogon nardus* on

larvae of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) and *Anocetor nitens* (Acari: Ixodidae). Parasitol Res 107:987 – 992. doi: 10.1007/s00436-010-1965-0

Constantinoiu CC, Jackson LA, Jorgensen AE, Lew-Tabor AE, Piper EK, Mayer DG (2010) Local immune response against larvae of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle. Int J Parasitol 40: 865-875. doi: 10.1016/j.ijpara.2010.01.004

Drummond RO, Ernest SE, Trevino JL, Gradney WJ, Graham OH (1973) *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests of insecticides. Journal of Economy Entomology 66: 30–133. doi: 10.1093/jee/66.1.130

Furlong J, Martins JRS, Prata MCA (2007) O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? Controle estratégico do carrapato dos bovinos. A Hora Veterinária 27: 53–56

Gazim ZC, Demarchi IG, Lonardon MVC, Amorim ACL, Hovell AMC, Rezende CM, Ferreira GA, Lima EL, Cosmo FA, Cortez DAG (2011) Acaricidal activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). Exp Parasitol 129: 175 – 178. doi:10.1016/j.exppara.2011.06.011

Grisi L, Leite RC, Martins JRDS, Barros ATM, Androtti R, Cançado, PHD, León AAP, Pereira JB, Villela HS (2014) Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Rev Bras Parasitol Vet 23: 150-156. doi.org/10.1590/S1984-29612014042

IBGE (2014) Sistema do instituto brasileiro de geografia e estatística de recuperação automática SIDRA. IBGE Efetivos/ Rebanhos Brasil. <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2>. Acessado em 11 de abril de 2016

Martins FT, Polo M (2009) Desenvolvimento reprodutivo de (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit. relação entre fotoperíodo, densidade celular meristemática e padrão de expressão de um ortólogo putativo de gene LEAFY de arabidopsis. Rev Bras Bot 32: 131-142.

Montenegro LHM, Oliveira PES, Conserva LM, Rocha EMM, Brito AC, Araújo RM, Trevisan MTS, Lemos RPL (2006) Terpenóides e avaliação do potencial antimalárico, larvicida, anti-radicalar e anticolinesterásico de *Pouteria venosa* (Sapotaceae). Rev Bras Farmacogn 16: 611-617. doi: 10.1590/S0102-695X2006000500005

Olivo CJ, Carvalho NM, Silva JHS, Vogel FF, Massariol P, Meinerz G, Agnolin C, Morel AF, Viau LV (2008) Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. Ciência Rural 38: 406-410. doi: 10.1590/S0103-84782008000200018

Pirali-Kheirabadi K, Silva JAT (2010) *Lavandula augustifolia* essential oil as a novel and promising natural candidate for tick (*Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*) control. Exp Parasitol 126: 184 – 186. doi:10.1016/j.exppara.2010.04.012

Ribeiro VLS, Santos JC, Bordignon SAL, Apel MA, Henriques AT, Poser GL (2010) Acaricidal properties of the essential oil from *Hesperozygis ringens* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Bioresour Technol 101: 2506 – 2509. doi:10.1016/j.biortech.2009.11.016

Sales JF, Pinto JE, Botrel PP, Oliveira CBA, Ferri PH, Paula JR, Seraphim JCJ (2007) Composition and chemical variability in the essential oil of *Hyptis marrubioides* Epl. J. Essential Oils Res 19: 552-556. doi:10.1080/10412905.2007.9699329

5 CAPÍTULO III

Caracterização bromatológica de silagem de milho com diferentes aditivos botânicos

RESUMO

A criação de ruminantes no Brasil é condicionada na maior parte pelas condições extensivas, durante o ano todo. Tem-se buscado aditivos naturais que visem aumentar a produtividade animal, melhorando assim a forragem fornecida. A possibilidade da utilização de aditivos alternativos permite ao agropecuarista dispor de opção a ser incluída na alimentação animal e quantificar as respostas animais em termos produtivos e econômicos. Objetivou-se com este trabalho, verificar a qualidade bromatológica de silagens experimentais com diferentes aditivos botânicos. Para tanto, preparou-se silagem de milho em silos experimentais associado com folhas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz); guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk); nim (*Azadirachta indica* L.); santa bárbara (*Melia azedarach* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), em três concentrações diferentes 6, 8, e 10%. Os tratamentos utilizados foram: silagem de milho com os diferentes aditivos e concentrações, e somente a silagem de milho como tratamento adicional. Após abertura dos silos avaliou-se: determinação da matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra solúvel em detergente neutro (FDN), fibra solúvel em detergente ácido (FDA), digestibilidade *in vitro* na matéria seca (DIVMS). A inclusão das folhas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), nim (*Azadirachta indica* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), santa bárbara (*Melia azedarach* L.), e guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) como aditivo para silagem de milho, diferiram estatisticamente para os parâmetros analisado com exceção da fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG) e digestibilidade *in vitro* na matéria seca (DIVMS). Apesar de não ter diferença significativa entre as espécies utilizadas como aditivos na silagem de milho, o nim (AI) foi a espécie que se sobressaiu nos parâmetros avaliados. No entanto, assim como nos demais aditivos, os resultados obtidos com sua adoção ainda são inconclusos. Novos estudos devem ser direcionados no intuito de avaliar a influência dos metabolitos secundários de cada espécie sobre a atividade microbológica no processo fermentativo de silagens de milho.

