

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO EXTRATO DA RAÍZ DE *Dahlstedtia pentaphylla*
(TAUBERT) (LEGUMINOSAE, MILLETTIEDAE) SOBRE *Boophilus microplus*
(CANESTRINI) (ACARI: IXODIDAE) NO VALE DO PARAÍBA - SÃO PAULO,
BRASIL**

José Roberto Pereira

2004



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO EXTRATO DA RAÍZ DE
Dahlstedtia pentaphylla (TAUB.) BURK., (LEGUMINOSAE,
MILLETTIACEAE) SOBRE *Boophilus microplus* (CANESTRINI) (ACARI:
IXODIDAE) NO VALE DO PARAÍBA - SÃO PAULO, BRASIL**

JOSÉ ROBERTO PEREIRA

Sob a Orientação da professora

Kátia Maria Famadas

e Co-orientação dos Professores

Fábio Babour Scott

Hélcio Resende Borba

Dissertação submetida como requisito
Parcial para obtenção do grau de **Mestre
em Ciências** Veterinárias, Área de
Concentração - Parasitologia Veterinária

Seropédica, RJ

Maior de 2004

595.42098161

P436

T

Pereira, José Roberto, 1964-

Avaliação da eficiência do extrato da raiz de (*Dahlstedtia pentaphylla*) (Taub.) Burk., (Leguminosae, Millettiedae) sobre *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae) no Vale do Paraíba - São Paulo, Brasil / José Roberto Pereira. - 2007.
59 f. : il.

Orientadora: Kátia Maria Famadas.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária.

Bibliografia: f. 44-51.

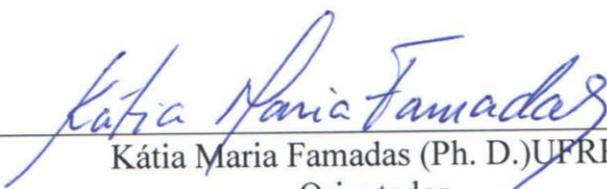
1. *Boophilus microplus* - Controle - Paraíba do Sul, Rio, Vale - Teses. 2. Rotenona - Teses. 3. Inseticidas vegetais - Teses. I. Famadas, Kátia Maria, 1961. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária. III. Título.

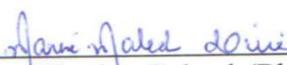
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

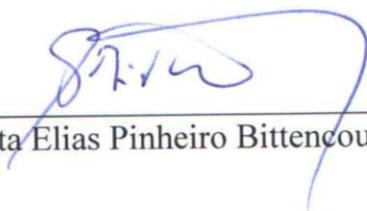
JOSÉ ROBERTO PEREIRA

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Parasitologia Veterinária, como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre**, em Ciências Veterinárias.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 25/05/2004


Kátia Maria Famadas (Ph. D.) UFRRJ
Orientador


Marise Maleck de Oliveira Cabral (Ph.D.) Fiocruz


Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt (Ph. D.) UFRRJ

**Ao meu Deus, o Deus
do impossível, ofereço**

“Senhor, meu coração não se enche de orgulho,
meu olhar não se levanta arrogante.

Não procuro grandezas,
nem coisas superiores a mim,

Ao contrário, mantenho em calma e sossego a minha alma.

Tal como uma criança no colo materno,
assim está a minha alma em mim mesmo.

(Salmo 130, 1- 2)

**A Rose, esposa e cúmplice
Aos filhos: Gisele, Júnior e
Danilo, fontes de motivação,
Dedico**

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por proporcionar o aperfeiçoamento;

À Secretaria de Agricultura e Abastecimento – APTA: Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Vale do Paraíba pelo incentivo no aperfeiçoamento.

À Orientadora Professora Kátia Maria Famadas, pelos ensinamentos, confiança, paciência e dedicação;

Aos Co-orientadores Professores Fábio Barbour Scott e Hércio Borba pelos ensinamentos e dedicação;

Ao Pesquisador Científico Hélio Minoru Takada do Pólo Regional do Vale do Paraíba, o amigo, frente todas as dificuldades enfrentadas;

À Pesquisadora Científica do Instituto Biológico de São Paulo Harumi Hojo, das pessoas de maior lucidez;

Às Pesquisadoras Científicas do Instituto Biológico de São Paulo, Dra. Vera Cecília Annes Ferreira e Dra. Lúcia Baldassi, das quais sem o apoio e incentivo, este sonho jamais seria possível.

Ao Diretor do Pólo Regional do Vale do Paraíba Omar Vieira Villela, pelo apoio e principalmente por ter me apresentado o “Hoehne”, a alavanca e base dos experimentos com as plantas;

A Dra. Fabíola Shwartz, das primeiras fontes a serem visitadas, por acreditar e se dedicar de forma exemplar a pecuária orgânica

Ao professor Geraldo Soares da Universidade Federal de Juíz de Fora, pelas primeiras orientações no desenvolvimento dos testes laboratoriais;

Ao Professor João Carlos Nordi da Universidade de Taubaté pelas orientações na coleta e confecção das exsiccatas;

A professora Simone de Pádua Teixeira da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, pela dedicação e empenho na identificação do “timbó”;

Ao Dr. Sérgio Sebastião da Silva Vianna, o eterno mestre por ter me aberto o caminho à Pesquisa Científica;

Ao colega de trabalho e parceiro Braz Pedrozo da Silva, pela experiência, disponibilidade e amizade;

Ao “Dito”, Benedito Pedrozo dos Reis, campeiro e profundo conhecedor dos timbós da região;

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária, em especial a ala antiga, patrimônio de sapiência da Parasitologia Veterinária Brasileira;

Aos colegas do Curso de Pós Graduação em Parasitologia Veterinária, pela enriquecedora troca de experiências e ensinamentos.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Controle do Carrapatos dos Bovinos.	3
2.1.1 Controle químico e resistência	4
2.1.2 Controle por extrato de plantas	6
2.2 Timbó	9
2.3 Rotenona	10
2.3.1 Toxidez da rotenona	10
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Local dos Experimentos	13
3.2 Origem e Identificação do Timbó	13
3.3 Preparação do Produto Testado	14
3.3.1 Obtenção do pó das raízes	14
3.3.2 Obtenção dos extratos das raízes de <i>D. pentaphylla</i>	14
3.3.3 Caracterização da rotenona	15
3.4 Testes Laboratoriais	15
3.4.1 Testes sobre teleóginas	15
3.4.2 Teste sobre larva	16
3.5 Testes no Campo com Extratos das Raízes de <i>D. pentaphylla</i>	17
3.5.1 Animais utilizados	17
3.5.2 Infestação artificial	18
3.5.3 Contagem de teleóginas de <i>B. microplus</i>	18
3.5.4 Cálculo da eficiência do tratamento	19
3.5.5 Performance reprodutiva de <i>B. microplus</i> frente ao tratamento dos bovinos com extratos das raízes de <i>D. pentaphylla</i>	19
3.5.5.1 Porcentagem de redução de postura	19
3.5.5.2 Porcentagem de redução de eclosão dos ovos	20
3.6 Análise Estatística dos Dados	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Ação do Extrato de Raízes de <i>D. pentaphylla</i> sobre <i>B. microplus</i> . Testes laboratoriais	21
4.1.1 Cálculo da CE ₅₀ e CE ₉₀ sobre teleóginas	21
4.1.2 Avaliação da mortalidade de teleóginas de <i>B. microplus</i> após exposição ao produto extraído das raízes de <i>D. pentaphylla</i> com diferentes solventes	24
4.1.3 Cálculo da CL ₅₀ CL ₉₀ sobre larvas de <i>B. microplus</i> não alimentadas	26
4.2 Ação do Extrato de Raízes de <i>D. pentaphylla</i> sobre <i>B. microplus</i> . Testes Sobre Bovinos no Campo	29
4.2.1 Análise de variância entre médias de contagens de <i>B. microplus</i>	29
4.2.1.1 Análise das médias de contagens de <i>B. microplus</i> entre	29

tratamentos	
4.2.1.2 Análise das médias de contagens de <i>B. microplus</i> nos dias do tratamento e após o tratamento	32
4.2.2 Eficiência dos extratos etanólicos de <i>D. pentaphylla</i> sobre <i>B. microplus</i>	34
4.2.2.1 Inibição de postura e eclosão de larvas	36
4.3 Considerações Gerais	42
5 CONCLUSÕES	43
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

RESUMO

PEREIRA, José Roberto. **Avaliação da eficiência do extrato de raiz *Dahlstedtia pentaphylla* (Leguminosae, Papilionoideae, Millettidae) sobre *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) na Região do Vale do Paraíba - São Paulo, Brasil.** Seropédica: UFRRJ, 2004. 54p. (Dissertação, Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária)

Foram realizados testes laboratoriais e de campo para avaliar a eficiência do extrato de raízes da planta *Dahlstedtia pentaphylla* (Taub.) Burk., (Leguminosae, Papilionoideae, Millettidae) sobre amostras de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) de bovinos da região do Vale do Paraíba e da cepa sensível Mozo. Os testes foram efetuados “in vitro”, pela técnica de imersão de telóginas e “in vivo”, sobre bovinos no campo, após infestação artificial. As diluições foram obtidas a partir da extração de rotenóides utilizando-se uma parte de pó das raízes da planta para três de etanol, sendo considerada padrão 100%. Visando determinar o solvente mais eficiente para a extração de rotenóides das raízes, conduziram-se testes laboratoriais sobre teleóginas de *B. microplus* em três solventes: água, etanol p.a e acetona p.a. Os testes laboratoriais permitiram calcular a Dose Letal 90% (DL₉₀) e DL₅₀ para larvas com idade entre sete e 21 dias e a Concentração Eficaz 90% (CE₉₀) e CE₅₀ sobre teleóginas de *B. microplus* das cepas local e Mozo. Para as larvas da cepa local (Polo Regional do Vale do Paraíba) a DL₅₀ calculada foi de 1: 231,37 mL e DL₉₀ 1: 85,24 mL. A CE₉₀ para as teleóginas, da mesma cepa, foi de 1:10,19 mL e a CE₅₀ 1: 34,94 mL. Para teleóginas da cepa sensível Mozo a CE₉₀ foi de 1: 23,91 mL e a CE₅₀, 1: 60,46 mL. Analisou-se também a mortalidade das teleóginas frente aos diferentes solventes. No campo os melhores resultados obtidos (76,10% de controle) foram obtidos três dias após a aplicação do produto extraído em etanol, na diluição 1: 10, sobre os animais. A partir daí gradualmente nos dias sete e quatorze os produtos foram perdendo eficiência, não apresentando mais diferença significativa entre os tratamentos e o grupo controle no dia +21.

Palavras chaves: Controle de carrapatos, extrato de plantas, rotenona

ABSTRACT

PEREIRA, José Roberto. **Evaluate the efficiency of root extracts of *Dahlstedt pentaphylla* (Leguminosae, Papilionoidae, Millettiedae) about *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in Paraíba Valley – São Paulo, Brasil.** Seropédica: UFRRJ, 2004. 54p. (Dissertation, Master Science in Veterinary Science).

Laboratory and field trials were performed to evaluate the efficiency of Timbó root extract (*Dahlstedtia pentaphylla*) (Taub.) Burk. (Leguminosae, Papilionoidae, Millettiedae) on samples of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in bovines of the Paraíba Valley region – São Paulo, Brasil. The “*in vitro*” trials were carried out using immersion of engorged females, and “*in vivo*” on bovines in the field by means of artificial infestation. The standard dilution was made from one part of root powder and three parts of ethanol this was considered the 100% solution. To determine the more efficient solvent to extract rotenone from the root, laboratory trials were conducted on *B. microplus* engorged females with in three solvents: water, ethanol a.p. and acetone a.p. The laboratory trials permitted the calculation of lethal doses at 90% (LD₉₀) and 50% (LD₅₀) for larvae between seventh and fourteenth days of application and efficient concentrations at 90% (EC₉₀) and 50% (EC₅₀) on strain local and Mozo with *B. microplus* engorged females. For the larvae of the local strain (Paraíba Valley Regional Hub) LD₅₀ calculated was 1:31,37 mL and LD₉₀ was 1:85,24 mL. The EC₉₀ for engorged females, of the same strain was of 1:10,19 mL and the EC₅₀ 1:34,94 mL. For the engorged females on the hypersensitive strain Mozo the EC₉₀ was 1:23,91 mL and the EC₅₀ 1:60,46 mL. The mortality of engorged females in relation to the different kinds of solvents, was analyzed. In the field, the best results (76,10% of control) were obtained three days after application of the product extracted in ethanol, in 1:10, on animals. Then gradually between the seventh and fourteenth days the products lost efficiency, there was no significant difference between treatments and the control group after 21 days.

Keys words: Tick control, plant extract and rotenone.

1 INTRODUÇÃO

A exploração pecuária, de maior valor econômico na região do Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, a exemplo das demais regiões do país, possui como um dos mais importantes problemas sanitários o parasitismo pelo carrapato dos bovinos *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887), sendo considerado um sério entrave na obtenção de lucros da atividade.

O carrapato dos bovinos, *B. microplus*, há muito é conhecido pelos criadores, devido à estreita relação de convivência com os bovinos, conforme podemos observar analisando a etimologia da palavra: *Boophilus microplus* - Boo = boi, philus = amigo, micro= pequeno, plus = mais - “o menor amigo do boi” (GONZALES, 1993). Na verdade não é bem assim, o fato do carrapato se alimentar de sangue, o torna um sério inimigo dos bovinos, segundo TORRES (1970), a fêmea em especial, ingere de 0,5 ml a 3 ml de sangue durante sua vida parasitária, podendo um bovino adulto perder até 96 kg de sangue anualmente em virtude deste parasitismo.

Além das atividades espoliativas, que acarretam retardo do crescimento dos animais jovens, perda de peso, diminuição na produtividade de leite, o carrapato ainda é vetor da Tristeza Parasitária Bovina, doença que em algumas regiões é responsável por alta mortalidade no rebanho.

O controle do *B. microplus* é essencial para o sucesso da atividade pecuária. O método de controle mais preconizado é a aplicação de produtos químicos sintéticos, denominados carrapaticidas, que apesar de afetar o meio ambiente e a Saúde Coletiva, é o mais efetivo durante a vida parasitária do carrapato. Entretanto, um dos fatores que mais preocupam o programa de controle do carrapato por carrapaticidas é o surgimento de resistência desses parasitas aos produtos químicos empregados, ou seja, os carrapaticidas passam a não apresentar a mesma eficácia, conseqüentemente torna-se necessário a diminuição do intervalo entre os banhos, o que acaba encarecendo a produção e comprometendo a rentabilidade da atividade. Outro problema não menos preocupante deve-se a contaminação do ambiente com o uso excessivo destas bases químicas, que acabam por contaminar o solo, os recursos hídricos e, sobretudo, promovendo transtornos à Saúde Coletiva.

A procura por produtos que possam ser eficientes, isentos de resíduos químicos sintéticos, que não poluam o ambiente, não afetem a qualidade do produto final tem sido um grande nicho de mercado: a produção orgânica, tanto de origem vegetal quanto animal, pelo mercado consumidor, que manifesta preocupação com a qualidade de produção dos alimentos. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), os produtos orgânicos movimentaram em 2002, no Brasil, 200 milhões de dólares. Um valor ainda pequeno comparado ao que o setor movimenta no mundo: 25 bilhões de dólares. Atualmente há no Brasil 270 milhões de hectares destinados a produção orgânica. As empresas certificadoras já cadastraram sete mil produtores envolvidos na atividade, sendo 95% desta produção de base familiar (JORNAL DO LEITE, 2003).

Nesta nova filosofia, há a necessidade de estudos que possam dar subsídios a este processo de produção, no tocante a sanidade e nutrição do rebanho, que sejam compatíveis com este novo enfoque. Esse novo nicho de mercado vem despertando o interesse de alguns pecuaristas à produção orgânica de origem bovina, estando algumas propriedades em fase de transição do sistema convencional para o sistema orgânico, onde se prioriza a obtenção de carne e leite sem o uso de produtos químicos sintéticos. Esta nova demanda implica em

pesquisa de novos produtos para serem utilizados no processo produtivo destinados a nutrição e sanidade dos animais do rebanho.

Produtos de origem vegetal como o “Tímbó”, nome popular de um grande número de plantas brasileiras que possuem como princípio ativo a rotenona, saponina ou outras semelhantes, letais para os insetos e peixes e pouco tóxica para animais de sangue quente (CAMINHA FILHO, 1940) vêm sendo preconizados de forma empírica, sem respaldo científico, carecendo de maiores investigações, visando não só a viabilidade econômica, mas também a segurança na manipulação de tais substâncias no controle de carrapatos pelos produtores orgânicos. Dessa forma, pesquisas que possam dar validação científica ao modo de ação, dosagem, segurança na manipulação, associados a estudos econômicos de sua aplicabilidade têm sensibilizado a comunidade científica como uma alternativa mais eficiente, sem restrições de utilização tanto na pecuária convencional quanto orgânica.

Com este propósito, elaborou-se este estudo para averiguar “in vitro” e “in vivo” a eficiência de extratos das raízes do tímbó, *Dahlstedtia pentaphylla* (Taub.) Burk. (Leguminosae, Milliettiaceae) sobre amostras de *B. microplus* da região e da cepa sensível Mozo, e o comportamento biológico dos parasitas submetidos ao produto (mortalidade, inibição de postura e eclosão de larvas).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Controle do carrapato dos bovinos

Durante séculos, o homem procurou controlar os parasitas que danificavam ou destruíam suas colheitas e animais. Com o descobrimento da América vieram para cá os primeiros colonizadores trazendo consigo seus costumes, hábitos e animais. Com os animais vieram suas doenças e parasitas entre eles o *B. microplus*. De início, pelo modo de criação do gado em grandes sesmarias não foi notado, porém, com o passar do tempo, com a valorização dos animais, diminuição do tamanho das propriedades e intensificação do modo criatório, passou a representar um entrave na exploração pecuária. No fim do século dezenove o estancieiro, criador de gado bovino, já se envolvia com o combate ao carrapato. Inicialmente de maneira bastante rudimentar fazendo com que os animais corresse, quando então as fêmeas já ingurgitadas (teleóginas) se desprendiam caindo ao solo e o campeiro, não as vendo sobre os bovinos e como os outros estágios requerem um exame mais apurado, se dava por satisfeito. Porém estes métodos de combate não cumpriam com o que deles se esperava, quando por inovação de Mr. Mark Christian, na Austrália, no ano de 1895, foi usado o primeiro banheiro carrapaticida carregado com uma solução arsenical (Arsenito de Sódio, segundo NIETZ, 1974). Esta prática logo chegou até nós e já na primeira década de 1900 aqui era empregada (LARANJA et al., 1988).

