

CAPÍTULO 35

FORMULAÇÃO CONTENDO NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS (NEPs) ASSOCIADOS A ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM PARA CONTROLE DO CARRAPATO DOS BOVINOS

Diego Rodrigues Melo   
Embrapa Gado de Leite, Brasil

Alessandra Ésther de Mendonça   
Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Brasil

Lauren Hubert Jaeger   
Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Brasil

Letícia dos Santos Moreira   
Embrapa Gado de Leite, Brasil

Ralph Maturano Pinheiro   
Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Brasil

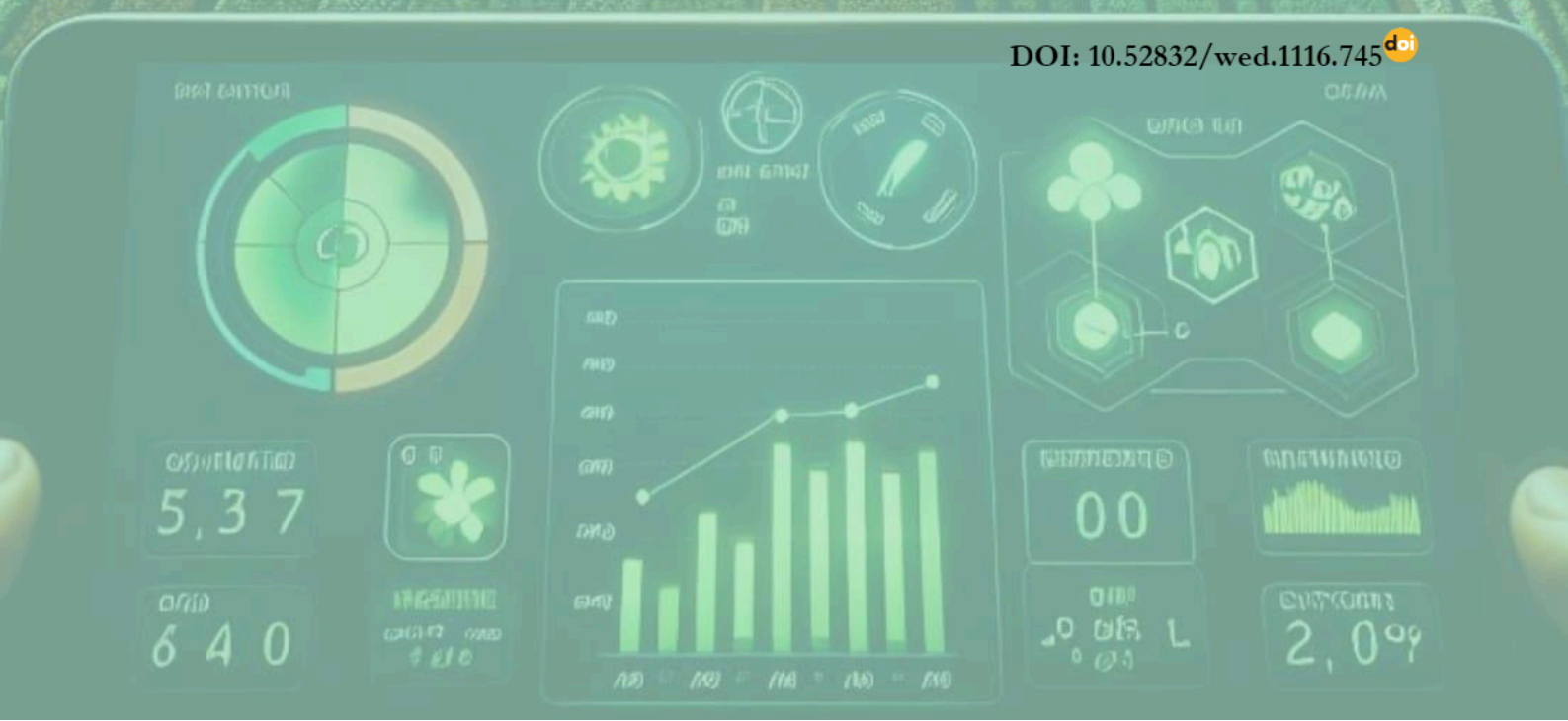
Melissa Carvalho Machado do Couto Chambarelli   
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, Brasil