Palavras-chave: Alimento, forrageira, metabolitos secundários, aditivos naturais.

5.1 INTRODUÇÃO

A criação de ruminantes no Brasil é condicionada na maior parte pelas condições extensivas, durante o ano todo. No período de seca, crescente parcela de produtores adotam a produção de silagem como estratégia de suplementação volumosa. O manejo alimentar adequado e o uso de sistemas intensivos de exploração, como o confinamento ou semiconfinamento é uma estratégia usada para reduzir o déficit de matéria seca nos períodos críticos do ano (LOUSADA JÚNIOR, 2006).

O processo de ensilagem consiste em armazenar a forragem em ambiente anaeróbico, para preservação através da fermentação com a presença de ácido láctico, tendo perda mínima da qualidade (PATRIZI et al., 2004). Nas últimas décadas intensificaram-se os esforços para melhorar os índices de produtividade e qualidade, e com isso, a adoção de tecnologias torna-se essencial (GOES, 2004).

Segundo estudos realizados por Lima Júnior (2013), a produção de silagens com gramíneas tropicais estão bem estabelecidas para as gramíneas graníferas como o milho e sorgo. Recentemente tem-se observado o aumento da preocupação dos consumidores sobre a segurança e a qualidade de produtos de origem animal. Em função disso, cada vez mais, tem-se buscado aditivos naturais que visem aumento da produtividade animal, diminuição dos riscos de transferência de patógenos zoonóticos, diminuição da carga antibiótica e limitação na excreção de poluentes (MORAIS et al., 2011).

A importância dos metabolitos secundários de plantas na ecologia, alimentos para seres humanos e alimentos para animais, e como produtos farmacêuticos com propriedades químicas e bioquímicas já tenha sido descrita com algum detalhe por diversos autores (D'MELLO e DEVENDRA, 1995; D'MELLO, 1997; BROOKER, 2000; HARBORNE, 2001; PFANNHAUSER et al 2001; ACAMOVIC et al. 2004).

Ressaltam que esses aditivos botânicos ou fitogênicos vêm como mais uma alternativa ao uso de antibióticos como promotores de crescimento, sendo importantes na modulação da microbiota, estabelecendo uma população de micro-organismos mais “saudáveis” em detrimento de espécies mais nocivas (GAGGIA et al., 2010). No entanto, assim como nos demais aditivos, os resultados obtidos com sua adoção ainda são contraditórios.

A possibilidade da utilização de aditivos alternativos permite ao agropecuarista dispor de opção a ser incluída na alimentação animal e quantificar as respostas animais em termos produtivos e econômicos. Neste sentido, diversos autores têm apresentado suas propostas utilizando recursos nativos e adaptados como: Pereira et al., (2004); Neiva Júnior et al., (2007); Dantas et al., (2008); Ribeiro et al., (2009).

Uma estratégia interessante é a inclusão de fontes disponíveis, assim sendo, a utilização do caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz); guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk); nim (*Azadirachta indica* L.); santa bárbara (*Melia azedarach* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) são alternativas promissoras no processo de ensilagem para este fim.

Com isso, os metabólitos especiais das plantas tornam-se alternativas naturais para modificar a fermentação. Taninos e saponinas têm efeitos adversos sobre a população microbiana e saúde animal e tem potencial para melhorar a fermentação ruminal. Pode ser fornecido diretamente no alimento por extratos extraídos e adicionados à dieta dos bovinos (MORAIS et al., 2011). Com isso, objetivou-se avaliar a composição bromatológica da silagem de milho com diferentes níveis de aditivos botânicos.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do material vegetal

Os experimentos e as análises laboratoriais foram realizados no Laboratório de Bionanotecnologia (BINATE) e no Laboratório de Nutrição Animal do IFGoiano - *Campus* Rio Verde, GO (20° 45' 53'' S; 51° 55' 53'' O, com altitude média de 748 m). O período de realização foi entre os meses de outubro a maio de 2014 e 2015. O clima da região é tropical com estação seca, altitude de 739 m. (Classificação de Köppen: A_w). O milho para a silagem foi obtido da fazenda Rio Verdinho Barra Grande, BR 060, km 452, Rio Verde-Jataí, zona rural/Rio Verde-GO (17°, 44' 02.1'' S; 51°, 13' 58,3'' O).

A variedade do milho utilizado foi Nidera NS90. A cultura foi adubada: 150kg de cloreto de potássio/ha; 150kg de MAP 10/50/ha na base, 200 kg de ureia/ha. Foram utilizadas duas aplicações de inseticida sendo as duas com os seguintes produtos: 1 litro Metomil/ha;100ml de Rimon Supra/ha. Também, realizou-se duas aplicações de fungicida, sendo: 1° aplicação - 450 ml de Priori Extra + 400 ml de Mimbus/há e 2° aplicação com 450 ml de Azimut/ha + 450 ml de Mimbus/ha.

O milho foi colhido dia 31 de janeiro de 2015, o estágio vegetativo se encontrava farináceo-duro com 50% linha de leite. A planta foi cortada em ensiladora Jonh Deere® 5460, tamanho de partícula em torno de 3 a 5 cm.

Utilizou-se folhas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz) (**AO**); guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) (**PG**); nim (*Azadirachta indica* L.) (**AI**); santa bárbara (*Melia azedarach* L.) (**MA**) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) (**CC**) como aditivos foram colhidos manualmente no mês de janeiro. A exsicata das espécies em estudo está depositada no herbário do Instituto Federal Goiano *Campus* Rio Verde (IFgoiano/Rio Verde) com os números 495; 149; 336; 330 e 152.

A escolha dos aditivos foi fundamentada mediante a relatos empíricos de produtores da região amparados por dados descritos na literatura.

Preparou-se silos experimentais que foram confeccionados em tubos de Policloreto de polivinila (PVC), com 100mm de diâmetro e 40 cm de comprimento. No compartimento inferior dos silos foram fechados com tampas de PVC e colocado 0,500 Kg de areia fina previamente seca, coberto com um tecido de dimensão de 15 cm de diâmetro em seguida separada da área útil que recebeu o material ensilado, por tela de náilon, nas mesmas dimensões. Foram fechados com duas camadas de plástico e lacrados com fita adesiva, para impossibilitar a entrada de oxigênio, e acondicionados em temperatura ambiente, em que permaneceram por 60 dias.

Após 60 dias de fermentação, os silos foram abertos, descartando-se as porções superior e inferior de cada um. A porção central do silo foi homogeneizada e, colocada em bandejas de plástico. Desta porção retirou-se alíquota de 500g que foi acondicionada em sacos de papel para determinação dos teores de matéria pré-seca em estufa de ventilação forçada, a 55° C por 72 horas. As amostras pré-secas foram moídas em um moinho do tipo Willey, em peneira com malha de 1 mm, para serem analisadas

As análises bromatológica foram realizadas para determinação da porcentagem de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA)m, lignina, celulose, hemicelulose, digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e pH pelo método descrito por SILVA e QUEIROZ (2002).

Após a abertura dos silos foi analisado o pH das silagens, utilizando um potenciômetro específico. A matéria seca foi determinada em estufa 105° C por 24 horas, logo após foram feitos os cálculos para determinação da matéria seca total (MS) da silagem.

A determinação da Matéria Mineral (MM) foi feita após a pré-secagem, retirou-se 5g do material ensilado colocado em cadinhos de porcelana e levados para a mufla a temperatura média de 500°C por um período de quatro horas.

Utilizou-se o método de Kjeldahl para obter o teor de nitrogênio, e posteriormente o teor de proteína bruta (PB) foi calculado utilizando o fator geral de conversão 6,25, conforme a AOAC (1980).

As análises de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, celulose e hemicelulose foram realizadas segundo a metodologia descrita por VAN SOEST (1994). A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi determinada de acordo com a metodologia de Tilley e Terry (1963).

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em arranjo fatorial 5x3 (espécies x concentrações) com 3 repetições por tratamento, e tratamento adicional (milho). Os dados

numéricos foram avaliados estatisticamente, mediante a análise de variância, testando as médias pelo teste de Tukey (5%), utilizando o programa R-PROJECT.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa entre as espécies avaliadas utilizadas como aditivos na silagem de milho, nos parâmetros avaliados com exceção da fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG) e digestibilidade *in vitro* na matéria seca (DIVMS), na tabela 8 e 9.

Para FDN os resultados tiveram diferença significativa entre os aditivos, apesar desta diferença uma boa silagem tem teores entre 38 e 45%, a espécie MA (45, 92%). Valores aproximados foram encontrados em silagens de milho em diferentes tipos de genótipos (CARVALHO et al. 2015). Sendo este parâmetro um indicativo para determinar a qualidade de fibra em uma boa silagem.

Os valores encontrados para HEM e CEL foram significativamente diferente, as porcentagens de HEM variaram entre 21,10 a 24,15%, sendo o aditivo AI que apresentou o maior valor, estando relacionado a espécie da planta utilizada como aditivo, pois o A HEM é proveniente da planta ensilada (MUCK e KUNG JÚNIOR, 1997). Para CEL os valores observados variaram de 6,25 a 10,44 %, com destaque para o aditivo MA que teve o menor teor. Valores superiores de celulose foram encontrados para silagens de milho cultivados na safrinha 29,74% e valores semelhantes para hemicelulose (22,88%) foram encontrados por (REIS et al., 2006). A celulose presente na silagem é um fator proporcional limitante para a presença de outras fibras digestíveis pelo animal, isto é, quanto menor a quantidade de celulose presente, maior a proporção de fibras digestíveis.

Tabela 8: Resumo das análises de variância, considerando os p-valores dos efeitos inclusos no modelo e a média do tratamento fatorial e adicional (média FAT – média AD) dos teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), hemicelulose (HEM), celulose (CEL) da silagem de milho com diferentes concentrações (6, 8 e 10 %) das espécies de *Anacardium othonianum* Rizz. (AO); *Azadirachta indica* L. (AI); *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC); *Melia azedarach* L. (MA); *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG), Rio Verde – GO, 2015.

Variável	Espécies					Concentrações			ExC	FAT:AD		
	AO	AI	CC	MA	PG	6%	8%	10%		p-valor	média FAT	média AD
FDN	50,32	46,93	48,68	45,92	47,00	48,38	47,50	47,43	0,03	0,02	47,77b	54,21a
FDA	26,88	22,79	24,93	24,55	25,89	26,20	24,10	24,72	0,24	0,19	25,01	28,08
HEM	23,44	24,15	23,76	21,37	21,10	22,18	23,40	22,71	≤0,01	0,03	22,76b	26,13a
CEL	9,04	6,26	9,85	6,25	10,44	9,64	7,67	7,80	0,30	0,02	8,37b	14,16a
LIG	17,84	16,52	15,08	18,30	15,45	16,56	16,44	16,91	0,15	0,13	16,64	13,93

Médias seguidas de letras distintas na mesma linha, dentro de cada variável diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Já para os resultados de FDA e LIG não houve diferença significativa entre os tratamentos, os teores para FDA variaram entre 22, 79 a 26, 88 % e para LIG estão entre 15, 08 a 18, 30 %. Quanto maior o teor de FDA menor a qualidade e a digestibilidade da silagem, a FDA é constituído por frações de celulose e lignina, a lignina é a fração não digestível da planta. Costa et al., (2013) trabalhando com silagem de milho, obteve valores maiores de 33, 00 %.

Na tabela 9, as espécies avaliadas utilizadas como aditivos na silagem de milho, nos parâmetros avaliados de MS, PB, EE, MM e pH, tiveram diferença significativa.

Segundo Nüssio et al., 2001, uma boa silagem deve conter aproximadamente 30% de MS, os teores encontrado neste trabalho variaram entre 25,98 a 27,50 %, sendo influenciados pelo tipo de aditivo adicionado.

Possenti et al., 2005 trabalhando com silagem de milho obteve valores de PB igual a 9,40%, próximos aos encontrados neste estudo, que variaram entre 8,36 a 9,40%. Estes valores podem ter sido influenciados pelos metabólitos secundários presentes nas plantas utilizadas como aditivos.

Os teores de EE variaram entre 3,45 a 5,20%, o aditivo que apresentou o valor maior foi AI, estudo realizado por (SÁ NETO et al., 2013) obtiveram valores inferiores em silagem de milho com aditivos biológicos. Para MM os teores variaram entre 3,50 a 3,72%, trabalhando com silagem de milho Possenti et al., 2005 encontraram valores superiores aos deste estudo. Os valores encontrados para pH variaram entre 3,87 a 4,09%, o pH em faixa ótima de 3,80 a 4,60% estabiliza o material ensilado e inibe atividade de microrganismos patogênicos (GOBETTI et al., 2013).

Tabela 9: Resumo das análises de variância, considerando os p-valores dos efeitos inclusos no modelo e a média do tratamento fatorial e adicional (média FAT – média AD) dos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), pH e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) da silagem de milho com diferentes concentrações (6, 8 e 10 %) das espécies de *Anacardium othonianum* Rizz. (AO); *Azadirachta indica* L. (AI); *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (CC); *Melia azedarach* L. (MA); *Pouteria gardneriana* Radlk. (PG), Rio Verde – GO, 2015.

Variável	Espécies					Concentrações			ExC	FAT:AD		
	AO	AI	CC	MA	PG	6%	8%	10%		p-valor	média FAT	média AD
MS	27,50	26,54	25,98	26,16	26,86	27,04	26,38	26,41	0,06	0,00	26,61b	29,55a
PB	8,49b	9,40a	8,68ab	9,18ab	8,36b	8,62	9,04	8,82	0,46	0,00	8,82b	6,10a
EE	3,43b	5,20a	3,86b	5,01a	5,16a	4,49	4,67	4,43	0,34	0,00	4,53b	3,38a
MM	3,50	3,72	3,72	3,66	3,57	3,56	3,72	3,63	0,35	0,00	3,63b	2,18a
pH	3,87b	4,04a	3,92b	4,09a	4,09a	4,02	3,98	4,01	0,20	0,00	4,00b	3,73a
DIVMS	27,48b	36,59a	30,45ab	33,06ab	29,54ab	30,45	30,83	32,99	0,09	0,35	31,42	28,22

Médias seguidas de letras distintas na mesma linha, dentro de cada variável diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Já para digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) as espécies utilizadas como aditivos não tiveram diferença significativa, variando os valores entre 27,48 a 36,59%. Alimentos com estado de maturidade tem maior lignificação portanto tem menor digestibilidade (RUSSELL et

al., 1992). Neste estudo o teor de lignina foi elevado, no entanto correlaciona-se o baixo teor de digestibilidade.

As concentrações estabelecidas não foram suficientes para gerar diferença significativa por serem estabelecidos valores muito próximos. Mas houve interação entre as espécies e as concentrações nas variáveis FDN e HEM.

Os processos de conservação (fenação e ensilagem) por si só causam alterações acentuadas na composição química da forragem e podem reduzir sua qualidade (REIS et al., 2006). A presença de microrganismos deterioradores na forragem atrasa a fermentação, tem competição com as bactérias ácido lácticas por substrato e geram perdas, e diminui o valor nutritivo do material (PEREIRA et al., 2014). Dentre estes microrganismos que podem acarretar prejuízos ao material, estão os dos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter* e *Clostridium* que, além de consumirem carboidratos solúveis em competição com as bactérias ácido lácticas, degradam proteínas. Além disso, são bactérias patogênicas, que podem afetar os animais e as pessoas que têm contato com a silagem (McDONALD et al., 1991).

Neste estudo, foram utilizados aditivos vegetais para melhorar a qualidade bromatológica da silagem de milho, como um passo importante no sentido de compreender as respostas dos metabolitos secundários das plantas na qualidade bromatológica da silagem.

Segundo Lima et al., (2002) e Pedroso (2003) aditivos químicos como a ureia e o ácido benzoico podem melhorar a qualidade de silagens, diminuindo a população de leveduras e mofos e reduzir a produção de etanol e as perdas de MS e de carboidratos solúveis, estes aditivos tiveram efeitos positivos sobre as perdas de MS e a composição bromatológica quando utilizados na ensilagem.

Os princípios ativos presentes nas plantas utilizadas como aditivos tem propriedades biocidas como antimicrobiana, bactericidas, antifúngica, entre outras. Os compostos majoritários de cada espécie podem influenciar na seleção de microrganismos benéficos para a fermentação e conservação da silagem, visto que os resultados obtidos neste estudo foram satisfatórios em relação aos padrões de cada variável analisada.

O nim (*Azadirachta indica* L.) e a santa bárbara (*Melia azedarach* L.) que são pertencentes à família Meliaceae, tem como composto principal a azadiractina que é um limonoide, dentre estes outras classes de metabólitos (triterpenoides e esteroides, alcaloides, proteínas, fenóis e fitoesteróis) também estão presentes nos órgãos destas espécies (MATIAS et al. 2002).

O capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) contém grande variedade de componentes em suas folhas, tais como os ácidos fenólicos, alcaloides, álcoois, polifenóis e mais importante, os flavonoides e taninos, que podem ser responsáveis por algumas atividades terapêuticas, tais como atividade anti-inflamatória (FIGUEIRINHA et al., 2010; NEGRELLE e

GOMES, 2007; VENDRUSCOLO et al., 2005; GARCIA et al., 2015). A atividade antibacteriana é causada pela presença de compostos com reconhecida ação como os terpenos, podendo ser utilizados frente a linhagens Gram-positivas e Gram-negativas (LUCENA et al., 2015).

As frutas de espécies nativas do cerrado, analisadas pela primeira vez em estudo realizado por Rocha et al., (2011) e Canuto et al., (2010), apresentam elevados teores de compostos fenólicos totais e de taninos condensados, sendo que os taninos condensados predominam nas espécies de cajueiros nativos do Cerrado (*A. nanum* e *A. othonianum*) e guapeva (*P. gardneriana*).

A espécie do caju-de-árvore-do-cerrado (*A. othonianum*) ainda é uma planta pouco estudada quanto a composição química de suas folhas, mas alguns trabalhos quanto as atividades medicinais foram reportadas em *Anacardium humile* e *Anacardium occidentale* como, antidiabético (URZÊDA et al., 2013), antiúlcera-gênico (FERREIRA et al., 2008) e antioxidantes (RAZALI et al., 2008).

