

# RESSALVA

Atendendo solicitação da  
autora, o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 04/09/2020.

---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR)

---

**ESTUDO MORFOFISIOLÓGICO DAS GLÂNDULAS SALIVARES,  
SINGÂNGLIO, ÓRGÃO DE GENÉ E OVÁRIOS DE FÊMEAS DE  
*Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae)  
TRATADAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE TIMOL**

**RENATA DA SILVA MATOS**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular).

Rio Claro  
Estado de São Paulo – Brasil  
Setembro - 2018

---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR)

---

**ESTUDO MORFOFISIOLÓGICO DAS GLÂNDULAS  
SALIVARES, SINGÂNGLIO, ÓRGÃO DE GENÉ E OVÁRIOS DE  
FÊMEAS DE *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (ACARI:  
IXODIDAE) TRATADAS COM DIFERENTES  
CONCENTRAÇÕES DE TIMOL**

**RENATA DA SILVA MATOS**

**Orientadora: Profa. Dra. Maria Izabel Souza Camargo**  
**Co-Orientador: Prof. Dr. Erik Daemon de Souza Pinto**  
**(*in memoriam*)**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular).

Rio Claro  
Estado de São Paulo – Brasil  
Setembro - 2018

M433e      Matos, Renata da Silva

Estudo morfofisiológico das glândulas salivares, singânglio, órgão de Gené e ovários de fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) tratadas com diferentes concentrações de timol / Renata da Silva Matos. -- Rio Claro, 2018

191 f. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientador: Maria Izabel Souza Camargo

Coorientador: Erik Daemon de Souza Pinto Daemon de Souza Pinto

1. Morfologia. 2. