



**ALLAN DA SILVA LUNGUINHO**

**EFEITO ACARICIDA E REPELENTE DOS ÓLEOS  
ESSENCIAIS DE *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* E  
*Cinnamodendron dinisii* EM CARRAPATOS DO GÊNERO  
*Rhipicephalus* (ACARI: IXODIDAE)**

**LAVRAS - MG**

**2020**

**ALLAN DA SILVA LUNGUINHO**

**EFEITO ACARICIDA E REPELENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* E *Cinnamodendron dinisii* EM CARRAPATOS DO GÊNERO *Rhipicephalus* (ACARI: IXODIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química/Bioquímica, para a obtenção do título de Mestre.

Profª. Dra. Maria das Graças Cardoso  
Orientadora

Prof. Dr. Rafael Neodini Remedio  
Coorientador

**LAVRAS – MG**

**2020**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Lunguinho, Allan da Silva.

Efeito acaricida e repelente dos óleos essenciais de *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* e *Cinnamodendron dinisii* em carrapatos do gênero *Rhipicephalus* (Acari: Ixodidae) / Allan da Silva Lunguinho. - 2020.

79 p. : il.

Orientador(a): Maria das Graças Cardoso.

Coorientador(a): Rafael Neodini Remedio.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Controle de carrapatos. 2. Produtos naturais. 3. Atividade anticolinesterásica. I. Cardoso, Maria das Graças. II. Remedio, Rafael Neodini. III. Título.

**ALLAN DA SILVA LUNGUINHO**

**EFEITO ACARICIDA E REPELENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* E *Cinnamodendron dinisii* EM CARRAPATOS DO GÊNERO *Rhipicephalus* (ACARI: IXODIDAE)**

**ACARICIDAL AND REPELLENT EFFECTS OF *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* AND *Cinnamodendron dinisii* ESSENTIAL OILS ON *Rhipicephalus* TICKS (ACARI: IXODIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa do Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração Química/Bioquímica, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 20 de fevereiro de 2020.

Dra. Barbara Sayuri Bellete UFLA

Dr. Luiz Gustavo de Lima Guimarães UFSJ

Prof. Dra. Maria das Graças Cardoso  
Orientadora

Prof. Dr. Rafael Neodini Remédio  
Coorientador

**LAVRAS – MG**

**2020**

## AGRADECIMENTOS

À Fonte de todo amor, luz e sabedoria.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica e aos Departamentos de Química, Medicina Veterinária, Zootecnia e Ciências da Saúde, por todas as oportunidades e recursos fornecidos para que este trabalho pudesse ser realizado. A todos os professores e funcionários, pelos ensinamentos e serviços prestados. Ao pessoal do Horto de Plantas Medicinais pela ajuda na coleta e identificação do material vegetal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pelo apoio financeiro.

À professora Graça, pela orientação, confiança, oportunidades e ensinamentos, os quais levarei para o resto da vida.

Ao professor Rafael, pela coorientação, confiança e conhecimentos trocados.

Ao pessoal que se disponibilizou em coletar e fornecer os carrapatos utilizados no presente trabalho.

A todos que me ajudaram na realização dos experimentos. Aos colegas do Laboratório de Química Orgânica – Óleos Essenciais: Vanúzia, Rafaela, Alex, Danúbia, Gabriela, Mariana, Beatriz, Gislaine, Shênia, Letícia, Ianca e Cássia, pelas conhecimentos trocados, ajuda constante e amizade. Agradeço também aos colegas do Laboratório de Biologia Parasitária: Isaac, Raquel, Aline, Jennifer e Cleidiane, pela constante ajuda na realização dos experimentos biológicos, conhecimentos trocados e amizade. Aos colegas do Laboratório de Análise de Qualidade de Aguardente: Richard, Cleusinha, Maria Luiza, Renan, Gabriela, Rafaela Zaniti, Nathália, Felipe, Shasyani, Stephano, Laura e João, pela amizade, pela convivência e cooperação.

A todos os amigos que estiveram comigo durante esses dois anos de mestrado. Agradeço pela amizade, carinho, pelo amparo nos momentos difíceis, pelas alegrias compartilhadas e por sempre me apoiarem e aconselharem em minhas decisões. Que por muitos anos ainda possamos desfrutar da amizade uns dos outros.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## RESUMO

Os carrapatos *Rhipicephalus microplus* e *R. sanguineus* sensu lato apresentam grande importância na agropecuária, medicina veterinária e saúde pública, seja por motivos econômicos, seja pela transmissão de patógenos a seus hospedeiros. Devido aos problemas associados à toxicidade de substâncias sintéticas comumente utilizadas no controle de carrapatos, substâncias de origem natural vêm sendo exploradas para esse fim. Nesse contexto, os óleos essenciais, constituídos por metabólitos secundários vegetais pertencentes majoritariamente às classes dos terpenos e fenilpropanoides, vêm se mostrando como uma alternativa promissora ao uso de produtos sintéticos. No presente estudo, os óleos essenciais das espécies vegetais *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* e *Cinnamodendron dinisii* foram extraídos por hidrodestilação, caracterizados quimicamente por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas e Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama e avaliados biologicamente quanto à ação acaricida em *R. microplus*, por meio de Teste de Imersão em Adultos, e repelente em *R. sanguineus* s. l, por meio de teste com chance de escolha. Adicionalmente, a fim de se inferir um possível mecanismo de ação desses óleos essenciais, foi avaliada a capacidade deles em reduzir a atividade enzimática da acetilcolinesterase, utilizando-se o método colorimétrico de Ellman. Os rendimentos das extrações dos óleos essenciais das espécies *B. citriodora*, *C. viminalis* e *C. dinisii* foram de 2,20, 0,94 e 1,50%, respectivamente. A caracterização química revelou que o óleo essencial de *B. citriodora* é constituído majoritariamente por citral (98,9%), ao passo que o óleo essencial de *C. viminalis* é rico em 1,8-cineol (78,1%),  $\alpha$ -pineno (12,5%) e limoneno (3,36%) e o de *C. dinisii* apresentou  $\alpha$ -pineno (30,8%),  $\beta$ -pineno (12,5%) e sabineno (11,3%) em maiores proporções. Todos os óleos essenciais avaliados apresentaram efeito acaricida, sendo o de *B. citriodora* o que demonstrou melhores resultados, apresentando o menor valor de concentração capaz de ocasionar letalidade de 50% dos indivíduos, que foi de 3,276  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , seguido de *C. viminalis* (8,936  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) e *C. dinisii* (8,195  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), os quais apresentaram valores próximos. Perante o ensaio de repelência, o óleo essencial de *B. citriodora* também foi o mais eficaz, apresentando um índice de repelência de 0,33, mesmo após uma hora de aplicação. Os óleos essenciais de *C. viminalis* e *C. dinisii* apresentaram repelência significativa apenas na maior concentração e no menor tempo de avaliação, com índices de repelências iguais a 0,40 e 0,43, respectivamente. O óleo essencial de *C. viminalis* foi o único capaz de causar redução significativa na atividade da acetilcolinesterase, o qual, na concentração de 0,33  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , foi capaz de reduzir a atividade enzimática em 50%, indicando que esse é o único, dentre os óleos essenciais estudados, que pode apresentar seus efeitos tóxicos para carrapatos usando esse mecanismo de ação. Os óleos essenciais avaliados, em especial aquele obtido de *B. citriodora*, podem ser considerados como fontes de compostos bioativos no controle de carrapatos.

**Palavras-chave:** Controle de carrapatos. Produtos naturais. Atividade anticolinesterásica.

## ABSTRACT

The *Rhipicephalus microplus* and *R. sanguineus* sensu lato ticks are of great importance in livestock, veterinary medicine and public health, whether for economic reasons or for the transmission of pathogens to their hosts. Due to the problems associated with the toxicity of synthetic substances commonly used tick control, substances of natural origin have been explored for this purpose. In this context, essential oils, constituted by plant secondary metabolites belonging mainly to the classes of terpenes and phenylpropanoids, have been shown as a promising alternative to the use of synthetic products. In the present study, the essential oils of the plant species *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* and *Cinnamodendron dinisii* were extracted by hydrodistillation, chemically characterized by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry and Gas Chromatography with Flame Ionization Detector and evaluated biologically for their acaricidal action in *R. microplus*, through Adult Immersion Test, and repellent on *R. sanguineus* s. l, through a choice test. Additionally, in order to infer a possible mechanism of action of these essential oils, their ability to reduce the enzymatic activity of acetylcholinesterase was evaluated using Ellman's colorimetric method. The extraction yields of essential oils of the species *B. citriodora*, *C. viminalis* and *C. dinisii* were 2.20, 0.94 and 1.50%, respectively. The chemical characterization revealed that the essential oil of *B. citriodora* is mainly constituted by citral (98.9%), while the essential oil of *C. viminalis* is rich in 1.8-cineol (78.1%),  $\alpha$ -pinene (12.5%) and limonene (3.36%) and that of *C. dinisii* showed  $\alpha$ -pinene (30.8%),  $\beta$ -pinene (12.5%) and sabinene (11.3%) in higher proportions. All the essential oils evaluated showed an acaricidal effect, with *B. citriodora* being the one that showed the best results, with the lowest concentration value capable of causing 50% lethality of individuals, which was 3,276  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), followed by *C. viminalis* (8,936  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) and *C. dinisii* (8.195  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), which presented similar values. Towards the repellency test, *B. citriodora* essential oil was also the most effective, showing a repellency index of 0.33 even after one hour of application. The *C. viminalis* and *C. dinisii* essential oils showed significant repellency only at the highest concentration and in the shortest evaluation time, with repellency indexes of 0.40 and 0.43, respectively. The *C. viminalis* essential oil was the only one capable of causing a significant reduction in the activity of acetylcholinesterase, which at a concentration of 0.33  $\mu\text{g mL}^{-1}$  was able to reduce the enzymatic activity by 50%, indicating that this is the only one, among the essential oils studied, which can present their toxic effects to ticks through this mechanism of action. The essential oils evaluated, especially those obtained from *B. citriodora*, can be considered as sources of bioactive compounds in tick control.

**Keywords:** Tick control. Natural products. Anticholinesterase activity.

## SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO GERAL.....	10
1 INTRODUÇÃO .....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	13
2.1 Óleos essenciais .....	13
2.1.1 Biossíntese de terpenos.....	15
2.1.2 Biossíntese de fenilpropanoides.....	19
2.1.3 Óleo essencial de <i>Backhousia citriodora</i> .....	23
2.1.4 Óleo essencial de <i>Callistemon viminalis</i> .....	24
2.1.5 Óleo essencial de <i>Cinnamodendron dinisii</i> .....	26
2.2 Carrapatos.....	28
2.2.1 <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	28
2.2.2 <i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu lato.....	31
2.2.3 Controle de carrapatos.....	33
2.3 Óleos essenciais no controle de carrapatos .....	35
2.4 A enzima acetilcolinesterase .....	38
REFERÊNCIAS .....	42
SEGUNDA PARTE - ARTIGO.....	51
ARTIGO 1 - Efeito acaricida e repelente dos óleos essenciais de <i>Backhousia citriodora</i> , <i>Callistemon viminalis</i> e <i>Cinnamodendron dinisii</i> em carrapatos <i>Rhipicephalus</i> sp. (Acari: Ixodidae).....	52
1 INTRODUÇÃO .....	53
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	54
2.1 Material vegetal .....	54
2.2 Extração e rendimento dos óleos essenciais .....	55
2.3 Caracterização química dos óleos essenciais.....	55
2.4 Bioensaios de atividade acaricida sobre <i>Rhipicephalus microplus</i> .....	56
2.4.1 Obtenção dos carrapatos <i>R. microplus</i> .....	56
2.4.2 Teste de Imersão em Adultos (TIA).....	57
2.4.3 Análise estatística.....	57
2.5 Bioensaios de repelência em <i>R. sanguineus</i> s. l. ....	57
2.5.1 Obtenção dos carrapatos <i>R. sanguineus</i> s. l. ....	57
2.5.2 Teste com chance de escolha.....	58
2.5.3 Análise estatística.....	59



<b>2.6 Efeito dos OEs na atividade da acetilcolinesterase.....</b>	<b>59</b>
<b>2.6.1 Análise estatística.....</b>	<b>60</b>
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>60</b>
<b>3.1 Rendimento e composição química dos óleos essenciais .....</b>	<b>60</b>
<b>3.2 Atividade acaricida em <i>R. microplus</i> .....</b>	<b>61</b>
<b>3.3 Atividade repelente em <i>R. sanguineus</i> s. l. ....</b>	<b>63</b>
<b>3.4 Efeitos dos óleos essenciais sobre a atividade da acetilcolinesterase (AChE) .....</b>	<b>65</b>
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>66</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>72</b>
<b>APENDICE A – Estruturas químicas dos compostos encontrados nos óleos essenciais das folhas frescas de <i>Backhousia citriodora</i>, <i>Callistemon viminalis</i> e <i>Cinnamodendron dinisii</i>, no presente estudo. ....</b>	<b>79</b>

## **PRIMEIRA PARTE – INTRODUÇÃO GERAL**

## 1 INTRODUÇÃO

Os carrapatos consistem em um grupo de ectoparasitas hematófagos amplamente distribuídos mundialmente, onde infestam diversos tipos de hospedeiros, incluindo mamíferos, aves, répteis e anfíbios. Esses artrópodes são vetores importantes de doenças que afetam o gado, o homem e animais de estimação, uma vez que transmitem uma grande variedade de agentes patogênicos. As espécies *Rhipicephalus sanguineus* e *R. microplus* são duas das mais importantes e se destacam pela alta incidência no Brasil e no mundo.

Conhecido popularmente como carrapato bovino, *R. microplus* é o um dos parasitas de maior prejuízo na agropecuária no mundo inteiro. É responsável por várias perdas e problemas em diversos setores da bovinocultura, prejudicando a qualidade da carne, do leite e do couro, além de ser vetor de doenças sérias que podem afetar o gado. Por tais motivos, esse artrópode se tornou um grave problema econômico, principalmente nos países em desenvolvimento. *R. sanguineus*, o carrapato-vermelho-do-cão, é o principal transmissor de agentes patogênicos para os cães, além de afetar diretamente o bem-estar animal desse hospedeiro. Além disso, por apresentar afinidade também por seres humanos e, conseqüentemente, ser capaz de transmitir doenças, essa espécie de carrapato vem ganhando importância também na saúde pública. Diante dos problemas associados às infestações de *R. microplus* e *R. sanguineus*, o controle destas espécies de carrapatos é motivo de preocupação e objeto de pesquisa na comunidade científica.

As infestações ocasionadas por carrapatos são controladas, convencionalmente, por meio do tratamento químico, pelo uso de produtos acaricidas à base de substâncias sintéticas. Entretanto, esses produtos vêm se tornando ineficientes e inviáveis, uma vez que populações resistentes de carrapatos vêm se desenvolvendo, fazendo com que doses mais altas sejam utilizadas e/ou com que a aplicação ocorra em um menor período de tempo. Além disso, esses produtos são bioacumulativos, contaminando o meio ambiente e os alimentos derivados de carne bovina e leite, além da ocorrência de casos de intoxicação dos hospedeiros e aplicadores. O uso de repelentes à base de substâncias sintéticas também é realizado, principalmente visando ao controle de espécies que podem parasitar seres humanos, como é o caso de *R. sanguineus*.

Diante dos problemas associados à utilização das substâncias sintéticas, atualmente, há uma busca por novas substâncias acaricidas que sejam mais eficazes e que apresentem menos efeitos adversos. Nesse sentido, os produtos naturais derivados de plantas vêm ganhando destaque. Estes são provenientes do metabolismo secundário vegetal e apresentam vantagem

de serem ambientalmente sustentáveis, causando baixos efeitos a ecossistemas, além de serem biodegradáveis e possuírem, geralmente, baixa toxicidade ao homem e outros animais superiores.

Dentre os diferentes produtos naturais derivados de plantas, os óleos essenciais se destacam por apresentarem grande potencial biológico. Tratam-se de misturas complexas de substâncias lipofílicas (terpenos e fenilpropanoides) e, conseqüentemente, apresentam afinidade com membranas celulares de diferentes microrganismos e pragas. Em adição, por apresentarem uma composição química complexa, podem agir por diferentes mecanismos de ação e, assim, dificultar e atrasar o surgimento de cepas resistentes. Dentre estes mecanismos, a inibição da enzima acetilcolinesterase pode ser um dos modos de ação de compostos presentes em óleos essenciais.

Em particular, no Brasil, estudos que busquem por novos produtos acaricidas e/ou repelentes de origem natural com aplicação em carrapatos são extremamente importantes e de grande relevância, visto que a bovinocultura compreende um importante ramo da agropecuária, contribuindo para a sustentação da economia do país. Além disso, o Brasil figura entre os países com as maiores populações de animais de estimação do mundo, com destaque aos cães. Arelado a esses fatores, a biodiversidade vegetal brasileira é ampla e singular, apresentando uma grande variedade de espécies nativas e exóticas, justificando a pesquisa na área de química de produtos naturais, com ênfase na busca por novas substâncias biologicamente ativas. As espécies vegetais *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* e *Cinnamodendron dinisii* são produtoras de óleos essenciais biologicamente ativos e, até o momento, existem poucos ou nenhum relato na literatura a respeito dos efeitos destes em carrapatos.

Diante da importância econômica, médico-veterinária e ambiental do problema apresentado e das vantagens da utilização de óleos essenciais como fonte de substâncias bioativas, neste trabalho objetivou-se estudar os efeitos dos óleos essenciais de *B. citriodora*, *C. viminalis* e *C. dinisii* em carrapatos do gênero *Rhipicephalus*, por meio de testes acaricidas em *R. microplus* e bioensaios de repelência em *R. sanguineus*. Além disso, a capacidade desses óleos essenciais em ocasionar diminuição na atividade da acetilcolinesterase foi avaliada, a fim de inferir um possível mecanismo de ação. As metodologias utilizadas, bem como os resultados encontrados e a conclusão, estão descritos em formato de um artigo científico submissível a publicação.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Óleos essenciais

A “International Organization for Standardization” (ISSO 9235: 2013) define “óleos essenciais” como produtos obtidos de matéria-prima vegetal, ou seja, de uma planta ou de uma de suas partes, por processos físicos, sendo eles a destilação (hidrodestilação, destilação por arraste com vapor d’água ou destilação seca) ou prensagem a frio, no caso de pericarpos de frutos cítricos (INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION - ISO, 2013). A denominação “óleo” é dada devido ao aspecto oleoso que eles apresentam à temperatura ambiente. Geralmente são chamados de “óleos voláteis”, “óleos etéreos” ou ainda “essências”, devido à elevada volatilidade, lipofílicidade, e ao odor característico que apresentam. Outras particularidades incluem coloração ligeiramente amarelada ou incolor (com algumas exceções), e instabilidade na presença de luz, altas temperaturas, oxigênio e metais (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017).

Os óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de diversos compostos, extraídos de uma grande variedade de plantas aromáticas, e sua ocorrência se dá em diversos órgãos destas, a exemplo, botões florais e flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutos, madeira ou casca e raízes. Tais substâncias são armazenadas em células secretoras, cavidades, canais oleíferos, células epidérmicas ou tricomas glandulares (BAKKALI et al., 2008).

Do ponto de vista químico, os OEs são constituídos majoritariamente por duas classes de compostos orgânicos: terpenos e fenilpropanoides. Estes são provenientes do metabolismo secundário vegetal, oriundos de três vias biossintéticas distintas: a via do metileritritol fosfato (MEP), a via do ácido mevalônico (MEV) e a via do ácido chiquímico, que dão origem aos monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, respectivamente (LENARDÃO et al., 2016). Tais compostos podem conter diversos grupos funcionais em suas estruturas, apresentando-se na forma de aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos, lactonas e até compostos com enxofre (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017). Uma visão mais detalhada a respeito da biossíntese dos constituintes de óleos essenciais será abordada nos itens 2.1.1 e 2.1.2.

Por serem compostos originários do metabolismo vegetal, a identidade e a quantidade relativa dessas substâncias voláteis são determinadas geneticamente, de modo característico para cada espécie vegetal. Entretanto, fatores edafoclimáticos, como estação do ano, índice pluviométrico, radiação ultravioleta, altitude, nível de poluição, entre outros, podem

influenciar a biossíntese desses metabólitos secundários. A composição química final do óleo essencial também é influenciada por fatores relacionados com a coleta e manuseio do material vegetal, como o método de cultivo, idade da planta, horário de coleta, secagem, estocagem, entre outros (BLANK et al., 2010; GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Apesar da variável composição química do ponto de vista qualitativo, geralmente os óleos essenciais caracterizam-se por dois ou três principais componentes majoritários, em concentrações bastante elevadas (entre 20-70%), em comparação aos demais constituintes que estão presentes em menores quantidades (componentes minoritários ou traços). Na literatura, alguns autores atribuem as propriedades biológicas dos OEs a esses constituintes majoritários, ao passo que outros dão ênfase ao papel sinérgico que todos os componentes, majoritários e minoritários, desempenham (BAKKALI et al., 2008).

Os óleos essenciais desempenham vários papéis ecológicos na planta, incluindo a atração de insetos polinizadores, como mensageiros internos e como substâncias protetoras contra herbívoros e patógenos (LENARDÃO, 2016). Além disso, eles exibem uma ampla gama de propriedades biológicas, como antimicrobiana, analgésica, antisséptica, antioxidante, anti-inflamatória, anticâncer e antimutagênica, entre outras. Tais propriedades, atreladas às geralmente agradáveis fragrâncias de seus componentes, os tornam uma matéria-prima em potencial para utilização nas indústrias cosmética, farmacêutica, agrícola e alimentícia (OSORIO et al., 2015). O uso de produtos naturais, tais como os OEs, que apresentam propriedades biológicas, ganhou destaque nos últimos anos, principalmente por sua essência como produto natural, refletindo em benefícios para a saúde humana em oposição às substâncias sintéticas, as quais, muitas vezes, são relacionadas a efeitos maléficos aos seres vivos e ao meio ambiente (NORA; BORGES, 2017).

Na literatura, diversos trabalhos demonstram as atividades biológicas dos óleos essenciais e de seus constituintes, indicando possíveis aplicações em diversas áreas, como utilização em futuras terapias antineoplásicas (ANDRADE et al., 2018) e tripanocidas (VILLAMIZAR et al., 2017), como agentes antimicrobianos (CAMARGO et al., 2020; REZENDE et al., 2017), adjuvantes para o tratamento de picadas de serpentes (SILVA et al., 2017), inseticidas naturais (SALES et al., 2017; TEIXEIRA et al., 2014), herbicidas naturais (SANTIAGO et al., 2017), antioxidantes (FERREIRA et al., 2019; GUIMARÃES et al., 2014;) e acaricidas (PEREIRA JUNIOR et al., 2019; RIBEIRO et al., 2016). Diante disso, cada vez mais esses compostos vêm sendo explorados como possíveis substituintes ou adjuvantes aos produtos químicos sintéticos usualmente empregados atualmente.

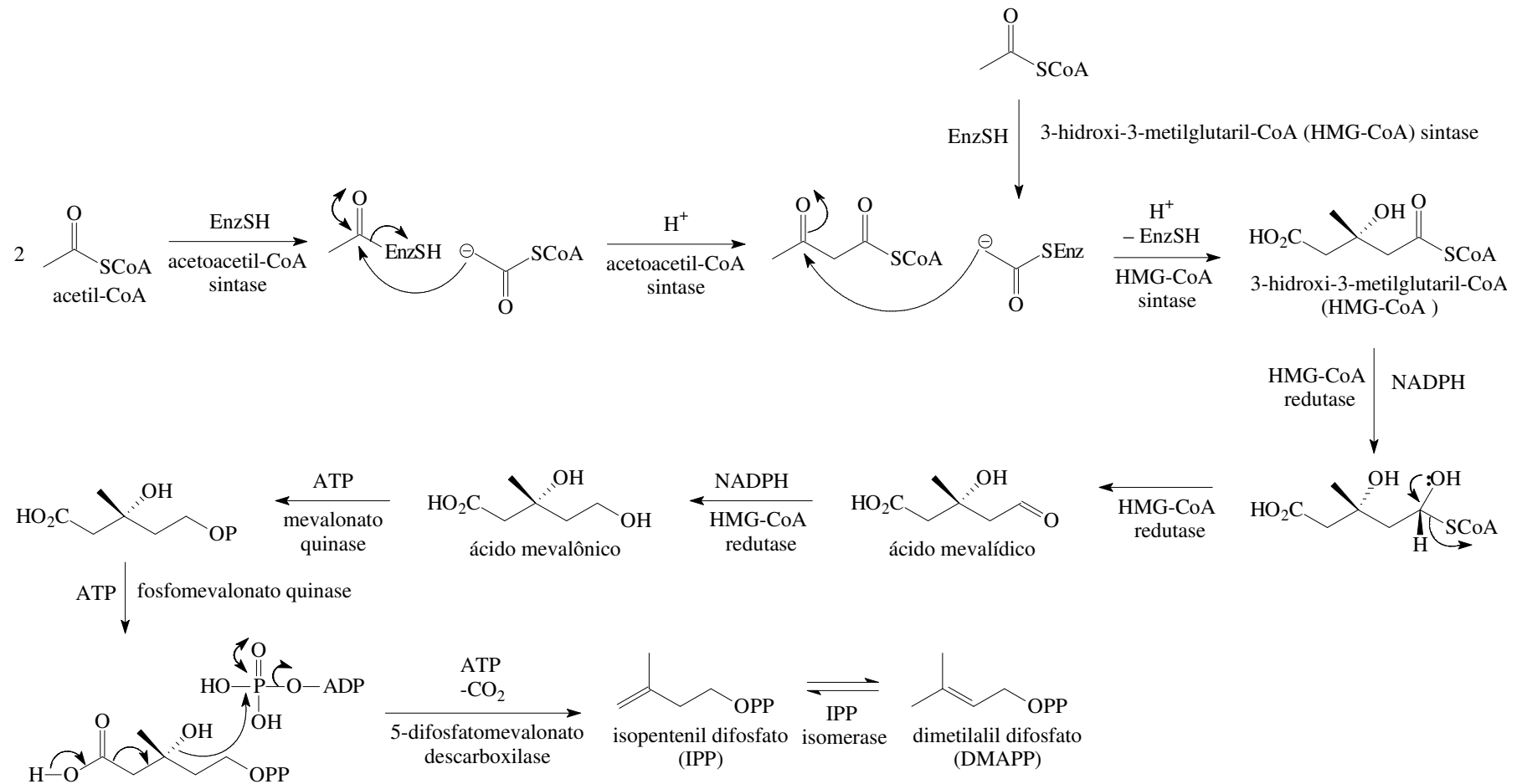
### 2.1.1 Biossíntese de terpenos

Os terpenos, ou terpenóides, quando apresentam outros átomos além de carbono e hidrogênio, geralmente oxigênio, são uma família de metabólitos secundários que se caracterizam pela presença de unidades de isopreno em suas estruturas. Apesar de ser biossintetizado naturalmente por diversas espécies vegetais, o isopreno não está diretamente relacionado com a formação desses compostos, mas sim suas unidades bioquimicamente ativas, denominadas dimetilalil difosfato (DMAPP) e isopentil difosfato (IPP), as quais se acoplam formando os monoterpenos ( $C_{10}$ ), sesquiterpenos ( $C_{15}$ ), diterpenos ( $C_{20}$ ), sesterpenos ( $C_{25}$ ), triterpenos ( $C_{30}$ ), etc. Os terpenos constituem o maior grupo de produtos naturais existentes, apresentando grande diversidade estrutural e, nos óleos essenciais, são encontrados majoritariamente os mono e sesquiterpenos (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017).

Nas células vegetais, os terpenos podem ser biossintetizados por duas rotas distintas: a rota do mevalonato (MEV) e a rota do metileritrofosfato (MEP). A rota do MEV ocorre no citosol, e dá origem preferencialmente aos sesquiterpenos, ao passo que a rota do MEP, que ocorre nos cloroplastos, origina preferencialmente os monoterpenos (DEWICK, 2009).

A rota do mevalonato se inicia com a condensação de duas moléculas de acetil-CoA, formando o acetoacetil-CoA, por meio de uma reação de condensação de Claisen. Posteriormente, uma terceira molécula de acetil-CoA é estereoespecificamente incorporada ao acetoacetil-CoA, originando o éster de cadeia ramificada 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). Destaca-se que nos primeiros passos da rota, a enzima responsável pela catálise se liga às moléculas de acetil-CoA através de um grupo tiol, ocasionando as condensações estereoespecíficas, sendo essas ligações quebradas durante a reação de Claisen e hidrólise para formar o grupo ácido livre do HMG-CoA, respectivamente. A partir do HMG-CoA, a redução do tioéster em aldeído via tio-hemiacetal produz o ácido mevalídico, e subsequentemente o grupo aldeído desse é reduzido a álcool, gerando o ácido mevalônico, principal intermediário dessa via. Em seguida, o agrupamento álcool primário do ácido mevalônico é fosforilado sequencialmente, formando um difosfato. Esse último é então descarboxilado através de uma reação dependente de ATP, o qual se liga ao agrupamento álcool terciário da molécula, fazendo dele um melhor grupo abandonador. Assim, tem-se a formação do IPP, o qual é convertido em DMAPP por meio de uma isomerização alílica estereoespecífica (FIGURA 1) (DEWICK, 2009).

Figura 1 – Esquema geral da biossíntese de isopentil difosfato e dimetilalil difosfato pela rota do mevalonato.

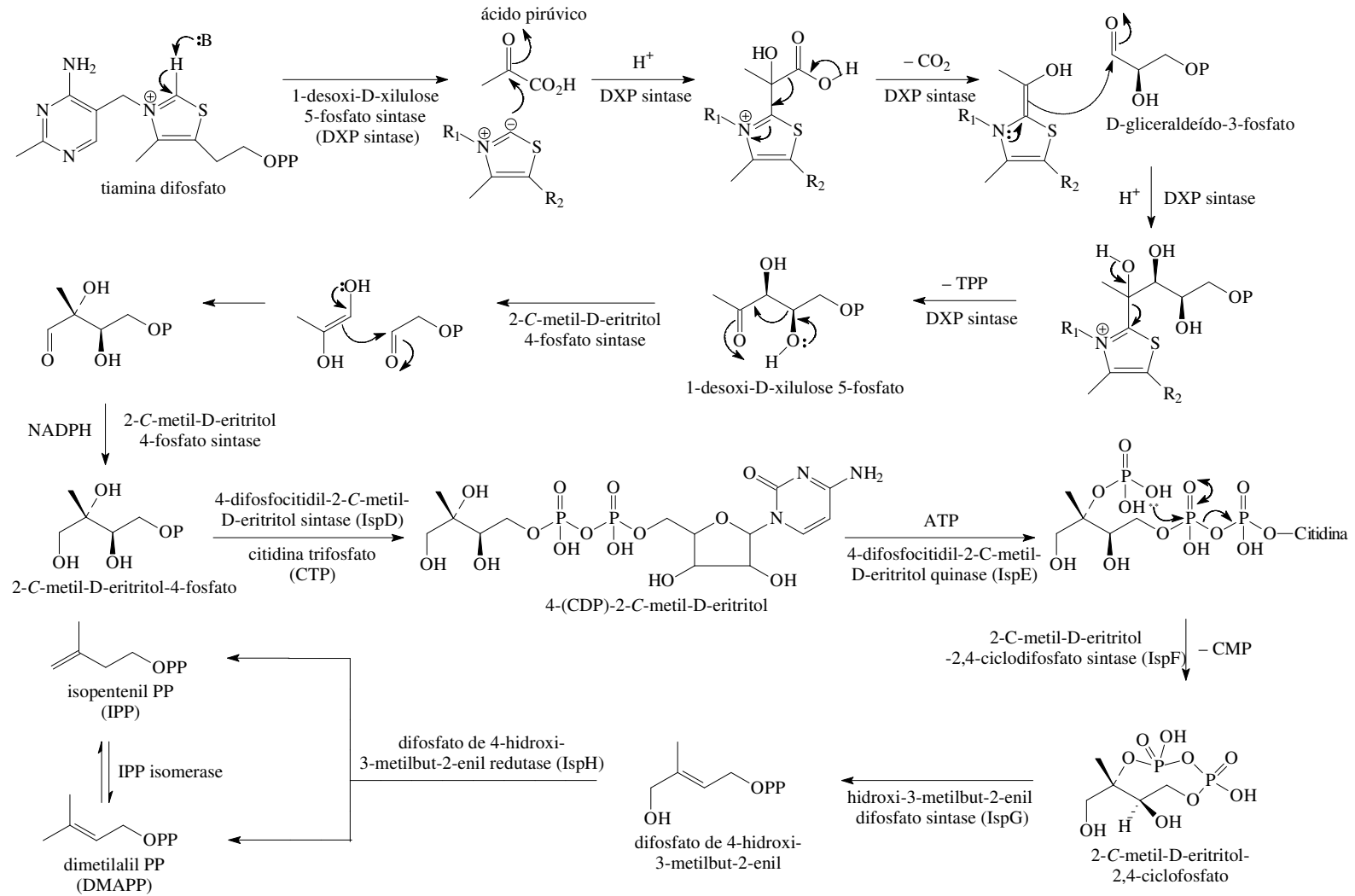


Fonte: Adaptado de Dewick (2009) e Teixeira (2016).



As moléculas-chave que dão início à rota do metileritrofosfato (MEP) são o ácido pirúvico e o gliceraldeído-3-fosfato, ambos intermediários da via glicolítica. Inicialmente, o ácido pirúvico reage com a tiamina difosfato (TPP) em uma reação de adição nucleofílica e, em seguida, sofre descarboxilação, formando um intermediário enamina, o qual reage novamente como um nucleófilo em uma reação de adição com o gliceraldeído-3-fosfato. Subsequentemente, a eliminação de TPP forma o intermediário 1-desoxi-D-xilulose-5-fosfato, o qual é transformado no metileritrol fosfato por meio de rearranjos envolvendo uma reação aldólica reversa, seguida de uma reação aldólica e, por fim, redução. Dando sequência à via, o metileritrofosfato reage com a citidina trifosfato (CTP), produzindo um derivado de citidina difosfato, o qual é fosforilado via ATP. Esse último reage via ataque nucleofílico da hidroxila do grupo fosfato no átomo de fósforo do grupo difosfato, formando um fosfoanidrido cíclico, com posterior perda de citidina fosfato (CMP). Os passos seguintes convertem o fosfoanidrido cíclico nos intermediários IPP e DMAPP (FIGURA 2) (DEWICK, 2009).

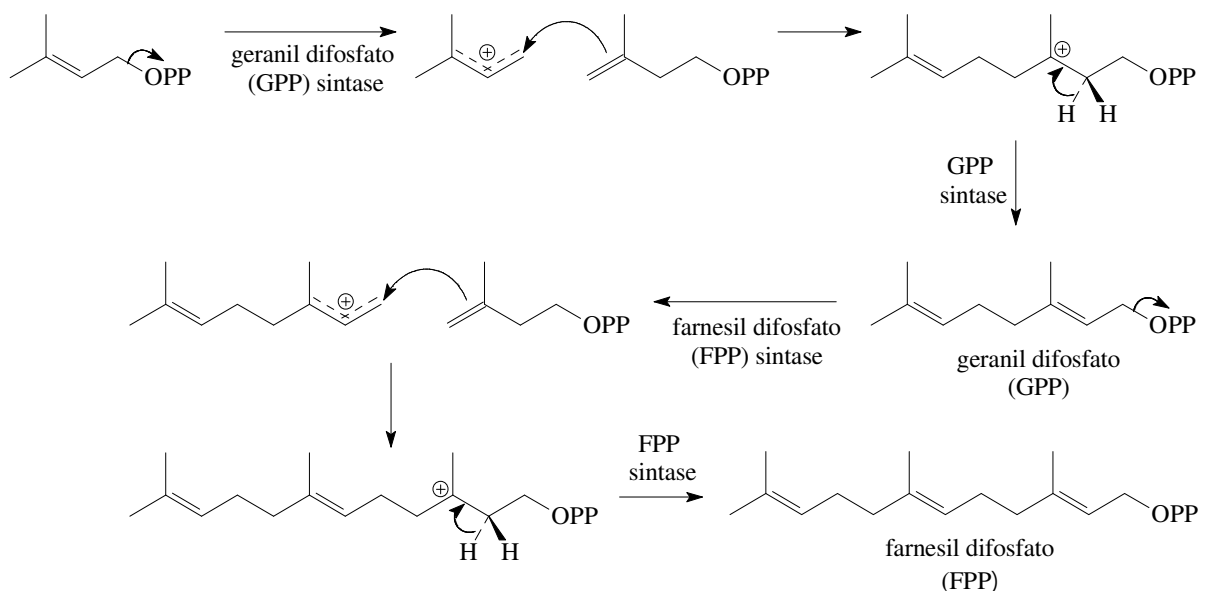
Figura 2 – Esquema geral da biossíntese de isopentil difosfato e dimetilalil difosfato pela rota do metileritrofosfato.



Fonte: Adaptado de Dewick (2009) e Teixeira (2016).

Uma vez formados, os intermediários IPP e DMAPP se combinam sob catálise de enzimas específicas para gerar derivados terpênicos, como os mono e sesquiterpenos presentes nos óleos essenciais. Inicialmente, a molécula de DMAPP perde o grupo fosfato, formando um carbocátion, que é estabilizado por deslocalização eletrônica. Em seguida, o carbocátion alílico se adiciona à dupla ligação do IPP, o qual, após a perda de um próton, forma o geranyl difosfato (GPP), precursor dos monoterpênicos. De maneira análoga, a adição de mais uma unidade de IPP ao GPP leva ao precursor fundamental dos sesquiterpenos, farnesil difosfato (FPP) (FIGURA 3) (DEWICK, 2009).

Figura 3 – Condensação de unidades de IPP E DMAPP para formação de GPP e FPP



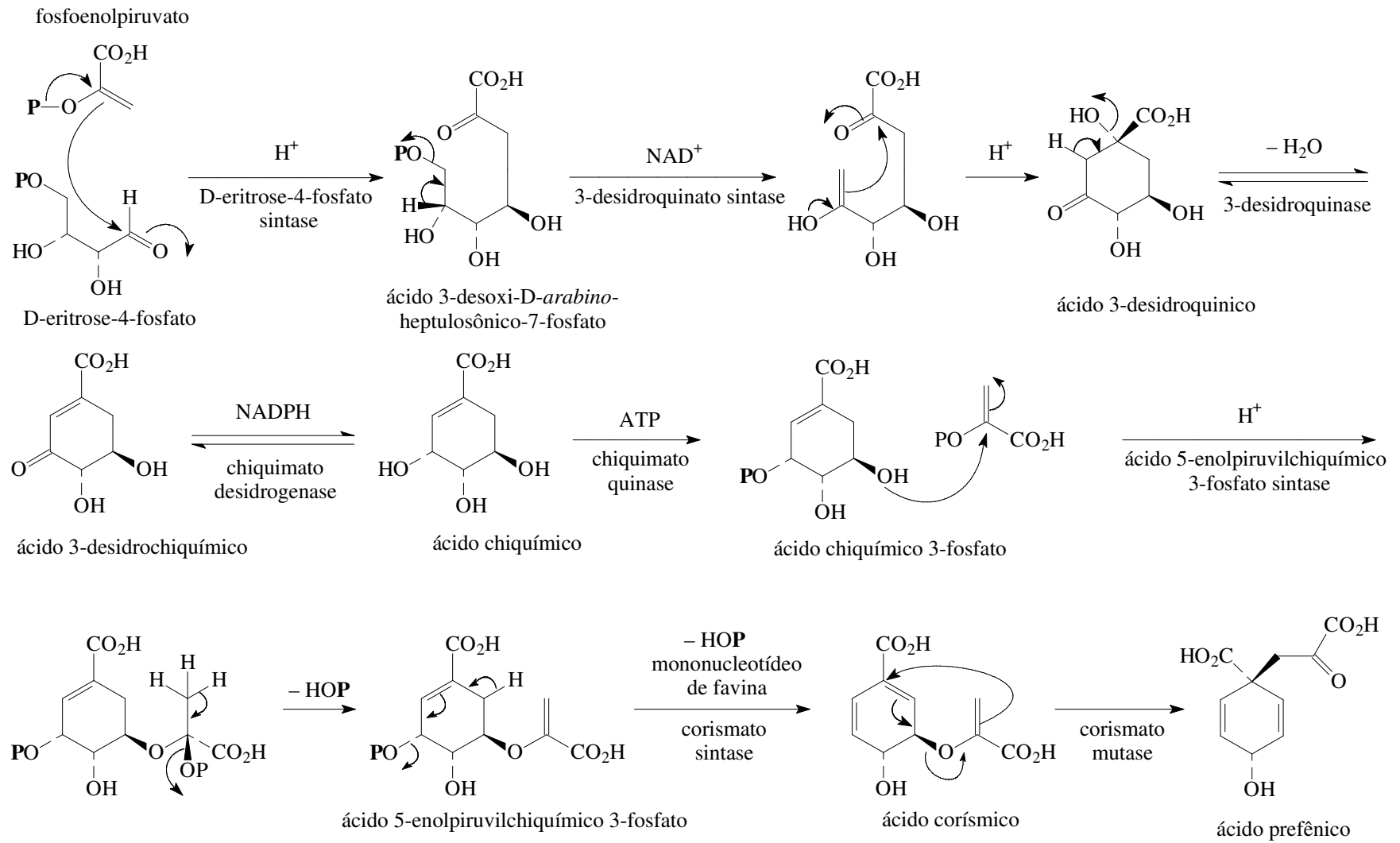
Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

### 2.1.2 Biossíntese de fenilpropanoides

Os fenilpropanoides são uma classe de compostos naturais de origem vegetal que se caracterizam quimicamente pela presença de um anel aromático ligado a uma cadeia de três átomos de carbono. A biossíntese de fenilpropanoides ocorre pela rota do ácido chiquímico (ou rota do chiquimato), a qual é composta por um conjunto de reações que são responsáveis pela origem de todos os metabólitos secundários aromáticos de origem vegetal, os quais são derivados dos aminoácidos fenilalanina ou tirosina (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017).

Por meio de uma reação de condensação aldólica, a via se inicia com o acoplamento de uma molécula de fosfoenolpiruvato, advindo da via glicolítica, com uma molécula de D-eritrose-4-fosfato, advinda da via das pentoses-fosfato, formando o ácido 3-desoxi-D-arabino-heptulosônico-7-fosfato. A eliminação de ácido fosfórico dessa última molécula, seguida de mais outra reação de condensação aldólica, intramolecular, dá origem ao primeiro intermediário carboxílico, o ácido 3-desidroquinico. A partir da desidratação desse ácido seguida de uma etapa de redução, ocorre a formação do ácido chiquímico. Após sofrer fosforilação, o ácido chiquímico sofre uma reação de adição-eliminação com outra molécula de fosfoenolpiruvato, formando o ácido 5-enolpiruvilchiquímico 3-fosfato, que após perder o grupo fosfato (na forma de ácido fosfórico) via reação de eliminação 1,4, se converte no ácido corísmico. Este é então convertido a ácido prefênico, por meio de um rearranjo de Claisen, no qual a cadeia lateral derivada do fosfoenolpiruvato passa a se ligar diretamente à carboxila, formando um anel aromático com uma cadeia lateral composta por três átomos de carbono, esqueleto básico dos fenilpropanoides (FIGURA 4) (DEWICK, 2009).

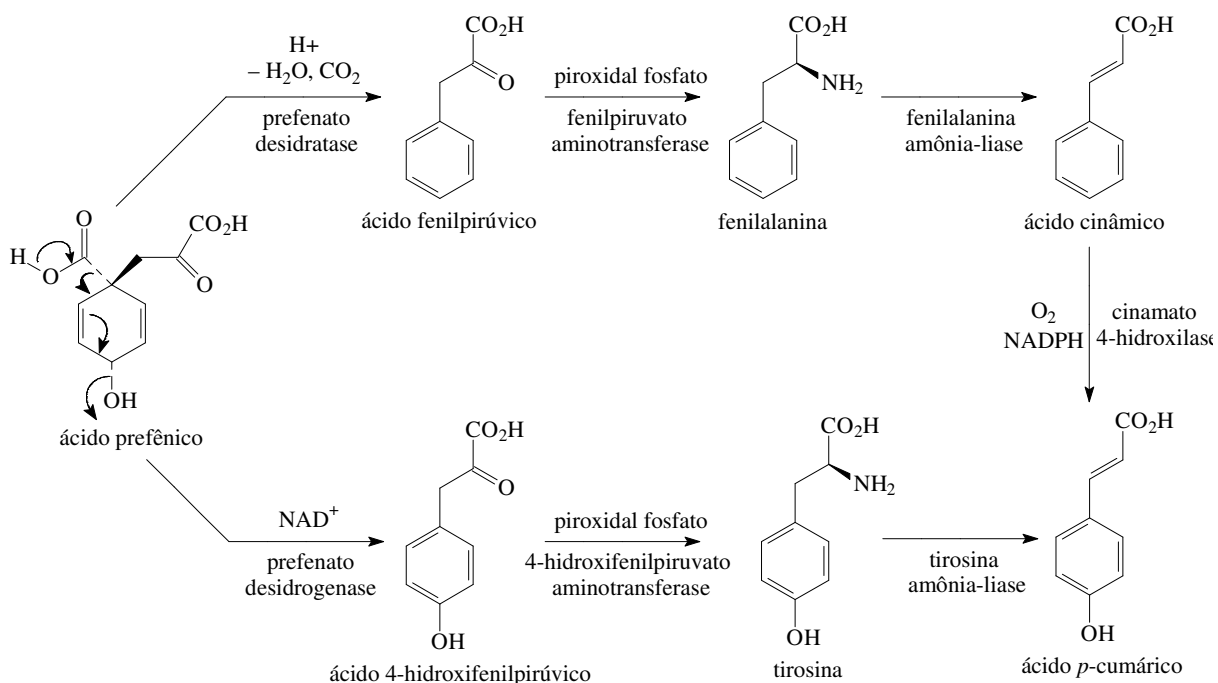
Figura 4 – Esquema geral da biossíntese do ácido prefênico.



Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

Rotas distintas convertem o ácido prefênico nos animonoácidos fenilalanina e tirosina. A aromatização descarboxilativa do ácido prefênico produz ácido fenilpirúvico e, em seguida, uma transaminação dependente de piroxidal fosfato leva à formação do aminoácido fenilalanina. Paralelamente, na presença de uma enzima desidrogenase dependente de  $\text{NAD}^+$ , a aromatização descarboxilativa ocorre com retenção da função hidroxila e, sem seguida, a transaminação do ácido 4 hidroxifenilpirúvico resultante produz subsequentemente a tirosina. A partir da eliminação de amônia da cadeia lateral da fenilalanina e da tirosina, são formados os ácidos cinâmico e *p*-cumárico (FIGURA 5) (DEWICK, 2009).

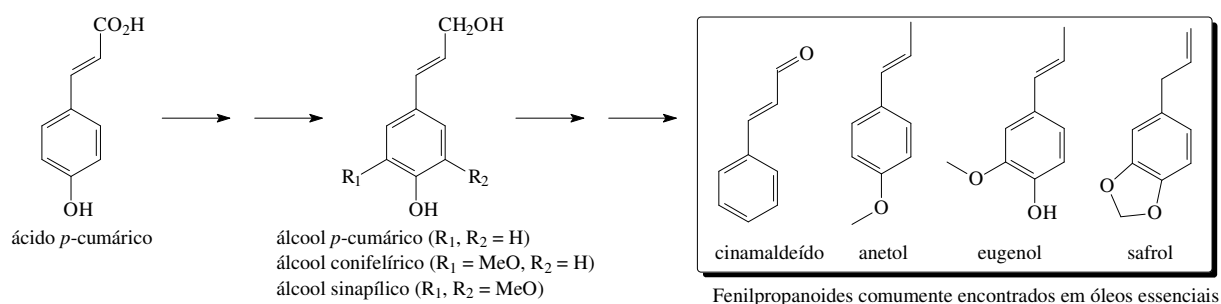
Figura 5 – Esquema geral da biossíntese dos ácidos cinâmico e *p*-cumárico.



Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

Uma vez que o termo “fenilpropanoides” pode ser designado para classificar diversos metabólitos secundários provenientes da fenilalanina e da tirosina, como os derivados do ácido cinâmico e seus ésteres, as lignanas e ligninas, ácidos benzoicos e as cumarinas, os fenilpropanoides comumente encontrados em óleos essenciais são também denominados fenilpropenos. De fato, o fenilpropeno constitui o monômero básico dos fenilpropanoides. Estes são sintetizados a partir da redução de um ácido cinâmico apropriado ao álcool cinâmico correspondente e, a partir de reações de hidroxilação e metilação subsequentes no anel aromático, são produzidos derivados de fenilpropeno variados (DEWICK, 2009). Alguns exemplos de fenilpropanoides encontrados em óleos essenciais são mostrados na Figura 6.

Figura 6 – Esquema geral da redução do ácido *p*-cumárico e reações subsequentes (hidroxilação, metilação, ciclização).



Fonte: Adaptado de Dewick (2009).

### 2.1.3 Óleo essencial de *Backhousia citriodora*

Assim como as demais espécies do gênero vegetal *Backousia* (Myrtaceae), *Backhousia citriodora* (FIGURA 7) é originária das florestas tropicais do leste da Austrália e ocorre como arbustos de porte grande ou árvores de tamanho médio, chegando a atingir 30 m de altura. No Brasil, é conhecida como murta-limão ou limão-australiano (ALDEREES et al., 2018; BUCHAILLOT; CAFFIN; BHANDARI, 2009).

Figura 7 – Espécime de *Backhousia citriodora* (Horto de Plantas Medicinais/DAG/UFLA).



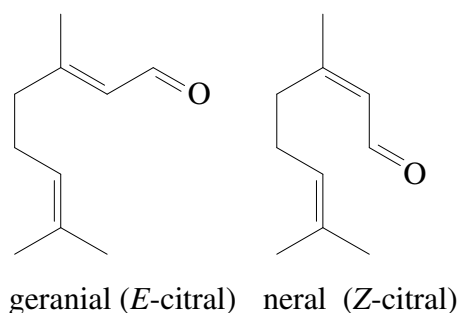
Fonte: Do autor (2020).

Descrita como uma espécie bastante aromática, as partes aéreas da murta-limão são utilizadas na culinária australiana infundidas em forma de chá. É também empregada em aromaterapia e perfumaria (GUO et al., 2014).

O principal quimiotipo apresenta folhas ricas em citral (cerca de 95%), monoterpeneo que representa a mistura isomérica de geranial (*E*-citral) e neral (*Z*-citral) (FIGURA 8),

sendo assim o principal componente do óleo essencial extraído das folhas dessa espécie. Um segundo quimiotipo, cujo óleo essencial é rico em citronelal, pode ser encontrado, mas é raro (SULTANBAWA, 2016).

Figura 8 – Estruturas químicas dos principais constituintes do óleo essencial *Backhousia citriodora*.



Fonte: Do autor (2020).

Por apresentar o citral como constituinte majoritário, o óleo essencial de *B. citriodora* é biologicamente ativo. Em particular, esse é relatado como um agente antimicrobiano promissor, apresentando eficácia contra diversas espécies de bactérias e fungos (HAYES; MARKOVIC, 2002; THIELMANN; MURANYI; KAZMANAB, 2019; WILKINSON et al., 2003). Além disso, o óleo essencial da mesma espécie foi capaz de inibir a síntese de ocratoxina A produzida por fungos patogênicos do gênero *Aspergillus* (SANTIAGO et al., 2018). Anteriormente, estudos de Burke, Baillie e Olson (2004) mostraram que o óleo essencial dessa espécie foi eficaz também no tratamento da doença molusco contagioso.

Com relação à citotoxicidade, Hayes e Markovic (2002), estudando o óleo essencial de *B. citriodora*, demonstraram que esse pode apresentar um efeito tóxico sobre linhagens de células humanas. Em estudos com bioensaios vegetais utilizando alface como modelo, Santiago et al. (2017) observou que o óleo essencial de *B. citriodora* também apresentou efeitos citogenotóxicos. Tais efeitos tóxicos devem ser levados em conta em futuras aplicações do óleo essencial dessa espécie.

#### 2.1.4 Óleo essencial de *Callistemon viminalis*

A espécie vegetal *Callistemon viminalis* (FIGURA 9), conhecida popularmente como escova-de-garrafa, pertencente à família Myrtaceae, se caracteriza como uma árvore de pequeno porte, atingindo 4 metros de altura. É nativa da Austrália, mas apresenta ampla



distribuição geográfica, desenvolvendo-se bem em diversas áreas, onde é utilizada como uma planta ornamental (OYEDEJI et al., 2009; SILVA et al., 2010).

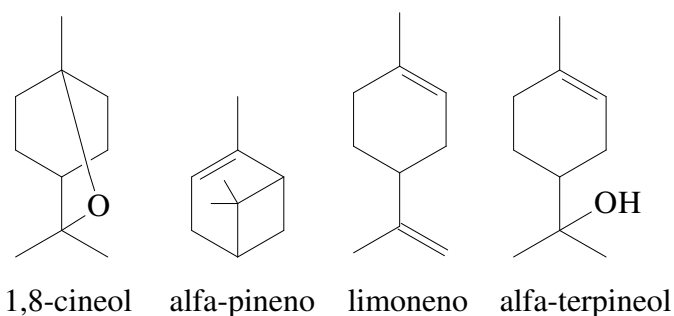
Figura 9 – Espécime de *Callistemon viminalis* (Campus da UFLA).



Fonte: Ado autor (2020).

Para essa espécie vegetal, o óleo essencial pode ser obtido a partir das folhas, galhos e flores, sendo que, geralmente, apresentam composições químicas idênticas do ponto de vista qualitativo, variando apenas nas porcentagens relativas dos seus constituintes. O composto majoritário comumente encontrado para os óleos essenciais obtidos dessa espécie é o 1,8-cineol, também conhecido como eucaliptol, e geralmente é encontrado em teores superiores a 50% de suas composições. Outros compostos comumente encontrados incluem o  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -terpineol e limoneno (FIGURA 10) (ROH; LEE; PARK, 2013; OLIVEIRA et al., 2015; SALES et al., 2017).

Figura 10 – Estruturas químicas dos principais constituintes do óleo essencial de *Callistemon viminalis*.



Fonte: Do autor (2020).

Trabalhos na literatura demonstram a bioatividade do óleo essencial obtido das folhas de *C. viminalis*. Oyedeji et al. (2009) e Quijano-Célis (2010) relataram que esse apresentou notável atividade antibacteriana sobre diversas espécies de bactéria, ao passo que Oliveira (2015) observou que o óleo essencial obtido da mesma espécie apresentou atividade antitumoral *in vitro* sobre linhagens de melanoma humano. Estudos de Sales et al. (2017) mostraram que os óleos essenciais de *C. viminalis* apresentaram atividade inseticida e antifúngica.

Roh, Lee e Park (2013) relataram os efeitos acaricidas e repelentes do óleo essencial de *C. viminalis* sobre o ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*). Os autores observaram que, embora o óleo essencial obtido a partir das folhas e galhos (1,8-cineol – 54,4%, limoneno – 14,4%,  $\alpha$ -pineno – 9,0%) não tenha apresentado efeito repelente significativo, os resultados obtidos para a atividade acaricida mostraram que nas concentrações de 0,5 e 1%, esse ocasionou mortalidade de 71,2 e 88,6% em fêmeas adultas.

### 2.1.5 Óleo essencial de *Cinnamodendron dinisii*

A espécie *Cinnamodendron dinisii* (FIGURA 11), sinônimo botânico de *Capsicodendron dinisii*, é nativa da Mata Atlântica, podendo ser encontrada do sudeste ao sul do Brasil. Conhecida popularmente como pimenteira e pertencente à família Canellaceae, trata-se de uma árvore robusta, atingindo 10-20 metros de altura, com tronco claro e folhagem reluzente, aromática e picante (ANDRADE et al., 2018; VEDOVATTO et al., 2015). As cascas e as folhas apresentam propriedades medicinais e são suavemente narcóticas (TORRES; WISNIEWSKI JUNIOR; SIMIONATTO, 2010).

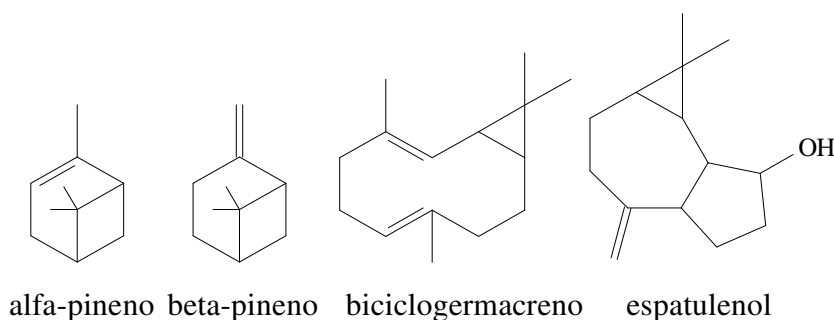
Figura 11 – Espécime de *Cinnamodendron dinisii* (Horto de Plantas Medicinais/DAG/UFLA).



Fonte: Do autor (2020).

O óleo essencial obtido das folhas de *C. dinisii* pode apresentar composição química bastante variada em termos de seus constituintes majoritários, provavelmente em função da localização geográfica do espécime utilizado para coleta e extração dos óleos. Em suas pesquisas, Andrade et al. (2013) e Loura et al. (2016) encontraram como constituintes majoritários os monoterpenos isoméricos  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno. Por outro lado, o sesquiterpeno biciclogermacreno foi o principal constituinte encontrado por Vedovatto (2015) e Mezzomo et al. (2019), seguido do espatulenol. Este último foi o principal composto encontrado como constituinte majoritário no trabalho de Amaral et al (2017). As estruturas químicas de alguns compostos comumente encontrados no óleo essencial de *C. dinisii* estão ilustradas na Figura 12.

Figura 12 – Estruturas químicas dos principais constituintes do óleo essencial das folhas de *Cinnamodendron dinisii*.



Fonte: Do autor (2020).

As biotividades relatadas para o óleo essencial das folhas de *C. dinisii* incluem o potencial antimicrobiano, sendo este mais eficiente no controle de fungos do que de bactérias (ANDRADE et al., 2015; LOURA et al., 2016; MEZZOMO et al., 2019). Outras atividades biológicas relatadas incluem a leishmanicida (ANDRADE et al., 2016) e um baixo potencial antioxidante (ANDRADE et al., 2013). Em trabalho de Andrade et al. (2018), o óleo essencial de *C. dinisii* demonstrou ter um potencial cito e genotóxico, sugerindo que deve ser dada atenção à sua aplicação.

O óleo essencial de *C. dinisii* foi testado também em relação ao seu efeito repelente e inseticida no controle de *Sitophilus zeamais*. Segundo Vedovatto et al. (2015), o mesmo apresentou atividade inseticida, causando mortalidade linear e crescente, e porcentagem de repelência de até 85,2%, a depender da concentração.

## 2.2 Carrapatos

Os carrapatos são ectoparasitas hematófagos, ou seja, habitam a superfície do corpo de um hospedeiro e se alimentam do sangue deste. São amplamente difundidos mundialmente e podem parasitar diversos tipos de hospedeiros, incluindo os mamíferos, aves, répteis e anfíbios. Pertencem ao filo Arthropoda, classe Arachnida, subclasse Acari, superordem Parasitiformes, ordem Ixodida e superfamília Ixodoidea, que é dividida em três famílias: Ixodidae (carrapatos duros), Argasidae (carrapatos moles) e Nuttalliellidae (com uma única espécie, *Nuttalliella namaqua*). Até o momento, mais de 900 espécies de carrapatos foram descritas mundialmente (NAVA et al., 2017).

Esses artrópodes são vetores importantes de doenças que afetam o gado, o homem e animais de estimação, uma vez que transmitem uma grande variedade de agentes patogênicos, como bactérias, protozoários e vírus. Além disso, podem causar paralisia, toxicose, irritação e alergia. Por tais motivos, os carrapatos são considerados um problema importante de saúde pública (DANTAS-TORRES; CHOMEL; OTRANTO, 2012; JONGEJAN; UILENBERG, 2004).

No Brasil, o número de espécies conhecidas gira em torno de 73, pertencentes às famílias Ixodidae, com 47 espécies, e Argasidae, com 26 espécies. Os ixodídeos estão divididos em cinco gêneros: *Amblyomma*, *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus* e *Dermacentor*. Dentre os cinco gêneros de ixodídeos encontrados no país, aquelas do gênero *Amblyomma* e *Rhipicephalus* se destacam e despertam um maior interesse na comunidade científica (ANDREOTTI; GARCIA; KOLLER, 2019).

Dentro do gênero *Rhipicephalus*, as espécies *R. sanguineus* e *R. microplus* são importantes e se destacam pela alta incidência no Brasil e no mundo, apresentando grande importância veterinária na transmissão de patógenos. Além disso, *R. microplus* é notado também por seu impacto econômico (ANDREOTTI et al., 2014).

### 2.2.1 *Rhipicephalus microplus*

A espécie *Rhipicephalus microplus* (anteriormente *Boophilus microplus*), conhecida no Brasil como carrapato-do-boi ou carrapato bovino (FIGURA 13), é originária da Ásia e devido a condições climáticas favoráveis, se adaptou muito bem aos países tropicais, encontrando-se hoje em dia distribuído nas Américas Central e do Sul, África e Oceania. *R.*

*microplus* parasita preferencialmente os bovinos, podendo infestar também bubalinos, equídeos, ovinos, caprinos e cervídeos (ROCHA, 2003).

Figura 13 – Fêmeas de *Rhipicephalus microplus* infestando bovino.



Fonte: Andreotti, Garcia e Koller (2016).

*R. microplus* é considerado um parasita monóximo, ou seja, completa o seu ciclo de vida em único hospedeiro, o qual compreende duas fases, uma não parasitária, relacionada ao período de vida fora do hospedeiro (não alimentar) e outra parasitária, que consiste na fase de vida no hospedeiro (alimentar) (SENBILL et al., 2018).

A fase parasitária inicia-se com a fixação da larva em um hospedeiro susceptível. Nos bovinos, as regiões corporais mais propícias para o desenvolvimento das larvas são a barbela, entre pernas, úbere, região posterior e períneo. Após um intervalo de 4 a 7 dias, ocorre a mudança do estágio larval, passando para ninfa. Após um período de 9 a 16 dias, ocorre novamente a ecdise, transformando as ninfas em adultos. Uma vez adultos, os carrapatos realizam a cópula e as fêmeas vão se desprender do hospedeiro entre 18 e 35 dias após a fixação das larvas. Desde a fixação da larva até o desprendimento da fêmea ingurgitada, a fase parasitária de *R. microplus* dura em média 21 dias. Os machos permanecem no hospedeiro por um período maior de tempo em busca de novas fêmeas para cópula. A fase não parasitária inicia-se no momento em que a fêmea se desprende do animal e cai ao solo, onde procura um local seguro e protegido de inimigos naturais e incidência de luz solar. Inicia-se então o período de pré-postura, tempo necessário para que ocorra maturação dos ovários, produção e maturação dos ovos, com duração 3 a 5 dias após o desprendimento, sendo que esse período

pode variar de acordo com as condições climáticas. Em seguida, enceta-se então a ovipostura e, após a termino desta, a fêmea morre, finalizando assim seu ciclo de vida e deixando ali seus ovos para incubação. Estima-se que do peso corporal total de uma fêmea ingurgitada, 50% são convertidos em massa de ovos, sendo que geralmente cada fêmea tem a capacidade de realizar ovipostura de aproximadamente 3000 ovos. Decorrido o tempo necessário de incubação, eclodem as larvas. O fim da fase não parasitária termina quando as larvas infestam um novo hospedeiro ou morrem sem encontrar nenhum hospedeiro em potencial (ANDREOTTI; GARCIA; KOLLER, 2019).

As condições climáticas, como temperatura e umidade, influenciam diretamente a duração da fase não parasitária. Nos meses mais quentes, o tempo desde o desprendimento da fêmea ingurgitada até o aparecimento de suas larvas na pastagem é menor do que nos meses mais frios. Em contraste, a fase parasitária não sofre tanto com as condições climáticas, uma vez que o parasita está fixo ao hospedeiro, o qual possui uma temperatura corporal constante (CAMPOS PEREIRA; LABRUNA, 2008). Nesse sentido, considerando as duas fases do ciclo de vida do carrapato bovino, pode-se dizer que a duração total de um ciclo é dependente das condições climáticas, podendo variar entre regiões e estações do ano. Sob condições ideais, o ciclo pode ser completo em dois meses, bem como se estender a vários meses quando em condições desfavoráveis (ANDREOTTI; GARCIA; KOLLER, 2019).

Grande parte dos rebanhos bovinos no mundo está exposta a carrapatos e, conseqüentemente, doenças causadas por eles, ocasionando prejuízos econômicos. Considerando taxas de inflação, entre 1996 e 2015, estimou-se que as perdas alcançaram US\$ 22-30 bilhões por ano (LEW-TABOR; VALLE, 2016). No Brasil, dentre os diversos parasitas que afetam o lucro das atividades pecuaristas, o carrapato-do-boi é o mais importante, sendo o maior responsável pelas perdas econômicas. Grisi et al. (2014) estimaram que as infestações ocasionadas por *R. microplus* são responsáveis por uma perda anual de 3,24 bilhões de dólares.

Os danos diretos ocasionados por *R. microplus* estão relacionados principalmente a perdas na produção de derivados da pecuária bovina. Um animal infestado com *R. microplus* pode desenvolver anemia e perda de nutrientes devido à espoliação sanguínea, impactando no ganho de peso e nutrição animal, ocasionando, conseqüentemente, danos na produção de carne e leite. Animais mais susceptíveis podem ficar debilitados ou até mesmo chegarem a óbito. Além disso, as lesões na pele predispõem o desenvolvimento de miíases (JONSSON, 2006; RECK et al., 2014). O setor do couro também é afetado, visto que ele é desvalorizado devido aos danos à pele dos animais (JONGEJAN; UILENBERG, 2004).

O carrapato-do-boi também causa problemas indiretos, com destaque na transmissão dos protozoários *Babesia bovis* e *B. bigemina* e da bactéria *Anaplasma marginale*, que são patógenos causadores da Tristeza Parasitária Bovina, doença que causa elevados índices de mortalidade e morbidade aos animais infectados (CLERCQ et al., 2012), além de perdas econômicas associadas a tratamento e diagnóstico médico veterinário (SACCO, 2001).

As perdas econômicas associadas ao parasitismo de *R. microplus* se tornam mais expressivas quando se pensa na importância do setor de bovinocultura, principalmente no Brasil, onde a criação de gado de corte ou leiteiro vem crescendo nos últimos anos. Em 2015, o país possuía o maior rebanho do mundo, com 209 milhões de cabeças, e era o segundo maior consumidor (38,6 kg/habitante/ano) e segundo maior exportador (1,9 milhões toneladas) de carne bovina do mundo (GOMES et al., 2017). O Brasil também é destaque na produção de leite, a qual apresentou aumento 5 vezes nas últimas décadas. De 1974 a 2014, os números aumentaram de 7,1 bilhões para mais de 35,1 bilhões de litros (ROCHA; CARVALHO, 2018).

Apenas no terceiro trimestre de 2019, foram abatidas 8,49 milhões de cabeças de bovinos sob algum tipo de serviço de inspeção sanitária, valor esse que foi 2,1% superior ao obtida no 3º trimestre de 2018 e 7,0% acima do registrado no trimestre anterior. No mesmo período, a aquisição de leite cru foi de 6,29 bilhões de litros, equivalente a um aumento de 0,6% em relação ao 3º trimestre do ano anterior, e a um incremento de 7,5% em comparação com o segundo trimestre de 2019. A aquisição de couro foi de 8,59 milhões de peças, indicando um acréscimo de 2,4% diante do trimestre anterior (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2019).

### **2.2.2 *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato**

Conhecido no Brasil como carrapato-vermelho-do-cão, *R. sanguineus* (FIGURA 14) é o nome científico utilizado para representar um complexo de 17 espécies de carrapatos, sendo esse denominado mais corretamente como *R. sanguineus* sensu lato (DANTAS-TORRES, 2010). Trata-se de um parasita comum de cães domésticos, podendo ser encontrado em quase todo o mundo. Embora esse carrapato tenha como principal hospedeiro os cães, o mesmo pode ser encontrado em uma ampla variedade de animais selvagens e domésticos, e até mesmo em humanos. Sua origem não é bem estabelecida, entretanto, acredita-se que seja uma espécie africana que se espalhou pelo mundo por meio dos cães (DANTAS-TORRES, 2008).

Figura 14 – Fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* s. l. infestando cão.



Fonte: Dantas-Torres (2009).

O ciclo de vida *R. sanguineus* s. l. é trioxênico. O parasita alcança o hospedeiro no estágio larval, se alimenta e deixa o hospedeiro para sofrer ecdise no ambiente. O mesmo ocorre no estágio de ninfa e, posteriormente, o adulto alcança o hospedeiro pela terceira vez para finalizar o ciclo. O ciclo de *R. sanguineus* s. l. se inicia com a oviposição das fêmeas, que chega a durar semanas, sendo elas capazes de fazer a postura de até 4000 ovos. Após isso, em condições experimentais controladas, ocorre a eclosão das larvas em um período de até 32 dias após a postura. Estas se alimentam por um período de quatro dias, em média, e a ecdise da larva para o estágio ninfa ocorre após aproximadamente 32 dias após a alimentação. Durante um período de quatro a sete dias, as ninfas se alimentam e evoluem para o estágio adulto após uma média de 32,8 dias. Uma vez no estágio adulto, a fêmea se alimenta por cerca de nove dias e, em seguida, inicia o período pré-oviposição, que varia de três dias a algumas semanas. O ciclo de *R. sanguineus* se completa em média em 23 a 25 semanas sob condições laboratoriais (DANTAS-TORRES et al., 2010; TROUGHTON; LEVIN, 2007). No meio ambiente, o tempo de duração do ciclo de vida de *R. sanguineus* pode variar de acordo com as condições climáticas (calor, umidade) e regionais.

As infestações por *R. sanguineus* s. l. afetam diretamente o bem-estar dos hospedeiros, ocasionando dor, incômodo e prurido. Além disso, a preocupação maior acerca do parasitismo ocasionado por *R. sanguineus* s. l. se dá pelo motivo de ele ser vetor de diversos agentes patogênicos de importância, sendo este o principal responsável por transmitir doenças aos cães. Por poder infestar também seres humanos, esse parasita apresenta grande importância na



saúde pública, principalmente porque estima-se que o aumento da temperatura do planeta, em função do aquecimento global, possa aumentar sua infestação em humanos, e consequentemente, o número de casos de parasitoses transmitidas por este parasita (DANTAS-TORRES et al., 2010).

Para os cães, *R. sanguineus* é o vetor de *Babesia vogeli* e *Ehrlichia canis*, agentes etiológicos da babesiose canina e erliquiose monocítica canina, respectivamente (GRAY et al., 2013). Além disso, suspeita-se que o carrapato-do-cão esteja envolvido na transmissão de outros patógenos importantes, como *Leishmania infantum*, o agente etiológico da Leishmaniose visceral (DANTAS-TORRES et al., 2010).

Para os humanos, diversos estudos apontam que *R. sanguineus* s. l. possa transmitir uma grande variedade de agentes patogênicos, como *Rickettsia rickettsii*, agente causador da Febre Maculosa das Montanhas Rochosas, nos Estados Unidos e no México, e *R. conorii*, agente causador da Febre Maculosa do Mediterrâneo na Europa (DANTAS-TORRES; OTRANTO, 2015). No Brasil, suspeita-se que *R. sanguineus* possa ser um potencial vetor da *R. rickettsii*, agente causador da Febre Maculosa Brasileira, uma vez que estudos demonstraram a identificação dessa bactéria no parasita (ALMEIDA et al., 2013; PACHECO et al., 2011; SILVA et al., 2017).

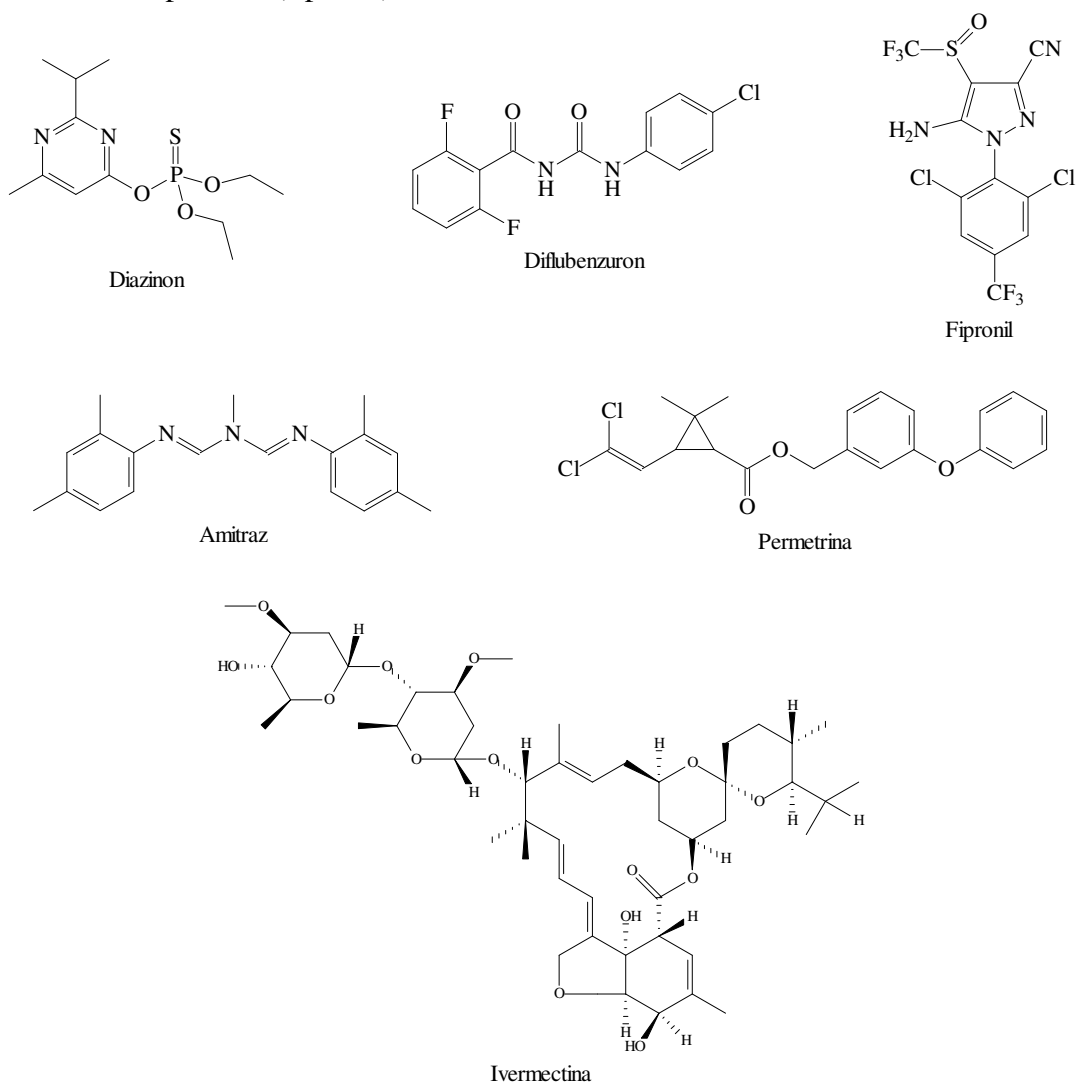
### 2.2.3 Controle de carrapatos

Com o avanço da ciência e da tecnologia, diversas são as estratégias descritas para o controle de carrapatos. Cita-se o controle por meio de vacinação, de modo a aumentar a imunidade do hospedeiro (CONTRERAS et al., 2017; DE LA FUENTE et al., 2007, FREEMAN et al., 2010) e o controle biológico, por meio de predadores e organismos entomopatogênicos (ABBAS et al., 2014; LEAL; FREITAS; VAZ, 2003; SAMISH, 2006; WASSERMANN et al., 2016). No caso do controle de *R. microplus*, outras estratégias, como medidas associadas à rotação de pastagens e seleção de pastagens que dificultam o desenvolvimento dos carrapatos, bem como a suplementação mineral dos bovinos, são descritas (PEREIRA; SOUZA; BAFFI, 2010).

Entretanto, os programas de controle de carrapatos se baseiam principalmente no uso de produtos acaricidas sintéticos disponíveis comercialmente, sendo as principais substâncias pertencentes às classes dos organofosforados, piretroides, amidinas, lactonas macrocíclicas, benzoilfenilureias e fenilpirazóis (ADENUBI et al., 2018; SONENSHINE; ROE, 2013). Alguns representantes comuns dessas classes estão ilustrados na Figura 15. O uso de

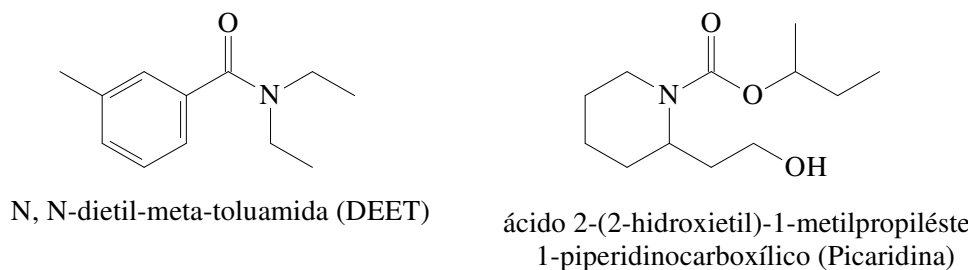
repelentes também é considerado eficaz na prevenção de carrapatos e doenças transmitidas por eles em animais de companhia e humanos. Atualmente, os repelentes mais usados incluem N, N-dietil-meta-toluamida (DEET) e ácido 2-(2-hidroxi-etil)-1-metilpropiléster 1-piperidinocarboxílico (Picaridina) (FIGURA 16) (ADENUBI et al., 2018; CISAK et al., 2012). Produtos repelentes e/ou acaricidas comerciais estão disponíveis para uso em animais de companhia, gado e seres humanos, em diferentes formulações, incluindo comprimidos, sprays, sabonetes, xampus, pós, colares impregnados, soluções de imersão, podendo ser aplicados no corpo todo ou em uma parte específica. (ADENUBI et al., 2018; GASSEL et al., 2014).

Figura 15 – Estruturas químicas de alguns acaricidas sintéticos pertencentes às classes dos organofosforados (diazinon), piretroides (permetrina), amidinas (amitraz), lactonas macrocíclicas (ivermectina), benzoilfenilureias (diflubenzuron) e fenilpirazois (fipronil).



Fonte: Adaptado de Sonenshine e Roe (2014).

Figura 16 – Repelentes mais utilizados no controle de carrapatos.



Fonte: Adaptado de Adenubbi et al. (2018).

Apesar de serem eficientes, o uso inadequado e frequente de produtos acaricidas pode ocasionar a seleção de carrapatos resistentes geneticamente. Geralmente, a resistência é reconhecida como falha de um medicamento no controle do parasitismo, mas a definição formal de resistência é uma mudança na suscetibilidade das espécies-alvo a um medicamento (ABBAS et al., 2014; CORLEY et al., 2013). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a resistência pode ser definida, em termos mais amplos, como a capacidade de uma cepa do parasita sobreviver e/ou se multiplicar, apesar da administração e absorção de um medicamento administrado em doses iguais ou superiores às geralmente recomendadas, mas dentro dos limites de tolerância (ABBAS et al., 2014).

Uma vez estabelecida uma população de carrapatos resistentes a um determinado produto, são necessárias dosagens mais altas e mais frequentes para se obter um controle satisfatório (KLAFKE et al., 2017). Em adição, existe uma preocupação acerca de determinadas substâncias sintéticas, uma vez que essas podem ser tóxicas, podendo ocasionar envenenamento dos hospedeiros e dos seres humanos, e contaminar, por meio de resíduos, alimentos de origem animal (carne e leite) e meio ambiente. (BABAR et al., 2012; SINGH et al., 2015).

Atualmente, pesquisas vêm sendo realizadas de modo a encontrar novas substâncias que sejam eficazes no controle de carrapatos, apresentando alta eficácia e baixa toxicidade. Nesse contexto, produtos naturais, tais como os óleos essenciais, surgem como uma possível alternativa (ADENUBBI et al., 2018).

### 2.3 Óleos essenciais no controle de carrapatos

As plantas também são fontes de agentes acaricidas e, neste sentido, elas têm se mostrado um método alternativo para o controle de diferentes espécies de ácaros, em função

dos diversos metabólitos secundários que produzem como mecanismo de defesa em condições de estresse. As piretrinas, por exemplo, são derivadas das flores secas de *Chrysanthemum cinerariifolium*. Essa classe de compostos orgânicos tem sido utilizada há séculos devido a suas propriedades repelentes, acaricidas e inseticidas, fornecendo um esqueleto estrutural para a síntese de piretroides sintéticos potentes, que são componentes de muitos inseticidas domésticos e industriais (DHANG; SANJAYAN, 2014; ROSADO-AGUILAR, 2017).

Nos últimos anos, pesquisas envolvendo extratos vegetais para uso no controle de carrapatos aumentaram, na tentativa de encontrar compostos com propriedades repelentes e acaricidas que possam ser usados como substitutos ou em associação aos compostos sintéticos. Adenubi et al. (2016) argumentam que o mercado de produtos acaricidas à base de plantas é extremamente promissor, especialmente se forem considerados os altos níveis de consumo sintético de acaricidas. Os produtos naturais de origem vegetal podem ser úteis visando a produção animal “orgânica”, além de fornecerem alternativas para o controle de linhagens resistentes. O desenvolvimento sustentável do planeta visa à prevenção da contaminação do meio ambiente e de alimentos, o que torna essencial a investigação da fitoterapia, a qual pode ser abordada a fim de encontrar soluções para os problemas causados por carrapatos e doenças transmitidas por eles (ADENUBI et al., 2016; 2018).

Diversos estudos mostram que substâncias obtidas de diferentes espécies de plantas podem apresentar diferentes mecanismos de ação contra artrópodes, como inibição da alimentação ou da síntese de quitina, diminuição do crescimento, desenvolvimento e/ou reprodução, além do fato de que podem afetar o comportamento de um determinado ácaro sem efeitos adversos em espécies não alvo (ROSADO-AGUILAR, 2017). Em adição, uma vantagem do uso desses produtos naturais é que a resistência pode se desenvolver lentamente, pois geralmente há uma mistura de diferentes agentes ativos com diferentes mecanismos de ação (ADENUBI et al., 2016). Outras vantagens de se utilizar derivados de plantas como agentes acaricidas incluem o fato de que estes apresentam compatibilidade com os predadores naturais, além de possuírem efeito residual curto e, geralmente, baixa toxicidade ao homem e outros animais superiores (CAMILO et al., 2017).

A avaliação das propriedades repelentes e acaricidas de um determinado produto vegetal, extratos brutos e/ou óleos essenciais pode ser feita em todos os estágios (adulto, ninfa, larva e ovo) de uma determinada espécie de carrapato. Entretanto, aquelas espécies que apresentam importância econômica ou na saúde pública e médico-veterinária são mais estudadas (ADENUBI et al., 2016). Óleos essenciais de diferentes espécies de plantas já foram avaliados sobre diferentes gêneros de ácaros. No caso dos carrapatos, o gênero

*Rhipicephalus* é o mais estudado e óleos essenciais extraídos de espécies vegetais da família Lamiaceae se destacam por serem os mais estudados sobre esse gênero (ROSADO-AGUILAR, 2017). A eficácia desses compostos contra ácaros, entretanto, pode variar dependendo da dosagem do produto, superfície de aplicação, via e método de aplicação (GARCIA et al., 2012; VIEIRA et al., 2012).

Óleos essenciais contendo altos teores de carvacrol são considerados os mais efetivos na atividade acaricida, com diversos estudos demonstrando a toxicidade desse monoterpene aromático, mesmo quando aplicado em baixas concentrações, sobre diversas espécies de ácaros (CETIN et al., 2010; CRUZ et al., 2013; KOC et al., 2013, RAMÍREZ et al. 2016; PEREIRA JUNIOR et al., 2019). O 1,8-cineol (eucaliptol), encontrado em espécies do gênero *Eucalyptus*, e o limoneno, encontrado em espécies do gênero *Citrus*, também são considerados compostos eficientes em ensaios de atividade acaricida (ASSIS et al., 2011; JEON; KIM; LEE, 2014; LEE; SUNF; LEE, 2006; ROH; LEE; PARK, 2013).

Chagas et al. (2016), por exemplo, observaram que os óleos essenciais de *Curcuma longa* ( $\alpha$ -turmerona - 26.8%, ar-turmerona - 19.8%), *Lippia alba* (carvona - 61.7%, limoneno - 17.5%), *Mentha arvensis* (mentol - 86.7%), *Lippia sidoides* (timol - 64.5%, *p*-cimeno - 11.7%) e *Croton sacaquinha* (germacreno - 12.0%), diluídos em solução aquosa contendo 2% de Tween 80, apresentaram boa eficácia em fêmeas engurgitadas de *R. microplus*, com valores de CL<sub>50</sub> (concentração estimada capaz de ocasionar letalidade em 50% dos indivíduos) iguais a 10,24, 10,78, 22,31, 27,67 e 29,88 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Os autores relacionaram a eficácia diretamente aos principais componentes de cada óleo essencial.

Em termos da ação repelente sobre carrapatos, um estudo recente relatou que óleos essenciais obtidos de 51 espécies de plantas aromáticas de 16 famílias apresentaram eficácia repelente, contra 8 espécies de carrapatos testadas. Os autores observaram que, no geral, os OE testados foram eficazes independentemente da espécie em particular e do estágio de desenvolvimento dos carrapatos. Entretanto, o grau de eficácia dependerá do óleo essencial em particular (BENELLI; PAVELA, 2018)

Ferreira et al. (2017) avaliaram a repelência do monoterpene  $\beta$ -citronelol, um dos constituintes majoritários comumente encontrado em óleos essenciais de espécies como *Dianthus caryophyllum*, *Cymbopogon winterianus* e *Perlagonium graveolens*, em comparação ao DEET, um repelente padrão, em adultos em jejum de *R. sanguineus*. Os resultados obtidos pelos autores foram promissores, já que o  $\beta$ -citronelol apresentou maior repelência do que o DEET, sendo observado um efeito dose-dependente. Em outro estudo, Bessinger et al (2014), estudaram a atividade do repelente TT-4302, o qual continha 5% de

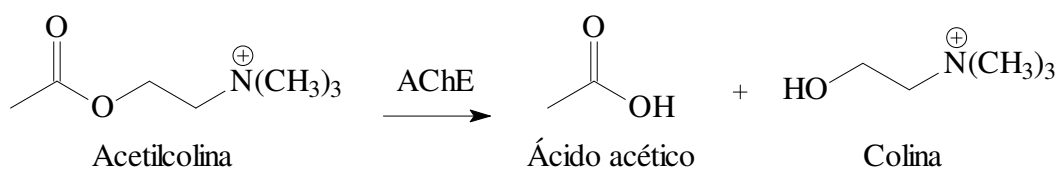
geraniol, monoterpene encontrado em óleos essenciais de espécies como *Cymbopogon martini* e *C. nardus*, em adultos em jejum de *R. sanguineus*. Segundo os autores, 100% de repelência foi observada mesmo após 3,5 horas de tratamento com TT-4302, indicando a eficácia do produto testado.

Metabólitos secundários de plantas podem apresentar diferentes mecanismos de ação contra artrópodes, como inibição da alimentação ou da síntese de quitina, polissacarídeo que constitui o exoesqueleto dos artrópodes, bem como ocasionar diminuição do crescimento, desenvolvimento e reprodução (ROSADO-AGUIAR, 2017). A atividade acaricida/repelente pode ocorrer também por meio de mecanismos neurotóxicos. Pesquisas relatam que óleos essenciais que contenham compostos que podem atuar na inibição da acetilcolinesterase (AChE), no antagonismo com receptores do neurotransmissor octopamina e no fechamento dos canais de cloreto pelo GABA (CAMILO et al., 2017; ISMAN, 2000; REGNAULT-ROGER; VINCENT; ARNASON, 2012).

## 2.4 A enzima acetilcolinesterase

Nas sinapses colinérgicas, amplamente distribuídas no sistema nervoso (ambos central e periféricos), a acetilcolinesterase (AChE) é a enzima responsável por catalisar a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh) (FIGURA 17). A ACh, por sua vez, atua transmitindo a mensagem de um neurônio a outro. Desse modo, a ação da AChE regula a transmissão dos impulsos nervosos, sendo extremamente importante para a manutenção de inúmeras funções fisiológicas dos animais. De fato, a AChE é uma enzima chave crítica para a função do sistema nervoso dos seres vivos. (ARAÚJO; SANTOS; GONÇALVES, 2016).

Figura 17 – Esquema reacional da hidrólise da ACh catalisada pela AChE.

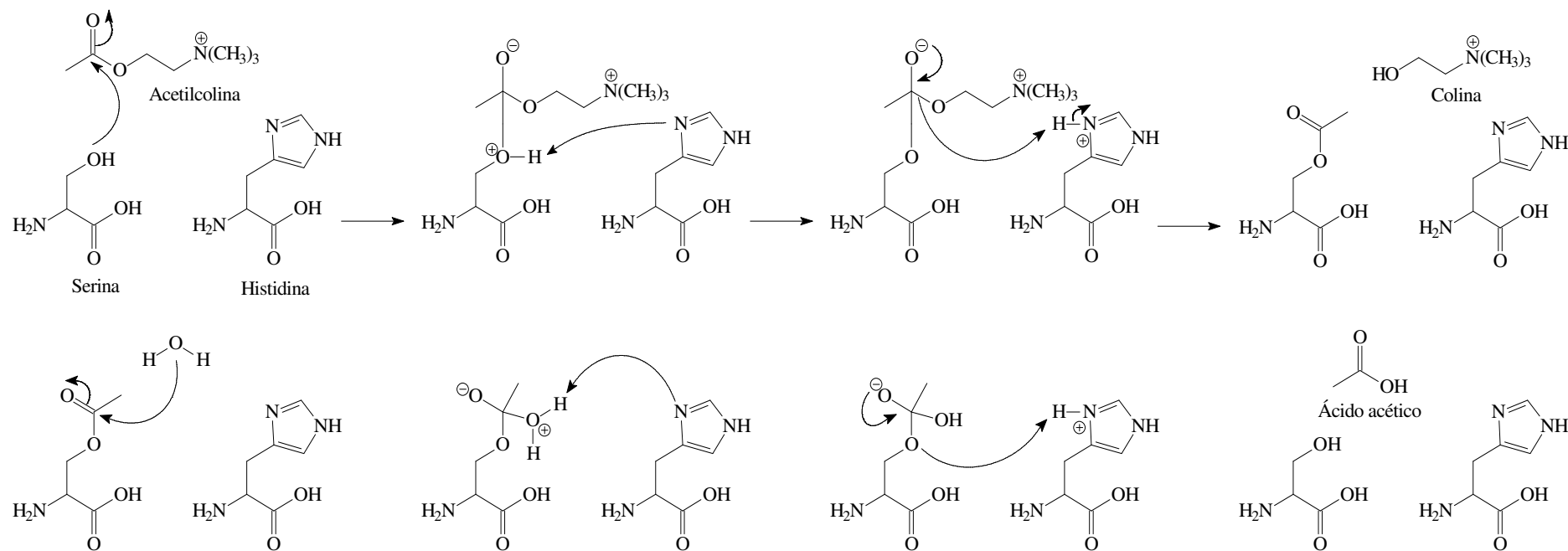


Fonte: Do autor (2020).