Watanabe et al. (2010) avaliaram o uso de líquido da casca da castanha de caju (CNSL), um coproduto da produção de castanha de caju em países tropicais, que apresenta várias aplicações industriais. O CNSL apresenta compostos fenólicos, destacando-se o ácido anacárdico, que inibe seletivamente bactérias Gram-positivas. Os taninos são substâncias polifenólicas com variados pesos moleculares e complexidade, sendo classificados em hidrolisáveis e condensados, a estes compostos se dá a atividade antimetanolgênica (BEAUCHEMIN et al., 2008).

A guapeva (*Pouteria gardneriana*) também nativa do Cerrado, ainda se encontra em déficit com pesquisas relacionadas a sua composição química. Para as espécies da família Sapotaceae é citada a ocorrência de flavonoides e triterpenos. Especificamente, os flavonoides que são apontados como marcadores quimiotaxonômicos (miricitrina) para o gênero *Pouteria*, com maior frequência nas folhas e os triterpenos, encontrados além das folhas, nos demais órgãos (SILVA et al., 2009). Estudos fitoquímicos realizados com espécies da família Sapotaceae têm revelado a ocorrência de flavonoides, terpenoides, compostos fenólicos, alcaloides, benzenoides e fenilpropanoides (MONTENEGRO et al., 2006). Os flavonoides são apontados como os principais constituintes químicos do gênero, em conjunto com os terpenoides, principalmente para as folhas (SILVA et al., 2006).

As saponinas são glicosídeos encontrados nas espécies vegetais em seu metabolismo secundário que reduzem a degradação de proteínas e, ao mesmo tempo, favorecem a síntese de proteína e biomassa microbiana, o principal mecanismo de ação das saponinas está relacionado ao efeito tóxico sobre protozoários ciliados, emulsificam os lipídeos da membrana celular dos protozoários, causando mudanças na sua permeabilidade, e morte da célula (WALLACE et al., 2002; MARTIN et al., 2009).

5.4 CONCLUSÃO

Apesar de não ter diferença significativa entre as espécies utilizadas como aditivos na silagem de milho, o nim foi a espécie que se sobressaiu sobre as demais nos parâmetros avaliados. No entanto, assim como nos demais aditivos, os resultados obtidos com sua adoção ainda são inconclusos. Novos estudos devem ser realizados no intuito de avaliar a influência dos metabolitos secundários sobre a atividade microbiológica no processo fermentativo de silagens de milho.

5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beauchemin KA, Kreuzer M, O'Mara F, McAllister TA (2008) Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Aust J Exp Agric* 48, 21–27. doi:10.1071/EA07199

Acamovic T, Brooker JD (2004) Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. *Proc Nutr Soc* 64: 403–412. doi:10.1079/PNS2005449

AOAC (1980) Association Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 13. ed. Washington

Brooker JD (2000) Tannins in Livestock and Human Nutrition. ACT: ACIAR, Canberra

Canuto GAB, Xavier AAO, Neves LC, Benassi MT (2010) Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade antirradical livre. *Rev Bras Frutic* 32: 1.196-1.205. doi:10.1590/S0100-29452010005000122.

Carvalho AFG, Martin TN, Santos S, Tânia Maria Müller TM, Piran Filho FA (2015) Perfil agrônomo e bromatológico de silagem de milho no sudoeste do Paraná. *Rev. Fac. Agron.* 114: 149-159

Costa AD, Domingues NF, Astolpho ZM, Mota AD, Oaigen PR, Calonego J, Miranda AS (2013) Influência do arranjo de plantas sobre a composição bromatológica da silagem de milho. *Veterinária em Foco* 10: 169-177

Dantas FR, Araújo GGL, Silva DS, Pereira LGR, Gonzaga Neto S, Tosto ML (2008) Composição química e características fermentativas de silagens de maniçoba (*Manihot sp.*) com percentuais de co-produtos de vitiñculas desidratado. *Revista brasileira de saúde e produção animal* 9: 247-257

D'Mello JPF (1997) Handbook of Plant and Fungal Toxicants. FL: CRC Press. Boca Raton

D'Mello JPF & Devendra C (1995) Tropical Legumes in Animal Nutrition. CAB International, Wallingford, Oxon

Ferreira AL, Cola-Miranda M, Barbastefano V, Hiruma-Lima CA, Vilegas W, Brito ARMS (2008) Should *Anacardium humile* St. Hil be used as an antiulcer agent? A scientific approach to the traditional knowledge. *Fitoterapia* 79: 207-209. doi:10.1016/j.fitote.2007.11.006