ATHANASSOF (1919), professor da Escola Agrícola de Piracicaba, preocupado com o carrapato dos bovinos, calculou que poderia ocorrer cinco a seis gerações do parasito ao ano, com ciclo de vida em torno de 55 a 60 dias e tendo cada teleóquina potencial para originar 2.500 ovos, dos quais metade originaria fêmeas, chegar-se-ia a 6.103.515.625.000.000 carrapatos por ano proveniente de um só carrapato. Reconhece o autor que há a destruição de boa parte da população por agentes naturais, impedindo-os de completarem o ciclo, outra parte destruída por pássaros, como anas, ficando a última parte para o criador destruir, ou pelo menos diminuir sensivelmente a população no campo e nos animais, para os quais recomenda a imersão em banheiros carrapaticidas. Publicação de CESAR PINTO (1945), com base em trabalhos do cientista norte-americano Mauricie Hill, utilizou-se de termos de tática e estratégia militar na profilaxia de zoonoses dos animais domésticos, os quais a respeito do carrapato dos bovinos, transcrevemos a seguir: “Como exemplo típico de invasão tríplice dos parasitos, citarei o desembarque de forças inimigas compostas de regimentos de *Piroplasmas*, *Babesias* e *Anaplasmas* transportados contra os bovinos, através dos tanques tipo *Boophilus*. Essa guerra assume tal importância econômica na Pecuária, que no Brasil é impossível criar-se em larga escala, bovinos puro sangue nos campos, porque nestes espalham-se os tanques (*Boophilus*) que na Argentina e na América do Norte sofrem guerra atroz” Até a presente data, tem havido esforços para o controle de *B. microplus*, no entanto, o uso excessivo e praticamente exclusivo de produtos químicos sintéticos vem acarretando sérios problemas econômicos, ambientais e de Saúde Coletiva. A utilização maciça de produtos químicos desencadeou a resistência destes parasitas aos produtos empregados. Devido a essa resistência, os pecuaristas têm utilizado doses maiores de produtos em intervalos menores no intuito de debelar o parasito do rebanho, encarecendo o custo de produção além de acarretar o acúmulo de substâncias tóxicas ao meio ambiente, sem contudo promover um controle efetivo.

Ao abordar o controle efetivo de *B. microplus* não se deve descartar as estratégias que tornem as condições de manejo do rebanho desfavoráveis ao desenvolvimento do carrapato,

evitando-se pastagens com arbustos altos, superpopulação dos piquetes, entre outras. A simples utilização de produtos ixodicidas, quer sejam químicos sintéticos, biológicos ou botânicos, de forma isolada, não promoverá um controle efetivo do *B. microplus*.

2.1.1 Controle químico e resistência

Os primeiros êxitos no combate ao carrapato foram conseguidos por Mark Christian em St. Lawrence (Austrália), no ano de 1885 aproximadamente, tendo usado uma solução arsenical. Por cerca de 40 anos os arsenicais foram utilizados como carrapaticidas. Inicialmente as soluções eram preparadas nas próprias fazendas e posteriormente, como produtos já comercializados prontos para serem diluídos em água. (COTRIM, 1913).

Esta primeira geração de carrapaticidas incluía além do arsênico inorgânico, o flúor, substâncias de origem botânica, como a nicotina, a rotenona e as piretrinas. Esses produtos com exceção das piretrinas, foram substituídos em meados dos anos 40 e início dos anos 50 pelos inseticidas orgânicos sintéticos, que apresentavam um largo espectro de ação, alta persistência e controle quase total das pragas tratadas. Estes inseticidas de segunda geração compreendiam os compostos dos grupos organoclorados, organofosforados, carbamatos, formamidas e piretróides (CORRÊA et al., 1993).

Os primeiros casos de resistência do *B. microplus* ao arsênio foram registrados na África do Sul, em 1937; ao mesmo tempo em que surgiram relatos da resistência na Austrália e América do Sul (LEGG, 1955).

No decorrer da Segunda Guerra Mundial foram aproveitadas as propriedades carrapaticidas de substâncias cloradas já disponíveis há bastante tempo, entre estas o DDT, sintetizado pela primeira vez no ano de 1874 e o HCH no ano de 1825 (MARICONI, 1958). A resistência aos clorados se manifestou em 1952 (GONZALES, 1993).

A seguir, surgiram os inseticidas organofosforados como carrapaticida, segundo feito positivo da Segunda Guerra Mundial: porém depois de 2 a 3 anos já não surtiam o mesmo efeito no controle dos carrapatos, isto é, os carrapatos tornaram-se resistentes a tais produtos. Mesmo assim, os organofosforados foram maciçamente e quase unicamente utilizados como carrapaticidas de 1953 até o início da década de 70, quando surgiram as Imidinas, Cloroformamidas e derivados (GONZALES, 1993).

Embora as Imidinas e compostos relacionados estivessem desempenhando seu papel satisfatoriamente, na década de 70 pesquisavam-se novas drogas com atividades carrapaticidas. Foram lançados os piretróides, produtos com baixa toxidez para mamíferos e alta para insetos. Tiveram boa aceitação por apresentarem custos menores e controlarem também o berne (LARANJA et al., 1988).

Com a idéia de utilizar o exoesqueleto como alvo específico para inseticidas químicos, o que distinguiriam artrópodes de animais superiores, foram introduzidos alguns produtos com atuação sobre a cutícula dos insetos, como os benzoilfenil uréias, com atividade inseticida descoberta na Holanda em 1970. CORREA et al., (1993) avaliaram este produto no controle do carrapato dos bovinos observando que estes possuíam forte ação carrapaticida para *B. microplus*, porém atualmente pouco acessível aos pequenos produtores em função do preço elevado.

NOLAN et al. em 1977 demonstraram resistência para piretróides sintéticos em larvas e teleóginas de cepas resistentes a DDT. ROULSTON et al. (1968) já previam essa situação: o desenvolvimento rápido de perda da eficiência dos piretróides devido a resistência cruzada nas linhagens resistentes DDT, pela pressão dos compostos utilizados. De fato NOLAN, em 1989

descreve a primeira evidência de resistência do carrapato dos bovinos a piretróides sintéticos na Austrália.

Segundo MARTINS (1999), mais de 45 relatos provenientes da Austrália, África, Ásia e América Latina, mostravam diferentes graus de resistência aos organofosforados, piretróides sintéticos e amidinas (amitraz).

No Brasil, a primeira detecção de resistência ocorreu no Rio Grande do Sul por FREIRE (1953), com o relato de cepas de *B. microplus* resistentes ao arsênio.

No Rio Grande do Sul em 1949, foram usadas para controle dos carrapatos, substâncias cloradas, como o BHC (“Benzeno hexaclorado”). O primeiro foco de resistência de uma população de carrapato a este grupo químico foi constatado em dezembro de 1952, no município de Alegrete (RS), também por José Jardim Freire (LARANJA et al., 1988). Ainda em 1953, Freire usou, o parathion (“organofosforado”) como carrapaticida. No fim da década de 60 surgiram as primeiras comprovações de carrapatos resistentes a este grupo químico. No ano de 1974 e 1976 foi abandonado o seu uso, pelo grau de resistência apresentado e pelo surgimento de novas drogas.

Durante a década de 70, em substituição aos organofosforados já sem efeito (ARTECHE et al., 1982; GONZALES & SILVA, 1972) ingressaram os produtos piretróides. No entanto no final dos anos 80 começaram a aparecer relatos de resistência aos piretróides. No Rio de Janeiro, LEITE (1988) relatou o primeiro caso de resistência aos piretróides sintéticos no país, seguido por ALVES BRANCO et al. (1992) e ALVES BRANCO et al. (1993) no Rio Grande do Sul e em diversas propriedades no Rio de Janeiro por FLAUSINO et al. (1995).

No Estado de São Paulo, Vale do Paraíba, PEREIRA & LUCAS (1987) descreveram o baixo percentual de controle obtido por substâncias como decamethrin e fenvalerato (piretróides sintéticos) sobre linhagens de *B. microplus*, provenientes do município de Jacareí. MENDES et al. (1999,1999a) relataram baixa eficiência e resistência aos piretróides sintéticos cipermethrin e deltamethrin frente as amostras de *B. microplus* de propriedades da região.

MENDES et al. (2001) baseados em levantamentos realizados em diferentes regiões do estado de São Paulo sobre a eficácia de carrapaticidas registraram eficiência inferior a 50% para produtos piretróides em todas as regiões do estado. Médias superiores a 90% da associação piretróide+organofosforado foram observadas na região norte. Produtos das bases amitraz e organofosforados apresentaram eficácia entre 63% a 95%, com vantagem para o amitraz em todas as regiões, com exceção do Vale do Paraíba, onde esta base mostrou o seu pior desempenho (74,44%).

O uso de produtos carrapaticidas sintéticos no controle de carrapatos, tem se mostrado pouco eficiente em longo prazo, devido ao rápido surgimento dos mecanismos de resistência, agravados com o manejo deficiente do rebanho e má utilização dos produtos.

2.1.2 Controle por extrato de plantas

Para se protegerem do “perigo” causado pelos insetos e herbívoros, as plantas produzem defesas bioquímicas, também conhecidas como metabólicos especiais. Algumas espécies, talvez por não produzirem essa defesa são consumidas e até mesmo extintas (FRIGHETO, 1997). Dos tempos romanos até meados do século 20, piretro, rotenona, nicotina, sabatilha e quassina, extraídos de plantas, foram amplamente usados como repelentes de insetos e pesticidas no hemisfério leste (NICHOLSON, 1995). Os inseticidas botânicos deixaram de ser usados com o surgimento dos inseticidas organoclorados que se mostraram mais eficientes e baratos. A retomada desta prática de controle deveu-se à

necessidade de novos compostos para uso no manejo de pragas sem o problema de contaminação ambiental, resíduos nos alimentos, efeitos sobre organismo benéficos e aparecimento de insetos resistentes, características presentes nos inseticidas vegetais (VENDRAMIM, 1997). Porém, segundo NICHOLSON (1995), folclore e experiência, mas pouca ciência tem formado a base de muitos destes compostos.

A literatura sobre o uso de extrato de plantas para controle do *B. microplus* é escassa, sendo recentemente investigada, quando diversas plantas foram descritas como carrapaticidas.

ZIMMERMAN et al. (1984), em Porto Rico, testaram 15 genótipos de *Stylosanthes* (Papilionaceae), sobre larvas de *B. microplus*, “in vitro”, selecionando *S. scapra* (genótipo PI 387954) e *S. viscosa* (genótipo PI 377961) com 58,8% e 67,8% de eficiência. Resultados similares também foram encontrados pelos autores sobre larvas e ninfas de *Amblyomma variegatum*.

A partir de 1988, várias pesquisas foram realizadas na Tailândia, Universidade de Kasetsart, Bangkok, sobre a utilização de extratos de plantas para controle do *B. microplus*. CHUNGSAMARNYART et al. (1988) realizaram testes “in vitro” para investigar a capacidade larvicida do extrato etanólico de 44 espécies de plantas sobre *B. microplus*. Relataram atividade de cinco das plantas testadas: *Acanthus ebracteatus* (Acanthaceae), *Acorus calamus* (Araceae), *Annona squamosa* (Anonaceae), *Luffa acutangula* (Curcubitaceae) e *Stemona collinsae* (Stemonaceae) entre 90% e 100% sobre as larvas. O mesmo bioensaio foi realizado sobre teleóginas com extrato etanólico de sementes de *A. squamosa*, obtendo 100% de mortalidade nas concentrações de 10% e 5%. O extrato das folhas apresentou baixa eficiência.

CHUNGSAMARNYART et al. (1991) baseados nos resultados obtidos com *A. squamosa*, investigaram a extração prática dos compostos ativos da semente da planta por diferentes solventes e seus efeitos em teleóginas de *B. microplus*. O extrato etanólico 10% e por ebulição de água, mostrou 87% e 88% de eficiência, respectivamente, após 48h de serem aspergidos, demonstrando a possibilidade da extração prática dos compostos ativos da planta.

CHUNGSAMARNYART & JANSAWAN (1991) testaram 171 extratos brutos etanólicos de 151 espécies de plantas “in vitro” sobre teleóginas de *B. microplus*. Relatam *Calotropis gigantea* (Asclepiadaceae) e *Strebus asper* (Moraceae) com 92% e 100%, respectivamente, de mortalidade após 48h. A atividade acaricida de algumas plantas foi observada cinco dias após o tratamento. Dessas, as maiores atividades acaricidas sobre a postura (86% - 100% de inibição) foram observadas em *Alpinia officinarum* (Zingiberaceae), *Annona muricata*, *Calotropis procera*, *Michelia champaca* (Anonaceae), *Pachyrrhisus erosus* (Fabaceae), *Plumbago zeylandica* (Plumbaginaceae), *Polyscias balfouriana* (Araliaceae), *Premna latifolia* (Verbanaceae), *Thumbergia erecta* (Acanthaceae) e *T. laurifolia*. Os mesmos autores estudaram a atividade acaricida sobre *B. microplus* de óleos voláteis extraídos de folhas frescas e secas do capim limão, (*Cymbopogon citratus* - Gramineae) e citronela (*Citronella nardus* - Gramineae) diluídos em etanol 95%. Segundo os autores os extratos de folhas frescas foram mais eficientes sobre adultos e larvas do carrapato que os de folhas secas. O óleo extraído de folhas frescas de *C. citratus* exibiu atividade sobre teleóginas (85 - 100% de mortalidade cinco dias após aspersão) nas diluições: 1:0, 1:2, 1:3 e 1:4. Extratos frescos de *C. nardus* apresentaram 85 - 90% de mortalidade nas diluições 1:0, 1:2 e 1:3. Nos testes sobre larvas, *C. citratus* exibiu mortalidade acima de 90%, 1 - 2h após tratamento nas diluições 1:8, 1:12 e 1:16, *C. nardus* apresentou mortalidade acima de 90% nas diluições 1:8 e 1:12. Em testes no campo ambos os extratos, na diluição 1:3 mataram os estágios pré-ingurgitados 48h após aspersão e as teleóginas 5 dias após a aplicação (CHUNGSAMARNYART & JANSAWAN, 1992)

JANSAWAN et al. (1993) estudaram os efeitos do extrato etanólico de *Stemona collinsae* sobre *B. microplus*, relatando como mais eficiente a concentração de 50%, que promoveu, após 24h, mortalidade de 100 e 93,33% de larvas e teleóginas, respectivamente.

CHANGSAMARNYART et al. (1994) testaram a atividade carrapaticida sobre *B. microplus* de 34 extratos etanólicos brutos de plantas em associação, observando atividade aguda (24h a 48h após tratamento) para as combinações: *Aganonerium polymorphum* + *Calotropis procera*, *A. polymorphum* + *Anethum graveolens* (Apiaceae) e *C. procera* + *Pentapetes phoenicia* (Malvaceae). Atividade retardada (observada 7 dias após tratamento) foi relatada em *A. polymorphum* + *C. gigantea*, *A. polymorphum* + *Cryptostegia grandiflora*, *A. polymorphum* + *Ixora nigricans*, *C. gigantea* + *C. grandiflora*, *C. gigantea* + *P. phoenicia*, *I. nigricans* + *A. graveolens* e *Annona muricata* + *P. nigrum*. Concluíram os autores que aplicação prática da combinação de dois extratos de plantas é possível.

CHUNGSAMARNYART & JANSAWAN (1996) investigaram a atividade de óleo extraído de três cultivares de *Citrus máxima* (Rutaceae): Khaao nam phueng (frutos maduros), Khaao phuaing (frutos imaturos) e Thong dee (frutos maduros e imaturos), *C. reticulada*, *C. suncris*, *C. sinensis* e *C. hystrix*, extraídos por pressão mecânica e diluídos em etanol 95% sobre *B. microplus* “in vitro”. Óleo extraído da casca de *C. reticulata* e *C. maxima* var. Thong dee mostraram alta atividade acaricida em teleóginas na concentração 1: 10. *C. sinensis* e *C. maxima* na concentração 1:10 exibiram alta atividade sobre larvas. *Citrus hystrix*, *C. reticulata*, *C. suncris* e *C. maxima* (frutos imaturos) mostraram atividade moderada sobre larvas. As demais espécies exibiram pouca atividade carrapaticida.

CHUNGSAMARNYART & JANSAWAN (2001) testaram extrato de frutos de tamarindo (*Tamarindus indicus* - Leguminosae) com água e etanol sobre teleóginas de *B. microplus*. A mortalidade foi avaliada 24h, 48h e 7 dias após tratamento, não verificando nenhuma diferença entre a eficácia dos extratos aquoso e etanólico. O extrato aquoso do tamarindo na diluição de 1:2 e 1:5 exibiram 99% e 77% de mortalidade dos carrapatos após 7 dias, respectivamente. O extrato etanólico na diluição 1:2 e 1:5 apresentou eficiência de 91% e 87%, respectivamente. O efeito carrapaticida dos extratos, segundo os autores deve-se a presença dos ácidos oxálico e tartárico no fruto.

Na Jamaica, WILLIAMS (1991), registrou a atividade acaricida sobre *B. microplus* de extratos de algas marinhas: *Laurencia obtusa* (Rhodomelaceae), *Padina vickerisiades* (Dictyotaceae), *Liagora farinosa* (Liagoraceae), *L. elongata* e *Styopodium lobatum*. Extratos etanólicos provocaram a mortalidade e inibiram a oviposição e embriogênese dos carrapatos. A mortalidade dos carrapatos adultos registrada para os extratos foi: *L. obtusa* (40%), *L. elongata* (30%), *L. farinosa*, *P. vickeriales* e *S. lobatum* (10%). Sobre as larvas a eficiência dos extratos foi: *L. obtusa* (59,2%), *L. farinosa* (38,8%), *S. lobatum* (34,4%), *P. vickerisiae* (14,0%) e *L. elongata* (11,2%). O mesmo autor avaliou os efeitos de *Artocarpus altilis* (Moraceae) e *Azadirachta indica* (Meliaceae) na fisiologia reprodutiva de teleóginas de *B. microplus* relatando a inibição de 50% de postura nas doses de 0,54 e 0,46µg em extratos etanólicos. Essas doses causaram 65 e 80% de não eclosão das larvas, respectivamente. O autor atribui aos extratos, especialmente de neem (*A. indica*), a inibição de proteínas e lipídios para ovários e oócitos. BROWN et al. (1998) investigaram a atividade do extrato de pimenta (*Pimenta dióica* – Piperaceae) sobre teleóginas de *B. microplus*, relatando as atividades das bagas da planta sobre a mortalidade e oviposição dos carrapatos, segundo os autores, potencial atribuído ao eugenol, um fenol natural com reconhecida atividade nematicida sobre *Haemonchus contortus* (PESSOA et al., 2002).