Nas subunidades catalíticas da AChE, os resíduos dos aminoácidos histidina e serina são os mais importantes para a hidrólise da ACh. O mecanismo de hidrólise da ACh no sítio ativo da AChE indica que, inicialmente, uma adição nucleofílica ocorre entre

neurotransmissor e resíduo de serina. Posteriormente, o resíduo de histidina atua como uma base, retirando um próton do íon hidroxônio formado, o qual, em seguida, é doado para a porção colina da ACh, que é então liberada. Com a liberação da colina, a AChE fica acetilada e, para que ela volte a ter atividade, necessita sofrer hidrólise. Assim, uma molécula de água atua como nucleófilo e, neste processo, o ácido acético e o resíduo de serina é liberado, tornando a enzima ativa novamente (FIGURA 18) (ARAÚJO; SANTOS; GONÇALVES, 2016).

Figura 18 – Mecanismo simplificado da hidrólise da acetilcolina no sítio ativo da acetilcolinesterase



Fonte: Adaptado de Araújo, Santos e Gonçalves (2016).



Quando a AChE é inibida por uma determinada substância, ela se torna incapaz de hidrolisar a ACh e, assim, o neurotransmissor tende a permanecer ativo por um período maior na fenda sináptica, fato que incrementa a transmissão colinérgica. As substâncias que atuam como inibidoras da AChE são denominadas anticolinesterásicos e podem ser terapêuticamente utilizados em casos que envolvem baixos níveis de acetilcolina. De fato, diversas substâncias constituem princípios ativos de fármacos os quais tem como mecanismo de ação a inibição da acetilcolinesterase, tanto no sistema nervoso central quanto no periférico. Tais fármacos são úteis em casos de constipação atônica, tônica intestinal, retenção urinária, miastenia grave, bem como no tratamento da demência associada às doenças de Alzheimer e Parkinson (ARAÚJO; SANTOS; GONÇALVES, 2016).

No entanto, o acúmulo de ACh também leva a patologias, uma vez que a superestimulação dos receptores desse neurotransmissor nas sinapses leva a doenças neurais, como depressão, tontura, dor de cabeça, náusea, dificuldade em respirar e morte súbita (KHAN et al., 2018). Nesse sentido, a inibição da AChE consiste também em um mecanismo de ação de pesticidas no controle de pragas e parasitas. Os carbamatos e organofosforados são duas classes de compostos com capacidade de inibir a AChE e, apesar de apresentarem elevada toxicidade, ainda são largamente utilizados (GIACOPPO et al., 2014). Quando ocorre a inibição da enzima, ocorre um acúmulo da ACh em níveis tóxicos para os invertebrados, como insetos e carrapatos, por exemplo, causando um contínuo estímulo neuronal e levando à morte por paralisia espástica.

Compostos provenientes do metabolismo secundário vegetal também atuam inibindo a acetilcolinesterase, e vêm ganhando interesse como possíveis princípios ativos para o desenvolvimento de novos fármacos e pesticidas. Como exemplo, pode-se citar os flavonoides (KHAN et al., 2018), cumarinas (ANAND; SINGH; SINGH, 2012), alcaloides (NG; OR; IP, 2015) e triterpenos (AWASTHI et al., 2017). Alguns monoterpênicos também são capazes de inibir a AChE, indicando que os óleos essenciais também podem ser considerados como uma fonte de moléculas com atividade anticolinesterásica (HOUGHTON; REN; HOWES, 2006).

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, R. Z. et al. Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: the state of play. **Veterinary Parasitology**, v. 203, n. 1-2, p. 6-20, 2014.
- ADENUBI, O. T. et al. *In vitro* bioassays used in evaluating plant extracts for tick repellent and acaricidal properties: A critical review. **Veterinary Parasitology**, v. 254, p. 160-171, 2018.
- ADENUBI, O. T. et al. Plant extracts to control ticks of veterinary and medical importance: a review. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 178-193, 2016.
- ALDEREES, F. et al. Mechanism of Action against Food Spoilage Yeasts and Bioactivity of *Tasmannia lanceolata*, *Backhousia citriodora* and *Syzygium anisatum* Plant Solvent Extracts. **Foods**, v. 7, n. 11, p. 179, 2018.
- ALMEIDA, R. F. C. et al. Ixodid fauna and zoonotic agents in ticks from dogs: first report of *Rickettsia rickettsii* in *Rhipicephalus sanguineus* in the state of Mato Grosso do Sul, mid-western Brazil. **Experimental and Applied Acarology**. v. 60, n. 1, p. 63–72, 2013.
- AMARAL, W. et al. Essential oil yield and composition of native tree species from Atlantic Forest, South of Brazil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 20, n. 6, p. 1525-1535, 2017.
- ANAND, P.; SINGH, B.; SINGH, N. A review on coumarins as acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 3, p. 1175-1180, 2012.
- ANDRADE, M. A. et al. Biological activity of the essential oils from *Cinnamodendron dinisii* and *Siparuna guianensis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 189-194, 2015.
- ANDRADE, M. A. et al. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from *Cinnamodendron dinisii* Schwacke and *Siparuna guianensis* Aublet. **Antioxidants**, v. 2, n. 4, p. 384-397, 2013.
- ANDRADE, M. A. et al. Toxicological Aspects of the Essential Oil from *Cinnamodendron dinisii*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 15, n. 5, p. e1800066, 2018.
- ANDRADE, M. A. et al. Essential oils: *in vitro* activity against *Leishmania amazonensis*, cytotoxicity and chemical composition. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 444, 2016.
- ANDREOTTI, R. *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae) as a Potential New Alternative for the Mitigation of Tick Infestation. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 03, n. 04, p. 3–7, 2014.
- ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; KOLLER, W. W. **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Embrapa Gado de Corte-Livro científico (ALICE), 2019.
- ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. **Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo**. 1. Ed. Brasília: Embrapa Gado de Corte, 2016.

ARAÚJO, C. R. M.; SANTOS, V. L. A.; GONSALVES, A. A. Acetilcolinesterase-AChE: Uma Enzima de Interesse Farmacológico. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1818-1834, 2016.

ASSIS, C. P. O. et al. Toxicity of essential oils from plants towards *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) and *Suidasia pontifica* Oudemans (Acari: Astigmata). **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 4, p. 311-315, 2011.

AWASTHI, M. et al. Terpenoids as promising therapeutic molecules against Alzheimer's disease: amyloid beta-and acetylcholinesterase-directed pharmacokinetic and molecular docking analyses. **Molecular Simulation**, v. 44, p. 1-11, 2017.

BABAR, W. et al. An Inventory of the Plants Used for Parasitic Ailments of Animals. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 32, n. 2, 2012.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BENELLI, G.; PAVELA, R. Repellence of essential oils and selected compounds against ticks – A systematic review. **Acta Tropica**, v. 179, p. 47-54, 2018.

BISSINGER, B. W., et al. Activity of the plant-based repellent, TT-4302 against the ticks *Amblyomma americanum*, *Dermacentor variabilis*, *Ixodes scapularis* and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 62, n. 1, p. 105-113, 2014.

BLANK, A. F. et al. Comportamento fenotípico e genotípico de populações de manjeriço. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 305-310, 2010.

BUCHAILLOT, A.; CAFFIN, N.; BHANDARI, B. Drying of lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaves: retention of volatiles and color. **Drying Technology**, v. 27, n. 3, p. 445-450, 2009.

BURKE, B. E.; BAILLIE, J.; OLSON, R. D. Essential oil of Australian lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) in the treatment of molluscum contagiosum in children. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 58, n. 4, p. 245-247, 2004.

CAMARGO, K. C. et al. Antibacterial action of the essential oil from *Cantinoa carpinifolia* benth. Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 35, n. 1, p. 99-106, 2020.

CAMILO, C. J. et al. Acaricidal activity of essential oils: a review. **Trends in Phytochemical Research**, v. 1, n. 4, p. 183-198, 2017.

CAMPOS PEREIRA, M.; LABRUNA, M. B. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Chapter 3. In: CAMPOS PEREIRA, M.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J.; KLAFKE, G. M. (Eds.). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência*. Medicina Veterinária, São Paulo, 2008.169 p.

CETIN, H. et al. Acaricidal activity of *Satureja thymbra* L. essential oil and its major

components, carvacrol and  $\gamma$ -terpinene against adult *Hyalomma marginatum* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 170, n. 3-4, p. 287-290, 2010.

CHAGAS, A. C. S. et al. Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 7, n. 3, p. 427-432, 2016.

CISAK, E. et al. Repellents and acaricides as personal protection measures in the prevention of tick-borne diseases. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 19, n. 4, 2012.

CLERCQ, E. M. et al. Geographic distribution of the invasive cattle tick *Rhipicephalus microplus*, a country-wide survey in Benin. **Experimental and Applied Acarology**, v. 58, n. 4, p. 441-452, 2012.

CONTRERAS, M.; ALBERDI, P.; FERNÁNDEZ DE MERA, I. G.; et al. Vaccinomics Approach to the Identification of Candidate Protective Antigens for the Control of Tick Vector Infestations and *Anaplasma phagocytophilum* Infection. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, n. 8, p. 1-15, 2017.

CORLEY, S. W. et al. Mutation in the Rm $\beta$ AOR gene is associated with amitraz resistance in the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 42, p. 16772-16777, 2013.

CRUZ, E. M. O. et al. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 195, n. 1-2, p. 198-202, 2013.

DANTAS-TORRES, F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites & Vectors**, v. 3, n. 1, p. 26, 2010.

DANTAS-TORRES, F. ***Rhipicephalus sanguineus* e a epidemiologia da leishmaniose visceral canina no Estado de Pernambuco**. 2009. 96 p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2009.

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v. 152, n. 3-4, p. 173-185, 2008.

DANTAS-TORRES, F.; CHOMEL, B. B.; OTRANTO, D. Ticks and tick-borne diseases: A One Health perspective. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 10, p. 437-446, 2012.

DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Further thoughts on the taxonomy and vector role of *Rhipicephalus sanguineus* group ticks. **Veterinary Parasitology**, v. 208, n. 1-2, p. 9-13, 2015.

DE LA FUENTE, J.; ALMAZÁN, C.; CANALES, M. et al. A ten-year review of commercial vaccine performance for control of tick infestations on cattle. **Animal Health Research Reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases**, v. 8, n. 1, p. 23-28, 2007.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3. ed. Chichester: J. Wiley, 2009.

DHANG, P.; SANJAYAN, K. P. 15 Plants with Pest Control Properties Against Urban Pests. **Urban Insect Pests: Sustainable Management Strategies**, v. 216, 2014.

FERREIRA, L. L. et al. In vitro repellency of DEET and  $\beta$ -citronellol against the ticks *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* and *Amblyomma sculptum*. **Veterinary Parasitology**, v. 239, p. 42-45, 2017.

FERREIRA, V. R. F. et al. Colorimetric, electroanalytical and theoretical evaluation of the antioxidant activity of *Syzygium aromaticum* L., *Origanum vulgare* L., *Mentha spicata* L. and *Eremanthus erythropappus* M. essential oils, and their major constituents. **New Journal of Chemistry**, v. 43, n. 20, p. 7653-7662. 2019.

FREEMAN, J. M. et al. Bm86 midgut protein sequence variation in South Texas cattle fever ticks. **Parasites and Vectors**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2010.

GARCIA, M. V. et al. Chemical identification of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae) essential oil and its acaricidal effect on ticks. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 405-411, 2012.

GASSEL, M. et al. The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod  $\gamma$ -aminobutyric acid-and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 45, p. 111-124, 2014.

GIACOPPO, J. O. S. et al. Guerra Química: Perspectivas no Estudo de Reativadores da Enzima Acetilcolinesterase Inibida por Organofosforados. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 3, p. 653-670, 2014.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOMES, R. DA C.; FEIJÓ, G. L. D.; CHIARI, L. Evolução e Qualidade da Pecuária Brasileira. Embrapa, Nota técnica, p. 4, 2017.

GRAY, J. et al. Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 4, n. 3, p. 171-180, 2013.

GRISI, L. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.

GUIMARÃES, L. G. L. et al. Antioxidant capacity of essential oils extracted from *Lippia sidoides*, *Ageratum fastigiatum*, *Ocotea odorifera*, *Mikania glauca* and their major components. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, n. 16, p. 632-639, 2014.

GUO, Y.; SAKULNARMRAT, K.; KONCZAK, I. Anti-inflammatory potential of native Australian herbs polyphenols. **Toxicology Reports**, v. 1, p. 385-390, 2014.

HAYES, A. J.; MARKOVIC, B. Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 4, p. 535-543, 2002.

HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V., SIMÕES, C. M. O. Óleos voláteis. In: SIMÕES et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 12. E-Book. ISBN 978-85-8271-359-4. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582713655/>>. Acesso em 12 nov. 2019.

HOUGHTON, Peter J.; REN, Yuhao; HOWES, Melanie-Jayne. Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports*, 2006, 23.2: 181-199.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Indicadores da Pecuária crescem em relação ao trimestre anterior e ao 3º trimestre de 2018**. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/26346-indicadores-da-pecuaria-crescem-em-relacao-ao-trimestre-anterior-e-ao-3-trimestre-de-2018>>. Acesso em 19. dez. 2019.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. ISSO 9235: **Aromatic natural raw materials – Vocabulary**. 2ª ed. 2013. 14 p.

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

JEON, J.; KIM, M.; LEE, H. Acaricidal activities of bicyclic monoterpene ketones from *Artemisia iwayomogi* against *Dermatophagoides* spp. **Experimental and Applied Acarology**, v. 62, n. 3, p. 415-422, 2014.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, n. S1, p. S3-S14, 2004.

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

KHAN, H. et al. Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: current therapeutic standing and future prospects. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 2018, 101: 860-870.

KLAFKE, G. et al. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, v. 8, n. 1, p. 73-80, 2017.

KOC, S. et al. Acaricidal activity of *Origanum bilgeri* PH Davis (Lamiaceae) essential oil and its major component, carvacrol against adults *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 193, n. 1-3, p. 316-319, 2013.

LEAL, A. T.; FREITAS, D. R. J; VAZ, I. S. Perspectives for control of bovine tick. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 31, n. 1, p. 01–11, 2003.

LEE, C.; SUNG, B.; LEE, H. Acaricidal activity of fennel seed oils and their main components against *Tyrophagus putrescentiae*, a stored-food mite. **Journal of Stored Products Research**, v. 42, n. 1, p. 8-14, 2006.

LENARDÃO, E. J. et al. Antinociceptive Effect of Essential Oils and Their Constituents: an Update Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 3, p. 435-474, 2016.

LEW-TABOR, A. E.; VALLE, M. R. A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against ticks and tick borne diseases. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 7, n. 4, p. 573-585, 2016.

LOURA, L. G. et al. Variação sazonal, horário de colheita, composição química e potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Cinnamodendron dinisii* Schwacke. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 3, p. 765-772, 2016.

MEZZOMO, P. et al. Antifungal activity of *Ocotea odorifera* (Vell.) Rowher, *Ocotea puberula* (Rich.) Nees and *Cinnamodendron dinisii* Schwanke essential oils. **bioRxiv**, p. 859272, 2019.

NAVA, S. et al. **Ticks of the Southern Cone of America**: diagnosis, distribution, and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance. Londres: Academic Press, Elsevier, 2017.

NG, Y. P.; OR, T. C. T.; IP, N. Y. Plant alkaloids as drug leads for Alzheimer's disease. *Neurochemistry international*, 2015, 89: 260-270.

NORA, F. M. D.; BORGES, C. D. Ultrasound pretreatment as an alternative to improve essential oils extraction. **Ciência Rural**, v. 47, n. 9, p. 1-9, 2017.

OLIVEIRA, C. M., et al. Chemical Characterization and in vitro Antitumor Activity of the Essential Oils from the Leaves and Flowers of *Callistemon viminalis*. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, n. 16, p. 2664, 2015.

OSORIO, A. M. B. et al. Essential Oil from Flowers of *Solanum stipulaceum*: Composition, Effects of  $\gamma$ -Radiation, and Antileukemic Activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 11, p. 2233-2240, 2015.

OYEDEJI, O., et al. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Callistemon citrinus* and *Callistemon viminalis* from South Africa. *Molecules*, 2009, 14.6: 1990-1998.

PACHECO, R. C. et al. Rickettsial infections of dogs, horses and ticks in Juiz de Fora, southeastern Brazil, and isolation of *Rickettsia rickettsii* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 25, n. 2, p. 148-155, 2011.

PEREIRA JUNIOR, A. M. et al. Efficacy of carvacrol on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* engorged female ticks (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae): effects on mortality and reproduction. **Natural Product Research**, v. 1, n. 4, 2019.

PEREIRA, C. D.; SOUZA, G. R. L.; BAFFI, M. A. **Carrapato dos bovinos**: métodos de controle e mecanismos de resistência a acaricidas. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010.

QUIJANO-CÉLIS, C. et al. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Callistemon viminalis* (Gaertn.) G. Don leaves from Colombia. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 2010, 13.6: 710-716.

RAMÍREZ, C. et al. Assessment and determination of LC50 of carvacrol and salicylic acid analogues with acaricide activity in larvae and adult ticks of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 1, n. 2, p. 72-77, 2016.

RECK, J. et al. Does *Rhipicephalus microplus* tick infestation increase the risk for myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle? *Preventive Veterinary Medicine*, v. 113, n. 1, p. 59–62, 2014.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annual review of entomology**, v. 57, p. 405-424, 2012.

REZENDE, D. A. C. S. et al. Characterization of the Biological Potential of the Essential Oils from Five Species of Medicinal Plants. **American Journal of Plant Sciences**, v. 8, n. 02, p. 154, 2017.

RIBEIRO, P. H. S. et al. SEASONAL CHEMICAL COMPOSITIONS OF THE ESSENTIAL OILS OF TWO *Eugenia* SPECIES AND THEIR ACARICIDAL PROPERTIES. **Química Nova**, v. 39, n. 1, p. 38-43, 2016.

ROCHA, C. M. B. M. Aspectos relevantes da biologia do *Boophilus microplus* (Cannestrini, 1887). **Boletim da Universidade Federal de Lavras**, 2003.

ROCHA, D. T; CARVALHO, R. G. Produção brasileira de leite: uma análise conjuntural. p. 6, 2018.

ROH, H. S.; LEE, B. H.; PARK, C. G. Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 16, n. 3, p. 245-249, 2013.

ROSADO-AGUILAR, J. A. et al. Plant products and secondary metabolites with acaricide activity against ticks. **Veterinary Parasitology**, v. 238, p. 66-76, 2017.

SACCO, A. M. S. Controle/Profilaxia da Tristeza Parasitária Bovina. Comunicado técnico-Embrapa, v. 38, p. 1–3, 2001.

SALES, T. A. et al. Essential oils from the leaves and flowers of *Callistemon viminalis*: chemical characterization and evaluation of the insecticide and antifungal activities. **American Journal of Plant Sciences**, v. 8, n. 10, p. 2516, 2017.

SAMISH, M. **Biocontrol of Ticks**. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 916, n. 1, p. 172–178, 2006.



SANTIAGO, J. A. et al. Cytogenotoxic effect of essential oil from *Backhousia citriodora* L. (Myrtaceae) on meristematic cells of *Lactuca sativa* L. **South African Journal of Botany**, v. 112, n. 1, p. 515-520, 2017.

SANTIAGO, J. A. et al. Effect of the essential oils from *Melaleuca alternifolia*, *Melaleuca quinquenervia* and *Backhousia citriodora* on the synthesis of ochratoxin A by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* isolated from tropical wine grapes. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 418-423, 2018.

SENBILL, H.; HAZARIKA, L. K.; BARUAH, A.; et al. Life cycle of the southern cattle tick, *Rhipicephalus* ( *Boophilus* ) *microplus* (Canestrini 1888) ( Acari : Ixodidae) under laboratory conditions. **Systematic and Applied Acarology**, v. 23, n. 6, p. 1169–1179, 2018.

SILVA, A. B.; DUARTE, M. M.; CAVALCANTE, R. C.; et al. *Rickettsia rickettsii* infecting *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Latreille 1806), in high altitude atlantic forest fragments, Ceara State, Brazil. **Acta Tropica**, v. 173, n. 5, p. 30–33, 2017.

SILVA, C. J., et al. Chemical composition and antibacterial activities from the essential oils of Myrtaceae species planted in Brazil. **Química Nova**, 2010, 33.1: 104-108.

SILVA, L. F. et al. Essential Oils from *Mentha viridis* (L). L. and *Mentha pulegium* L.: Cytogenotoxic Effects on Human Cells. **American Journal of Plant Sciences**, v. 8, n. 06, p. 1423, 2017.

SINGH, N. K. et al. Acaricidal activity of *Cymbopogon winterianus*, *Vitex negundo* and *Withania somnifera* against synthetic pyrethroid resistant *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Parasitology Research**, v. 113, n. 1, p. 341-350, 2014.

SONENSHINE, D.E.; ROE, R.M. **Biology of Ticks**. 2. ed. Vol. 2. Oxford: Oxford University Press, 2013.

SULTANBAWA, Y.. Lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) oils. In: **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. Academic Press, 2016. p. 517-521.

TEIXEIRA, M. L. et al. Essential oils from *Lippia organoides* Kunth. and *Mentha spicata* L.: chemical composition, insecticidal and antioxidant activities. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 09, p. 1181, 2014.

TEIXEIRA, M. L. **Óleos essenciais de *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) e *Lippia organoides* Kunth.: composição química, atividade antioxidante e potencial farmacológico**. 2016. 191 p. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

THIELMANN, J.; MURANYI, P.; KAZMAN, P. Screening essential oils for their antimicrobial activities against the foodborne pathogenic bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Heliyon**, v. 5, n. 6, p. 01860, 2019.

TORRES, E.; WISNIEWSKI JUNIOR, A.; SIMIONATTO, E. L. Composição química dos componentes voláteis de *Capsicodendron dinisii* Schwancke (Canellaceae). 2010.

TROUGHTON, D. R.; LEVIN, M. L. Life Cycles of Seven Ixodid Tick Species (Acari: Ixodidae) Under Standardized Laboratory Conditions. *Journal of Medical Entomology*, v. 44, n. 5, p. 732–740, 2007.

VEDOVATTO, F., et al. Essential oil of *Cinnamodendron dinisii* Schwanke for the control of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 1055-1060, 2015.

VIEIRA, G. H. C; ANDRADE, W. P.; NASCIMENTO, D. M. Uso de óleos essenciais no controle do ácaro *Varroa destructor* em *Apis mellifera*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 3, p. 317-322, 2012.

VILLAMIZAR, L. H. et al. Linalool, a *Piper aduncum* essential oil component, has selective activity against *Trypanosoma cruzi* trypomastigote forms at 4°C. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 112, n. 2, p. 131-139, 2017.

WASSERMANN, M ET AL. Biological control of *Ixodes ricinus* larvae and nymphs with *Metarhizium anisopliae* blastospores. *Ticks and Tick-borne Diseases*, v. 7, n. 5, p. 768–771, 2016.

WILKINSON, J. M., et al. Bioactivity of *Backhousia citriodora*: antibacterial and antifungal activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 1, p. 76-81, 2003.

**SEGUNDA PARTE - ARTIGO**

**ARTIGO 1 - Efeito acaricida e repelente dos óleos essenciais de *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* e *Cinnamodendron dinisii* em carrapatos *Rhipicephalus* sp. (Acari: Ixodidae).**

**RESUMO**

Os carrapatos *Rhipicephalus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato apresentam grande importância na agropecuária, medicina veterinária e saúde pública, seja por motivos econômicos, seja pela transmissão de patógenos. Devido aos problemas associados à toxicidade causada pelo uso de substâncias acaricidas sintéticas, produtos de origem natural que apresentam efeitos sobre carrapatos vêm sendo explorados. No presente estudo, óleos essenciais das espécies vegetais *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* e *Cinnamodendron dinisii* foram extraídos por hidrodestilação, caracterizados por CG-EM e CG-DIC e avaliados biologicamente quanto à ação acaricida em *R. microplus* e repelente em *R. sanguineus* s. l. Adicionalmente, foi avaliada a capacidade desses óleos em inibir a atividade da acetilcolinesterase (AChE). A caracterização química revelou que o óleo essencial de *B. citriodora* é constituído majoritariamente por citral (98,9%), ao passo que o óleo essencial de *C. viminalis* é rico em 1,8-cineol (78,1%),  $\alpha$ -pineno (12,5%) e limoneno (3,36%), e o de *C. dinisii* possui como constituintes majoritários o  $\alpha$ -pineno (30,8%),  $\beta$ -pineno (12,5%) e sabineno (11,3%). Todos os óleos essenciais apresentaram efeito acaricida sobre *R. microplus*, sendo o de *B. citriodora* o que demonstrou menor concentração letal média ( $CL_{50} = 3,276 \mu\text{L mL}^{-1}$ ), seguido de *C. viminalis* ( $CL_{50} = 8,936 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) e *C. dinisii* ( $CL_{50} = 8,195 \mu\text{L mL}^{-1}$ ). Perante o ensaio de repelência sobre *R. sanguineus*, o óleo essencial de *B. citriodora* apresentou efeito repelente, mesmo após uma hora de sua aplicação. Os óleos essenciais de *C. viminalis* e *C. dinisii* apresentaram repelência apenas na maior concentração e no menor tempo avaliado. O óleo de *C. viminalis* foi o único capaz de causar redução significativa da atividade da AChE, com concentração inibitória média ( $IC_{50}$ ) de  $0,33 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Esses óleos podem ser considerados como fontes de compostos bioativos no controle de carrapatos.

## 1 INTRODUÇÃO

Os carrapatos constituem um grupo de ectoparasitos hematófagos de ampla ocorrência no mundo e podem parasitar diversos tipos de hospedeiros, como o gado, cães, entre outros, incluindo os seres humanos. Esses artrópodes apresentam grande importância médica e veterinária, uma vez que a infestação por algumas espécies está relacionada a perdas econômicas no agronegócio e com a transmissão de agentes patogênicos para seus hospedeiros, incluindo seres humanos (SONENSHINE; ROE, 2014; NAVA et al., 2017). Dentre as espécies do gênero *Rhipicephalus*, *R. microplus* e *R. sanguineus* sensu lato (s.l) se destacam. A infestação por *R. microplus*, o carrapato-do-boi, é causa de grandes prejuízos econômicos nos rebanhos bovinos, ocasionando diminuição da produção de carne, leite e couro (LEW-TABOR; VALLE, 2016; GRISI et al., 2014). Além disso, esse ectoparasito é o vetor dos agentes patogênicos *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale*, causadores da Tristeza Parasitária Bovina, doença que causa elevados índices de mortalidade e morbidade aos bovinos (CLERCQ et al., 2012; PASCOETI et al., 2016). O carrapato-vermelho-do-cão, *R. sanguineus* s.l., é capaz de transmitir diversos agentes patogênicos para os cães, como *Babesia vogeli* e *Ehrlichia*, causadores de babesiose canina e erliquiose monocítica canina, respectivamente (GRAY et al, 2013). Em adição, acredita-se que *R. sanguineus* seja vetor de uma grande variedade de agentes patogênicos também para seres humanos, incluindo *Rickettsia* spp., causadores da Febre Maculosa (DANTAS-TORRES; OTRANTO, 2015)

As estratégias para controle de carrapatos se baseiam principalmente no tratamento químico, por meio de substâncias acaricidas de origem sintética, como os organofosforados, piretroides, amidinas, lactonas macrocíclicas, benzoilfenilureias e fenilpirazois (SONENSHINE; ROE, 2014; ADENUBI et al., 2018). Os repelentes mais utilizados contra a infestação por carrapatos são à base de substâncias sintéticas como N, N-dietil-meta-toluamida (DEET) e ácido 2-(2-hidroxietil)-1-metilpropiléster 1-piperidinocarboxílico (Picaridina) (CISAK et al., 2012; ADENUBI et al., 2018). Apesar de serem eficientes, o uso inadequado e frequente de substâncias acaricidas pode ocasionar a seleção de carrapatos resistentes. Nesse sentido, muitos dos produtos atualmente disponíveis se tornaram ineficazes e inviáveis, visto que doses mais altas, e em menor período de tempo, precisam ser aplicadas (KLAFKE et al., 2017). Em adição, existe uma preocupação acerca das substâncias sintéticas, em função da toxicidade que elas podem apresentar tanto aos hospedeiros, quanto aos seres humanos e ao meio ambiente (BABAR et al., 2012; SINGH et al., 2015).

Nos últimos anos, diversos estudos têm sido realizados em busca de substâncias de origem natural, como metabólitos secundários vegetais, com ação acaricida/repelente em carrapatos (ROSADO-AGUILAR, 2017; ADENUBI et al., 2018; BENELLI; PAVELA, 2018). Dentre esses metabólitos, os óleos essenciais (OEs), os quais podem conter em sua composição uma grande variedade de terpenos e fenilpropanoides, são considerados como uma fonte de substâncias bioativas a serem exploradas para o uso no controle de carrapatos (CAMILO et al., 2017; BENELLI; PAVELA, 2018). Uma vantagem do uso desses produtos naturais é que eles podem atrasar o desenvolvimento da resistência acaricida, uma vez que, geralmente, há uma mistura de diferentes agentes ativos com diferentes mecanismos de ação (ADENUBI et al., 2016). As espécies vegetais *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* e *Cinnamodendron dinisii*, por exemplo, são produtoras de óleos essenciais biologicamente ativos (ANDRADE et al., 2013; HAYES; MARKOVIC, 2002; OLIVEIRA et al., 2015; ROH; LEE; PARK, 2013; SALES et al., 2017; SANTIAGO et al., 2017). Entretanto, até o momento, existem poucos ou nenhum relato na literatura acerca dos seus efeitos em carrapatos.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos dos óleos essenciais de *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* e *Cinnamodendron dinisii* em carrapatos do gênero *Rhipicephalus*, por meio de testes acaricidas em *R. microplus* e ensaios de repelência em *R. sanguineus* s.l. Além disso, foram avaliados seus efeitos na atividade da acetilcolinesterase, a fim de inferir um possível mecanismo de ação destes óleos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

A coleta do material vegetal de cada espécie foi realizada entre os meses de janeiro e fevereiro de 2019, no período da manhã, em dias com temperatura amena e ausência de precipitação. As espécies *B. citriodora* e *C. dinisii* foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), enquanto que a espécie *C. viminalis* foi coletada no próprio Câmpus da UFLA. A cidade de Lavras está localizada no sul do estado de Minas Gerais, Brasil, latitude 21°14'S, longitude 45°00'W Gr e altitude de 918 m. As espécies se encontram identificadas no Herbário ESAL da UFLA, com os seguintes números de registro: 30,300 (*B. citriodora*), 26,624 (*C. viminalis*) e 26,285 (*C. dinisii*). Após a coleta, os materiais vegetais referentes a cada espécie foram selecionados quanto ao grau de

imperfeições, sujeira, corpos estranhos, e cortados em partes menores para posterior extração do óleo essencial.

## 2.2 Extração e rendimento dos óleos essenciais

A extração dos óleos essenciais das folhas frescas de cada espécie foi realizada no Laboratório de Química Orgânica – Óleos Essenciais do Departamento de Química (DQI) da UFLA, empregando-se o processo de hidrodestilação com um aparelho de Clevenger modificado. Para tal, uma quantidade suficiente de material vegetal fresco (aproximadamente 225 g para *C. dinisii*, 205 g para *B. citriodora* e 370 g para *C. viminalis*) foi colocado em um balão de fundo redondo com capacidade de 5 L e adicionando-se, sem seguida, água até a metade do recipiente. Conectou-se o condensador e levou-se à fervura, mantendo ebulição branda durante 2 horas. Decorrido esse tempo, deixou-se o sistema em repouso à temperatura ambiente por 10 minutos, abriu-se a torneira do aparelho e retirou-se o excesso de água lentamente até que a superfície da camada de óleo se aproximasse da abertura da torneira. O hidrolato foi coletado e submetido à centrifugação a 965 g por 15 minutos. Posteriormente, o óleo essencial foi pipetado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e acondicionado em recipiente adequado com proteção da luz e sob refrigeração (ANVISA, 2010). As extrações foram realizadas em triplicata. O rendimento das extrações foi calculado por diferença em Base Livre de Umidade (%p/p BLU). Para tal, o teor de umidade foi determinado utilizando a metodologia proposta por Pimentel et al. (2006). Em um balão de fundo redondo com capacidade de 250 mL, foram adicionados aproximadamente 5 g do material vegetal e 80 mL de cicloexano. Pelo topo do condensador Dean-Stark, adicionou-se mais cicloexano para permitir o retorno do solvente ao balão. O sistema foi submetido a aquecimento e após 2 horas realizou-se a leitura da quantidade de água extraída na escala volumétrica do sistema Dean Stark.

## 2.3 Caracterização química dos óleos essenciais

A caracterização química dos OEs foi realizada na Central de Análises e Prospecção Química - CAPQ do DQI/UFLA. A identificação dos constituintes químicos foi realizada por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM), utilizando um equipamento modelo QP 2010 Plus (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) e sob as seguintes condições experimentais: coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm, 0,25  $\mu$ m) com

fase ligada composta por filme de DB5 (5% fenil, 95% dimetilpolisiloxano); fase móvel He 5.0 (White Martins, Rio de Janeiro, Brasil) como gás de arraste; fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>; temperatura do injetor: 220 °C; temperatura do detector: 240 °C; volume de injeção da amostra de 0,5 µL, diluído em hexano (1%) (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA); taxa de partição do volume injetado (split) de 1:100; rampa de temperatura iniciada a 60 °C, com um aumento para 240 °C a uma taxa de 3 °C min<sup>-1</sup>, seguida de aumento de 10 °C min<sup>-1</sup> até atingir 300 °C, sendo a temperatura final mantida por 7 min. A pressão na coluna foi em torno de 71,0 kPa. Os parâmetros operacionais do espectrômetro de massas foram os seguintes: potencial de ionização de 70 eV; temperatura de fonte de íons de 200 °C; a análise de massas foi realizada em modo de varredura total, variando de 45 a 500 Da, com velocidade de varredura de 1000 Da seg<sup>-1</sup> e intervalo de varredura de 0,5 fragmentos s<sup>-1</sup>; Os dados foram processados e obtidos utilizando o software LabSolutions LC/GC Workstation 2.72. O índice de retenção dos compostos foi calculado em relação a uma série homóloga de n-alcenos (nC9-nC18), empregando-se a equação de Van den Dool e Kratz (1963). A identificação dos compostos foi realizada por meio da comparação dos índices de retenção calculados com aqueles descritos na literatura (ADAMS, 2017). Também foram realizadas comparações dos espectros de massa obtidos com aqueles existentes nas bibliotecas FFNSC 1.2, NIST107 e NIST21.

A análise quantitativa foi realizada por Cromatografia Gasosa com Detector por Ionização em Chama (CG-DIC), utilizando-se um equipamento modelo GC-2010 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), com condições experimentais idênticas às utilizadas na análise qualitativa, com exceção da temperatura do detector, que foi de 300 °C. As porcentagens relativas de cada constituinte foram obtidas pelo método de normalização de áreas.

## **2.4 Bioensaios de atividade acaricida sobre *Rhipicephalus microplus***

### **2.4.1 Obtenção dos carrapatos *R. microplus***

Fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* foram coletadas de rebanhos naturalmente infestados do município de Lavras, Minas Gerais, e região, os quais não tenham recebido tratamentos acaricidas nos últimos três meses. Após coleta, os animais foram lavados em água corrente e secos em papel absorvente macio para, posteriormente, serem submetidos do Teste de Imersão em Adultos (DRUMMOND et al., 1973).



#### 2.4.2 Teste de Imersão em Adultos (TIA)

O TIA foi realizado de acordo com o protocolo descrito por Drummond et al. (1973) no Laboratório de Biologia Parasitária (BIOPAR) do Departamento de Medicina Veterinária da UFPA. Inicialmente, para cada óleo, os animais foram pesados e divididos em grupos com pesos homogêneos ( $p > 0,05$ ), contendo 10 carrapatos cada. Dois grupos foram utilizados para controle: um tratado com água destilada e outro tratado com o solvente dimetilsulfóxido (DMSO 10%). Os demais grupos receberam os tratamentos com os óleos essenciais diluídos em DMSO 10%, nas concentrações 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  para *B. citriodora*, 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 12,0; 15,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  para *C. viminalis*, e 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0; 15,0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  para *C. dinisii*, definidas com base em pré-testes, onde foram escolhidas aquelas que geraram mortalidades acima de 0% e abaixo de 100%. Os animais foram imersos em béqueres contendo cada solução durante 5 minutos. Posteriormente, foram secos em papel absorvente, colocados em placas de Petri (6 x 6) sob condições ambientes e observados diariamente, durante 7 dias (OLIVEIRA et al., 2008). Os carrapatos foram considerados mortos quando houve ausência de motilidade após estímulo com dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e/ou após estimulação do ventre por instrumento pontiagudo, bem como coloração da cutícula enegrecida. Todos os procedimentos foram realizados em duplicata, totalizando 20 indivíduos para cada grupo.

#### 2.4.3 Análise estatística

Os resultados obtidos do TIA foram submetidos à análise Probit, por meio do software Polo Plus (versão 0.03), a fim de se calcular as concentrações letais para 50 e 90% dos indivíduos ( $\text{CL}_{50}$  e  $\text{CL}_{90}$ ), bem como seus respectivos intervalos de confiança de 95%.

### 2.5 Bioensaios de repelência em *R. sanguineus* s. l.

#### 2.5.1 Obtenção dos carrapatos *R. sanguineus* s. l.

Carrapatos *R. sanguineus* s.l. foram obtidos a partir de colônia mantida em incubadora de Demanda Biológica de Oxigênio (DBO) sob condições controladas (27 °C, 85% de umidade e fotoperíodo de 12 horas). Os carrapatos foram alimentados em coelhos brancos da raça Nova Zelândia sem contato prévio com carrapatos ou acaricidas, conforme descrito por

Bechara et al. (1995). Os coelhos foram mantidos em gaiolas e receberam água e comida *ad libitum*. Após atingirem o estágio adulto em jejum, os carrapatos foram mantidos em BOD até o momento de realização dos bioensaios de repelência. Todos os procedimentos experimentais foram realizados conforme as instruções e aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA, UFLA - Lavras / MG, Brasil), protocolo nº. 043/185 de 24/05/2018.

### 2.5.2 Teste com chance de escolha

A atividade repelente foi realizada no BIOPAR/DMV/UFLA e determinada por meio de bioensaios com chance de escolha, segundo metodologias propostas por Bissinger et al. (2009) e Ferreira et al. (2017). Os óleos essenciais foram diluídos em solução aquosa contendo 5% de DMSO, sendo testados em quatro grupos, nas concentrações de 7, 14, 28 e 56  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . Os testes foram realizados com animais adultos em jejum em sala à temperatura ambiente. Papéis-filtro foram cortados ao meio (área total = 63,6  $\text{cm}^2$ ). Em uma metade do papel, aplicaram-se 200  $\mu\text{L}$  das soluções de óleo essencial nas concentrações previamente mencionadas, com uma micropipeta, gotejando em diferentes locais, de forma padronizada em todos os tratamentos. Na outra metade, aplicou-se solução aquosa de DMSO 5% (solvente). Os filtros de papel embebidos foram secos por trinta minutos em temperatura ambiente e então posicionados no interior de placas de Petri. Seis carrapatos (três fêmeas e três machos) foram liberados no interior de cada placa de Petri, que foram, então, levadas a local escuro durante 5 minutos. Para cada concentração, foram utilizadas dez placas, totalizando 60 carrapatos/grupo. Decorridos os cinco minutos, a posição dos animais foi avaliada. Dez placas de Petri contendo o solvente (DMSO 5%) e água deionizada, com seis carrapatos cada, foram utilizadas como controle.

Além disso, empregando-se a maior concentração (56  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), foi avaliado o efeito do tempo de secagem sobre a repelência. Para isso, placas de Petri contendo os filtros foram mantidas em temperatura ambiente durante 30, 60, 120 e 180 minutos. Para cada tempo de secagem, foi avaliada atividade repelente dos diferentes óleos essenciais. Os grupos de tratamento consistiram na comparação entre a concentração desejada e o solvente (DMSO 5%). Como grupo-controle também foi utilizada placa contendo o solvente e água deionizada. Foram utilizadas 10 placas contendo seis carrapatos cada para cada tempo de secagem, totalizando 60 carrapatos por grupo. O índice de repelência (IR) foi calculado de acordo com Girão Filho et al. (2014) e Xavier et al. (2015), conforme a equação a seguir:

$$IR = \frac{2G}{(G + P)}$$

Onde: G = % de carrapatos atraídos no tratamento e P = % atraídos na testemunha (solvente). Os valores de IR variam entre 0 e 2, sendo que IR < 1,0 indica tratamento repelente e IR > 1,0 indica tratamento atraente. IR = 1,0 corresponde a tratamento neutro. Como margem de segurança, o erro padrão de cada tratamento foi adicionado/subtraído do valor 1,00 (indicativo de neutralidade). Dessa forma, foram considerados repelentes ou atraentes os tratamentos fora do intervalo 1,00 ± EP (GIRÃO FILHO et al., 2014; XAVIER et al., 2015).

### 2.5.3 Análise estatística

Os índices de repelência foram comparados por meio de teste ANOVA Fatorial, utilizando-se o Software Statistica v. 7.0. Consideraram-se duas variáveis independentes (o tratamento e a concentração utilizados), e uma variável dependente (IR).

### 2.6 Efeito dos OEs na atividade da acetilcolinesterase

O teste foi realizado baseando-se no método de Ellman et al. (1961), o qual consiste no monitoramento da taxa de formação do composto 5-tio-2-nitrobenzoato, formado por meio da reação entre o Reagente de Ellman (ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoico ou sua forma ionizada) e a tiocolina. Em um tubo de ensaio, foram adicionados 2970 µL de tampão Tris-HCl pH 8 (50 mmol L<sup>-1</sup>), contendo NaCl (0,1 mol L<sup>-1</sup>) e MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (0,02 mol L<sup>-1</sup>) e 254 µL da solução de acetilcolinesterase (0,04 U mL<sup>-1</sup>) (tipo VI-S) de *Electrophorus electricus*. A mistura foi incubada à 37 °C por 5 minutos. Após esse tempo, foram adicionados 25 µL dos óleos essenciais diluídos em etanol em diferentes concentrações, 100 µL da solução de reagente de Ellman e 80 µL da solução de substrato, sendo a mistura novamente incubada à 37 °C por 15 minutos. Os óleos essenciais foram diluídos de modo que as concentrações finais de OE, considerando o volume final total no tubo após adição de todos os reagentes, fossem de 0,25; 0,50; 1,00; 5,00; 10,0; 50,0 e 100 µg mL<sup>-1</sup>. Após esse tempo, a absorbância foi medida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 412 nm. Para o branco, foram utilizados 3,2 mL tampão Tris-HCl. Para fins de comparação, o carvacrol foi utilizado como controle positivo nas mesmas concentrações utilizadas para os óleos essenciais. Para

considerar a hidrólise espontânea da acetilcolina, foram realizados controles não enzimáticos para cada concentração de óleo testada, substituindo-se a enzima por tampão Tris-HCl. O controle negativo conteve todos os reagentes, exceto o óleo essencial, que foi substituído pelo solvente etanol. Os testes foram realizados em três repetições e a porcentagem de atividade enzimática foi calculada de acordo com a equação a seguir:

$$A(\%) = \left( \frac{A_T - A_C}{A_O} \right) \cdot 100$$

Onde: AT = absorvância do tratamento contendo o óleo essencial/controlado positivo; AC = absorvância do controle não enzimático; e AO = absorvância do controle negativo. Os valores de IC<sub>50</sub>, concentração capaz de ocasionar redução da atividade enzimática em 50%, foram calculados pela equação da curva de concentração *versus* % atividade enzimática.

### 2.6.1 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, usando o programa estatístico SISVAR® (FERREIRA, 2011).

## 3 RESULTADOS

### 3.1 Rendimento e composição química dos óleos essenciais

Os rendimentos dos óleos essenciais foram de  $2,20 \pm 0,07\%$ ,  $0,94 \pm 0,01\%$  e  $1,50 \pm 0,06\%$  em base livre de umidade (BLU) para as espécies *B. citriodora*, *C. viminalis* e *C. dinisii*, respectivamente. Ao todo, foram identificados e quantificados dois compostos no óleo essencial de *B. citriodora*, nove no de *C. viminalis* e dezessete no OE de *C. dinisii* (TABELA 1). O óleo essencial de *B. citriodora* é constituído majoritariamente por citral (98,9%), mistura isomérica dos aldeídos neral (42,8%) e geranial (56,0%). Para *C. viminalis*, os constituintes majoritários foram o éter cíclico monoterpênico 1,8-cineol (78,1%) e os hidrocarbonetos monoterpênicos  $\alpha$ -pineno (12,5%) e limoneno (3,36%). O óleo essencial de *C. dinisii* apresentou como constituintes majoritários os isômeros  $\alpha$ -pineno (30,8%) e  $\beta$ -pineno (12,5%) e monoterpêno bicíclico sabineno (11,3%).