- Figueirinha A, Cruz MT, Francisco V, Lopes MC, Batista MT (2010) Anti-inflammatory activity of *Cymbopogon citratus* leaf infusion in lipopolysaccharide-stimulated dendritic cells: Contribution of the polyphenols. *J Med Food* 13: 681-690. doi:10.1089/jmf.2009.0115.
- Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B (2010) Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int J Food Microbiol* 141: S15–S28. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031
- Garcia R, Ferreira PJ, Costa G, Santos T, Branco F, Caramona M, Carvalho R, Dinis MA, Batista TM, Castel-Branco M, Figueiredo VI (2015) Evaluation of Anti-inflammatory and Analgesic Activities of *Cymbopogon citratus* in vivo-Polyphenols Contribution. *Research Journal of Medicinal Plant* 1: 1-13. doi: 10.3923/rjmp.2015.1.13
- Gobetti STC, Neumann M, Oliboni RM, Oliveira R (2013) Utilização de silagem de grão úmido na dieta de animais ruminantes. *Ambiência* 9: 225-239. doi:10.5777/ambiencia.2013.01.02rb
- Goes RHTB (2004) Aditivos de alimento para bovinos suplementados no pasto. *Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia* 43: 34-45
- Harborne JB (2001) Twenty-five years of chemical ecology. *Nat Prod Rep* 18: 361–379. doi: 10.1039/B005311M
- Köppen-Geiger (2014) Classificação climática de Köppen-Geiger. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/w/index.php?oldid=16801300>. Acesso em 04 de setembro de 2014
- Lima JA, Evangelista AR, Abreu JG (2002) Silagem de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) enriquecida com uréia ou farelo de soja. In: Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia, Recife
- Lima Júnior DMD, Rangel AHDN, Urbano AS, Oliveira JPFD, Araújo TLACD (2013) Silagem para vacas leiteiras no semiárido. *Agropecuária Científica no Semiárido* 9: 33-42.
- Lousada Júnior JE, Costa JMC, Neiva JNM, Rodriguez NM (2006) Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. *Cienc Agron* 37: 70-76
- Lucena BFF, Tintino SR, Figueredo FG, Oliveira CDM, Aguiar JJS, Cardoso EM, Aquino PEA, Andrade JC, Coutinho HDM, Matias EFF (2015) Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora de aminoglicosídeos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Acta biol. Colomb* 20: 39-45. doi:10.15446/abc.v20n1.41673.
- Matias R, Solon S, Resende UM, Gomes A, Koller WW (2002) *Melia azedarach*, uso popular x estudos químicos e farmacológicos: breve revisão. *Ensaio e Ciência* 6: 91-121
- Martin C, Morgavi DP, Doreau M (2009) Methane mitigation in ruminants: from microbes to the farm scale. *Animal* 4: 351-365. doi:10.1017/S1751731109990620
- McDonald P, Henderson AR, Heron SJE (1991) *The biochemistry of silage*. 2.ed. Marlow: Chalcombe Publications, Marlow, Bucks
- Montenegro LHM, Oliveira PES, Conserva LM, Rocha EMM, Brito AC, Araújo RM, Trevisan MTS, Lemos RPL (2006) Terpenóides e avaliação do potencial antimalárico, larvicida, anti-

radicalar e anticolinesterásico de *Pouteria venosa* (Sapotaceae). Rev Bras Farmacogn 16: 611-617. doi: 10.1590/S0102-695X2006000500005

Morais JAS, Berchielli TT, Reis RA (2011) Aditivos. In: Nutrição de ruminantes, 2ª ed. FUNEP, Jaboticabal

Muck RE, Kung L (1997) Effects of silage additives on ensiling. Silage: Field to feedbunk. Northeast Regional Agricultural Engineering Service (NRAES), Ithaca, New York

Negrelle RRB, Gomes EC (2007) *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Chemical composition and biological activities. Rev. Bras. Pl Med 9: 80-92.

Neiva Júnior AP, Silva Filho JC, Von Tiesenhausen IME, Rocha GP, Cappelle ER (2007) Efeito de diferentes aditivos sobre os teores de proteína bruta, extrato etéreo e digestibilidade da silagem de maracujá. Ciênc. Agrotec 31: 871-875. doi: 10.1590/S1413-70542007000500037

Nússio LG, Campos FP, Dias FN (2001) Importance of the quality of the vegetative portion of the feeding value of corn silage. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, UEM, Maringá pp 127-145

Patrizi CRF, Madruga Júnior TP, Minetto EE, Nogueira MG (2004) Efeito de aditivos biológicos comerciais na silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum). Arq Bras Med Vet Zootec 56: 392-397. doi: 10.1590/S0102-09352004000300016

Pedroso AF (2003) Aditivos químicos e microbianos como inibidores da produção de etanol em silagens de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). Tese Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Pereira RC, Evangelista AR, Abreu JG, Amaral PNC, Salvador FM, Maciel GA (2004) Efeitos da inclusão de forragem de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) DeWit) na qualidade da silagem de milho (*Zea mays* L.). Ciênc. Agrotec 28: 924-930. doi: 10.1590/S1413-70542004000400028

Pereira OG, Silva TC, Leandro ES, Ribeiro KG (2014) Práticas na ensilagem *versus* qualidade higiênica da silagem. In: Anais do V Simpósio: Produção e utilização de forragens conservadas. Maringá, Brasil. pp 157-210

Pfannhauser W, Fenwick GR, Kokhar S (2001) Biologically Active Phytochemicals in Food. Royal Society of Chemistry, London