Na Índia MASKE et al. (1995), SILVARAMAKRISHNAN et al. (1996), KUMAR et al. (2000) avaliaram a eficácia de diversos extratos de plantas (*Cedrus deodara* (Pinaceae), *A. indica*, *Embelia ribes* (Embeliaceae), *Eucalyptus* (Myrtaceae), *Pongamia* (Leguminosae), e

Acorus calamus em bovinos naturalmente infestados com *B. microplus*, relatando sucesso, com animais permanecendo livres de infestação por período de 7 a 30 dias após o tratamento. Ainda na Índia, GUPTA et al. (2000) avaliaram “in vitro” a eficiência de diferentes partes da semente do neem sobre *B. microplus*, relatando a maior eficiência das cascas, quando comparadas com a semente inteira e amêndoa.

Na Colômbia, BENEVIDEZ et al. (2001) por meio da técnica de imersão de teleóginas avaliaram o efeito de sementes de neem sobre *B. microplus* em soluções aquosa, etanólica e éterea. Resultados indicaram a superioridade dos extratos etéreos (100%) sobre etanólica (70%) e aquoso, o qual, segundo os autores, sugerem muita instabilidade ou solubilidade do composto.

No Brasil, MENDES et al. (2001) testaram a eficácia do extrato etanólico de *Sesbania seban* (Leguminosae) “in vitro” sobre teleóginas de *B. microplus* nas doses, 0,05mg, 0,1mg e 0,2mg, encontrando 80,43%; 81,14% e 88,1% de inibição de postura e 11,59%; 14,81% e 49,41% de eficácia dos extratos. PONTE (2002), avaliou a eficiência de manipueira, líquido extraído de mandioca (*Manihot esculenta* – Euphorbiaceae) como carrapaticida sobre *B. microplus* no campo, pulverizados nos bovinos três vezes por semana, não encontrando mais carrapatos no último dia de aplicação do extrato. COSTA JÚNIOR et al. (2002), avaliaram “in vitro” a eficácia de rotenóides extraídos do timbó (*Derris urucu* - Leguminosae) sobre teleóginas de *B. microplus*, observando variação na eficiência entre 8,7% e 100,0%. CHAGAS et al. (2002) em estudos “in vitro” avaliaram a ação carrapaticida do óleo de *Eucalyptus citriodora*, *E. globulosus* e *E. staigeriana* sobre larvas e teleóginas de *B. microplus*, verificando 100% de mortalidade de larvas na concentração de 10% para *E. citriodora* e *E. staigeriana* e 20% com *E. globulosus*. Sobre teleóginas o *E. globulosus* teve eficácia de 10%, *E. staigeriana* 15% e *E. citriodora* 25%. Os óleos essenciais foram potencializados quando transformados em emulsionáveis (90%) atingindo 100% de eficácia para larvas na concentração 7,3% e 40% para teleóginas. Os autores creditam o melhor desempenho das soluções emulsionáveis à hidrofília do composto, que pode ser absorvido com maior eficiência pelos carrapatos.

Ainda no Brasil, BORGES et al. (2003) efetuaram testes “in vitro” para avaliar a eficácia de frutos secos e pulverizados de *Melia azedarach* (Meliaceae), extraídos pelo hexano, CHCl₃ e etanol hidratado 96%, sobre larvas e teleóginas de *B. microplus*. Teleóginas e larvas foram imersas em concentrações decrescentes de 0,25% a 0,015% de todos os extratos, sendo a mortalidade das larvas observadas 24h, 72h e 168h após tratamento e a eficiência sobre as teleóginas, mensurada pela produção de ovos. Todos os extratos causaram mortalidade das larvas: Hexano e CHCl₃ (98%) e etanol (50%) 168h após tratamento. Sobre teleóginas CHCl₃ e hexano foram os mais eficientes (14% - 100%) e etanol (0 - 46%). Segundo os autores *M. azedarach* não matou as teleóginas, mas inibiu parcial ou totalmente a produção de ovos e embriogênese.

2.2 Timbó

O nome timbó, originário do tupy (ty = suco e mbó = cobra) serve para indicar na nomenclatura vulgar todas as plantas que têm reconhecido efeito ictiotóxico. Estão presentes em várias famílias vegetais como as Leguminosae, Euphorbiaceae e Sapindaceae. Destas destacam-se as leguminosae que incluem os gêneros *Dahlstedtia*, *Lonchorcarpus* e *Derris* e sapindáceas do gênero *Serjania*. Na página 141 do trabalho de José de Anchieta: “*Epistola quam plurimam rerum naturalium quae S. Vicentii (nunc S. Paulo), provincia incolunt, syste descriptionen*” já deparamos em 1560, com o emprego de “Timbós” da flora paulistana. Narra Anchieta que os índios do litoral, mataram mais de 12.000 peixes dissolvendo o extrato da

planta nas águas de um lago. Os índios usavam este processo para apanhar peixes em maior quantidade para os dias de grande festança. Nos banquetes que faziam, quando não tinham suficiente carne humana ou de quadrúpedes, utilizavam peixes colhendo-os com auxílio dos timbós (HOEHNE, 1939).

O timbó contém além da rotenona, principal elemento tóxico encontrado em suas raízes, numa proporção de 1 a 25%, conforme a idade do arbusto, a dequelina a tefronina e o toxaricol, princípios que atuam como estimuladores da toxidez verificada na rotenona, que segundo estudos de laboratórios, é cerca de 15 vezes superior a da nicotina e de 30 vezes a do arseniato de chumbo, um dos principais inseticidas minerais. O timbó apresenta, além de baixa toxidez, a vantagem de ser “inofensivos aos animais de sangue quente” e de não queimar folhas de arbustos quando submetidos ao processo de desinfecção (CHACON, 1973). Esta aparente inocuidade será abordada posteriormente

Antes de 1946, a rotenona extraída dos timbós, era utilizada como inseticida nas lavouras contra insetos: larvas de borboleta, coccídeos, cochonilhas e pulgões (COSTA et al. 1999). Segundo PIRES, 1978 as exportações de timbó iniciaram-se em 1939. O produto exportável era o pó das raízes e havia vários moinhos em operação em Manaus (AM) e Belém (PA). Com o advento do DDT e dos inseticidas sintéticos, o comércio do pó das raízes entrou em colapso. De 1954 a 1967 a produção de timbó no Brasil foi de 2116 toneladas, sendo produzido no Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Minas Gerais e Pará. No ano de 1956 a produção foi de 513 toneladas (24,25% da produção total do período), exportadas para os Estados Unidos e Canadá. A partir de 1959 a produção entrou em declínio, estando sempre abaixo de 10% do total produzido nos 14 anos pesquisados (CHACON, 1973).

O timbó extraído de *Derris urucu* já foi usado com êxito no controle de ectoparasitos de animais de interesse zootécnico. COSTA et al. (1986) obtiveram sucesso no controle do piolho dos búfalos (*Haematopinus tuberculatus*) com extrato aquoso da planta nas concentrações de 0,25 a 2% com eficácia até sete dias após tratamento. Os autores, para a garantia da eficiência e pelo baixo custo do produto, sugerem a utilização do produto a 1% aplicado duas vezes, com intervalo de treze dias, sendo sua eficácia comparável aos melhores produtos químicos usados no combate ao piolho dos búfalos. Resultados similares foram obtidos por COSTA JÚNIOR et al. (2002) em testes “in vitro” sobre teleóginas de *B. microplus*, com rotenóides extraídos da mesma planta.

2.3 Rotenona

A rotenona (C₂₃H₂₂O₆) e outros rotenóides são encontrados em grande número de plantas. São inseticidas de contato e ingestão. Supõe-se que os rotenóides tenham sido utilizados, como inseticidas, pela primeira vez, em 1848. As plantas fornecedoras, entretanto, tem sido empregada, há muitos séculos, para envenenar peixes, mas somente em 1902 foi isolada de *Derris*. Quando pura, a rotenona, é cristalina, muito pouco solúvel em água e muito solúvel em clorofórmio e dicloreto de etileno. Exposta ao ar e luz decompõe-se: de incolor passa a amarela e posteriormente vermelha, resultando então em composto sem atividade inseticida. Esta mudança sobre plantas ocorre de 7 a 10 dias após a aplicação. No corpo do inseto, ela pode penetrar pelo canal alimentar, traquéia e tegumento. É mais tóxica para mamíferos que piretrinas (MARICONI, 1958). A dose letal 50% (DL₅₀) dos extratos etanólicos de raízes de *Derris* para mamíferos (*Rattus norvegicus*) é 100mg/Kg (MASCARO, et al. 1998).

Para os organismos aquáticos, a rotenona é altamente tóxica. Em diferentes espécies de peixes e daphnídeos (“pulgas aquáticas”) a DL₅₀ varia de 0,02 a 0,2 mg/L. É rapidamente oxidada no solo e superfície das plantas a produtos menos tóxicos e tem baixa persistência.

Sua toxidez para pássaros é muito baixa e também não é fitotóxica. A absorção através da pele intacta é baixa. O metabolismo e farmacocinética da rotenona não são completamente conhecidos, no entanto, o composto é metabolizado pelo fígado de mamíferos e a maior parte do composto é eliminada nas fezes. Não há evidência de ação carcinogênica, nem genotóxica em ratos e camundongos (WHO, 1992).

A rotenona ao contrário dos outros inseticidas não é neurotóxica, funciona como inibidora das enzimas da cadeia respiratória, atuando entre o NAD (co-enzima envolvida nos processos metabólicos de oxi-redução) e a co-enzima Q (responsável pelo transporte de elétrons) promovendo falha das funções respiratórias (SANTOS,1999).

2.3.1 Toxidez da rotenona

Apesar de ser considerada como tóxica somente para peixes e inofensiva aos animais de sangue quente (CHACON, 1973), a inocuidade da rotenona há muito é questionada. Das primeiras referências brasileiras de toxidez da rotenona, presentes em timbós, são relatadas por HOEHNE (1939) em duas ocasiões: em discurso do Dr. Aquilles Lisboa em 1918, ao condenar o uso de timbó nas pescarias e o consumo dos peixes obtidos por esta prática, por provocar “ação lesiva, para o fígado principalmente”, daqueles que se alimentavam dos peixes e outro caso refere-se a St. Hilaire, que quando viajou pelo Brasil, ao consumir mel proveniente de uma vespa silvestre que havia buscado néctar em uma espécie de timbó, *Serjania lethalis*, “sentiu-se bruscamente envenenada”.

HAAG (1931) relatou intoxicação fatal de cobaias após inoculação intravenosa de rotenona. GEORGI (1982) relaciona toxidez na administração de rotenona a cães, gatos, suínos, cobras, além de peixes.

IBRAHIM et al. (2000) relataram a toxidez da rotenona e rotenóides extraída de *Tephrosia vogelli* mesmo após fervura por 90 minutos, recomendando cautela no consumo de peixes obtidos com timbós.

Experimentos desenvolvidos na Univesidade de Emory, Atlanta, Georgia, Estados Unidos por BETARBET et al. (2000) demonstraram que a rotenona desenvolveu sintomas semelhantes aos da doença de Parkinson em ratos de laboratório. A rotenona foi administrada diariamente durante cinco semanas, diretamente na jugular direita, na dose de 2 a 3 mg/Kg, dissolvidos em DMSO (dimetil sulfóxido) e PEG (polietileno glicol) em 25 animais. Doze dos 25 ratos desenvolveram lesões características da doença de Parkinson. Estruturas similares aos corpúsculos de Lewis (depósito microscópico de proteínas, característicos da doença) foram encontradas nos neurônios da substância negra do cérebro dos animais. A publicação desta pesquisa em dezembro de 2000 pela revista Nature Neurociences causou grande impacto no meio científico.

Sobre esta pesquisa ADAM (2000), comentou:“ Estes resultados questionam a mantra popular natural é bom”.

Segundo a AMERICAN FISHERIES SOCIETY (2001) discorrendo sobre a pesquisa de BERTABET et al. (2000), a maneira como a rotenona foi administrada por injeções contínuas são anormais, não só por serem intravenosas, mas por serem diluídas em DMSO. O DMSO aumenta a penetração tecidual de muitos químicos. A exposição normal para humanos seria a ingestão, inalação e cutânea, significativamente lenta na introdução do produto na circulação sanguínea. A exposição à rotenona no ambiente é extremamente limitada, por ser instável (meia vida em dias) e oxidada por ação enzimática no intestino de pássaros e mamíferos. Devido ao rápido metabolismo em mamíferos e pássaros não seria provável que alcançasse o lugar na substância negra no cérebro, onde a dopamina é produzida. Para peixes é tóxica porque atravessa rapidamente as brânquias e cai diretamente na circulação sanguínea,

não passando pelos intestinos. MARKING (1988), administrou rotenona a 320 ratos durante 24 meses, via oral, em doses acima de 75 mg/kg ao dia, e após necrópsia, não evidenciou nenhum sinal macroscópico ou microscópico da doença nos órgãos e tecidos nervosos dos ratos expostos a rotenona.

É muito tentador, argumenta GARCIA (2000), concluir que a rotenona comumente usada como inseticida está atrás de um grande número de casos de doença de Parkinson que se observam na atualidade. Experimentos preliminares dos mesmos pesquisadores da Universidade de Emory indicam que a administração de rotenona por via oral, não conduz ao mesmo efeito nos ratos, o qual contesta o efeito direto que a rotenona presente no ambiente pudesse ter. É possível argumentar que a ingestão deste composto por período de tempo muito prolongado é necessária para a aparição da enfermidade e que esta é a razão pela qual a doença de Parkinson predomina nos idosos.

Para o Dr. J. William Langston, diretor do Parkinson's Institute, Califórnia, a causa da doença de Parkinson permanece desconhecida, havendo indicações que pesticidas e outros químicos ambientais podem ter importância no seu desenvolvimento, uma idéia originada há 20 anos atrás em observações, feitas por Langston em adictos de heroína. Em 1982 uma droga chamada "China White", heroína sintética, começou a ser produzida ilegalmente. Os adictos que consumiam a droga rapidamente começavam a apresentar os sintomas da Doença de Parkinson, causados por uma substância química chamada MPTP, presente na droga. Esta observação levantou a hipótese que outros químicos além de MPTP, poderiam causar a doença de Parkinson. Estudos desenvolvidos para averiguar as causas ambientais da doença relataram fazendeiros, vida rural e consumo de água de nascentes com aumento do risco de desenvolverem a doença, o qual reforça a idéia da exposição a pesticidas como causa da doença (MITCHELL, 2002).

Segundo VANCE (2003), o mal de Parkinson, não é uma doença e sim muitas doenças. A doença em si é um distúrbio degenerativo na parte do cérebro que controla os movimentos. A degeneração progressiva do nervo resulta em dificuldade de iniciar os movimentos, tais como a ação de andar, a perda de equilíbrio, rigidez e tremor. Um dos mecanismos responsáveis pela degeneração dos neurônios envolvidos na doença é o stresse oxidante excessivo ao longo do tempo. Os efeitos tóxicos que resultam do excesso de dano oxidante, combinado com exposições aos pesticidas tais como rotenona, poderiam causar a doença de Parkinson.

HILEMAN (2001) relata a opinião de pesquisadores de diversas instituições em conferência promovida pela UAMS (University of Arkansas for Medical Sciences), com suporte do NIEHS (Nacional Institute of Environmental Health Sciences), EPA (Environmental Protection Agency), CDC (Center for Disease Control & Prevention), Parkinson's Institute e várias outras fundações e corporações, ocorrida no mês de agosto de 2001 no Colorado sobre os fatores ambientais e a doença de Parkinson. Essencialmente três linhas de evidências têm levado os pesquisadores a acreditar que exposições químicas, particularmente a pesticidas, causam a doença de Parkinson. Uma delas é a maior probabilidade de contrair a doença por pessoas que vivem em fazendas, especialmente aqueles que consomem água de nascente e têm história de exposição a pesticidas. Outra é o registro por vários estudos que pessoas com a doença de Parkinson tem um nível de pesticidas organoclorados maior no cérebro que a população geral. A terceira é o desenvolvimento de sintomas de Parkinson por jovens adictos que consumiram MPTP, substância similar ao herbicida paraquat.

Segundo o diretor do NIEHLS, Kenneth Olden, apenas cerca de 10% dos casos de doença de Parkinson são familiares, isto é, causado por genes. Os casos remanescentes resultam de fatores desconhecidos, como ambientais ou a interação entre suscetibilidade

genética e ambiente. A doença aparentemente surge da interação entre três eventos: suscetibilidade genética do paciente, sua subsequente exposição a fatores ambientais e sua idade.

Anthony L. Fink, professor da Universidade da Califórnia apresentou evidências de que concentrações micromolares de vários pesticidas e alguns metais aceleram a formação dos corpúsculos de Lewis “in vitro”, sendo rotenona, dieldrin , DDT e paraquat os mais efetivos. Sobre os metais, alumínio (III), cobre (II), ferro (III), cobalto (III) e manganês (II), foram os mais efetivos e a mistura de metais e pesticidas têm um efeito sinergista.

J. Timothy Greenamyre, professor do Departamento de Neurologia e Farmacologia da Universidade de Emory, acredita que a rotenona causa sintomas da doença de Parkinson por stress oxidativo que gera a degeneração de células nervosas as quais produzem dopamina na substância negra.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local dos Experimentos

Os experimentos foram realizados no Polo Regional do Desenvolvimento Tecnológicos dos Agronegócios do Vale do Paraíba, sediado no município de Pindamonhangaba, Região do Vale do Paraíba.

O Vale do Paraíba situa-se na região sudeste do Estado de São Paulo, entre os meridianos 315W e 210E e os paralelos 20 30N e 23 30S, formado pelos territórios de 39 municípios, perfazendo área de 1.626.800 ha, representando 6,57% do total da área do estado. O clima caracteriza-se predominantemente como mesotérmico, com o verão quente e chuvoso, possuindo inverno seco ameno, com geadas esporádicas. A pluviosidade anual média se situa entre os extremos 1.205 e 2.223 mm. A topografia se caracteriza na sua maioria, em terras demasiadamente acidentadas com declives acima de 40% da região, sendo de difícil aproveitamento para atividades agrícolas, especialmente as mecanizadas. Predominam, na região as pastagens que ocupam área de 624.692 ha, representativo de 92% da ocupação do solo da região, e consequentemente a pecuária é responsável por 2,6% do total de produção de carne bovina estadual e 35,10% do valor da produção agropecuária regional. A atividade leiteira alcança 33,51% da produção agropecuária da região. (RELATÓRIO DIRA/CATI 1982).