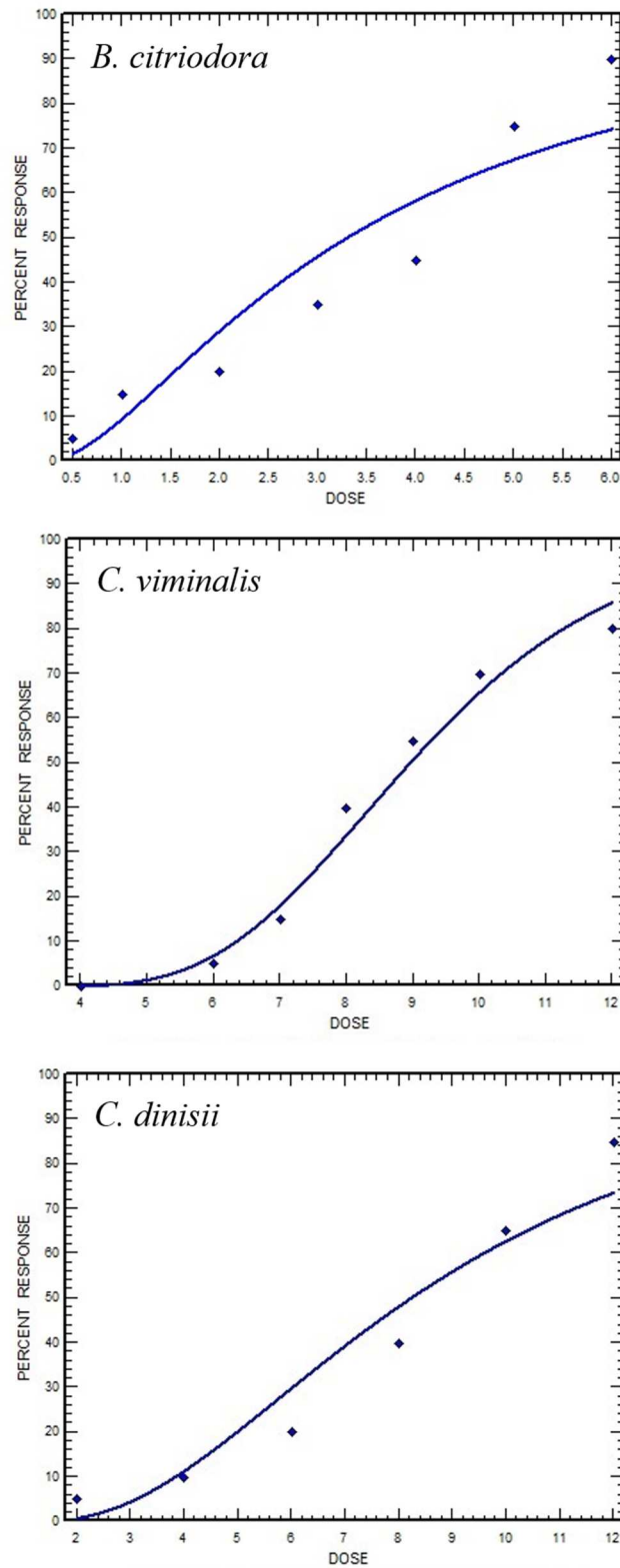
Tabela 1 – Composição química e teores (% área relativa) dos óleos essenciais das folhas frescas de *B. citriodora*, *C. dinisii* e *C. viminalis*.

Composto	IR <sub>calc</sub>	IR <sub>lit</sub>	<i>B. citriodora</i>	<i>C. viminalis</i>	<i>C. dinisii</i>
$\alpha$ -tujona	925	924	-	-	0,9689
$\alpha$ -pineno	933	932	-	12,4811	30,7739
canfeno	950	946	-	-	0,5538
sabineno	972	969	-	-	11,2755
$\beta$ -pineno	979	974	-	0,7886	17,2260
mirceno	988	988	-	0,2327	1,6578
$\alpha$ -felandreno	1007	1002	-	0,2676	-
$\alpha$ -terpineno	1017	1014	-	-	0,9090
<i>p</i> -cimeno	1024	1020	-	0,8439	0,4598
limoneno	1029	1024	-	3,3619	1,5997
1,8-cineol	1033	1026	-	78,1007	3,0976
$\beta$ -ocimeno	1044	1044	-	-	2,6336
$\gamma$ -terpineno	1057	1054	-	-	1,9105
linalol	1099	1095	-	-	1,3361
terpinen-4-ol	1181	1174	-	0,6351	4,5006
$\alpha$ -terpineol	1196	1186	-	2,9895	-
neral	1239	1235	42,8413	-	-
geranial	1269	1264	56,0329	-	-
$\beta$ -cariofileno	1420	1417	-	-	2,2008
biciclogermacreno	1496	1500	-	-	10,8313
espatulenol	1577	1577	-	-	1,5887
TOTAL			98,8742	99,7011	93,5236

### 3.2 Atividade acaricida em *R. microplus*

Os pesos médios  $\pm$  desvio padrão (DP) das fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* utilizadas nos grupos tratados com os óleos essenciais de *B. citriodora*, *C. viminalis* e *C. dinisii* foram de  $0,185 \pm 0,046$  g,  $0,215 \pm 0,049$  g e  $0,211 \pm 0,032$  g, respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos utilizados para cada óleo essencial neste parâmetro ( $p > 0,05$ ). Os gráficos de mortalidade em função da concentração aplicada estão dispostos na Figura 1. Os resultados da análise de Probit baseados na mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* expostas aos óleos essenciais são mostrados na Tabela 2.

Figura 1 – Gráficos de mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* em função da concentração dos óleos essenciais de *B. citriodora*, *C. viminalis* e *C. dinisii*, obtidos por meio de análise Probit.



Fonte: Do autor (2020)

Tabela 2 – Resultados da análise Probit com base na mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* expostas aos óleos essenciais de *B. citriodora*, *C. viminalis* e *C. dinisii*.

	<i>B. citriodora</i>	<i>C. viminalis</i>	<i>C. dinisii</i>
CL <sub>50</sub> (95% IC)*	3,276 (2,210-5,332)	8,936 (8,335-9,658)	8,195 (5,950-13,152)
CL <sub>90</sub> (95% IC)*	10,616 (6,160-56,843)	12,656 (11,313-15,549)	17,670 (11,687-102,228)
Inclinação	2.510 ± 0.430	8.479 ± 1.433	3,841 ± 0,716
Qui-quadrado	7,9173	1,513	6,5142
Graus de liberdade	5	5	4
Heterogeneidade	1,5835	0.303	1.6285

\* $\mu\text{L mL}^{-1}$

O óleo essencial de *B. citriodora* apresentou o melhor efeito acaricida, com o menor valor de CL<sub>50</sub> (3,3  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), concentração estimada capaz de ocasionar 50% de mortalidade, seguido de *C. dinisii* (CL<sub>50</sub> = 8,2  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) e *C. viminalis* (CL<sub>50</sub> = 8,9  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ).

### 3.3 Atividade repelente em *R. sanguineus* s. l.

Os índices de repelência encontrados para os OEs testados em quatro diferentes concentrações e suas respectivas classificações (repelente, atrativo ou neutro) estão descritos na Tabela 3. Na Tabela 4, estão dispostos os índices de repelência dos óleos essenciais testados na maior concentração, em diferentes tempos de secagem.

Tabela 3 – Índices de repelência ( $\pm$  erro padrão) dos óleos essenciais de *B. citriodora*, *C. viminalis* e *C. dinisii* em diferentes concentrações, secos por 30 min, testados em carrapatos *R. sanguineus* em jejum.

Concentração ( $\mu\text{L mL}^{-1}$ )	<i>B. citriodora</i>		<i>C. viminalis</i>		<i>C. dinisii</i>	
	IR $\pm$ EP*	Classificação**	IR $\pm$ EP*	Classificação**	IR $\pm$ EP*	Classificação**
Controle	1,10 $\pm$ 0,17 Aa	Neutro	1,10 $\pm$ 0,17 Aa	Neutro	1,10 $\pm$ 0,17 Aa	Neutro
7	0,70 $\pm$ 0,17 Aa	Repelente	1,03 $\pm$ 0,16 Aa	Neutro	0,93 $\pm$ 0,17 Aa	Neutro
14	0,63 $\pm$ 0,10 Aa	Repelente	0,97 $\pm$ 0,19 Aa	Neutro	0,87 $\pm$ 0,05 Aa	Repelente
28	0,30 $\pm$ 0,08 Bb	Repelente	0,67 $\pm$ 0,07 Aa	Repelente	0,77 $\pm$ 0,09 Aa	Repelente
56	0,17 $\pm$ 0,06 Bb	Repelente	0,40 $\pm$ 0,08 Ab	Repelente	0,43 $\pm$ 0,09 Ab	Repelente

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e mesma letra maiúscula nas linhas não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

\*IR $\pm$ EP = índice de repelência  $\pm$  Erro padrão

\*\* Baseado em 1,0  $\pm$  erro padrão para cada tratamento de acordo com Girão Filho et al. (2014) e Xavier et al. (2015).

Tabela 4 – Índices de repelência ( $\pm$  erro padrão) dos óleos essenciais de *B. citriodora*, *C. viminalis* e *C. dinisii* a 56  $\mu\text{L mL}^{-1}$  após diferentes tempos de secagem, testados em carrapatos *R. sanguineus* em jejum.

Tempo (min)	<i>B. citriodora</i>		<i>C. viminalis</i>		<i>C. dinisii</i>	
	IR $\pm$ EP*	Classificação**	IR $\pm$ EP*	Classificação**	IR $\pm$ EP*	Classificação**
Controle	1,10 $\pm$ 0,17 Aa	Neutro	1,10 $\pm$ 0,17 Aa	Neutro	1,10 $\pm$ 0,17 Aa	Neutro
30	0,17 $\pm$ 0,06 Bb	Repelente	0,40 $\pm$ 0,08 Ab	Repelente	0,43 $\pm$ 0,09 Ab	Repelente
60	0,33 $\pm$ 0,09 Bb	Repelente	0,83 $\pm$ 0,11 Aa	Repelente	0,93 $\pm$ 0,15 Aa	Neutro
120	0,50 $\pm$ 0,10 Aa	Repelente	0,93 $\pm$ 0,15 Aa	Neutro	1,00 $\pm$ 0,16 Aa	Neutro
180	0,67 $\pm$ 0,12 Aa	Repelente	1,03 $\pm$ 0,17 Aa	Neutro	1,03 $\pm$ 0,16 Aa	Neutro

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e mesma letra maiúscula nas linhas não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

\*IR $\pm$ EP = índice de repelência  $\pm$  Erro padrão

\*\* Baseado em 1,0  $\pm$  erro padrão para cada tratamento de acordo com Girão Filho et al. (2014) e Xavier et al. (2015).



Dentre os óleos essenciais testados, apenas o de *B. citriodora* se mostrou repelente a partir da menor concentração, de 7  $\mu\text{L mL}^{-1}$ . Com relação ao tempo, esse OE também demonstrou eficiência em longo prazo, sendo classificado como repelente mesmo após 3 horas de aplicação. Os óleos essenciais de *C. viminalis* e *C. dinisii* ocasionaram repelência apenas a partir das concentrações de 28 e 14  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , respectivamente. Também não apresentaram eficiência a longo prazo, sendo classificados como repelentes apenas nos menores tempos de secagem.

Entretanto, a análise estatística demonstrou que os índices de repelência dos três óleos essenciais apenas diferiram significativamente de seus respectivos controles nas maiores concentrações utilizadas. Nesse sentido, o óleo essencial de *B. citriodora* apresentou efeito repelente significativo nas duas concentrações mais elevadas, cujos valores de IR não diferiram significativamente entre si. Para os óleos de *C. viminalis* e *C. dinisii*, um efeito repelente significativo somente foi observado na maior concentração, 56  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .

Com relação ao tempo, os três óleos testados não apresentam efeito repelente estatisticamente significativo a longo prazo. O óleo essencial de *B. citriodora* apresentou os melhores resultados, sendo repelente até uma hora após a aplicação, enquanto os óleos de *C. viminalis* e *C. dinisii* só apresentaram efeito repelente até trinta minutos de secagem do óleo, na concentração de 56  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .

Nas duas menores concentrações (7 e 14  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), os óleos essenciais testados não diferiram estatisticamente entre si. Entretanto, a partir da concentração de 28  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , o óleo essencial de *B. citriodora* apresentou maior repelência do que os demais, uma vez que o IR estatisticamente foi menor ( $p < 0,05$ ) em relação à *C. viminalis* e *C. dinisii* (Tabela 3). Após 30 e 60 minutos de secagem, foi observado IR estatisticamente menor para *B. citriodora*, quando, comparado aos outros óleos ( $p < 0,05$ ). Nos dois maiores tempos, nenhuma diferença estatística foi observada nos índices de repelência para os três óleos essenciais avaliados (Tabela 4).

### **3.4 Efeitos dos óleos essenciais sobre a atividade da acetilcolinesterase (AChE)**

Os valores de  $\text{IC}_{50}$ , concentração capaz de diminuir a atividade da enzima em 50%, para o carvacrol e óleos essenciais estudados, estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores de IC<sub>50</sub> para o carvacrol e óleos essenciais testados sobre a atividade da acetilcolinesterase

Amostra	IC <sub>50</sub> (µg mL <sup>-1</sup> )
Carvacrol	12,23 ± 3,168 a
<i>B. citriodora</i>	> 100
<i>C. viminalis</i>	7,391 ± 2,133 a
<i>C. dinisii</i>	-

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente.

O óleo essencial de *C. viminalis* foi o mais eficiente em ocasionar diminuição na atividade dessa enzima (IC<sub>50</sub> = 7,391 µg mL<sup>-1</sup>). O óleo essencial de *B. citriodora*, entretanto, causou efeito reduzido (IC<sub>50</sub> > 100 µg mL<sup>-1</sup>). O óleo essencial de *C. dinisii*, por sua vez, não se mostrou eficiente em causar diminuição da atividade da AChE, apresentando resultados inconsistentes e impassíveis de se calcular um valor de IC<sub>50</sub>.

#### 4 DISCUSSÃO

Em geral, a composição química aqui reportada para os óleos essenciais de *B. citriodora*, *C. viminalis* e *C. dinisii* corrobora com outras previamente descritas na literatura para essas mesmas espécies (ANDRADE et al., 2013; HAYES; MARKOVIC, 2002; OLIVEIRA et al., 2015; ROH; LEE; PARK, 2013; SALES et al., 2017; SANTIAGO et al., 2017). No presente estudo, não foi observada mortalidade nos grupos controle tratados com água deionizada e DMSO 10%. Similarmente, Sharma et al. (2012) relataram que DMSO 10% é considerado seguro contra adultos de *R. microplus*. Nesse sentido, a atividade acaricida observada no presente estudo deve ser atribuída aos compostos presentes nos óleos essenciais das espécies vegetais estudadas.

Dentre os óleos essenciais avaliados no presente trabalho, o de *B. citriodora* demonstrou os melhores resultados, tanto na atividade acaricida em *R. microplus*, quanto no ensaio de repelência contra *R. sanguineus* s. l. Tais resultados estão relacionados, provavelmente, ao alto teor de citral encontrado neste óleo essencial (98,9 %), uma vez esse composto apresentou potente atividade acaricida contra *R. microplus* (PEIXOTO et al., 2015). Previamente, foi relatado que óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, também rico em citral, apresentou toxicidade para larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, em bioensaios *in vitro* e *in vivo* (CHUNGSAMARNYART; JIWAJINDA, 1992). Em outro estudo, o óleo de *C. citratus* foi eficiente, inclusive, em populações de *R. microplus* resistentes a amidínicos e piretroides sintéticos (SANTOS; VOGEL, 2012). Também foi capaz de afetar a reprodução,

inibindo a oviposição e eclodibilidade nesses carrapatos (PAZINATO, 2016). Esses resultados podem ser comparados aos encontrados para o óleo essencial de *B. citriodora* no presente estudo, em razão da similaridade química com os óleos essenciais de *C. citratus*.

O óleo essencial de *C. viminalis* apresentou como constituinte majoritário o 1,8-cineol (78,1%), que também esteve presente no óleo essencial de *C. dinisii* (3,1%). Esse composto também compõe os óleos essenciais de *Mesosphaerum suaveolens* (35,77%), *Ocimum gratissimum* (24,68%) e *Alpinia zerumbet* (24,05%) (CASTRO et al., 2018) e *Croton conduplicatus* (24,09%) (CASTRO et al., 2019), os quais demonstraram alta eficácia contra larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*. O  $\alpha$ -pineno e o  $\beta$ -pineno, por sua vez, foram os constituintes majoritários encontrados no óleo essencial de *C. dinisii* (30,77% e 17,23%, respectivamente). Esse par de isômeros foi caracterizado também no óleo essencial de *C. viminalis* ( $\alpha$ -pineno - 12,5%,  $\beta$ -pineno - 0,79%). Previamente, alguns óleos essenciais que apresentaram altos teores de  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno também mostraram-se tóxicos para larvas de *R. microplus*, como o de *Cunila incana* ( $\alpha$ -pineno - 26,7%,  $\beta$ -pineno - 27,5%) (APEL et al., 2009) e *Rosmarinus officinalis* ( $\alpha$ -pineno - 31,07%, 1,8-cineol - 14,2%,  $\beta$ -pineno - 1,63%) (MARTINEZ-VELAZQUEZ et al., 2011), o que pode indicar que esses compostos podem ter sido responsáveis pela atividade acaricida observada no presente estudo.

Pesquisas de Pazinato et al. (2014) mostraram que o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, rico em terpinen-4-ol, apresentou efeito acaricida e afetou a reprodução de fêmeas de *R. microplus*. Esse álcool monoterpênico também foi caracterizado nos óleos de *C. viminalis* (0,64%) e *C. dinisii* (4,5%), no presente trabalho. O *p*-cimeno, por sua vez, único composto aromático encontrado na composição química desses óleos essenciais (0,84% em *C. viminalis* e 0,46% em *C. dinisii*), aparece como um dos principais constituintes dos óleos essenciais de *Croton pulegioidorus* (23,1%) (CASTRO et al., 2018) e *Alpinia zerumbet* (32,7%) (CASTRO et al., 2019), os quais demonstraram eficácia contra larvas e adultos de *R. microplus*. Além disso, o  $\gamma$ -terpineno, segundo constituinte mais abundante no óleo essencial de *Cuminum cyminum* (15,69%), foi responsável por 100% de mortalidade a uma concentração de 2,5% em larvas de *R. microplus* (MARTINEZ-VELAZQUEZ et al., 2011). No presente estudo, esse composto esteve presente em baixa concentração no óleo de *C. dinisii* (1,9%). Apel et al. (2009), por sua vez, demonstraram que o óleo essencial de *Cunila angustifolia*, caracterizado em sua maioria por sabineno (32,1%) e espatulenol (10,0%), foi capaz de matar quase que a totalidade das larvas de *R. microplus*. Isso pode indicar que esses compostos, presentes também no óleo essencial de *C. dinisii* (sabineno - 11,2%, espatulenol - 1,59%), podem ter colaborado com seus efeitos tóxicos em *R. microplus*.

Entre os óleos essenciais avaliados, o obtido de *B. citriodora* também apresentou o melhor efeito repelente contra *R. sanguineus* s. l. A presença de citral nesse óleo, novamente, justifica seu efeito repelente. Esse aldeído monoterpênico apresenta um forte aroma de limão. Segundo Svoboda e Greenaway (2003), plantas aromáticas cujos óleos essenciais apresentam odor característico de limão são demandadas para produtos repelentes, sendo bastante investigadas em termos de sua atividade biológica, a fim de se obter modelos para a preparação de novos pesticidas. De fato, óleos essenciais de espécies ricas em citral costumam apresentar boa repelência contra artrópodes. Oyedele et al. (2002) encontraram bons resultados ao testarem pomada e creme à base de óleo de *Cymbopogon citratus* contra mosquitos *Aedes aegypti*. Tais efeitos foram atribuídos à presença de citral. O citral, bem como o óleo essencial de *C. citratus*, também foram eficazes em estudos de repelência contra pulgões da espécie *Rhopalosiphum padi* (PASCUAL-VILLALOBOS et al., 2017).

As propriedades químicas, estruturais e físicas de um determinado composto estão associadas à sua ação repelente, principalmente aquelas relacionadas com medidas de volatilidade, como pressão de vapor e temperatura de ebulição, bem como o peso molecular, coeficiente de partição, momento de dipolo e presença de grupos funcionais influenciam o efeito repelente (GARSON; WINNIKE, 1968; NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010; PALUCH et al., 2009; WANG et al., 2008). Os óleos essenciais de *B. citriodora* e *C. viminalis* apresentaram em sua composição apenas monoterpênicos. O citral, encontrado no óleo essencial de *B. citriodora*, por apresentar o grupo funcional aldeído em sua molécula, é menos volátil do que os demais monoterpênicos formados apenas por carbono e hidrogênio. O fato de essa substância compor quase a totalidade do óleo essencial desta espécie justifica seu melhor efeito repelente, uma vez que, caso esse composto se encontrasse em um óleo essencial mais complexo, poderia se volatilizar mais rápido devido a interações mais fracas com os demais monoterpênicos.

Klocke, Darlington e Balandrin (1987) relataram que o éter monoterpênico 1,8-cineol, principal componente do óleo essencial de *C. viminalis*, e presente também no óleo de *C. dinisii*, apresentou efeito repelente em mosquitos *Aedes aegypti* adultos, dificultando a alimentação e a ovoposição. Entretanto, óleos essenciais de *Ocimum basilicum* e *Mentha piperita*, ambos contendo 1,8-cineol em sua composição, apresentaram baixo efeito repelente em carrapatos adultos da espécie *Dermacentor reticulatus* (ŠTEFANIDESOVÁ et al., 2017). Anteriormente, El-Seedi et al. (2012) sugeriram que, apesar de forte, o efeito repelente do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (1,8-cineol - 51,8%) contra ninfas do carrapato *Ixodes ricinus* diminui a longo prazo, provavelmente devido à alta volatilidade do 1,8-cineol.

Pålsson et al., 2008, ao estudar o efeito repelente em ninfas de *I. ricinius*, também argumentam que a elevada volatilidade desse composto também afeta suas propriedades repelentes a longo prazo. Esses resultados corroboram com os obtidos no presente estudo, uma vez que o efeito repelente do óleo essencial de *C. viminalis* ocorreu somente nas maiores concentrações e nos menores tempos de secagem avaliados.

Os óleos essenciais de *Haplophyllum dauricum*, ricos em pinenos, exibiram atividade repelente eficaz (> 80%) sobre o besouro *Tribolium castaneum* (CAO et al., 2019). Em outro estudo, Yusufoglu et al. (2018) mostraram que o óleo essencial de *Anthemis melampdina* ( $\alpha$ -pineno - 17.1%) apresentou efeito repelente moderado em *Amblyomma americanum*. Em estudos de repelência contra *Aedes aegypt*, pinenos não aparentaram contribuir para a atividade repelente (TABANCA et al., 2015). Assim como o 1,8-cineol, esses monoterpenos isoméricos são altamente voláteis, o que pode justificar o baixo efeito repelente causado pelo óleo essencial de *C. dinisii*. O efeito repelente desse óleo pode estar relacionado com a presença dos sesquiterpenos biciclogermacreno (10,8%),  $\beta$ -cariofileno (2,2%) e espatulenol (1,56%), uma vez que, por serem menos voláteis, podem permanecer mais tempo impregnados no papel de filtro utilizado no bioensaios de repelência. Em estudos anteriores, o efeito repelente de óleos essenciais de plantas foi atribuído à alta porcentagem de sesquiterpenos, especialmente sesquiterpenos oxigenados (PALUCH et al., 2009; NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010). Inclusive, o  $\beta$ -cariofileno é descrito como um forte repelente contra *A. aegypti* (GILLIJ; GLEISER; ZYGADLO, 2008).