Ana Caroline Ferreira de Souza   
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, Brasil

Caio Márcio de Oliveira Monteiro   
Universidade Federal de Goiás – UFG, Brasil

Márcia Cristina de Azevedo Prata   
¹Embrapa Gado de Leite

DOI: 10.52832/wed.1116.745 



Resumo: Carrapato bovino determina graves perdas à pecuária, boa parte decorrente do uso indiscriminado de carrapaticidas. Na busca por alternativas, nematoides entomopatogênicos (NEPs) têm se mostrado promissores. Formulação desenvolvida em etapa anterior foi eficaz na proteção dos NEPs contra efeitos da dessecação, havendo necessidade de aprimoramento para ação satisfatória. Uma solução seria associação de NEPs na formulação combinados com outros agentes. Objetivo deste estudo foi, portanto, avaliar compatibilidade, sobrevivência e eficácia *in vitro* do NEP HP88 em formulação protetora associado a óleo essencial (OE) de alecrim sobre carrapato bovino. No primeiro experimento, NEPs em formulação foram adicionados ao OE em concentrações de 5, 10, e 15%, sendo avaliada sobrevivência diariamente. A associação que permitiu melhor sobrevivência (NEPs em formulação + OE alecrim 5%, 408 h) foi empregada na avaliação sobre carrapato bovino por aspersão sobre adultos, obtendo-se eficácia de 98,78%, expressivamente superior ao grupo sem associação (81,83%). Comprovou-se compatibilidade entre NEP HP88 em formulação protetora e óleo essencial de alecrim 5%, com repercussões positivas na sobrevivência e eficácia *in vitro* contra carrapato bovino. Embora haja necessidade de estudos *in vivo*, as contribuições desta pesquisa representam cenário motivador, sinalizando uso promissor de formas de controle em associação.

Palavras-chave: Carboximetilcelulose sódica. HP88. *Rhipicephalus microplus*. *Rosmarinus officinalis*.

1 INTRODUÇÃO

Rhipicephalus microplus (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae), o carrapato dos bovinos, tem sido considerado o grande vilão da criação de gado e a maior preocupação dos pecuaristas. A infestação por esse carrapato pode causar anemia, perda de peso, queda na produção e morte do animal, elevando custos na cadeia produtiva de carne e leite e, conseqüentemente, diminuindo o lucro do produtor (Andreotti; Garcia; Koller, 2019). Estimam-se perdas de US\$ 22 a 30 bilhões anuais no mundo, sendo US\$ 3,24 bilhões somente no Brasil (Lew-Tabor; Rodriguez Valle, 2016). Embora existam algumas formas de controle, o uso de carrapaticidas sintéticos é o principal método. Entretanto, a aplicação desses produtos geralmente é feita sem orientação técnica, o que tem levado a seleção de carrapatos resistentes e tornado os produtos comercialmente disponíveis cada vez menos eficientes (Andreotti; Garcia; Koller, 2019).

A falta de contribuição da indústria com moléculas inovadoras e as pressões do mercado para alternativas sustentáveis tem agravado o problema (Andreotti; Garcia; Koller, 2019) e criado um cenário favorável para a busca e desenvolvimento de alternativas para o controle do carrapato em bovino de leite. Nesse contexto, o uso de nematoides entomopatogênicos (NEPs) tem se mostrado bastante promissor. Em uma linha de pesquisa conduzida na Embrapa Gado de Leite desde o ano 2000 têm sido obtidos diversos avanços, como determinação de espécies de NEPs, doses e tempos de exposição mais eficazes para o controle do carrapato dos bovinos (Mendonça *et al.*, 2019; Monteiro *et al.*, 2020a; Monteiro *et al.*, 2020b; Monteiro *et al.*, 2021).