A região foi perdendo posição durante a década de 1980 e início da década de 90. Porém nos últimos anos essa tendência não está mais tão evidente. A possível explicação para essa retomada de crescimento deve-se ao processo de modernização e melhoria da qualidade do leite. A suposição é a de que os laticínios e cooperativas da região puderam pagar aos pecuaristas, nos últimos anos, com bonificação, uma maior quantidade de leite produzido, em comparação com outras regiões do Estado de São Paulo. A maior parte da produção de leite no estado era realizada por pequenos produtores operando com baixa produtividade e perdendo participação na oferta global do produto. Os produtores com produtividade média e alta, embora em menor número, estão ampliando sua participação e buscando novos nichos de mercado com produtos de melhor qualidade a preços mais competitivos.

3.2. Origem e Identificação do Timbó.

As plantas de Timbó foram coletadas no município de Taubaté, Bairro do Barreiro, Região da Serra Quebra-Cangalha, Vale do Paraíba, São Paulo (coordenadas em UTM 23K E0467144 e N7447505, segundo dados de GPS – Sistema de posicionamento via satélite). A região da coleta é formada por mata secundária onde há além de plantas nativas, em determinados pontos o cultivo de Eucalipto, não em escala industrial, mas com árvores dispersas e de grande porte, que contribuem para formação de área sombreada e com densa vegetação. O solo é avermelhado, coberto por camada de matéria orgânica em decomposição.

As plantas coletadas (figura 1), identificadas pela Professora Doutora Simone de Pádua Teixeira do Departamento Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Campus de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, eram arbustos de 1,5 a 3,0 metros de altura, dispersas amplamente em reboleiras, principalmente em encostas e contraface de barrancos. Possuíam inflorescência com vários tons de vermelho, que se destacavam com facilidade quando manipuladas e com escassez de folhas na época da florada.

As exsiccatas foram depositadas no Herbário do Instituto de Botânica de São Paulo.



Figura 01. Exemplar de *Dahlstedtia pentaphylla* (Leguminosae, Millettiedae) com inflorescência vermelha.

3.3. Preparação do Produto Testado

3.3.1. Obtenção do pó das raízes do timbó

As raízes do Timbó, após lavagem foram cortadas em lascas (figura 02) e colocadas em estufa de circulação forçada, marca Fanem, modelo 320/1, com temperaturas de $50^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, sendo as amostras pesadas diariamente até a estabilização do peso. Após secagem as raízes desidratadas foram trituradas em moinho, marca Piratininga, modelo 04 400 331, série 1976, coadas em peneiras com nove aberturas circulares de 2 mm por cm^2 , para obtenção do pó. O pó obtido era acondicionado em sacos plásticos preto e armazenado em local arejado e protegido de raios de sol direto. Uma parte do pó foi utilizada para os testes e outra estocada.

3.3.2 Obtenção dos extratos das raízes de *D. pentaphylla*

Para obtenção dos extratos foram utilizados Etanol absoluto p.a. marca Merck, fabricação 21/12/1998, validade 31/12/2003, Acetona p.a. fabricação 02/06/1998, validade 30/06/2003 e água da torneira na proporção de três partes para uma do pó das raízes do timbó (três litros do solvente para um quilograma do pó das raízes de *D. pentaphylla*). As soluções eram mantidas por período de 24h, coadas em tamis com abertura 80 e estocadas em frascos de vidro âmbar com capacidade de um litro. Estas soluções foram consideradas como padrão (100%). A partir delas foram obtidas as demais diluições para os testes laboratoriais e campo.



Figura 02. Raízes de *Dahlstedtia pentaphylla* preparadas para desidratação

3.3.3. Caracterização da rotenona

Para a caracterização da rotenona nas amostras de raízes coletadas lançou-se mão da reação de Durham, descrita em CORBERT (1940), que consiste na adição de gotas de Ácido Nítrico concentrado sobre o pó das raízes em cápsula de porcelana. A presença de rotenona foi caracterizada pela coloração vermelha adquirida pelo pó amarelado.

3.4. Testes Laboratoriais

3.4.1. Testes sobre teleóginas

Para a realização dos testes, as teleóginas foram coletadas nos bovinos no campo, lavadas em água da torneira, secas em papel toalha e mantidas a temperatura ambiente por 24h. Após este período foram selecionadas para eliminação das mortas ou com qualquer dano físico visando a homogeneidade da amostra. Aquelas selecionadas foram pesadas, arranjadas em grupos de dez e transferidas para copos plásticos descartáveis, capacidade 50ml.

Para o cálculo da Concentração Eficaz (CE₅₀ e CE₉₀) sobre as teleóginas, foram utilizadas sete diluições etanólicas (1: 5, 1: 10, 1: 20, 1: 50, 1: 80, 1:100 e 1: 200) obtidas a partir da solução padrão: três litros de etanol para um quilograma do pó das raízes de *D. pentaphylla*. Cada grupo experimental (diluição) foi constituído de cinco repetições contendo cada uma dez teleóginas. Posteriormente as teleóginas foram imersas nas diluições por dez minutos, sendo o grupo controle imerso em água + etanol, solvente tomado como padrão para cálculo da Concentração Eficaz (CE₅₀ e CE₉₀).

Para avaliar a eficiência dos extratos de *D. pentaphylla* obtidos com diferentes solventes (álcool, acetona e água) utilizou-se a diluição 1:10, em cinco repetições, a partir da solução padrão (1 parte da solução padrão, obtida com os respectivos solventes para nove partes de água).

Em todos os testes, dez minutos após a imersão, as teleóginas foram recuperadas em coadores plásticos comuns, secas em papel toalha, colocadas em placas de Petri plásticas descartáveis medindo 9cm de diâmetro devidamente identificadas e mantidas em estufa BOD, marca Fanen (modelo 347 CDG), a 27° C de temperatura, umidade relativa do ar acima de 85% e com fotofase de 12 horas por duas semanas. Após este período as posturas de cada placa foram pesadas (balança eletrônica BG 4000, marca Gehara) e transferidas para tubos de ensaio (15 cm altura por 15mm de diâmetro) fechados por algodão umedecido em água, na

porção externa, para assim manter a unidade relativa necessária para o desenvolvimento embrionário. Os tubos devidamente identificados retornaram à estufa BOD, nas mesmas condições de umidade e temperatura anteriores até eclosão das larvas.

A eclodibilidade foi avaliada por estimativa de porcentagem em relação aos ovos que não eclodiram. Com os dados obtidos: peso das teleóginas, peso dos ovos e porcentagem de eclosão calculou-se a eficiência das diluições de extratos etanólicos de raízes de Timbó e dos extratos obtidos com os três solventes na dose 1:10 de acordo com a técnica de imersão de teleóginas, segundo DRUMMOND et al.(1973):

- Eficiência Reprodutiva (ER):

$$ER = \frac{\text{Peso dos ovos} \times \% \text{ de eclosão} \times 20.000}{\text{Peso das teleóginas}}$$

- Eficiência do produto (EP):

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

A partir da eficiência dos extratos etanólicos dos extratos de raízes de timbó de cada réplica calculou-se a Concentração Eficaz 50% (CE50) e Concentração Eficaz (CE90) pela análise de Probites (FINNEY, 1971).

Para averiguar a mortalidade das teleóginas frente aos diferentes solventes avaliou-se diariamente, por duas semanas, os movimentos peristálticos e de patas das teleóginas ao serem estimuladas por fonte luminosa (lâmpada halogênea 6V – 25W, marca Narva).

3.4.2. Testes sobre larvas

Para execução dos testes laboratoriais sobre larvas foi utilizada a técnica , segundo SHAW (1966), com pequenas modificações de acordo com LEITE (1988). Estas adequações foram aplicadas ao se realizar a avaliação dos testes com as sete diluições (1:20, 1:40, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 e 1:1600) em cinco repetições do extrato etanólico de raízes do timbó aplicado às larvas de *B. microplus* não alimentadas. As larvas vivas foram sugadas por bomba a vácuo durante a contagem, facilitando o processo ao restar nos envelopes abertos somente as mortas para serem contadas. Os demais procedimentos foram semelhantes a técnica original, descrita a seguir:

Larvas com 14 a 21 dias de idade, incubadas em laboratório após colheita de teleóginas dos bovinos no campo, foram removidas dos tubos com auxílio de um pincel. O número de larvas usadas por repetições foi de 300 a 500, distribuídas em placas de Petri com 14 cm de diâmetro, contendo disco de papel filtro Whatman n.º 1 , Com 11 cm de diâmetro e depositadas em placa de Petri com 14 cm de diâmetro. De cada diluição foi retirado uma alíquota de 10 ml com auxílio de uma pipeta e distribuída da seguinte forma:

- 3 ml debaixo do papel de filtro onde se encontravam as larvas;
- 4 ml diretamente sobre as larvas;
- 3 ml restantes sobre um segundo papel de filtro, idêntico ao primeiro, colocado sobre as larvas.

Após o período de imersão de dez minutos o “emparedado” foi retirado com uma pinça e colocado sobre uma camada dupla de papel filtro Whatman n.º 1 de 24 cm de diâmetro, aberto e movimentado para retirar o excesso de umidade. Com o auxílio de um outro pincel retirou-se aproximadamente 100 a 150 larvas da superfície de ambos os papéis de filtro e colocou-se em papel de filtro Whatman n.º 1 de 15 cm de diâmetro previamente dobrado em quatro e identificado. O envelope obtido com o papel de filtro dobrado foi selado utilizando-se dois cliques para papel n.º 0. Os envelopes foram colocados em estufa BOD a temperatura de 27°C e acima de 85% de umidade relativa do ar por período de 24 horas, fotofase de 12 horas. Após este período foi realizada a avaliação pela contagem das larvas vivas e mortas, sendo o resultado expresso em porcentagem de mortalidade em relação ao número de larvas vivas de cada réplica. Foram consideradas as larvas como vivas aquelas que conseguiam se mover de forma normal. Larvas prostradas com movimento de pernas foram consideradas como mortas.

3.5. Testes no Campo com Extratos das Raízes de *D. pentaphylla*

3.5.1. Animais utilizados e grupos experimentais

Trinta novilhas das raças holandesa e mestiças holandesas/mantiqueira, identificadas individualmente, com idade variando entre 1,0 e 1,5 ano, foram distribuídas em três grupos de 10 bovinos, após contagem de teleóginas com tamanho entre 4,5 mm e 8,0 mm nos dias -2, -1 e zero. De acordo com a média geométrica das três contagens, as novilhas foram ordenadas por ordem decrescente de infestação e divididas em três grupos de dez animais. Os animais com as maiores contagens foram distribuídos ao acaso nos três tratamentos em zigue-zague, garantindo com este procedimento a maior homogeneidade de carga parasitária possível nos grupos. Os grupos receberam o tratamento de acordo com a tabela 01, com pulverizador costal, capacidade 20 litros e foram mantidos em piquetes separados, formados principalmente por *Brachiaria decumbens* durante os três primeiros dias após o tratamento. Após este período foram mantidos no mesmo pasto até o final do período experimental.

Tabela 01- Grupos experimentais para a avaliação “in vivo” de duas concentrações de extrato de raízes de *Dahlstedtia pentaphylla* sobre *Boophilus. microplus*

GRUPO	NÚMERO DE BOVINOS	TRATAMENTO (Pulverização - 4 litros/animal)
I (Controle)	10	etanol + água (1:10)
II	10	Timbó 1:20
III	10	Timbó 1:10

3.5.2. Infestação artificial

As teleóginas utilizadas para obtenção das larvas foram obtidas de bovinos naturalmente infestados com a cepa local. Após a postura as larvas de *B. microplus* foram obtidas artificialmente em laboratório em estufa BOD a temperatura de 27°C, umidade relativa do ar acima de 85% e fotoperíodo de 12 horas em tubos ependorfe contendo 200mg de ovos. Larvas com idade de 7 a 21 dias foram utilizadas para infestação artificial dos

bovinos, que foram previamente banhados com Cypermethrin higt cis 10 ppm de principio ativo, com a finalidade de eliminar os carrapatos existentes. A escolha do carrapaticida que seria utilizado para eliminar os carrapatos pré-existentes se basearam no poder residual baixo (três dias), segundo GUARAGNA et al. 1998.

Os 3 grupos foram infestados artificialmente nas três semanas anteriores à aplicação (-21, -14, -7 dias), no dia do tratamento (0) e nas duas semanas após o tratamento (+7 e +14), com cerca de 4000 larvas de *B. microplus* por animal, correspondendo a 200mg de ovos incubados. As infestações foram feitas amarrando-se o ependorfe contendo as larvas infestantes em uma fita de 1,10 m de comprimento e prendendo-as ao redor do pescoço dos animais. O calor do corpo dos animais promovia a saída das larvas infestantes. Cada animal permanecia com a fita amarrada no pescoço por período mínimo de 30 minutos, ou até que toda as larvas migrassem do ependorfe para o corpo do animal (CORREA et al., 1993).

3.5.3. Contagens de fêmeas de *B. microplus*

A eliminação de *B. microplus* e o efeito de cada dose utilizada foram avaliados pela contagem de todas as teleóginas entre 4,5mm e 8,0mm de comprimento, presentes no lado esquerdo de cada bovino (WHARTHON et al,1970), conforme o cronograma de eventos apresentado na tabela 02. As contagens foram realizadas pela mesma pessoa no mesmo horário, 7:00 horas da manhã, procurando minimizar o efeito da queda natural da teleógina nas avaliações, que possui “peak” nas primeiras horas da manhã, segundo WHARTON & UTECH (1970).

Tabela 02 - Cronograma de eventos para a avaliação “in vivo” do extrato etanólico de raízes de *Dahlstedtia pentaphylla* sobre *Boophilus microplus*. Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/maio2003.

EVENTOS	DIAS											
	-21	-14	-7	-2	-1	0	+1	+3	+7	+14	+21	
	22.03	29.03	05.04	10.04	11.04	12.04	13.04	15.04	19.04	26.04	03.05	
Infestação artificial	+	+	+	+		+			+	+		
Formação tratamento dos grupos						+						
Contagem de fêmeas				+	+	+	+	+	+	+	+	

3.5.4. Cálculo da eficiência do tratamento

A eficiência dos tratamentos foi avaliada segundo o método proposto por ROULSTON et al. (1968), utilizando-se a seguinte equação:

$$\text{Porcentagem de Eficácia} = 100 - \frac{(T_a \times C_b)}{(T_b \times C_a)} \times 100$$

Ta= número médio de teleóginas recuperadas dos animais tratados, após o tratamento;
Tb= número médio de teleóginas recuperadas dos animais tratados no dia zero;
Ca= número médio de teleóginas recuperadas dos animais controle no período após o tratamento;
Cb= número médio de teleóginas recuperadas dos animais controle no dia zero.

3.5.5. Performance reprodutiva das teleóginas de *Boophilus microplus* frente ao tratamento dos bovinos no campo com extratos das raízes de *D. pentaphylla*.

3.5.5.1 Porcentagem de redução de postura

Nos dias que se realizaram as contagens, foram coletadas 50 teleóginas, por tratamento para avaliação “*in vitro*” da performance reprodutiva de *B. microplus* que foram submetidas aos tratamentos e calculada a porcentagem de redução de postura, de acordo com a fórmula de ABBOTT (1925)

$$\text{Porcentagem de redução da oviposição total} = \frac{\text{Peso médio da massa de ovos do grupo controle} - \text{Peso médio da massa de ovos do grupo tratado}}{\text{Peso médio da massa de ovos do grupo controle}} \times 100$$

3.5.5.1 Porcentagem de redução de eclosão de larvas

Estes percentuais foram calculados, para os dias (+1,+7,+14 e +21) considerando a massa de ovos eclodidos em relação aos ovos não eclodidos de teleóginas coletadas de todos os grupos experimentais, segundo ABBOTT (1925).

$$\text{Porcentagem de redução da eclodibilidade} = \frac{\text{Média de Eclodibilidade do grupo controle} - \text{Média de Eclodibilidade do grupo tratado}}{\text{Média de eclodibilidade do grupo controle}} \times 100$$

3.6 Análise Estatística dos Dados

Dados obtidos de contagens de ectoparasitos não seguem distribuição normal, sendo extremamente variáveis. Dessa forma foram efetuadas transformações logarítmicas, log (X), para a análise estatística dos dados. Nos testes “*in vitro*” analisou-se o desempenho entre os produtos extraído nos diferentes solventes (acetona, álcool e água) e nos testes de campo, a variância entre as médias de contagens das teleóginas entre os tratamentos (controle, diluição 1: 20 e diluição 1: 10) e entre os dias do tratamento e após o tratamento (0, +1, +3, +7, +14 e +21). Segundo SAMPAIO (2002) após a escolha de um teste na comparação de médias

existem dois tipos de erros reconhecidos pela teoria estatística: o erro tipo I (atribuir uma significância quando ela realmente não existir) e o erro tipo II (atribuir uma equivalência quando realmente houver uma diferença significativa). A par destas considerações e devido ao número de médias comparadas optou-se por utilizar o teste de Tukey, que controla o aparecimento do erro tipo II, admitindo-se erro probabilístico de 1% e 5%, para comparação das médias. Para análise do percentual de eclosão de larvas, feita por observações subjetivas, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal Wallis ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Ação do Extrato das Raízes de *D. pentaphylla* sobre *B. microplus*. Testes Laboratoriais

4.1.1. Cálculo da CE₅₀ e CE₉₀ sobre Teleóginas

Os dados obtidos por meio do teste de imersão de teleóginas (DRUMOND et al., 1973) relativos a cepa regional encontram-se na Tabela 03 e os referentes a cepa sensível Mozo, na Tabela 04 . De acordo com estes dados a Concentração Eficaz CE₅₀ e a CE₉₀ para a cepa local foram 1: 34,94mL e 1:10,19 mL, respectivamente, e os valores para a cepa Mozo, 1: 60,46 mL e 1: 23,91 mL para as CE₅₀ e CE₉₀.

A cepa Mozo é procedente do Centro de Investigações Veterinárias “Miguel C. Rubino, do Uruguai. Desde maio de 1973 esta cepa vem sendo mantida isolada sem ter contato com os demais carrapaticidas que surgiram posteriormente aos clorados e organofosforados com os quais teve contato e mantém um certo grau de sensibilidade. Dessa forma a cepa Mozo é usada como parâmetro de comparação entre amostras de *B. microplus* de diferentes procedências por não sofrer pressão carrapaticida, ao ser mantida isolada em bovinos confinados que não recebem tratamentos ixodicidas.

Observando as tabela 04 e 05 notamos que os extratos etanólicos das raízes de *D. pentaphylla* apresentaram atividade carrapaticida, porém nem mesmo na dosagem mais alta (1: 5ml) o produto obteve eficiência total em todas as repetições nas duas cepas testadas. Podemos também notar que a cepa Mozo mostrou-se mais sensível aos extratos das raízes de *D. pentaphylla* que a cepa local, no entanto esta observação deve ser vista com cautela porque os testes sobre as duas cepas não puderam ser realizados de forma simultânea, não garantindo, portanto as mesmas condições de temperatura e umidade locais, já que os mesmos são realizados em condições de ambiente. A Concentração Eficaz (CE₅₀ e a CE₉₀) sobre a cepa Mozo permitirá comparação com a ação carrapaticida de outros extratos de plantas.