Possenti RA, Ferrari JRE, Bueno MS (2005) Parâmetros bromatológicos e fermentativos das silagens de milho e girassol. Cienc Rural 35: 1185-1189. doi:10.1590/S0103-84782005000500031

Razali N, Razab R, Sarni Mat Junit MS, Aziz AA (2008) Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale*). Food Chemistry 111: 38-44. doi:10.1016/j.foodchem.2008.03.024

Reis RA, Teixeira IAMA, Siqueira GR (2006) Impacto da qualidade da forragem na produção animal. In: Anais de Simpósios da 43ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. João Pessoa, Brasil

Ribeiro JL, Nussio LG, Mourão GB, Queiroz COM, Santtos MC, Schmidt P (2009) Efeitos de adsorventes de umidade e de aditivos químicos e microbianos sobre o valor nutritivo, o perfil fermentativo e as perdas em silagens de capim-marandu. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38: 230-239

Rocha SW, Lopes MR, Silva BD, Vieira FR, Silva PJ, Agostini-Costa ST (2011) Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. *Rev Bras Frutic* 33: 4, p. 1215-1221. doi: 10.1590/S0100-29452011000400021

Russell JR, Irlbeck NA, Hallauer AR, Buxton DR (1992) Nutritive value and ensiling characteristics of maize herbage as influenced by agronomic factors. *Animal Feed Science and Technology* 38: 11-24. doi:10.1016/0377-8401(92)90072-E

Sá Neto AD, Nussio LG, Zopollatto M, Junges D, Bispo AW (2013) Corn and sugarcane silages with *Lactobacillus buchneri* alone or associated with *L. plantarum*. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 48: 528-535. doi:10.1590/S0100-204X2013000500009

Silva DJ, Queiroz AC (2002) *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. UFV, Viçosa

Silva GB, Martim L, Silva CL, Young MCM, Ladeira AM (2006) Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do Cerrado. *Hoehnea* 33: 331-338

Silva CAM, Simeoni LA, Silveira D (2009) Genus *Pouteria*: Chemistry and biological activity. *Rev Bras Farmacogn* 19: 501-509. Doi: 10.1590/S0102-695X2009000300025

Tilley JMA, Terry RAA (1963) Two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Grass Forage Sci* 18: 104-111. doi: 10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x

Urzêda AM, Marcussi S, Pereira SLL, França CS, Pereira SMA, Pereira SP, Silva LS, Guimarães SLC, Calderon AL, Stábeli GR, Soares MA, Couto L (2013) Evaluation of the hypoglycemic properties of *Anacardium humile* aqueous extract. *Evid Based Complement Alternat Med* doi: 10.1155/2013/191080

Van Soest PJ (1994) *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press, New York

Vendruscolo G, Rates S, Mentz L (2005) Chemical and pharmacologic data on medicinal plants used by the community of the ponta grossa neighborhood, Porto alegre, Rio grande do sul, Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 15: 361-372. doi:10.1590/S0102-695X2005000400018

Wallace RJ, Czerkawski JW, Breckenridge G (2002) Effect of monensin on the fermentation of basal rations in the simulation technique (Rusitec). *Br J Nutr* 46: 131-148. doi:10.1079/BJN19810016

Watanabe Y, Suzuki R, Koike S, Nagashima K, Mochizuki M, Forster R, Kobayashi Y (2010) *In vitro* evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent for ruminants. *J Dairy Sci* 93: 5258-5267. doi:10.3168/jds.2009-2754

6 CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se que os extratos das folhas de guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk), caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), santa bárbara (*Melia azedarach* L.), nim (*Azadirachta indica* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), são potencialmente úteis para o controle de carrapatos *Rhipicephalus B. microplus*, com destaque aos inibidores de acetilcolinesterase. A inclusão das folhas de caju-de-árvore-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), nim (*Azadirachta indica* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), santa bárbara (*Melia azedarach* L.), e guapeva (*Pouteria gardneriana* Radlk) como aditivo para silagem de milho, apesar de não ter diferença significativa entre as espécies, o nim foi a espécie que se sobressaiu sobre as demais nos parâmetros avaliados. Estudos devem ser realizados no intuito de avaliar a influência dos metabolitos secundários sobre a atividade microbiológica no processo fermentativo de silagens de milho. O óleo essencial das espécies de bamburral (*Hyptis suaveolens* (L) Poit), hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides* EPL) e sambacaitá (*Hyptis pectinata* (L) Poit) teve controle parcial em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus Boophilus microplus*.

Percebe-se que a produção animal hoje não está muito favorável para o produtor, por causa da resistência dos ectoparasitas às fórmulas encontradas no mercado e a problemática da retirada dos antimicrobianos sintéticos da alimentação animal. É notório que estudos devem ser realizados a fim de elucidar a real atividade biológica da vasta flora brasileira.