Contudo, em experimento fora do ambiente de laboratório, os resultados não foram significativos, mostrando que fatores abióticos, como incidência solar, dessecação e temperatura,

afetam a sobrevivência, viabilidade e infectividade dos nematoides. Um avanço inovador na busca de solução para este problema foi o obtido por Mendonça *et al.* (2019), que desenvolveram uma formulação capaz de proteger os NEPs *in vitro* contra os efeitos da dessecação. Quando testada em bovinos estabulados, a eficácia dos NEPs em formulação foi significativa, mas não satisfatória para o controle de *R. microplus*. Uma possível forma de elevar tal eficácia seria associação de NEPs com outros agentes controladores. Estudos têm demonstrado em laboratório a eficácia da associação de NEPs e substâncias de origem vegetal para controle de *R. microplus* (Monteiro *et al.*, 2014; Monteiro *et al.*, 2021). Contudo, não há registros de avaliações de NEPs em formulação protetora associados a óleos essenciais, o que constitui a abordagem inovadora desta pesquisa.

O objetivo deste estudo foi, portanto, avaliar a compatibilidade, sobrevivência e eficácia *in vitro* de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975 isolado HP88 em formulação protetora associado a óleo essencial de alecrim em diferentes concentrações sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Todas as atividades de manutenção de colônias e experimentos foram realizadas no Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil) (SISGEN AB410AB e SISBIO 46662).

2.1 Carrapatos e nematoides entomopatogênicos (NEPs)

As fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* utilizadas nos experimentos foram provenientes de amostras de populações de carrapatos de rebanhos comerciais sem contato com carrapaticidas há pelo menos 25 dias. O nematoide entomopatogênico (NEP) *H. bacteriophora* isolado HP88 foi fornecido pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil) e mantido no Laboratório de Parasitologia, de acordo com metodologia de Kaya e Stock (1997).

2.2 Formulação protetora e óleo essencial de alecrim

A formulação protetora de NEPs foi composta por carboximetilcelulose sódica (CMC), glicerina e água, conforme Mendonça *et al.* (2019). O óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. Labiatae (Lamiaceae), popularmente conhecido como alecrim, foi adquirido comercialmente (Pharmes, lote 9715; Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil). Foram preparadas soluções contendo óleo essencial de alecrim a 5, 10 e 15%. Após a preparação, em separado, da formulação gel-base e do óleo essencial, procederam-se às associações necessárias com a finalidade de obter volume suficiente para as atividades experimentais.

2.3 Experimentos

Foram realizados dois experimentos. No primeiro foi avaliada a sobrevivência *in vitro* de *H. bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora associada a óleo essencial de alecrim em diferentes concentrações. No segundo experimento foi avaliada a infectividade *in vitro* de *H. bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora + óleo essencial de alecrim da melhor concentração selecionada no experimento I sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

2.3.1 Experimento I: sobrevivência *in vitro* de *Heterorhabditis bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora + óleo essencial de alecrim

Foi utilizada formulação protetora e óleo essencial de alecrim (5, 10 ou 15%) para incorporação e avaliação da sobrevivência de *H. bacteriophora* isolado HP88. Previamente a adição na formulação, a suspensão aquosa de NEPs foi agitada manualmente para impedir acúmulo de nematoides nos frascos. A formulação protetora contendo óleo essencial de alecrim (5, 10 ou 15%) foi adicionada a suspensão aquosa de nematoides (2000 NEPs/mL) na proporção de 1:1. Dessa forma, a formulação final (formulação protetora + óleo essencial de alecrim 5, 10 ou 15% + NEPs) teve a concentração final ajustada para 1000 NEPs/mL. Além disso, foram feitos grupos controle água destilada + *H. bacteriophora* isolado HP88 e formulação protetora + *H. bacteriophora* isolado HP88, ambos preparados na proporção de 1:1 e com 1000 NEPs/mL na concentração final. Após a diluição, os tratamentos foram homogeneizados por 15 minutos no Agitador Kline a 30% e, em seguida, armazenados em câmara climatizada (16 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ UR). Para permitir a aeração dos frascos contendo os tratamentos, também foram realizadas agitações três vezes na semana. Antes de cada avaliação de sobrevivência, as formulações foram homogeneizadas no Agitador Kline a 30%. Os nematoides foram contados coletando, para cada tratamento, 10 alíquotas de 10 µL cada. Essas foram montadas em lâminas para microscopia e os nematoides vivos e mortos contados no microscópio. A porcentagem de sobrevivência foi calculada dividindo-se o número de NEPs vivos pelo total de NEPs e multiplicando por 100. As avaliações de sobrevivência foram realizadas a cada 24 horas durante cinco dias (24, 48, 72, 96 e 120 h); após esse período, foram realizadas duas avaliações em intervalos de 3 dias (192 e 240 h) e, em seguida, as avaliações ocorreram a cada sete dias (408, 576, 744 h, etc.) até a morte de todos os NEPs do grupo ou três repetições com a mesma sobrevivência.