Experimentos realizados por COSTA JÚNIOR et al. (2002) utilizando rotenóides extraídos de *Derris urucu* (Leguminosae), descreveram eficiência de 8,7% a 100% em concentrações de 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; e 10,0mg/mL. Pela literatura consultada não foram encontradas outras referências do uso de rotenóides para controle do *B. microplus*, apenas citações de CORBETT (1940) do emprego da rotenona como carrapaticida e bernicida com sucesso, sob a forma de pó de raízes em solução de água e sabão e também MAKLOUF (1986) sobre o desenvolvimento de trabalhos, deste caráter, na Universidade de São Paulo.

Tabela 03. Atividade do extrato etanólico de *Dahlstedtia pentaphylla* sobre teleóginas de *Boophilus microplus* da Cepa Local. Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil.

Diluição (mL)	Peso Teleógina (g)	Peso Ovos (g)	Eclosão (%)	Eficiência Produto (%)	Média de Eficiência (%)
Timbó 1:5	1,89	0,08	40	96,86	98,68
	1,74	0,00	0	100,00	
	2,05	0,14	5	99,37	
	1,67	0,00	0	100,00	
	1,85	0,07	40	97,19	
Timbó 1:10	1,82	0,16	100	83,69	79,73
	1,77	0,32	70	76,52	
	1,91	0,52	50	74,74	
	1,93	0,00	0	100,00	
	1,84	0,72	50	63,70	
Timbó 1:20	1,68	0,70	95	26,55	49,27
	1,98	0,56	70	63,26	
	2,06	0,42	60	77,30	
	1,69	0,61	80	46,42	
	1,79	0,72	90	32,83	
Timbó 1:50	1,78	0,60	90	43,71	40,59
	1,72	0,71	70	46,38	
	1,95	0,59	90	49,47	
	1,82	0,64	90	41,27	
	1,78	0,83	90	22,13	
Timbó 1:80	1,79	0,98	95	3,49	13,49
	1,82	0,84	95	18,64	
	1,98	0,91	100	14,72	
	1,73	0,89	90	14,09	
	1,76	0,88	90	16,50	
Timbó 1:100	1,82	1,00	100	-1,95	26,35
	1,68	0,91	95	4,52	
	1,61	0,59	75	49,00	
	1,88	0,64	80	49,47	
	1,76	0,73	90	30,73	
Timbó1:200	1,63	0,75	85	27,43	26,71
	1,95	0,74	90	36,63	
	1,87	0,81	90	27,66	
	1,99	0,86	75	39,86	
	1,76	0,93	100	9,26	
Controle	1,78	0,87	100	1,95	7,12
	1,67	0,90	100	0	
	1,61	0,79	85	2,26	
	1,59	0,75	95	16,86	
	1,78	0,82	100	14,51	

Tabela 04. Atividade do extrato etanólico de *Dahlstedtia pentaphylla* sobre teleóginas de *Boophilus microplus* da Cepa Mozo. Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil.

Diluição (mL)	Peso Teleógina (g)	Peso Ovos (g)	Eclosão (%)	Eficiência Produto (%)	Média de Eficiência (%)
Timbó 1:5	2,52	0,03	0	100,00	99,32
	2,65	0,11	0	100,00	
	2,73	0,42	10	96,59	
	2,67	0,01	0	100,00	
	2,63	0	0	100,00	
Timbó 1:10	2,31	0,21	10	97,99	99,60
	2,45	0,31	0	100,00	
	2,49	0,07	0	100,00	
	2,64	0	0	100,00	
	2,54	0	0	100,00	
Timbó 1:20	2,59	0,5	0	100,00	91,32
	2,37	0,29	30	91,87	
	2,56	0,63	20	89,10	
	2,58	0,71	40	75,63	
	2,58	0,09	0	100,00	
Timbó 1:50	2,55	0,5	30	86,98	78,34
	2,51	0,49	60	74,07	
	2,51	0,83	30	78,04	
	2,48	0,7	40	75,01	
	2,73	0,92	30	77,62	
Timbó 1:80	2,42	0,93	60	48,96	53,66
	2,61	0,73	90	44,27	
	2,63	0,89	80	40,07	
	2,54	0,9	50	60,78	
	2,78	0,81	40	74,20	
Timbó 1:100	2,65	1,19	80	20,47	18,46
	2,45	1,12	75	24,10	
	2,49	1,32	90	-5,62	
	2,61	0,83	90	36,64	
	2,44	1,02	90	16,71	
Timbó 1:200	2,6	1,11	90	14,94	18,82
	2,43	1,19	95	-2,99	
	2,51	1,23	80	13,21	
	2,47	1,31	80	6,07	
	2,61	0,73	60	62,85	
Controle	2,49	1,22	95	-3,04	5,11
	2,61	1,31	90	0,00	
	2,59	1,15	90	11,54	
	2,47	1,08	95	8,04	
	2,65	1,21	90	9,03	

4.2.2. Avaliação da mortalidade de teleóginas de *B. microplus* após exposição ao produto extraído das raízes de *D. pentaphylla* com diferentes solventes.

Por meio de observação diária por período de 14 dias após tratamento foi verificada a mortalidade das teleóginas frente ao pó de raízes de *D. pentaphilla* extraído em acetona, etanol e água na diluição 1: 10ml (Tabela 05). Em todas as extrações a mortalidade das teleóginas se manifestou a partir do segundo dia após o tratamento. No grupo acetona após o quarto dia não mais se registrou mortalidade de teleóginas. No grupo álcool a mortalidade foi concentrada no segundo dia, não havendo alteração após este data. O grupo água apresentou maior instabilidade. Em determinadas situações a mortalidade se estendeu até o sexto dia após tratamento, em outras foi imediata. Nas extrações em acetona observou-se 72,0% de mortalidade com pico no segundo dia após o tratamento. A mortalidade no grupo álcool concentrou-se totalmente no segundo dia, quando atingiu 68,0%. Todas as extrações diferiram estatisticamente do grupo controle e não diferiram entre si ($p < 0.01$). Se considerarmos o nível de significância 5% ($p < 0.05$), os grupos acetona e álcool continuam equiparados, mas apresentaram desempenho superior ao grupo água, que se manteve diferenciado do controle. Considerações idênticas podem ser feitas quanto a eficiência dos extratos obtidos com os solventes sobre as teleóginas calculadas pelo Teste de imersão de DRUMMOND (1973) ao se analisar as médias estatisticamente (tabela 06).

A performance da acetona como solvente da rotenona foi inesperada, bem como a da água. Segundo CORBETT (1940) a acetona é um bom solvente da rotenona, com grau de solubilidade em torno de 7%; maior que o álcool, 0,2%; e a água, cuja a “solubilidade”, está em torno de 1: 1.000.000. Esperava-se desempenho melhor da acetona e inexpressivo com água, o que não ocorreu.

Estes resultados também evidenciaram as observações de CORBETT (1940), MORS (1973) e CHACON (1973) sobre a propriedade tóxica dos timbós não ser exclusiva da rotenona, mas de outros ativos como a dequelina, a tefronina e toxicaricol, o que explicaria o desempenho dos extratos com acetona, álcool e água destoarem dos dados fornecidos por CORBETT (1940) que considerou apenas a rotenona como ativo.

A mortalidade das teleóginas expostas a extratos de plantas com propriedades carrapaticidas varia de acordo com a espécie de planta, solventes utilizados para a extração e concentração do extrato (CHUNGSAMARNYARTetal.,1991; CHUNGSAMARNYART & JANSAWAN,1991; WILLIANS, 1991; JANSAWAN et al.,1993; CHUNGSAMARNYART et al., 1994; SIVARAMAKRISHNAN et al.,1996; CHUNGSAMARNYART & JANSAWAN, 2001; BENAVIDES et al., 2001 e BORGES et al., 2003). Estes autores descreveram mortalidade de teleóginas em períodos de 24 a 192 horas após exposição a diferentes extratos de plantas, extraídos em diferentes solventes e em diferentes concentrações, o que impossibilita qualquer comparação com os dados obtidos neste ensaio.

Tabela 05- Mortalidade de teleóginas de *Boophilus microplus* expostas aos extratos de raízes de *Dahlstedtia pentaphylla* em acetona, álcool e água, na diluição 1:10 mL. Teste de Tukey. Dados transformados Log (X +1). Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil.

Solvente	Dias Após Tratamento														Mortalidade		Contraste	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Total	(%)	5%	1%
Acetona	0	7	7	8											36	72	a	A
	0	4	4	6														
	0	8																
	0	7	7	8														
	0	6																
Álcool	0	5													34	68	a	A
	0	6																
	0	8																
	0	7																
	0	8																
Água	0	0	1												23	46	b	A
	0	1	7	7	8	9												
	0	5	7	7	8													
	0	2	2	3														
	0	1	2															
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	c	B
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				

*Nas colunas letras distintas indicam porcentagens diferentes estatisticamente ao nível indicado

Tabela 06. Eficiência dos extratos de raízes de *Dahlstedtia pentaphylla* obtidos com diferentes solventes na diluição 1: 10 mL, sobre teleóginas de *Boophylus microplus* (Teste de Tukey). Dados transformados Log (X + 1). Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil.

Solventes	Peso da teleógina	Peso dos ovos	% de Eclosão	Eficiência Produto (%)	Média EP (%)	Contrastes*	
						5%	1%
Acetona	2,52	0,06	100	93,71	89,93	a	A
	2,46	0,15	80	87,12			
	2,58	0,05	100	94,88			
	2,59	0,12	85	89,60			
	2,43	0,18	80	84,35			
Álcool	2,56	0,3	100	69,05	88,57	a	A
	2,5	0,2	85	82,04			
	2,56	0,08	100	91,75			
	2,49	0,1	0	100,00			
	2,61	0,12	0	100,00			
Água	2,54	0,96	85	15,15	52,10	b	A
	2,36	0,3	100	66,43			
	2,39	0,26	80	77,02			
	2,51	0,31	100	67,38			
	2,48	0,82	75	34,51			
Controle	2,41	0,98	85	8,71	9,29	c	B
	2,53	0,92	100	3,96			
	2,59	0,85	100	13,32			
	2,46	0,89	95	9,23			
	2,57	0,96	90	11,21			

* Nas colunas letras distintas indicam médias diferentes estatisticamente ao nível indicado

4.2.3. Cálculo da CL₅₀ e CL₉₀ sobre larvas de *B. microplus* não alimentadas

Os cálculos da mortalidade das larvas para determinar a Concentração letal 50% (CL₅₀) e Concentração letal 90% (CL₉₀) da cepa local estão representados na tabela 07. A falta de larvas impossibilitou a realização dos testes laboratoriais para determinação da CL₅₀ e CL₉₀ da cepa sensível Mozo.

De acordo com estes resultados a CL₅₀ para a cepa regional foi de 1: 231,37mL e a CL₉₀ 1: 85,24 mL. Pela literatura consultada não há registros do cálculo das Concentrações letais 50% e 90% para larvas de *B. microplus* submetidos a tratamento com rotenóides. Com relação a mortalidade das larvas optou-se por considerar o período de 24h após o tratamento para leitura, porque é o tempo utilizado nos testes de papel impregnado (STONE HAYDOCK, 1962) e imersão de larvas nos carrapaticidas entre disco de papel de filtro (SHAW, 1966), já utilizado em outros estudos de *B. microplus* frente a extratos de plantas (CHAGAS et al., 2002) e com a intenção de padronizar os períodos de leituras após testes dessa natureza.

Outros ensaios sobre a atividade de extrato de plantas sobre larvas de *B. microplus* consideraram diversos períodos para observação do efeito larvicida. Estes períodos variaram de 10 minutos a 172 horas após o tratamento (PRATES et al., 1998; ZIMMERMAN et al.,

1984; GONZALES DE LA PARRA et al., 1991; BORGES et al., 2003; CHUNGSAMARNYART & JANSAWAN, 1996), o que não permitiu uma comparação com os dados obtidos.

Pelos Cálculos da CL₉₀ para teleóginas da cepa regional (1:10,19 mL) e a CL₉₀ sobre larvas da mesma cepa (85,24mL) podemos constatar que o extrato etanólico de raízes de *D. pentaphylla* apresentou desempenho similar aos carrapaticidas químicos sintéticos no que tange a sensibilidade dos estágios de vida do carrapato, ou seja o estágio mais jovem se mostrou mais sensível ao produto.

Tabela 07. Mortalidade de larvas não alimentadas de *Boophilus microplus* da Cepa Local submetidas a tratamento com extrato etanólico de raízes de *Dahlstedtia pentaphylla*. Teste de SHAW, (1966). Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil.

Diluição (mL)	Larvas vivas	Larvas mortas	Mortalidade (%)	Média de Mortalidade (%)
1: 20	0	154	100,0	98,32
	8	88	91,6	
	0	126	100,0	
	0	92	100,0	
	0	105	100,0	
1: 40	1	121	99,2	93,92
	3	180	98,4	
	33	135	80,4	
	8	177	92,5	
	2	222	99,1	
1: 100	5	85	94,4	95,38
	8	125	94,0	
	14	177	92,7	
	7	204	96,7	
	1	115	99,1	
1: 200	60	72	54,5	44,35
	175	53	23,24	
	177	64	26,6	
	160	134	45,8	
	74	53	71,6	
1: 400	146	54	27,0	22,68
	154	54	26,0	
	128	41	24,3	
	123	29	17,9	
	108	24	18,2	
1: 800	118	5	4,1	10,72
	56	13	18,8	
	49	13	21,0	
	191	3	1,5	
	178	16	8,2	
1: 1600	74	5	6,3	3,58
	91	6	6,2	
	87	5	5,4	
	131	0	0	
	165	0	0	
Controle	168	1	0,6	0,92
	139	0	0	
	143	0	0	
	98	3	2,8	
	168	2	1,2	

4.3. Ação do Extrato de Raízes *D. pentaphylla* sobre *B. microplus*. Testes sobre Bovinos no Campo

4.3.1. Análise de variância entre médias de contagens de teleóginas de *B. microplus*

4.3.1.1. Análise das médias de contagens de *B. microplus* entre os tratamentos

As tabelas 08, 09 e 10, registram as médias de contagens real e transformada (Log X +1) para cada tratamento. As contagens originais estão expostas na tabela 12. Pela análise dos dados nestas tabelas pode-se discutir o desempenho dos grupos controle e tratados com duas diluições (1:20 e 1:10) dos extratos etanólicos de raízes de *D. pentaphylla* para cada dia de contagem. A variação nas médias pode ser melhor visualizada pela figura 03.

Tabela 08. Contagem de teleóginas de *Boophilus microplus* nos bovinos do **Grupo Controle** e respectivos contrastes. Teste de Tukey. Média Geométrica. Dados Transformados Log (x+1). Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/maio 2003.

Dias de Contagem	Média de Fêmeas		Contrastes*	
	Real	Transformada Log (x+1)	5%	1%
0	293,75	2,47	a	A
+1	253,77	2,41	a	A
+3	279,22	2,45	a	A
+7	292,54	2,47	a	A
+14	269,50	2,43	a	A
+21	250,67	2,40	a	A

* Nas colunas letras distintas indicam médias diferentes estatisticamente ao nível indicado

Tabela 09 Contagem de fêmeas de *Boophilus microplus* nos bovinos do grupo Tratado com Extratos etanólicos de raízes de *Dahlstedtia pentaphylla* na **Diluição 1: 20**, e respectivos contrastes. Teste de Tukey. Média Geométrica. Dados Transformados Log (x+1). Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/abril 2003.

Dias de Contagem	Média de Fêmeas		Contrastes*	
	Real	Transformada Log (x+1)	5%	1%
0	285,76	2,46	a	A
+1	226,10	2,36	a	A
+3	109,48	2,04	b	B
+7	96,55	1,99	b	B
+14	203,32	2,31	b	AB
+21	323,30	2,51	a	A

*Nas colunas letras distintas indicam médias diferentes estatisticamente ao nível indicado

Tabela 10 Contagem de fêmeas de *Boophilus microplus* nos bovinos do grupo Tratado com Extratos etanólicos de raízes de *Dahlstedtia pentaphylla* na **Diluição 1: 10**, e respectivos contrastes. Teste de Tukey. Média Geométrica. Dados Transformados Log (x+1). Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/abril 2003.

Dias de Contagem	Média das Teleóginas		Contrastes*	
	Real	Transformada Log (x+1)	5%	1%
0	289,07	2,46	a	A
+1	227,81	2,36	a	A
+3	65,66	1,82	b	B
+7	91,79	1,97	b	B
+14	153,27	2,19	c	B
+21	236,59	1,39	a	A

*Nas colunas letras distintas indicam médias diferentes estatisticamente ao nível indicado

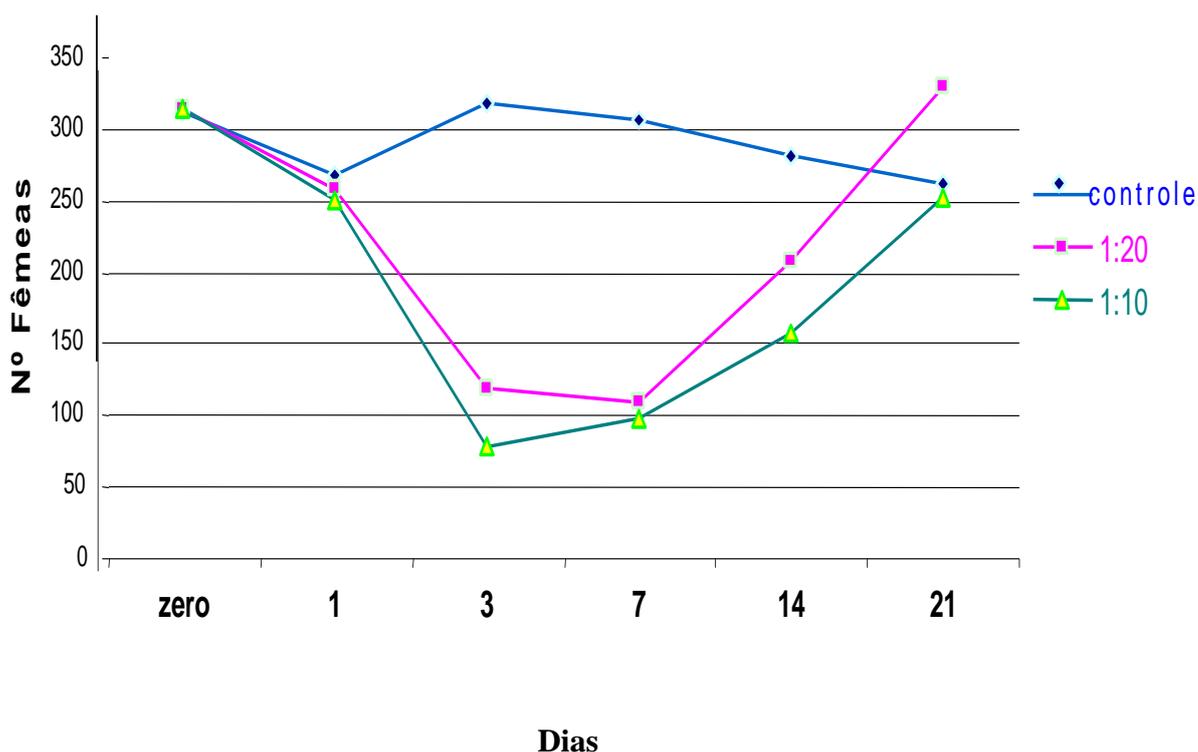


Figura 03 Evolução das médias das contagens de Fêmeas de *Boophilus microplus* (4,5 a 8,0mm) submetidas ao tratamento com extrato etanólico de *Dahlstedtia pentaphylla* e grupo controle sobre bovinos no campo nos dias zero e após tratamento. Média Geométrica. Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/maio 2003.