Segundo Nerio, Olivero-Verbel e Stashenko (2010), a maioria dos compostos presentes em óleos essenciais que apresetam efeitos repelentes a artrópodes é oxigenada, tendo, geralmente, o grupo hidroxila em suas estruturas. Anteriormente, estudos de García et al. (2005) indicaram que o grupo hidroxila afeta positivamente a atividade repelente de monoterpenos e sesquiterpenos sobre *Tribolium castaneum*. Nesse sentido, o efeito repelente dos óleos essenciais de *C. viminalis* e *C. dinisii*, pode estar também relacionado à presença dos álcoois monoterpênicos  $\alpha$ -terpineol e terpinen-4-ol. Esses compostos apresentam um momento de dipolo, por apresentarem um grupo hidroxila em suas estruturas. A presença desse grupo, além de aumentar a massa molecular destes compostos, faz com que suas moléculas sejam capazes de realizar ligações de hidrogênio, que são interações mais fortes do que as do tipo dipolo induzido, que é comumente realizada por hidrocarbonetos apolares. Em consequência, são menos voláteis que os hidrocarbonetos monoterpênicos não oxigenados, como  $\alpha$  e  $\beta$  pinenos, mirceno, limoneno, canfeno,  $\alpha$ -felandreno,  $\alpha$ -terpineno,  $\beta$ -ocimeno e  $\gamma$ -terpineno. Em ninfas de carrapatos *Ixodes ricinus*, o terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol e a mistura de

$\alpha$  e  $\beta$ -tujona provocaram forte efeito repelente (PÅLSSON et al., 2008). O  $\alpha$ -terpineol também apresentou significativa atividade repelente contra *R. appendiculatus* (LWANDE et al., 1999). Além disso, o óleo essencial de *Origanum majorana* também demonstrou repelência em carrapatos de *I. ricinus*, atribuída à presença de terpinen-4-ol (55,6%) e  $\alpha$ -terpineol (9,5%).

Embora as atividades biológicas de óleos essenciais, como acaricida e repelente, seja atribuídas a alguns compostos específicos, geralmente aqueles encontrados em maior proporção em sua composição química, um fenômeno sinérgico entre mono e sesquiterpenos pode resultar em maior bioatividade em comparação com os componentes isolados. (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010; TAVARES, 2018; CAO et al., 2019). Estudos de atividade acaricida e repelência com óleos essenciais de *Citrus* spp, por exemplo, demonstraram a importância do efeito sinérgico, uma vez que esses óleos geralmente apresentam maiores efeitos que o limoneno, composto majoritário encontrado em elevadas concentrações (CHUNGSAMARNYART; JANSAWAN, 1996; DA CAMARA et al., 2015).

Alguns monoterpenos encontrados nos óleos essenciais das espécies em estudo também demonstraram capacidade de inibir individualmente a acetilcolinesterase (AChE). Nesse contexto, o  $\alpha$ -pineno e o 1,8-cineol são descritos como fortes inibidores da AChE, enquanto compostos como terpinen-4-ol e  $\alpha$ -terpineol e linalol são considerados inibidores fracos.  $\beta$ -pineno, citral, linalol,  $\beta$ -cariofileno, limoneno,  $\gamma$ -terpineno, contudo, foram considerados inibidores muito fracos, incapazes de gerar 50% de inibição nas maiores concentrações testadas (ABDELGALEIL et al., 2019; DOHIET; TERASAKI; MAKINO, 2009; KIM; KANG; PARK, 2013).

Segundo Mukherjee et al. (2007), o sítio ativo hidrofóbico da AChE é suscetível a interações hidrofóbicas, o que justifica que alguns monoterpenos apresentem atividade anticolinesterásica. Estudos de ancoragem molecular revelaram que monoterpenos oxigenados apresentam maior afinidade com a AChE que os hidrocarbonetos monoterpênicos, por realizarem ligações de hidrogênio com aminoácidos nos sítios ativos da enzima (TAKTAK; BADAWY, 2019). Outros estudos indicam que a inibição da AChE por monoterpenóides é reversível e competitiva, com ligação ao mesmo local ativo que o substrato enzimático comum (KEANE; RYAN, 1999; LÓPEZ; PASCUAL-VILLALOBOS, 2010; MIYAZAWA et al., 1997; SIMA et al., 1993).

O efeito observado para o óleo essencial de *C. viminalis* ocorre provavelmente pelo seu alto teor de 1,8-cineol, uma vez que esse é relatado como um forte inibidor da AChE (ABDELGALEIL et al., 2019; DOHIET; TERASAKI; MAKINO, 2009; XIE; RIZVI; ZENG,

2019). A presença de  $\alpha$ -pineno também pode ter contribuído para os resultados encontrados, visto que existem indícios de que esses compostos possam agir em sinergismo na inibição dessa enzima (SAVELEV et al., 2003). Similarmente, o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (1,8-cineol - 44.42%.  $\alpha$ -pineno - 12.57%) foi responsável por 63,7% de inibição da AChE (ORHAN et al., 2008). A baixa atividade observada para o óleo essencial de *B. citriodora*, entretanto, pode estar relacionada à presença de citral, componente majoritário desse óleo, que não apresenta efeito inibitório significativo frente à acetilcolinesterase (DOHIET; TERASAKI; MAKINO, 2009). Estudos de Aderset et al (2006), Chaiyana et al. (2010) e Ryan e Byrne (1998) relataram também que o citral é um inibidor fraco da AChE. Em contraste, Alves et al. (2019) relataram que o óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, rico em citral, ocasionou redução da atividade total de AChE de *Callosobruchus maculatus*. Entretanto, os resultados encontrados por esses autores podem estar relacionados a presença de outros componentes no óleo de *C. citratus*, e não necessariamente ao citral.

O óleo de *C. dinissi* não se mostrou eficiente em diminuir a atividade da AChE. Dentre os óleos estudados, o de *C. dinissi* é o mais complexo em termos de sua composição química. Especula-se que, apesar de apresentar compostos que são relatados como inibidores da AChE, como o  $\alpha$ -pineno e terpinen-4-ol (ABDELGALEIL et al., 2019; DOHIET; TERASAKI; MAKINO, 2009; KIM; KANG; PARK, 2013), é possível que compostos minoritários possam atuar em um sítio não alostérico da AChE promovendo, dessa maneira, uma ação antagonística, o que torna esse óleo inativo frente à inibição enzimática. Savelev et al. (2003) revelaram que a atividade inibitória do óleo essencial de *Salvia lavandulaefolia* resulta de uma interação complexa entre seus constituintes, os quais produzem tanto respostas sinérgicas, quanto antagonísticas.

Fatores experimentais, como concentrações finais de reagentes e volume total da mistura de reação, provavelmente influenciam os ensaios e produzem uma variação na atividade inibitória da AChE em investigações independentes (SAVELEV et al., 2003), o que também justificaria as divergências encontradas nesse estudo. Em adição, observa-se também que a capacidade de um composto em inibir a AChE pode variar de acordo com o organismo da qual a enzima foi extraída. O monoterpene fenólico carvacrol, por exemplo, causou inibição da enzima acetilcolinesterase em *Musca domestica*, *Dermacentor variabilis* e *Periplaneta americana*, mas não inibiu a enzima acetilcolinesterase de *Aedes aegypti* (ANDERSON; COATS, 2012).

A partir dos resultados obtidos, sugere-se que o óleo essencial de *C. viminalis* possa ter demonstrado atividade acaricida por meio da inibição da atividade da AChE. Os valores de

CL<sub>50</sub> obtidos na atividade acaricida (CL<sub>50</sub> = 8,936 µg mL<sup>-1</sup>) e de IC<sub>50</sub>, para a diminuição da atividade enzimática da AChE (IC<sub>50</sub> = 7,391 µg mL<sup>-1</sup>) são coerentes, o que sustenta essa hipótese. Entretanto, o óleo essencial de *B. citridora*, que apresentou os melhores efeitos acaricidas e repelentes, provavelmente atua por mecanismos de ação distintos. O mesmo pode ser dito para o óleo de *C. dinisii*.

## 5 CONCLUSÃO

O óleo essencial de *B. citridora* apresentou potente efeito acaricida e repelente sobre carrapatos *R. microplus* e *R. sanguineus*, respectivamente, podendo ser considerado um bom candidato para futuras formulações no controle dessas espécies de carrapatos. Os óleos essenciais de *C. dinisii* e *C. viminalis* também apresentaram efeitos acaricidas significativos, podendo também ser explorados como fontes de compostos tóxicos para carrapatos. Em adição, os resultados sugerem que a toxicidade do óleo essencial de *C. viminalis* nessas espécies de carrapatos pode ocorrer via inibição da acetilcolinesterase. Esses óleos não apresentaram repelência a longo prazo. Entretanto, seus constituintes minoritários, principalmente os sesquiterpenos e álcoois monoterpênicos, podem ser explorados como potenciais repelentes. Ademais, estudos *in vivo* e investigações futuras devem ser feitas acerca da toxicidade desses compostos, a fim de identificar possíveis efeitos aos hospedeiros, visando suas aplicações como acaricidas e repelentes.

## REFERÊNCIAS

- ABDELGALEIL, S. A. M. et al. Acaricidal activity, biochemical effects and molecular docking of some monoterpenes against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 156, p. 105-115, 2019.
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oils componentes by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream: Allured, 2017.
- ADENUBI, O. T. et al. In vitro bioassays used in evaluating plant extracts for tick repellent and acaricidal properties: A critical review. **Veterinary Parasitology**, v. 254, p. 160-171, 2018.
- ADENUBI, O. T., et al. Plant extracts to control ticks of veterinary and medical importance: a review. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 178-193, 2016.



- ADSERSEN, A. et al. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of ethnopharmacology**, v. 104, n. 3, p. 418-422, 2006.
- ALVES, M. S. et al. Efficacy of lemongrass essential oil and citral in controlling *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae), a post-harvest cowpea insect pest. **Crop Protection**, v. 119, n. 191-196, 2019.
- ANDERSON, A.; COATS, J. R. Acetylcholinesterase inhibition by nootkatone and carvacrol in arthropods. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 102, n. 2, p. 124-128, 2012.
- ANDRADE, M. A., et al. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from *Cinnamodendron dinisii* Schwacke and *Siparuna guianensis* Aublet. **Antioxidants**, v. 2, n. 4, p. 384-397, 2013.
- ANVISA. Farmacopeia brasileira. 5. ed. Brasília, 2010. v. 1, p. 198-199.
- APEL, M. A. et al. Chemical composition and toxicity of the essential oils from *Cunila* species (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Parasitology Research**, v. 105, n. 3, p. 863, 2009.
- BABAR, W. et al. An Inventory of the Plants Used for Parasitic Ailments of Animals. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 32, n. 2, 2012.
- BADAWY, M. E. I.; EL-ARAMI, S. A. A.; ABDELGALEIL, S. A. M. Acaricidal and quantitative structure activity relationship of monoterpenes against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology**, v. 52, n. 3, p. 261-274, 2010.
- BECHARA, G. H. et al. *Rhipicephalus sanguineus* tick in Brazil: feeding and reproductive aspects under laboratorial conditions. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 4, n. 2, p. 61-66, 1995.
- ben
- BENELLI, G.; PAVELA, R.. Repellence of essential oils and selected compounds against ticks — A systematic review. **Acta tropica**, v. 179, p. 47-54, 2017.
- BISSINGER, B. W. et al. Efficacy of the new repellent BioUD® against three species of ixodid ticks. **Experimental and Applied Acarology**, v. 48, n. 3, p. 239-250, 2009.
- CAMILO, C. J. et al. Acaricidal activity of essential oils: a review. **Trends in Phytochemical Research**, v. 1, n. 4, p. 183-198, 2017.y
- CAO, J. et al. Pinene-rich essential oils from *Haplophyllum dauricum* (L.) G. Don display anti-insect activity on two stored-product insects. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 140, p. 1-8, 2019.
- CASTRO, K. N. C. et al. Acaricidal potential of volatile oils from *Croton* species on *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 6, p. 811-815, 2019.

CASTRO, K. N. C. et al. *In vitro* efficacy of essential oils with different concentrations of 1,8-cineole against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 2, p. 203-210, 2018.

CHAIYANA, W. et al. Characterization of potent anticholinesterase plant oil based microemulsion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 401, n. 1-2, p. 32-40, 2010.

CHUNGSAMARNYART, N.; JANSAWAN, W. Acaricidal activity of peel oil of *Citrus spp.* on *Boophilus microplus*. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, v. 30, p. 112-117, 1996.

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

CISAK, E. et al. Repellents and acaricides as personal protection measures in the prevention of tick-borne diseases. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2012, 19.4.

CLERCQ, E. M.; VANWAMBEKE, S. O.; SUNGIRAI, M.; et al. Geographic distribution of the invasive cattle tick *Rhipicephalus microplus*, a country-wide survey in Benin. *Experimental and Applied Acarology*, v. 58, n. 4, p. 441–452, 2012.

DA CAMARA, C. A. G. et al. Repellent activity of essential oils from two species of *Citrus* against *Tetranychus urticae* in the laboratory and greenhouse. **Crop Protection**, v. 74, p. 110-115, 2015.

DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Further thoughts on the taxonomy and vector role of *Rhipicephalus sanguineus* group ticks. **Veterinary Parasitology**, v. 208, n. 1-2, p. 9-13, 2015.

DOHI, S.; TERASAKI, M.; MAKINO, M. Acetylcholinesterase inhibitory activity and chemical composition of commercial essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 10, p. 4313-4318, 2009.

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

ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination Of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, [S.l.], v. 7, p. 88 - 95, 1961.

EL-SEEDI, H. R. et al. Chemical composition and repellency of essential oils from four medicinal plants against *Ixodes ricinus* nymphs (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 5, p. 1067-1075, 2014.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n. 6, 1039-1042, 2011.

FERREIRA, L. L. et al. In vitro repellency of DEET and  $\beta$ -citronellol against the ticks *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato and *Amblyomma sculptum*. **Veterinary Parasitology**, v. 239, p. 42-45, 2017.

GARCÍA, M. et al. Toxic and repellent effects of *Baccharis salicifolia* essential oil on *Tribolium castaneum*. **Pest Management Science**, v. 61, n. 6, p. 612-618, 2005.

GARSON, L. R.; WINNIKE, M. E. Relationships between insect repellency and chemical and physical parameters—a review. **Journal of Medical Entomology**, v. 5, n. 3, p. 339-352, 1968.

GILLIJ, Y. G.; GLEISER, R. M.; ZYGADLO, J. A. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 7, p. 2507-2515, 2008.

GIRÃO FILHO, J. E. et al. Repelência e atividade inseticida de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boheman em feijão-fava armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 499-504, 2014.

GRAY, J. et al. Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 4, n. 3, p. 171-180, 2013.

GRISI, L. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 23, n. 2, p. 150–156, 2014.

HAYES, A. J.; MARKOVIC, B. Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, v. 40, n. 4, p. 535-543, 2002.

KIM, S. W.; KANG, J.; PARK, I. K. Fumigant toxicity of Apiaceae essential oils and their constituents against *Sitophilus oryzae* and their acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, v. 16, n. 4, p. 443-448, 2013.

KLAFKE, G. et al. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 8, n. 1, p. 73-80, 2017.

KLOCKE, J. A.; DARLINGTON, M. V.; BALANDRIN, M. F. 1,8-Cineole (Eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). **Journal of Chemical Ecology**, v.13, n. 12, p. 2131-2141, 1987.

LEW-TABOR; RODRIGUEZ VALLE, M. A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against ticks and tick borne diseases. *Ticks and Tick-borne Diseases*, v. 7, n. 4, p. 573–585, 2016.

LÓPEZ, M. D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. **Industrial Crops and Products**, v. 31, n. 2, p. 284-288, 2010.

LWANDE, W. et al. Gynandropsis gynandra essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) repellents. **Phytochemistry**, v. 50, n. 3, p. 401-405, 1999.

MARTINEZ-VELAZQUEZ, M. et al. Acaricidal effect of essential oils from *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 48, n. 4, p. 822-827, 2011.

MUKHERJEE, P. K., et al. Acetylcholinesterase inhibitors from plants. **Phytomedicine**, v. 14, n. 4, p. 289-300, 2007.

NAVA, S. et al. **Ticks of the Southern Cone of America: diagnosis, distribution, and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance.** Londres: Academic Press, Elsevier, 2017.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. 372-378, 2010.

OBENG-OFORI, D. et al. Biological activity of 1,8-cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. **Journal of Applied Entomology**, v. 121, n. 1-5, p. 237-243, 1997.

OLIVEIRA, C. M., et al. Chemical Characterization and in vitro Antitumor Activity of the Essential Oils from the Leaves and Flowers of *Callistemon viminalis*. *American Journal of Plant Sciences*, v. 6, n. 16, p. 2664, 2015.

OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; CAMARGO-MATHIAS, M. Evaluation of cytotoxic effects of fipronil on ovaries of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick female. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 7, p. 2459-2465, 2008.

ORHAN, I. et al. Inhibitory effect of Turkish *Rosmarinus officinalis* L. on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes. **Food Chemistry**, v. 108, n. 2, p. 663-668, 2008.

OYEDELE, A. O. et al. Formulation of an effective mosquito-repellent topical product from lemongrass oil. **Phytomedicine**, v. 9., n. 3, p. 259-262, 2002.

PÅLSSON, K. et al. Tick repellent substances in the essential oil of *Tanacetum vulgare*. **Journal of Medical Entomology**, v. 45, n. 1: p. 88-93, 2008.

PALUCH, G. et al. Quantitative structure–activity relationship of botanical sesquiterpenes: Spatial and contact repellency to the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, n. 16, p. 7618-7625, 2009.

PASCOETI, Roger, et al. Parasites in dairy cattle farms in southern Brazil. *Revista MVZ Córdoba*, v. 21, n. 2, p. 5304-5315, 2016.

PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. et al. Use of nanoemulsions of plant essential oils as aphid repellents. **Industrial Crops and Products**, v. 110, p. 45-57, 2017.

PAZINATO, R. et al. In vitro effect of seven essential oils on the reproduction of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Journal of Advanced Research**, v. 7, n. 6, p. 1029-1034, 2016.

PAZINATO, R. et al. Influence of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) on the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Experimental and Applied Acarology**, v. 63, n. 1, p. 77-83, 2014.

PEIXOTO, M. G. et al. Acaricidal activity of essential oils from *Lippia alba* genotypes and its major components carvone, limonene, and citral against *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 210, n. 1-2, p. 118-122, 2015.

PIMENTEL, F. A. et al. A convenient method for the determination of moisture in aromatic plants. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 373-375, 2006.

ROH, H. S.; LEE, B. H.; PARK, C. G. Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 16, n. 3, p. 245-249, 2013.

ROSADO-AGUILAR, J. A. et al. Plant products and secondary metabolites with acaricide activity against ticks. **Veterinary Parasitology**, v. 238, p. 66-76, 2017.

RYAN, M. F.; BYRNE, O. Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, n. 10, p. 1965-1975, 1988.

SALES, T. A. et al. Essential oils from the leaves and flowers of *Callistemon viminalis*: chemical characterization and evaluation of the insecticide and antifungal activities. **American Journal of Plant Sciences**, v. 8, n. 10, p. 2516, 2017.

SANTIAGO, J. A. et al. Cytogenotoxic effect of essential oil from *Backhousia citriodora* L. (Myrtaceae) on meristematic cells of *Lactuca sativa* L. **South African Journal of Botany**, v. 112, n. 1, p. 515-520, 2017.

SANTOS, F. C. C.; VOGEL, F. S. F. Avaliação in vitro da ação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 712-716, 2012.

SAVELEV, S. et al. Synergistic and antagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia lavandulaefolia* essential oil. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 75, n. 3, p. 661-668, 2003.

SHARMA, A. K. et al. Comparative acaricidal properties of different solvents and surfactants on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 82, n. 2, p. 154-158, 2012.

SINGH, N. K. et al. Acaricidal activity of *Cymbopogon winterianus*, *Vitex negundo* and *Withania somnifera* against synthetic pyrethroid resistant *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Parasitology Research**, v. 113, n. 1, p. 341-350, 2014.

SONENSHINE, D. E.; ROE, R. M. **Biology of ticks**. New York: Oxford University Press, 2014.

ŠTEFANIDESOVÁ, K. et al. The repellent efficacy of eleven essential oils against adult *Dermacentor reticulatus* ticks. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 8, n. 5, p. 780-786, 2017.

SVOBODA, K. P.; GREENAWAY, R. I. Lemon scented plants. **International Journal of Aromatherapy**, v. 13, n. 1, p. 23-32, 2003.

TABANCA, N. et al. Chemical Composition, Biting Deterrent, Antimalarial and Antimicrobial Activity of Essential Oil from *Hypericum scabrum* L. **Current Bioactive Compounds**, v. 11, n. 2, p. 62-72, 2015.

TAKTAK, N. E. M.; BADAWY, M. E.I. Potential of hydrocarbon and oxygenated monoterpenes against *Culex pipiens* larvae: Toxicity, biochemical, pharmacophore modeling and molecular docking studies. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 158, p. 156-165, 2019.

TAVARES, M. et al. Trends in insect repellent formulations: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 539, n. 1-2, p. 190-209, 2018.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463-471, 1963.

WANG, Z. et al. QSAR study of mosquito repellents from terpenoid with a six-member-ring. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, n. 9, p. 2854-2859, 2008.

XAVIER, M. V. A. et al. Toxicidade e repelência de extratos de plantas da caatinga sobre *Tetranychus bastosi* Tutler, Baker & Sales (Acari: Tetranychidae) em pinhão-mansão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 790-797, 2015.

XIE, F.; RIZVI, S. A. H.; ZENG, X.. Fumigant toxicity and biochemical properties of ( $\alpha + \beta$ ) thujone and 1,8-cineole derived from *Seriphidium brevifolium* volatile oil against the red imported fire ant *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae), **Brazilian Journal Of Pharmacognosy**, v. 29, p. 720-727, 2019.

YUSUFOGLU, H. S. et al. Mosquito and tick repellency of two *Anthemis* essential oils from Saudi Arabia. **Saudi Pharmaceutical Journal**, V. 26, n. 6, p. 860-864, 2018.

**APENDICE A – Estruturas químicas dos compostos encontrados nos óleos essenciais das folhas frescas de *Backhousia citriodora*, *Callistemon viminalis* e *Cinnamodendron dinisii*, no presente estudo.**