2.3.2 Experimento II: infectividade *in vitro* de *Heterorhabditis bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora + óleo essencial de alecrim sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*

A partir dos resultados do experimento I, foi selecionada, para avaliação da ação contra o carrapato dos bovinos, uma concentração da associação (*H. bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora + óleo essencial de alecrim) considerando o critério formulação com menor concentração que possibilitou maior taxa de sobrevivência por maior tempo de exposição. A suspensão aquosa de NEPs (600 NEPs/mL) foi agitada manualmente e adicionada à formulação protetora + óleo essencial de alecrim na concentração selecionada na proporção de 1:1. Sendo assim, a formulação final (*H. bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora + óleo essencial de alecrim na concentração selecionada) teve a concentração final ajustada para 300 NEPs/mL (Monteiro *et al.*, 2014). Além disso, foi feito grupo controle contendo água destilada, formulação protetora + *H. bacteriophora* isolado HP88 e formulação protetora + óleo essencial de alecrim na concentração selecionada, com os dois últimos preparados na proporção de 1:1 e último com 300 NEPs/mL na concentração final. Cada tratamento foi constituído por 10 fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* com pesos homogêneos ($p > 0,05$), sendo cada fêmea uma unidade experimental (uma repetição). Cada carrapato foi pesado e colocado individualmente em placa de Petri (6 x 6 cm) etiquetada e forrada com duas folhas de papel filtro. Foi pipetado 1 mL da formulação testada em cada fêmea e, em seguida, as placas foram tampadas e envoltas com filme plástico (policloreto de vinila) e armazenadas em câmara climatizada (27 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ UR) durante 24 horas. Esse processo garantiu que os papéis filtro permanecessem úmidos e possibilitassem a locomoção dos nematoides, constituindo 24 h de exposição aos NEPs. Após este tempo, foi retirado o papel filtro e filme plástico, e os tratamentos foram armazenados em câmara climatizada nas mesmas condições anteriores para avaliação da biologia reprodutiva de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* (Monteiro *et al.*, 2014). Foram feitos quatro grupos experimentais: 1) controle água destilada, 2) controle formulação protetora + *H. bacteriophora* isolado HP88, 3) controle formulação protetora + óleo essencial de alecrim na concentração selecionada e 4) formulação protetora + *H. bacteriophora* isolado HP88 + óleo essencial de alecrim na concentração selecionada. Passados 15 dias do início da avaliação da biologia reprodutiva, a massa de ovos de cada fêmea foi pesada, depositada em seringa plástica descartável (5 mL) e armazenada em câmara climatizada (27 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ UR). Após 20 dias, foi realizada a estimativa visual da eclosão larval. As seguintes variáveis reprodutivas foram avaliadas: 1) peso da fêmea ingurgitada, 2) peso da massa de ovos, 3) índice de produção de ovos, 4) eclosão larval, e 6) eficácia de controle (calculada segundo Monteiro *et al.*, 2014).