Tabela 11. Contagem de teleóginas de *Boophilus microplus* nos bovinos submetidos a pulverização com extrato etanólico de raízes de *Dahlstedtia pentaphylla* nos dias do tratamento e após tratamento nos grupos experimentais. Média Geométrica. Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/maio 2003.

Animais	Dias de contagem/ Data					
	zero* 12.04	1 13.04	3 15.04	7 19.04	14 26.04	21 03.05
Controle						
6270	312	392	348	364	297	168
6328	372	312	512	416	375	402
6278	192	152	292	348	371	147
6266	175	216	168	148	231	307
6292	420	356	220	228	405	198
6311	168	140	68	220	198	294
6317	412	332	388	348	177	292
6207	472	232	512	368	303	326
554	301	256	309	273	204	209
562	297	280	356	335	241	277
Média	293,92	253,77	279,22	292,54	269,50	250,67
Timbó 1: 20						
6343	574	324	84	175	181	392
6339	481	532	120	147	203	197
1129	281	130	63	78	129	348
6265	356	378	182	142	234	291
6324	419	259	130	103	243	362
6336	281	318	122	65	169	371
6321	176	122	48	53	201	392
6287	187	153	132	35	207	347
2052	221	230	182	153	234	302
6320	153	125	116	128	272	289
Média	285,67	226,10	109,48	96,55	203,32	323,30
Timbó 1: 10						
6294	504	308	148	61	122	308
6284	390	370	128	87	181	123
6310	308	359	64	56	143	185
6332	410	312	76	117	202	381
6288	405	140	82	85	121	252
6586	286	128	24	153	137	147
1149	231	104	78	63	186	386
1148	197	372	20	102	187	249
6329	307	250	82	141	158	291
6360	101	157	62	103	123	198
Média	289,07	227,81,10	65,66	91,79	153,27	236,59

*Média Geométrica das contagens dos dias -2, -1 e zero

Consultando a tabela 11 podemos notar que as contagens do grupo controle apresentaram padrão normal de seqüência dos contratos durante todo o período de experimentação não apresentando diferença entre os dias de contagem, e mantendo-se sempre com altos índices de parasitismo.

As duas diluições do extrato de raízes *D. pentaphylla* apresentaram um desempenho semelhante ao longo do período de ensaio. Pelas contagens observamos o efeito carrapaticida a partir do dia +3, mantendo certa estabilidade até o dia +7, período no qual observamos as menores contagens do ensaio ($p < 0,001$). No dia +14 o número de carrapatos começou a elevar-se, porém mantendo-se estatisticamente diferenciado do controle. Ambas as diluições no dia +21 já não apresentavam efeito carrapaticida, assemelhando-se assim aos valores das contagens no grupo controle.

4.3.1.2. Análise das médias de contagens de *B. microplus* nos dias do tratamento e após o tratamento

O número médio teleóginas, real e transformado ($\log X + 1$) obtidos nas contagens de teleóginas de *B. microplus* realizadas nos dias do tratamento (0) e após os tratamentos (+1, +3, +7, +14, e +21) encontram-se na tabela 13.

As contagens no primeiro dia após o tratamento (+1) foram menores que as do dia zero. Esta diminuição não pode ser atribuída ao efeito do produto, uma vez que, o grupo controle também apresentou contagem inferior ao dia do tratamento (0). Nos três grupos não houve diferença significativa entre as contagens neste dia, demonstrando um período mais prolongado para início do efeito carrapaticida do extrato etanólico de raízes de *D. pentaphylla*, em ambas as dosagens, quando comparado, em condições de teste no campo, com outros compostos como os piretróides (CHEROUX, 1980), formamidina (BAXTER & BAKER, 1999) e Fipronil (DAVEY et al., 1998).

As contagens começaram a diminuir a partir do dia +3 com diferença significativa ($p < 0,001$) entre os grupos tratados e controle, independente da diluição. A diluição 1: 10 obteve a menor contagem (média de 65,66 fêmeas/lado esquerdo/animal) entre todas as outras realizadas durante o período do teste. A diluição 1: 20, no dia +3, apesar de apresentar contagem superior não diferiu estatisticamente da diluição 1: 10 ($p < 0,001$).

As avaliações dos dias +1 e +3 foram, presuntivamente, realizadas sobre teleóginas com idade de 21 e 23 dias de parasitismo devido a infestação realizada no dia - 21, no início do experimento. De acordo com observações de HITCHCOCK (1955) ocorre queda de 95% das teleóginas que infestam os animais entre os dias 21 a 27 após a infestação. No entanto, segundo WHARTON & UTECH (1970) as teleóginas ao atingirem tamanho entre 4 e 6 mm durante o dia tornam-se ingurgitadas a noite e se desprendem dos bovinos nas primeiras horas da manhã seguinte, o que não nos credencia a afirmar que todas as teleóginas contadas no dia zero sejam as mesmas nos dias +1 e +3 de contagem. Contudo podemos afirmar que o tratamento no dia zero foi feito sobre teleóginas com idade mínima de 21 dias e todos os estágios mais jovens que se encontravam sobre os animais.

Os produtos no dia +7 nas duas diluições continuaram a mostrar influência sobre as contagens, mantendo-as com diferença estatística significativa do controle ($p < 0,001$), e não diferindo entre si ($p < 0,001$). As contagens neste dia (+7) foram feitas sobre carrapatos oriundos da infestação do dia - 14, com idade média de 14 dias de parasitismo, ao serem submetidas ao extrato etanólico de raízes de *D. pentaphylla* (dia 0), possivelmente adultos no ínstar neóginas (GONZALES, 1993) ou metaninfas (GUARAGNA et al., 1998), sobreviventes ao tratamento.

No dia +14 apenas no tratamento 1: 10 observamos diferença ($p < 0.001$) em relação a contagem do grupo controle. A diluição 1: 20 diferiu apenas ao nível de 5%. Entre elas houve vantagem para diluição 1: 10 ($p < 0,05$). Na prática a menor média de contagem para a diluição 1:10 (153,27 fêmeas/lado esquerdo/animal) está muito aquém de qualquer controle aceitável. As contagens efetuadas no dia +14 avaliaram o efeito do produto sobre carrapatos com cerca de sete dias de parasitismo (possivelmente ninfas e metalarvas), evidenciando menor eficiência sobre estes instares, fato também observado por LEITE (1988) e GUARAGNA et al. (1998) com produtos piretróides e amitraz. Os autores consideraram o estágio ninfal como o de maior resistência à ação dessas bases.

No dia +21 as contagens dos três grupos não diferiram entre si, o grupo de animais da diluição 1: 20 apresentou contagem superior a todos os grupos, confirmando a ineficiência do produto nesta data sobre os parasitas. Se considerarmos que esta contagem foi feita apenas sobre larvas da infestação artificial que receberam o tratamento no dia 0, poderíamos chegar a conclusão da ineficiência do produto sobre este estágio. No entanto os testes laboratoriais sobre as larvas evidenciaram o contrário. O estágio larval é cerca de oito vezes mais sensível que o estágio adulto ao produto. Uma explicação plausível para este fato é a de que o extrato tenha atuado sobre as larvas infestadas artificialmente, mas não conferido proteção nenhuma às reinfestações de larvas presentes nas pastagens.

Tabela 12. Contagem média de fêmeas de *Boophilus. microplus* nos dias zero e após o tratamento com extratos etanólicos de *Dahlstedtia pentaphylla* e respectivos contrastes. Teste de Tukey. Média Geométrica. Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/maio 2003.

Dia da contagem	Grupo	Média das Teleóginas		Contrastes*	
		Real	Transformada Log (x+1)	5%	1%
Zero	Controle	293,92	2,47	a	A
	1: 10	289,07	2,46	a	A
	1: 20	285,76	2,46	a	A
1	Controle	253,77	2,41	a	A
	1: 10	227,81	2,36	a	A
	1: 20	226,10	2,36	a	A
3	Controle	279,22	2,45	a	A
	1: 20	109,48	2,04	b	B
	1: 10	65,66	1,82	b	B
7	Controle	292,54	2,47	a	A
	1: 20	96,55	1,99	b	B
	1: 10	91,79	1,97	b	B
14	Controle	269,50	2,43	a	A
	1: 20	203,32	2,31	b	AB
	1: 10	153,27	2,19	c	B
21	1: 20	323,30	2,51	a	A
	Controle	250,67	2,40	ab	A
	1: 10	236,59	2,37	b	A

*Nas colunas letras distintas indicam médias diferentes estatisticamente ao nível indicado

4.3.2. Eficiência dos extratos etanólicos de raízes de *D. pentaphylla* sobre *B. microplus*

Os resultados da porcentagem de eficiência, nos respectivos dias de contagem do ensaio realizado a campo estão expostos na tabela 13. Os valores das médias das contagens, calculados segundo ROUSTON et al. (1968), expressam os valores das contagens nos dias +1, +3, +7, +14 e +21 percentuais em relação ao grupo controle nestes dias e o dia zero, quando os animais dos grupos tratados receberam o tratamento com o produto nas duas diluições testadas.

Tabela 13 Eficiência (%) do extrato etanólico de raízes de *Dalstedtia pentaphylla* sobre *Boophilus microplus* em teste no campo.

Diluição	Dias após o tratamento				
	+1	+3	+7	+14	+21
1: 20	7,70	59,69	66,07	22,42	- 32,36
1: 10	9,44	76,10	68,11	42,19	4,07

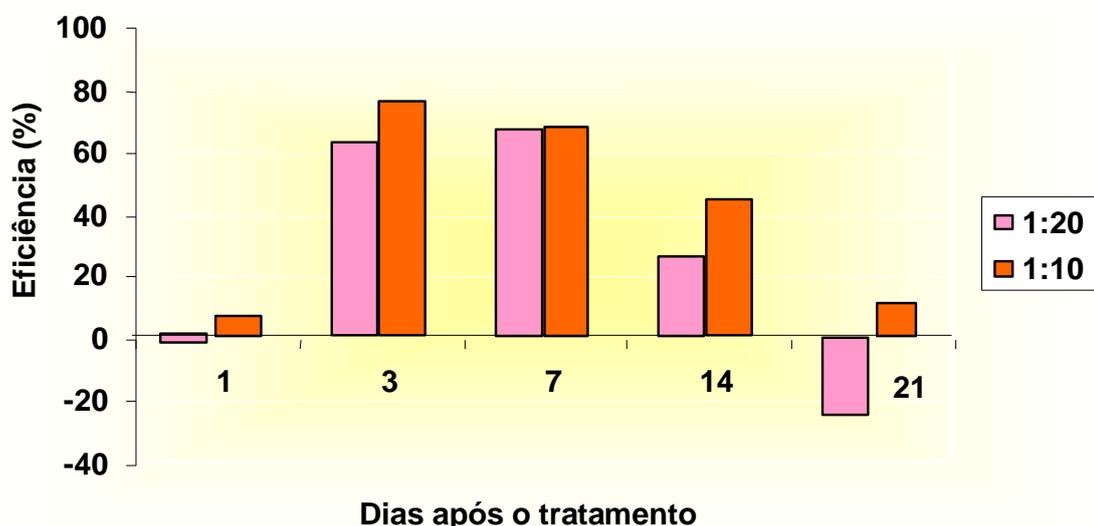


Figura 04. Eficiência (%) do extrato etanólico de raízes de *Dahlstedtia pentaphylla* sobre *Boophilus microplus* em teste no campo. Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/maio 2003

A análise da tabela 13 permite a comparação da eficiência do produto nas duas diluições nos dias após o tratamento. No primeiro dia (+1) após tratamento o efeito do produto foi muito pequeno ou praticamente inexistente. Estudos realizados a campo com a mesma cepa (Cepa do Polo Regional do Vale do Paraíba) por CORREA et al. (1993) também

obtiveram resultados similares para o dia seguinte ao tratamento dos animais com compostos do grupo benzoilfeniluréias e cipermethrin, e LEITE (1988) no Estado do Rio de Janeiro, com produtos piretróides na contagem dois dias após o tratamento.

De acordo com os testes laboratoriais sobre a mortalidade das teleóginas submetidas ao tratamento com extratos de raízes de *D. pentaphylla*, a ausência de efeito do produto no primeiro dia após o tratamento deva-se ao efeito (mortalidade) sobre os carrapatos só se manifestarem a partir do segundo dia de exposição ao produto. Porém, este fato não deve ser afirmado com toda segurança, uma vez que não se tem conhecimento mais aprofundado sobre o efeito nas teleóginas sobre os animais. Vale lembrar que os resultados em laboratório só abordam a mortalidade, por meio da inspeção de movimentos peristálticos e de patas em uma única observação, em intervalos de 24h.

A utilização de extratos de plantas para controle de carrapatos a campo apresenta resultados muito divergentes, sobretudo em relação ao período do início de ação dos produtos. MASKE et al. (1995) avaliaram a eficácia de Pestoban, um inseticida botânico contendo extratos de *Cedrus deodara*, *Azadirachta indica* e *Embelia ribes* em bovinos naturalmente infestados com *B. microplus*, *Rhipicephalus haemaphysaloides*, e *Hyalomma anatolicum* no campo. Na diluição de 1:10 mL o produto apresentou eficácia de 100%, 80% e 70% em 24h, 48h e 72h, respectivamente sobre todos os estágios dos carrapatos. Período mais prolongado foi relatado por SILVARAMAKRISHNAN et al. (1996) sobre a atividade da mistura do óleo de neem (*A. indica*), óleo de *Eucalyptus* e óleo de *Pongamia* na mortalidade de *B. microplus* em bovinos e cabras. A mais alta mortalidade foi observada somente oito dias após a aplicação da mistura óleo de neem + óleo de *Eucalyptus* a 10% de concentração, promovendo resultados de 92,2% em bovinos e 97,6% nas cabras. A mistura de óleo de neem + óleo de *Pongamia* na mesma concentração e período apresentou 69,2% e 78,3% de mortalidade dos carrapatos em bovinos e cabras respectivamente.

O efeito carrapaticida após a aplicação aparentemente não assume grande importância, já que os carrapatos expostos ao produto, com comprovada ação ixodicida, devam ser eliminados dos animais. No entanto, um dos efeitos mais esperados pelo pecuarista é a completa “limpeza” dos animais imediatamente após aplicação do banho, fator que é decisivo para a credibilidade do produtor no controle preconizado pelo produto aplicado, ainda mais se tratando de um produto de origem natural.

No dia +7 o produto praticamente manteve a eficiência do dia +3 para as duas diluições (1:10mL e 1:20mL). A partir do dia +14 o produto foi pouco eficiente nas duas diluições, havendo vantagem para a diluição 1: 10mL. Na contagem do dia +21, já não apresentavam nenhum efeito. Estes resultados apontam maior efeito do produtos sobre adultos, neóginas ou metaninfa (dia +3 e +7 de contagem) do que sobre metalarvas ou ninfas (dia + 14 de contagem).

De modo geral o efeito do extrato etanólico de raízes de *D. pentaphylla* sobre o *B. microplus* atingiu limites aceitáveis para controle do carrapato em período de sete dias após o tratamento independente da dose utilizada.

Também em testes no campo com o composto botânico, AV/ EPP/14, contendo *C. deodara*, *P. glabra*, *A. indica*, *E. globulus* e *Acorus calamus*, KUMAR et al. (2000) avaliaram a sua eficiência sobre *B. microplus*, *Hyalomma anatolicum anatolicum*, *H. marginatum isaaci* e *H. dromedari*. Os animais pulverizados cinco vezes em intervalos de seis dias (0, 6, 12, 18 e 24 dias) eliminaram 65,5%, 87,6%, 96,5%, 99,0%, e 100,0% dos carrapatos, respectivamente, permanecendo livres de infestação por períodos de 30 dias após o último tratamento.

BENEVIDES et al. (2001) compararam a ação do extrato de *A. indica* sobre bovinos no campo, com carrapaticida comercial de base amitraz por dois semestres não encontrando diferença significativa entre o desempenho dos grupos. Os próprios autores reconhecem a

limitação dos testes no campo devido ao número restrito de animais (cinco bovinos por grupo) e a não utilização de grupo de animais não tratados (controle), o que dificulta afirmar que os resultados obtidos devam-se ao efeito dos produtos e não por qualquer outro fator ambiental.

Resultados sobre animais no campo submetidos a tratamento com a manipueira, um subproduto da mandioca (*Manihot esculenta*) associada a óleo de mamona (*Ricinus communis*) em três banhos a intervalos semanais, publicados por PONTE (2002) registraram 100% de eficiência da associação sobre *B. microplus*. Estes resultados, no entanto podem ser questionados, baseados na metodologia utilizada para a avaliação do efeito do produto: contagem de parasitos do úbere e orelha, e principalmente ao limitado número de bovinos dos grupos experimentais: um animal para cada tratamento.

A eficiência do extrato de raízes de *D. pentaphylla* não desabona seu uso, pois mesmo baixa, ainda está acima dos valores obtidos para alguns carrapaticidas químicos sintéticos usados na região (MENDES et al., 2001).

A adoção de esquema de banhos sucessivo para controle dos carrapatos baseados em intervalos máximos de sete dias, em qualquer uma das diluições utilizadas no ensaio no campo, nas épocas do ano mais favoráveis ao *B. microplus*, promoveria o seu controle. Ademais o custo com produtos comerciais seria minimizado se o produtor cultivasse a planta em sua propriedade.