2.4 Análise estatística

ANOVA e teste de *Tukey* foram empregados para avaliar a influência dos tratamentos sobre a sobrevivência de NEPs (experimento I) e sobre a biologia reprodutiva do carrapato (experimento II) através do *software* BioEstat 5.0 (Ayres *et al.*, 2007), ($p < 0,05$). Previamente a aplicação dos testes, os dados expressos em porcentagem foram transformados em $\sqrt{\arcsen x}$ e estes foram testados para normalidade usando o teste *Shapiro-Wilk*. Em caso de distribuição não normal, foi efetuada a transformação de dados (função logarítmica ou recíproca) utilizando o *software* Instat3. Persistindo a distribuição, os testes não paramétricos de *Kruskal-Wallis* e *Student-Newman-Keulls* foram empregados em substituição a ANOVA e *Tukey* ($p < 0,05$), com a utilização do *software* BioEstat 5.0 (Ayres *et al.*, 2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Experimento I: sobrevivência *in vitro* de *Heterorhabditis bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora + óleo essencial de alecrim

Analizando-se a tabela 1, verifica-se que a adição do óleo essencial de alecrim nas concentrações de 5, 10 e 15% não afetou a sobrevivência de *H. bacteriophora* isolado HP88 incorporado em formulação protetora por até 120 h (5 dias) de exposição, tendo sido obtidos percentuais de sobrevivência a partir de 93,5% em todos os tratamentos, estatisticamente semelhantes aos grupos controle (a partir de 95,9%, $p > 0,05$). Avaliando-se a sobrevivência dentro de cada tratamento ao longo do tempo, destacam-se os grupos contendo *H. bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora + óleo essencial de alecrim nas concentrações de 5 e 10%, em que somente foram verificadas reduções significativas ($p < 0,05$) na sobrevivência dos NEPs a partir de 576h (24 dias) de exposição, ao passo que a adição do óleo essencial de alecrim 15% afetou negativamente a sobrevivência após 240 h (10 dias) de exposição ($p < 0,05$). Deste modo, foi selecionada para o experimento II, de avaliação da ação contra fêmeas ingurgitadas do carrapato dos bovinos, a solução contendo NEPs em formulação protetora + óleo essencial de alecrim 5%, por ter sido a menor concentração que possibilitou a sobrevivência de NEPs em formulação por maior tempo de exposição. Mendonça *et al.* (2019) demonstraram que a formulação protetora constituída pela combinação CMC 0,1% + glicerina 1%, mesma formulação utilizada nesta pesquisa, permitiu taxa de sobrevivência de 95% para *H. bacteriophora* isolado HP88. Os resultados do presente experimento, que constitui o primeiro estudo de avaliação de NEPs em formulação protetora associados a outro agente controlador, demonstraram que a formulação protetora associada ao óleo essencial de alecrim 5% afetou a sobrevivência do isolado HP88 somente a partir de 576 h de exposição. Esses resultados demonstram que a formulação protetora associada ao óleo

essencial de alecrim, um dos vegetais avaliados para o controle de *R. microplus* (Singh *et al.*, 2022), permitiu considerável prolongamento da manutenção das condições favoráveis à sobrevivência de *H. bacteriophora* isolado HP88. Uma vez que o tempo de exposição ao organismo alvo é um fator crítico para a patogenicidade de NEPs a carrapatos (Monteiro *et al.*, 2020a), considera-se que a associação selecionada nesta pesquisa, por possibilitar sobrevivências de NEPs por períodos prolongados, aumenta as chances de infecção e, por conseguinte, de sucesso do controle biológico.

Tabela 1 – Taxa de sobrevivência (%) de *Heterorhabditis bacteriophora* isolado HP88 após diferentes tempos de exposição nas combinações contendo formulação protetora (FP) e óleo essencial (OE) de alecrim em diferentes concentrações a 16 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ de umidade relativa. Média $\pm$ desvio padrão.

Tempos de Exposição (horas)	Tratamentos				
	Controle Água Destilada	Controle FP	FP + OE de alecrim 5%	FP + OE de alecrim 10%	FP + OE de alecrim 15%
24	98,1 ^{Aab} $\pm$ 4,3	97,8 ^{Aa} $\pm$ 4,9	99,2 ^{Aa} $\pm$ 2,4	96,1 ^{Aab} $\pm$ 6,6	95,8 ^{Aa} $\pm$ 7,3
48	98,2 ^{Aab} $\pm$ 3,8	95,9 ^{Aa} $\pm$ 7,0	97,5 ^{Aa} $\pm$ 5,3	99,0 ^{Aa} $\pm$ 3,2	93,5 ^{Aa} $\pm$ 9,9
72	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	98,9 ^{Aa} $\pm$ 3,5	97,3 ^{Aa} $\pm$ 5,8	96,3 ^{Aab} $\pm$ 8,4	94,2 ^{Aa} $\pm$ 11,0
96	99,2 ^{Aa} $\pm$ 2,4	99,1 ^{Aa} $\pm$ 2,9	96,1 ^{Aa} $\pm$ 5,2	96,2 ^{Aab} $\pm$ 7,1	96,1 ^{Aa} $\pm$ 8,3
120	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	98,3 ^{Aa} $\pm$ 3,7	96,5 ^{Aa} $\pm$ 4,8	97,6 ^{Aab} $\pm$ 4,0	95,8 ^{Aa} $\pm$ 5,5
192	97,1 ^{ABab} $\pm$ 6,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	90,4 ^{BCab} $\pm$ 6,3	88,5 ^{Cab} $\pm$ 8,9	91,1 ^{BCa} $\pm$ 8,4
240	99,4 ^{Aa} $\pm$ 2,0	98,3 ^{Aa} $\pm$ 5,3	95,6 ^{ABa} $\pm$ 6,0	93,3 ^{ABab} $\pm$ 8,7	90,9 ^{Ba} $\pm$ 8,6
408	97,1 ^{Aab} $\pm$ 6,4	96,5 ^{Aa} $\pm$ 4,8	84,1 ^{Aabc} $\pm$ 17,9	78,2 ^{ABabc} $\pm$ 13,0	43,7 ^{Bb} $\pm$ 14,1
576	94,7 ^{Aab} $\pm$ 7,1	94,1 ^{Aa} $\pm$ 11,2	59,9 ^{Bbcd} $\pm$ 18,1	68,5 ^{ABbc} $\pm$ 24,3	0,0 ^{Cb} $\pm$ 0,0
744	99,1 ^{Aa} $\pm$ 2,9	96,2 ^{Aa} $\pm$ 6,4	54,4 ^{Bcd} $\pm$ 11,9	18,9 ^{Bcd} $\pm$ 15,3	
912	88,4 ^{Ab} $\pm$ 13,3	96,1 ^{Aa} $\pm$ 5,2	23,5 ^{Bde} $\pm$ 16,3	2,3 ^{Bd} $\pm$ 4,8	
1080	90,1 ^{Aab} $\pm$ 21,2	88,2 ^{Aa} $\pm$ 20,5	20,3 ^{Bde} $\pm$ 11,8	0,6 ^{Bd} $\pm$ 2,0	
1248	94,8 ^{Aab} $\pm$ 9,0	96,3 ^{Aa} $\pm$ 4,9	0,0 ^{Be} $\pm$ 0,0	0,0 ^{Bd} $\pm$ 0,0	

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias em uma determinada linha, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias em cada coluna.

Fonte: Autores, 2024.

3.2 Experimento II: infectividade *in vitro* de *Heterorhabditis bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora + óleo essencial de alecrim sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*

Analisando-se a tabela 2 e a figura 1, com foco nos grupos *H. bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora e *H. bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora + óleo essencial de alecrim 5%, verifica-se que, embora não tenha determinado reduções significativas ($p < 0,05$) na produção de ovos e na eclosão larval, a adição de óleo essencial de alecrim 5% à formulação protetora contendo NEPs proporcionou considerável elevação da eficácia de controle sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, que passou de 81,83% para 98,78%. Monteiro *et al.* (2021) demonstraram que a ação de *H. bacteriophora* isolado HP88, *H. indica* isolado LPP1 e óleo essencial de *Lippia triplinervis* Gardner (Verbenaceae) sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* é potencializada quando estes controladores são combinados (NEPs + óleo essencial), especialmente

quando comparado à atividade isolada do óleo. No presente estudo, de forma similar, a formulação protetora + HP88 + óleo essencial de alecrim 5% foi responsável por proporcionar elevação na eficácia de controle. Isso demonstra a compatibilidade destes controladores associados e em formulação, em detrimento da baixa (formulação protetora + óleo essencial de alecrim 5%) ou moderada (formulação protetora + HP88) eficácia dos controladores isoladamente em formulação (28,64% e 81,83%, respectivamente).