Dos fatores de maior importância, a despeito de custo, está relacionado a retardar o surgimento de resistência ao se fazer uso de um produto de origem vegetal. Segundo BREUER et al. (2003) o desenvolvimento de resistência a um extrato de planta seria dificultado, porque ele não contém um simples princípio ativo, responsável por uma grande pressão de seleção, mas um “cocktail” de vários ingredientes ativos.

4.3.2.1 – Inibição da postura e eclosão de larvas.

O sucesso de um carrapaticida não deve ser considerado apenas pela mortalidade de teleóginas expostas a ele, fatores como a inibição de postura das teleóginas e eclodibilidade de larvas devem ser considerados.

Segundo PEREIRA & LUCAS (1987), uma droga carrapaticida pode agir contra os carrapatos atuando por ação ixodicida direta, atingindo não só as teleóginas, mas os machos, ninfas e larvas, reduzindo a população e impedindo que as formas imaturas possam atingir a maturidade. Por ação ovariostática, ao influenciar na redução da postura das teleóginas sobreviventes da ação da droga e ação anti-embriogênica com diminuição na capacidade de emergência de larvas destes ovos.

Os dados obtidos com relação a inibição de postura e eclodibilidade das larvas oriundas das teleóginas recolhidas dos bovinos nos dias das contagens após o tratamento estão expostos nas tabelas 14, 15, 16 e 17.

No dia +3 as teleóginas se apresentaram muito heterogêneas em relação a peso, não sendo possível realizar os testes. Analisando os dados obtidos da incubação em laboratório das teleóginas colhidas nos demais dias de contagem (+1, +7, +14, +21) verificamos que atividade do extrato de raízes de *D. pentaphylla* como carrapaticida está mais relacionada à ação ixodicida do produto, que se sobressai aos efeitos ovariostático e anti-embriogênico. Situação totalmente adversa a extratos de plantas como *Azadirach indica* (WILLIAMS, 1995 e BENAVIDES et al., 2001), *Piqueria trinervia* (GONZALES DE LA PARRA et al., 1991) e *Melia azedarach* (BORGES et al., 2003) onde a ação do produto é destacada sobre a inibição de postura e eclosão das larvas.

A porcentagem média de redução de postura das teleóginas colhidas no dia +1 provavelmente deva-se a ação do produto aplicado na véspera. Como já discutido, a

mortalidade e conseqüente desprendimento das teleóginas tem início a partir do dia +2, o que pode dar sustentação a esta observação. A partir do dia +7 não se observou mais esta situação, a porcentagem média de redução de postura manteve-se inexpressiva. Para conhecer a significância dessas diferenças optou-se por calcular a Estimativa de Reprodução das teleóginas e submetê-las a análise estatística (tabelas 16 e 17). A análise destes dados confirma os resultados da porcentagem de redução de postura somente no dia +1, quando houve diferença estatística significativa ($p < 0.05$) entre o grupo controle e os tratamentos, os quais não diferem entre si. Vale frisar que a redução da postura nesta situação é discutível, ela se manifesta devido a mortalidade das teleóginas e não em função do efeito ovarioestático do produto (figura 05). Como já comentado o Teste de Imersão de Teleóginas é feito sobre uma réplica de dez teleóginas e todos os cálculos efetuados sobre o grupo.

O produto não apresentou atividade anti-embriogênica. A porcentagem média de eclosão das larvas em determinadas situações foi negativa, ou seja, a eclosão no grupo tratado foi maior que no grupo controle. Estatisticamente não houve diferença significativa entre os grupos tratados e controle em nenhuma ocasião.



Figura 05. Grupo de teleóginas de *Boophilus microplus* submetidas a tratamento “in vitro” com extrato de raízes de *Dahlstedtia pentaphylla*. Destaque para efeito ixodicida e não ovarioestático do produto

Tabela 14. Avaliação da atividade ovarioestática e anti-embriogênica do extrato etanólico de raízes *Dahlstedtia pentaphylla* em teleóginas de *Boophilus microplus* recolhidas de bovinos submetidos a testes a campo nos **dias +1 e +7** após o tratamento. Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/maio 2003.

Dias após Tratamento	Grupos	Peso Teleóginas (g)	Peso Ovos (g)	Média Redução se Postura (%)	Eclosão (%)	Média Redução de Eclosão (%)
+1	Controle	1,97	0,79		90	
		1,84	0,78		80	
		1,89	0,80		80	
		1,86	0,92		100	
		1,91	0,98		100	
	1: 20	1,65	0,49	54,12	80	-2,22
		1,73	0,52		95	
		1,79	0,34		100	
		1,82	0,21		95	
		1,76	0,39		90	
	1: 10	1,78	0,45	64,71	80	0
		1,82	0,31		85	
		1,67	0,08		90	
		1,62	0,25		100	
		1,80	0,39		95	
+7	Controle	2,39	1,06		100	
		2,21	1,11		90	
		2,27	1,01		75	
		2,31	0,97		80	
		2,08	1,06		95	
	1: 20	2,25	0,92	0,07	80	-1,14
		2,26	1,08		90	
		2,18	0,89		95	
		2,15	0,99		85	
		2,09	0,95		95	
	1: 10	2,21	1,02	0,03	90	-2,27
		2,23	1,09		70	
		2,28	0,95		100	
		2,31	0,97		100	
		2,09	1,02		90	

Tabela 15. Avaliação da atividade ovarioestática e anti-embriogênica do extrato etanólico de raízes *Dahlstedtia pentaphylla* em teleóginas de *Boophilus microplus* recolhidas de bovinos submetidos a testes no campo no **dia +14 e +21** após o tratamento. Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/maio 2003

Dias após Tratamento	Grupos	Peso Teleóginas (g)	Peso Ovos (g)	Média Redução de Postura (%)	Eclosão (%)	Média Redução de Eclosão (%)
+14	Controle	2,38	1,16		90	
		2,36	1,08		90	
		2,24	1,09		80	
		2,18	1,06		95	
		2,20	1,02		100	
	1: 20	223	1,10	0	95	0
		2,51	1,31		90	
		2,59	1,23		90	
		2,42	1,12		90	
		2,36	1,08		90	
	1: 10	2,12	0,86	12,5	90	-4,39
		2,32	0,94		90	
		2,18	0,98		95	
		2,34	0,82		100	
		2,35	1,15		100	
+21	Controle	2,23	0,96		90	
		2,21	1,12		90	
		2,08	0,90		90	
		2,02	0,86		95	
		2,10	1,04		100	
	1: 20	2,07	1,04	22,41	85	2,15
		2,01	0,88		80	
		2,09	1,04		90	
		2,08	0,83		100	
		2,16	0,71		100	
	1: 10	2,27	1,06	16,38	80	1,07
		2,31	0,93		90	
		2,18	0,95		90	
		2,34	0,87		95	
		2,06	1,02		95	

Tabela 16. Avaliação do efeito do extrato de raízes *Dahlstedtia pentaphylla* sobre a estimativa de reprodução* (Teste de Duncan 5%) e eclodibilidade dos ovos** (Teste de Kruskal Wallis 5%) de teleóginas de *Boophilus microplus* recolhidas dos bovinos nos dias +1 e +7 após tratamento. Dados Estimativa de Reprodução transformados log (X+1). Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/maio 2003

Dias	Grupos	Eclusão (%)	Estimativa Reprodução	Média Estimativa Reprodução	Média Eclusão	
					Ordenada	Real (%)
+1	Controle	90	721827,41	818552,45 a***	7,8	90 a***
		80	678260,87			
		80	677248,68			
		100	989247,31			
		100	1026178,00			
	1:20	80	475151,52	408846,49 b	8,6	92 a
		95	571098,27			
		100	379888,27			
		95	219230,77			
		90	398863,64			
	1:10	80	404494,38	300118,20 b	7,6	90 a
		85	289560,44			
		90	86227,545			
		100	308641,98			
		95	411666,67			
+7	Controle	100	887029,29	819726,65 a	7,6	88 a
		90	904072,40			
		75	667400,88			
		80	671861,47			
		95	968269,23			
	1:20	80	654222,22	787302,86 a	7,6	89 a
		90	860176,99			
		95	775688,07			
		85	782790,70			
		95	863636,36			
	1:10	90	830769,23	855198,81 a	8,8	90 a
		70	977578,48			
		100	833333,33			
		100	755844,16			
		90	878468,90			

* Estimativa de Reprodução= Peso ovos / Peso teleóginas x 20 000 x % eclusão
(20 000 – valor estimado de larvas eclodidas em um grama de ovo)

** Avaliação visual entre a porcentagem de massa de ovos eclodidos e não eclodidos em intervalos de 5%

*** Médias com as mesmas letras nas colunas, nos respectivos dias, não diferem significativamente segundo o teste estatístico indicado

Tabela 17 - Avaliação do efeito do extrato etanólico de raízes *Dahlstedtia pentaphylla* sobre a estimativa de reprodução* (Teste de Duncan 5%) e eclodibilidade dos ovos** (Teste de Kruskal Wallis 5%) de teleóginas de *Boophilus microplus* recolhidas dos bovinos nos dias +14 e +21 após tratamento. Dados Estimativa de Reprodução transformados log (X). Vale do Paraíba. São Paulo. Brasil. Março/maio 2003

Dias	Grupos	Eclusão (%)	Estimativa Reprodução	Média Estimativa Reprodução	Média Eclusão	
					ordenada	real
+14	Controle	90	877310,92	866147,42 a***	7,8	90 a***
		90	823728,81			
		80	778571,43			
		95	923853,21			
		100	927272,73			
	1:20	95	937219,73	900052,17 a	8,6	92 a
		90	939442,23			
		90	966812,23			
		90	833057,85			
		90	823728,81			
	1:10	90	730188,68	798641,11 a	7,6	90 a
		90	729310,34			
		95	854128,44			
		100	700854,7			
		100	978723,4			
+21	Controle	90	774887,89	853067,66 a	7,6	88 a
		90	912217,19			
		90	778846,15			
		95	808910,89			
		100	990476,19			
	1:20	85	854106,28	781156,38 a	7,6	89 a
		80	700497,51			
		90	895693,78			
		100	798076,92			
		100	657407,41			
	1:10	80	747136,56	789396,09 a	8,8	90 a
		90	724675,32			
		90	827981,65			
		95	706410,26			
		95	940776,7			

* Estimativa de Reprodução= $\text{Peso ovos} / \text{Peso teleóginas} \times 20\ 000 \times \% \text{ eclusão}$
(20 000 – valor estimado de larvas eclodidas em um grama de ovo)

** Avaliação visual entre a porcentagem de massa de ovos eclodidos e não eclodidos em intervalos de 5%

***Médias com as mesmas letras nas colunas, nos respectivos dias, não diferem significativamente segundo o teste estatístico indicado.

4.4 Considerações Gerais

A espécie de timbó utilizada, determinada como *Dahlstedtia pentaphylla* (Leguminosae, Millettiedae) de modo geral apresentam porte arbustivo-arbóreo, folhas com 5-7-9 folíolos, inflorescência com flores grandes, tubulosas e de coloração vistosa. O Gênero foi estabelecido por Malme em 1905, sendo constituído por duas espécies: *D. pentaphylla* e *D. pinnata* (Benth.) Malme. Alguns autores consideram o gênero monotípico, citando apenas *D. pinnata* (TEIXEIRA & GABRIELLI, 2000).

Espécies de *Dahlstedtia* ocorrem no Brasil e Argentina, preferencialmente na Floresta Atlântica Brasileira nas áreas do Planalto Atlântico e Planície Costeira. No Brasil plantas de *D. pinnata* são encontradas nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo e *D. pentaphylla* em São Paulo, Paraná e Santa Catarina. Só no estado de São Paulo há registro de ocorrência das duas espécies, mas em localidades separadas por serras. As espécies de *D. pinnata* ocorrem em altitudes de 2,30m (Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro) a 870m (Teresópolis, estado do Rio de Janeiro), *D. pentaphylla* em altitudes entre 1,60m (Itajaí, estado de Santa Catarina) a 1053m (Rio Branco do Sul, estado do Paraná). A presença de *D. pentaphylla* (ou ausência de *D. pinnata*) está positivamente relacionada com a latitude e longitude de ocorrência. A espécie *D. pentaphylla* apresenta indivíduos em maiores altitudes, com 50% acima de 300m, que *D. pinnata* que ocorre entre 0 e 200m. Ambas as espécies desenvolvem-se em ambientes úmidos no interior de florestas ou perto de formações rochosas. Florescem durante o ano todo, embora a florada não se estenda por mais que dois meses. A frutificação de plantas cultivadas é maior que a de indivíduos de população natural, mas mesmo assim, a maioria dos frutos é abortada (TEIXEIRA & RANGA, 2003).

TEIXEIRA et al. (2002) no Parque Estadual Serra do Mar, Ubatuba e Picinguaba, estado de São Paulo, não observaram ocorrência de sementes maduras e frutos nas plantas, sugerindo que a propagação vegetativa é provavelmente importante na reprodução de *Dahlstedtia*. Nas diversas coletas feitas em áreas próximas às citadas, para obter material para desenvolver os testes com *D. pentaphylla*, também não observamos a formação de frutos, tampouco sementes da planta, concordando com as colocações feitas pelos autores.

Já foi referido na Introdução, como Anchieta relatou sobre as pescarias fantásticas feitas pelos índios, sem rede e sem anzol. Nas águas paradas, como nos estuários dos rios, viu o Padre, nas imediações de São Vicente como os índios “bateram um timbó”, o lançaram nas águas e delas retiraram depois de instantes, grande quantidade de peixes. Segundo HOEHNE (1939), aquele célebre timbó usado pelos índios, ainda hoje não está seguramente identificado. Provavelmente deva ter sido o guaraná-timbó, nome popular de *Dahlstedtia*. Experiências feitas pelo autor comprovaram a grande toxidez da planta.

Até o momento não havia na literatura registros da utilização da *D. pentaphylla* como carrapaticida, os resultados obtidos são pioneiros para esta propriedade da planta.

A respeito da toxidez do extrato, depreende-se da consulta bibliográfica que ressalvas devem ser feitas sobre a inocuidade da rotenona para mamíferos, composto detectado na raiz de *D. pentaphylla*. A toxidez da rotenona existe, mas não deve ser exaltada com exagero, em função de interesses políticos econômicos, como alguns o fazem, nem ignorada como grande parte dos adeptos ao tratamento natural prega. Há necessidade de mais pesquisas que consigam resolver o dilema existente .

5. CONCLUSÕES

As raízes da planta *D. pentaphylla* possuem atividade carrapaticida sobre *B. microplus*, relacionada somente a ação ixodicida (mortalidade), não exercendo efeitos sobre a oviposição ou embriogênese nos ovos das fêmeas sobreviventes ao tratamento.

Os experimentos da atividade da planta sobre *B. microplus* foram feitos a partir de extratos brutos. Assim, estudos com objetivo da purificação dos extratos bem como caracterização de outros compostos além da rotenona devem ser realizados. Fica assim um caminho para novas investigações.

Nos testes de campo, o produto apresentou nas duas diluições (1:10 e 1:20) controle aceitável do carrapato dos bovinos sete dias após o tratamento, é possível adotar um esquema de banhos para controle baseado nesse intervalo. Vale ressaltar que a diluição 1:20 é a mais recomendável pois possui eficiência similar a de 1:10 e requer um custo menor. Ainda deve-se levar em consideração, ao se adotar esquema de controle, que o produto apresentou baixo desempenho sobre o estágio de ninfa e/ou metalarva e nenhum efeito residual sobre reinfestações das larvas nas pastagens.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W.S. 1925. A method for computing effectiveness of An. insecticide. *Journal of Economic Entomology*, v. 18, p. 265 – 267.
- ADAM, D. 2000. New pesticide link to Parkinson's disease. Disponível em < [http:// www.nature.com](http://www.nature.com).> Acesso em 19 set. 2003.
- ALVES-BRANCO, F. de P. J.; SAPPER, M. F. M.; ARTILES, J. M. Diagnósticos de resistência de *Boophilus microplus* a piretróides. IN: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 11, 1992, Gramado. Anais... Gramado: SOVERGS, 1992. p. 44
- ALVES-BRANCO, F. de P. J.; SAPPER, M. F. M.; PINHEIRO, A. C. Estirpes de *Boophilus microplus* resistentes a piretróides. IN: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 7., 1993, Londrina. Anais... Londrina: CBPV, 1993. p. A4 .
- AMERICAN FISHERIES SOCIETY. 2001. Parkinson study Relationship Between Rotenone Use in Fisheries Management and Parkinson's Disease. Disponível em: <[http:// www.fisheries.org/rotenone/](http://www.fisheries.org/rotenone/). Acesso em 16 set. 2003.
- ARTECHE, C.C.P. 1982. Resistência do *Boophilus microplus* – mecanismos de resistência. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 3, Camboriu, 1982. Anais... Brasília: 1982, p. 101-109 .
- ATHANASSOF, N. Destruição dos carrapatos no gado vaccum por meio dos banhos carrapatecidas. *Secretaria da Agricultura, Commercio e Obras Públicas do Estado de São Paulo*, n. 01805, 1919. 12 p.
- BAXTER, G.D.; BAKER, S.C. Isolation of a cDNA for an octopamine-like, G-protein coupled receptor from the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect Biochemistry Molecular Biology*, v. 29, p. 461 – 467, 1999.
- BETABERT, R.; SHERER, T.B.; MACKENZIE G.; GARCIA-OSUNA, M.; PANOV, A.V.GREENAMYRE, J.T. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nature Neuroscience*, v. 3, n. 12, p. 301 – 306, 2000.
- BENAVIDEZ, O.E., HERNANDEZ, M.G., ROMERO, N.A., CASTRO, A.H., RODRIGUES, B.J.L. Evaluation preliminar de extractos del neem (*Azadirachta indica*), como alternativas para el control de la garrapata del ganado *Boophilus microplus* (Acari: Ixodida). *Revista Colombiana de Entomologia.*, 2001, 27: n. 1- 2, p. 1- 8, 2001.
- BORGES, L.M.F., FERRI, P.H., SILVA, W.J., SILVA, W.C., SILVA, J.G. In vitro efficacy of extract of *Melia azedarach* against the tick *Boophilus microplus*. *Medical and Veterinary Entomology.*, v. 17, n. 2, p. 228 – 231, 2003.
- BREUER, M.; HOSTE, B; DE LOOF, A.; NAQVI, S.N.H. Effect of *Melia azedarach* on the activity of NADPH-cytochrome *c* reductase and cholinesterase in insects. *Pesticide Biochemistry Physiology*, n. 76, p. 99 – 103, 2003.