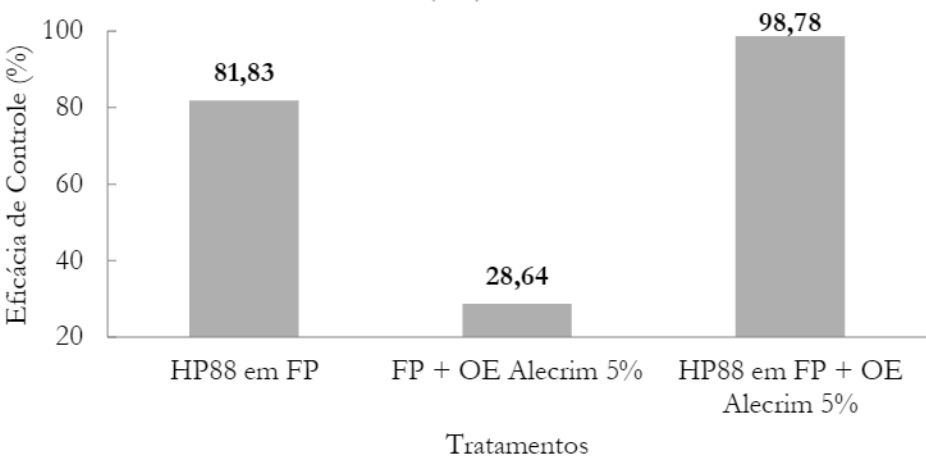
Tabela 2 – Biologia reprodutiva (peso da fêmea ingurgitada, peso da massa de ovos, índice de produção de ovos [IPO] e eclosão larval) *in vitro* de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* tratadas com combinações contendo *Heterorhabditis bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora (FP) associado a óleo essencial (OE) de alecrim 5% a 27 ± 1 °C e 80 ± 10% de umidade relativa. Média ± desvio padrão.

Tratamentos	Peso da fêmea ingurgitada (mg)	Peso da massa de ovos (mg)	IPO (%)	Eclosão larval (%)
Controle Água Destilada	258,36 ^a ± 12,48	111,41 ^a ± 43,35	43,01 ^a ± 16,51	65,33 ^a ± 34,70
HP88 em FP	253,25 ^a ± 26,30	29,83 ^b ± 45,51	12,36 ^b ± 19,09	24,50 ^{bc} ± 30,04
FP + OE Alecrim 5%	253,56 ^a ± 29,12	113,61 ^a ± 27,21	44,74 ^a ± 8,87	43,00 ^{ac} ± 33,93
HP88 em FP + OE Alecrim 5%	250,89 ^a ± 22,24	4,93 ^b ± 5,86	2,06 ^b ± 2,53	10,00 ^b ± 17,32

Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p<0,05) entre as médias em cada coluna.

Fonte: Autores, 2024.

Figura 5 – Eficácia de controle (%) *in vitro* de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* tratadas com combinações contendo *Heterorhabditis bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora (FP) associado a óleo essencial (OE) de alecrim 5%.



Fonte: Autores, 2024.

Heterorhabditis bacteriophora isolado HP88 é relatado como um dos isolados mais promissores para controle do carrapato dos bovinos em razão de sua alta virulência *in vitro* (Monteiro *et al.*, 2021). Até mesmo em estudos em condições de campo, já foi comprovada a ação deste isolado ao

reduzir infestações de pastagens em 73,1%, agindo sobre a fase não parasitária do carrapato (Filgueiras *et al.*, 2023). Embora haja registros de avaliação da ação combinada de NEPs em solução aquosa associados a outros agentes controladores (Monteiro *et al.*, 2014; Monteiro *et al.*, 2021) neste estudo foi comprovada pela primeira vez a compatibilidade de NEPs em formulação protetora com outro agente, no caso, óleo essencial de alecrim a 5%, tendo sido evidenciado o efeito positivo de tal combinação em prolongar significativamente a sobrevivência e elevar de forma expressiva a eficácia de controle do carrapato dos bovinos *in vitro*. Integrando-se os avanços obtidos nesta com os resultados já alcançados e registrados na literatura e ainda com outras etapas a serem desenvolvidas, pode ser estruturada uma base sólida de informações que podem fundamentar o estabelecimento de estratégia alternativa para combate ao carrapato dos bovinos por meio de NEPs em associação com outros agentes, tanto na fase parasitária como na fase de vida livre. Para o setor produtivo da pecuária bovina e sociedade em geral, tais estratégias poderão garantir eficiência no controle do carrapato associada à redução de custos, mão de obra e de riscos à saúde de tratadores, animais e consumidores de produtos derivados destes, além de sustentabilidade ambiental.

4 CONCLUSÃO

Existe compatibilidade entre *H. bacteriophora* isolado HP88 em formulação protetora e óleo essencial de alecrim 5%, com repercussões positivas, tanto no prolongamento da sobrevivência quanto na elevação da eficácia *in vitro* da referida associação contra o carrapato dos bovinos. Embora haja necessidade de estudos *in vivo*, as contribuições desta pesquisa representam um cenário motivador para reduzir a dependência das poucas bases químicas carrapaticidas disponíveis no mercado, sinalizando para o uso promissor de outras formas de controle em associação, que poderão ser utilizadas tanto em sistemas de produção convencionais como agroecológicos, contribuindo para o fortalecimento das cadeias produtivas do leite e da carne, com repercussões positivas para toda a sociedade.

Agradecimentos e financiamento

Os autores agradecem às Fundações de Amparo à Pesquisa Estaduais (FAPEMIG, FAPEG e FAPERJ) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; KOLLER, W. W. **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. 1 ed. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 240 p. 978-85-7035-230-9.

AYRES, M *et al.* **BioEstat 5.0 – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas.** Belém, Pará: ONG Mamirauá, 2007. 364 p.

FILGUEIRAS, M. D. G. *et al.* From the laboratory to the field: efficacy of entomopathogenic nematodes to control the cattle tick. **Pest Management Science**, 79, n. 1, p. 216-225, 2023.

KAYA, H. K.; STOCK, P. S. Techniques in insect nematology. *In*: LACEY, L. A. (Ed.). **Manual of Techniques in Insect Pathology**. London: Academic Press, 1997. p. 281-324.

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

MENDONÇA, A. É. *et al.* Entomopathogenic nematodes in pharmaceutical formulations for *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) control: *In vitro* evaluation of compatibility, thermotolerance, and efficiency. **Ticks and Tick-borne Diseases**, 10, n. 4, p. 781-786, 2019.

MONTEIRO, C. M. O *et al.* Entomopathogenic nematodes in insect cadaver formulations for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 203, n. 3, p. 310-317, 2014.

MONTEIRO, C. M. O *et al.* Efficacy of entomopathogenic nematodes in insect cadaver formulation against engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in semi-field conditions. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 11, n. 1, p. 101313, 2020a.

MONTEIRO, C. M. O *et al.* Efficacy of *Heterorhabditis banjardi* (Rhabditida: Heterorhabditidae) against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in presence of susceptible and alternate insect hosts. **Biocontrol Science and Technology**, v. 30, n. 12, p. 1316-1329, 2020b.

MONTEIRO, C. M. O *et al.* Combination of entomopathogenic nematodes with acaricides or essential oil of *Lippia triplinervis* against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, 23, p. 100526, 2021.

SINGH, K. *et al.* Synergistic properties of essential oils of eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) and lemon grass (*Cymbopogon flexuosus*) against cattle tick, *Rhipicephalus microplus*. **International Journal of Acarology**, 48, n. 4-5, p. 338-343, 2022.