BROWN, H.A.; MINOTT, D.A.; INGRAM, C.W.; WILLIAMS, L.A.D.. Biological activities of the extracts and constituents of pimento, *Pimenta dioica* L. against the southern cattle tick *Boophilus microplus*. *Insect Science and its Application*, v. 18, n. 1, p. 9 – 16, 1998

CAMINHA FILHO, A. Timbos e rotenona: uma riqueza nacional inexplorada. 2.Ed. *Serviço de Informação Agrícola*. Rio de Janeiro, 1940.14p.

CHACON, J.O. O Timbó (Rotenona) usado como inseticida e tóxico para peixes. *Boletim Técnico do DNOCS*, Fortaleza, v. 31, n. 2, p. 123 – 129, 1973.

CHAGAS, A.C.S.; PASSOS, W.M.; PRATES, H.T.; LEITE, R.C.; FURLONG, J.; FORTES, I.C.P. Efeito acaricida de oleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus spp* em, *Boophilus microplus*. *Brazilian Journal of Veterinary Research And Animal Science*, v. 39, n. 3 p. 247 – 253, 2002.

CHEROUX, M. Pyrethroides: L' effect knock down. *Cultivar*, n. 12, p. 18 – 22, 1980.

CHUNGSAMARNYART, N.; JANSAWAN, W. Acaricidal activity of peel oil of *Citrus spp.* on *Boophilus microplus*. *Kasetsart Journal, Natural Sciences*, v. 30, n. 1, p. 117 – 118, 1996.

CHUNGSAMARNYART, N.; JANSAWANG, W. 1991. Acaricidal effect of plant crude extracts on tropical cattle ticks (*Boophilus microplus*). *Kasetsart Journal, Natural Science*, v. 25, n. 5, p. 90 - 100. Supplement issue.

CHUNGSAMARNYART, RATTANAKRITHAKUL, C.; JANSAWAN, W. Pratical extraction of sugar apple seeds against tropical cattle ticks. *Kasetsart Journal, Natural Science*, v. 25, n. 5, p. 101 – 105, 1991.

CHUNGSAMARNYART, N; JIWAJINDA, S. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and Citronella grasses on tropical cattle ticks. Proceedings of the annual conference of the Central Laboratory and Greenhouse Complex , 18 - 20. November, 1992. *Kasetsart Journal, Natural Science*, v. 26, n. 5, p. 46 – 51, 1992.

CHUNGSAMARNYART, RATTANAKRITHAKUL, C.; JANSAWAN, W. Acaricidal activity of the combination of plant crude extract to tropical cattle ticks. *Kasetsart Journal, Natural Science*, v. 28, n. 4, p. 649 – 660, 1994.

CHUNGSAMARNYART, N.; JANSAWAN, W. Effect of *Tamarindus indicus* L. against the *Boophilus microplus*. *Kasetsart Journal, Natural Science*, v. 35, p. 34 – 39, 2001.

CHUNGSAMARNYART, N; JIWAJINDA, S.; JANSAWAN, W. 1988. Study of the effect of crude extract of plants on the tick (*Boophilus microplus*). Bangkok (Thailand), *Kasetsart University Library*, 1988. 9 p.

CORBETT, C.E. *Plantas icotóxicas: Farmacologia da Rotenona*. Monografias da Faculdade de Medicina. Universidade de São Paulo, 1940. 157p.

CORREA, I.I.; CARVALHO, J.B.P.; BIONDI, P.; BARBOSA, A.; GUARAGNA, G.P. Eficiência de um composto do grupo dos benzoilfenil uréias no controle do carrapato dos bovinos (*Boophilus microplus*). *Boletim da Industria Animal*, v. 50, n. 2, p. 93-100, 1993.

COSTA JÚNIOR, L.M.; CHAGAS, A.C.S.; FURLONG, J.; REIS, E.S.; MASCARO, U.C.P. Eficiência “in vitro” de Rotenóides extraídos do Timbó (Derris Urucu) em teleóginas do carrapato *Boophilus microplus*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. Aais... Rio de Janeiro: CBPV, 2002. 1 CD – ROM.

COSTA, J.P.C. ; ALVES, S.M; BÉLO, M. Teores de rotenona em clones de Timbó (Derris spp. Fabacea) de diferentes regiões da Amazônia e os seus efeitos na emergência de imagos em *Musca domestica* . *Acta Amazônica*, v. 29, n. 4, p. 563-573. 1999.

COSTA, N.A. & NASCIMENTO, C.N.B. Uso do timbó urucu (*Derris urucu*) no controle do *Haematophinus tuberculatus* em bubalinos. *EMBRAPA. Boletim de Pesquisa*, n. 78. 1986.

COTRIM, E.A.. *Fazenda Moderna*. Ed. V. Verteneuil & L. Desmed, 1913. 376p.

DAVEY, R.B.; AHRENS, E.H.; GEORGE, J.E.; HUNTER III, J.S.; JEANNIN, P. Therapeutic and persistent efficacy of fipronil against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle. *Veterinary Parasitology*, v. 74, p. 261 – 276, 1998.

DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. *Journal of Economic Entomology*, v. 66, p. 130-133, 1973.

FINNEY, D. J.; *Probit Analysis*. 3 th. Cambridge University Press, 1971. 333 p.

FLAUSINO, J. R. N.; GOMES, C. C. G.; GRISI, L. Avaliação da resistência do carrapato *Boophilus microplus* ao amitraz e a piretróides, no município de Seropédica, Rio de Janeiro. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 9., 1995, Campo Grande. Anais... Campo Grande: CBPV, 1995. p. 45.

FREIRE, J.J. Arseno e Cloro resistência e emprego do Tiofosfato de Dietilparanitrofenila (Parathion) na luta anticarrapato, *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). *Boletim da Diretoria de Produção Animal*, v.9, n.17, p. 3 – 31, 1953.

FRIGHETO, R.T.S. Preparação e Avaliação da Bioatividade de Extratos Vegetais. CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16, 1997, Salvador. Resumos, Brasília: SEB, 1997, p. 10.

GARCIA, J.C.L. 2000. Posible vinculo entre pesticidas y el mal de Parkinson. *Biomedica Noticias*. Disponível em: <http://www.biomed.net/>. Acesso em 12 jan. 2003.

GEORGI, J.R. *Parasitologia Veterinária*. Rio de Janeiro. Interamericana, 1982. 353p.

GONZALES, J.C. *O Controle do Carrapato do Boi*. Porto Alegre. Edição do Autor, 1993. 80p.

GONZALES, J.C.; SILVA, N.R. 1972. Fósforo resistência do *B. microplus* no RS, Brasil. ANAIS DO II CONGRESSO ESTADUAL DA SOCIEDADE VETERINÁRIA DO RIO GRANDE DO SUL, 2, 1972, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: SOVERGS, 1972, p. 73.

GONZALEZ DE LA PARRA, M., CHAVEZ PENA, D.; JIMENEZ ESTRADA, M. RAMOS MUNDO, C. Acaricidal potential of piquerol A and B against *Boophilus microplus*. *Pesticide Sciences*, v. 33, n. 1, p. 73 – 80, 1991.

GUARAGNA, G.P.; CARVALHO, J.B.P.; CARVALHO, M.I.A.B. Eficiência de alguns carrapaticidas comerciais em bovinos artificialmente infestados com o carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). *Boletim da Industria Animal*, v. 55, n. 2, p. 167 – 174, 1998.

GUPTA, P.K.; GUPTA, S.; KHAN M.H. In vitro evaluation of petroleum fractions fo differents of neem (*Azadirachta indica*) against cattle tick *Boophilus microplus*. *Indian Journa of Environment and Toxicooogy*, v. 10, n. 1, p. 38 – 39, 2000.

HAAG, H.B. Toxicological studies of Derris elliptica and its constituents I. Rotenone. *Journal of Phamacology, Experimental Therapy*, v. 43, p. 193, 1931.

HILEMAN, B. 2001. The Environmente and Parkinson's. *Chemical and Engineering News*, v. 79, n.78. Dispon[ivel em: [http:// www. mindfully. org/Health/Parkinsons-And-environment.htm](http://www.mindfully.org/Health/Parkinsons-And-environment.htm). Acesso em: 19 set. 2003.

HITCHCOCK, L. F. Studies on the parasitic stanges of the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). *Australian Journal of Zoology*, v. 3., p.145-155, 1955.

HOEHNE, F.C. *Plantas e Substâncias Vegetais Tóxicas e Medicinai*s. São Paulo. Graphicards, 1939. 355p.

IBRAIM, B.; M' BATCHI, B.; MOUNZEO, H.; BOUROBOU, H.P.; POSSO, P. Effect of *Tephrusia vogelii* and *Justicia extensa* on *Tilapia nilotica* in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 69, p. 99 – 104, 2000.

JORNAL DO LEITE. 2003. A pesquisa e o Produtor. EMBRAPA GADO DE LEITE. Disponível em [http:// www.cnpqgl.embrapa.br/jornaleite/](http://www.cnpqgl.embrapa.br/jornaleite/). Acesso em 25.08.2003.

KUMAR, R.; CHAUHAN, P.P.S., AGRAWAL, R.D. SHANKAR, D. Efficacy of herbal ectoparasiticide AV/EPP/14 aginst lice and tick infestation on bufallo and cattle. *Journa of Veterinary Parasitology*, v. 14, n. 1, p. 67 – 69, 2000.

LARANJA,R.J.; CERESER, V.H.; CORREA, B.L.; MARTINS, J.R.S. Carrapaticidas usados e em uso no Rio Grande do Sul, Brasil. *Boletim do IPVDF, Guaíba*. v. 1, n. 130, p. 57 - 69. 1988.

LEGG, J.; SHANAHAS, G. J. The appearence of an arsenic resistant cattle tick (*Boophilus microplus*) in a small area of New South Wales. *Australian Veterinary Journal* v.30., p. 95-99, 1954.

LEITE, R. C. *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiográficas da Baixada do Grande Rio e Rio de Janeiro. Uma abordagem epidemiológica. 151 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro:, 1988.

MAKLOUF, L. A volta do Timbó o terror das pragas. *Revista Globo Rural*, n. 11, p. 86 – 89, 1986.

MARICONI, F.A.M. *Inseticidas e seu emprego no combate as pragas*. São Paulo. Ceres, 1958. 529p.

MARKING, L. *Oral toxicity of rotenone to mammals*. U.S. Fish and Wildlife Service, Investigations in Fish Control 94. 1988.5p.

MARTINS, J.R.; EDDI, C.; HANSEN, J.W. Tick resistance in the word: reports of the last decade. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador. Anais... Brasília: CBPV, 1999. p. 80

MASCARO, U.C.P.; RODRIGUES, L.A.; BASTOS, J.K.; SANTOS, E.; CHAVES DA COSTA, J.P. Valores da DL₅₀ em peixes e no rato tratados com pó de raízes de Derris spp. e suas implicações ecotoxicológicas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 18, n. 2, p. 53 – 56, 1998.

MASKE, D.K.; BHILEGAONKAR, N.G.; JANGDE, C.R. Treatment of tick infestation in cattle with Pestoban. *Indian Journal of Indigenous Medicine.*, v. 17, n. 2, p. 81 – 83, 1995.

MENDES, M.C.; BRAGGIO, M.M.; HARAGUCHI, M. Eficácia de *Sebania sesban* em fêmeas do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLOGICO, 14, 2001, São Paulo. Resumos: *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 68 (supl.), p.58 2001

MENDES, M.C.; PEREIRA, J.R.; CARVALHO, J.B.; BARBOSA, M.I.A. Eficácia de carrapaticidas em amostras de *Boophilus microplus* coletados de bovinos da raça mantiqueira e holandesa. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLOGICO, 12, 1999, São Paulo. Resumos: *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 66 (supl.) Resumos, p.55. 1999.

MENDES, M.C.; PEREIRA, J.R.; SAVOY, V.L.T. Resistência do carrapato *Boophilus microplus* aos piretróides cypermethrin e deltamethrin no Vale do Paraíba. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLOGICO, 12, 1999, São Paulo. Resumos: *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 66 (supl.) Resumos, 1999a. p.55.

MENDES, M.C.; VERÍSSIMO, C.J.; KANETO, C.N.; Pereira, J.R.. Bioassays for measuring the acaricides susceptibility of cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in São Paulo State, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 68, n.2, p. 23 – 27, 2001^a

MITCHELL, S. 2002. Profile: Seeking the cause of Parkinson's. UPI - United Press International. Disponível em: <http://www.upi.com/view>. Acesso em 19 fev. 2003.

MORS, W.B.; NASCIMENTO, C. Ichthyotoxicity activity of plants do genus Derris and compounds isolated therefrom. *Ciência e Cultura.*, v. 25, n. 7, p. 647 – 648, 1973.

NEITZ, W.O. Fundamentos na erradicação do *Boophilus microplus* (Canestrini) e das doenças transmitidas pela espécie. ANAIS DO XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14, 1974, São Paulo Anais...Brasília: CBMV, 1974. p. 480 - 482.

NICHOLSON, S.S. Toxicity of Inseticides and Skin Care Products of Botanical Origin. *Veterinary Dermatology*, v. 6, n. 3, p. 139 – 143, 1995.

NOLAN, J.; ROULSTON, W.J.; WHARTON, R.H. Resistance to synthetic pyrethroids in a DDT-resistant strain of *Boophilus microplus*. *Pesticide Science*, v. 8, p. 484-486, 1977.

NOLAN, J.; WILSON, J.T.; GREEN, P.E.; BIRD, P.E. Synthetic pyrethroid resistance in field samples in the cattle tick (*Boophilus microplus*). *Australian Veterinary Journal*, v. 66, n. 6, p. 179- 182, 1989.

PEREIRA, M.C.; LUCAS R. Estudo “in vitro” da eficiência de carrapaticidas em linhagens de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) provenientes de Jacareí, Estado de São Paulo Brasil. *Revista da Faculdade de Medicina. Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, v. 24, p. 7 –11, 1987.

PESSOA, L.M.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; SLUCIANO, J.H.S. Anthelmintic activity of essencial oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology.*, v. 109, p. 59 – 63, 2002.

PINTO, C. *Zooparasitos de Interesse Médico e Veterinário*. Rio de Janeiro. Scientifica, 1945. 461p.

PIRES, J.M. Plantas ictiotóxicas: aspecto da botânica sistemática. ANAIS DO V SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 5, 1978, Campinas. Anais...Campinas: SPMB, 1978. p. 37 – 41.

PONTE, J.J. Eficiência da manipueira como carrapaticida. *Revista de Agricultura, Piracicaba*, v. 77, n. 1, p. 123 – 127, 2002.

PRATES, H.T.; LEITE, R.C.; CRAVEIRO, A.A.; OLIVEIRA, A.B. Identification of some chemical components of the essencial oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beav.) and their activity against cattle tick *Boophilus microplus*. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v. 9, n. 2, p. 193 – 197, 1998.

ROULSTON, W. J.; WHARTON, R. H. Acaricide tests on the Biarra strain of organophosphorus resistant cattle tick *Boophilus microplus* from southern Queensland. *Australian Veterinary Journal*, v. 43, p. 129-134, 1968.

SAMPAIO, I.B.M.S. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*, 2ª edição. Belo Horizonte. FEPMVZ, 2002. 265p.

SANTOS, S.P. 1999. A Química dos Inseticidas. Disponível em <[http:// www.spq.pt/boletim/](http://www.spq.pt/boletim/)> Acesso em: 24 ago. 2003.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria da Agricultura e Abastecimento. Coordenadoria da Assistência Técnica Integral - CATI. Relatório da Divisão Regional Agrícola, 1982. 101p.

SHAW, R.D. Culture of na organophosphorus resistance strain of *B. microplus* (Canestrini, 1887) and a assesment of its resistance spectrum. *Bulletin of Entomology. Research*, v. 56, n. 3, p. 389 – 404, 1966.

SIVARAMAKRISHNAN, S., KUMAR, N.S., JEYABALAN, D., BABU, R., RAJA, N.S., MURUGAN, K. The effect of mixture of neem, eucalyptus and pongamia oils on the mortality and biochemical profiles of the tick *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae). *Indian Journal of Environment Toxicology*, v. 6, n. 2, p. 85 – 86, 1996.

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

TEIXEIRA, S.P.; FORTI-MARTINS, E.R.; RANGA, N.T. Development and cytology of pollen in *Dahlstedtia* Malme (Leguminosae: Papilionoideae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 138, p. 461- 471, 2002.

TEIXEIRA, S.P.; RANGA, N.T. Biosystematics of the genus *Dahlstedtia* Malme (Leguminosae, Papilionoideae, Milleettieae). *Revista Brasileira de Botânica.*, v. 27, n.1, p. 37 – 45, 2004.

TEIXEIRA, S.P; GABRIELLI, A.C. Anatomia comparativa do eixo vegetativo em *Dahlstedtia pinnata* e *D. pentaphylla* (Leguminosae, Papilionoideae). *Revista Brasileira de Boânica.*, v. 23, p. 1- 11, 2000.

TORRES, M.F. Lucha contra ectoparasitos que afectan la ganaderia en Venezuela – Comportamiento de los inseticidas utilizados. *Annales de la Revista de. Entomologia.*, v. 15, p. 401 – 404, 1970.

VANCE, J. Descoberto fator de risco genético para a doença de Parkinson. *The American Journal of Human Genetics*. Disponível em: <<http://www.emedix.com.br/not2003>>, Acesso em 18 set. 2003.

VENDRAMIM, J.D. Plantas Inseticidas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16, 1997, Salvador. Resumos. Brasília: SEB, 1997. p. 10.

WHARTHON, R.H.; ROULSTON, W.F. Resistance of ticks to Chequical. *Annales of Review Entomology*, v.15, p. 381 – 404, 1970.

WHARTON, R. H. ; ROULSTON, W.J.; UTECH, K.B.W. ; KERR, J.D. Assessment of the efficiency of acaricides and their mode of application against the cattle tick *Boophilus microplus*. *Australian Journal of Agriculture Research*, v.21 p. 985 – 1006, 1970.

WHARTON, R.H.;UTECH, K.B.W. The relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. *Journal Australian Entomology.*, v. 9, p. 171 – 172, 1970.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Rotenone: health and safety guide n° 73*. Geneva, World Health Organization, 1992. 10p.

WILLIAMS, L.A.D. Acaricidal activity of five marine algae extracts of female *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Florida Entomologist*, v. 74, n. 3, p. 404 - 408.

WILLIAMS, L.A.D. 1993. Adverses effects of extract of *Artocarpus altilis* Park. and *Azadirachta indica* (A. Juss) on the reproductive physiology of the adult female tick, *Boophilus* (Canest.). *Invertebrate Reproduction and Development*, v. 23, n. 2 - 3, p. 159 – 164, 1991.

ZIMMERMAN, R.H.; GARRIS, G.I.; BEAVER, J.S. Potencial of *Stylosantes* plants as a component in na integrated pest management approach to tick control. *Preventive Veterinary Medicine*, v.2, p. 579 – 588, 1984.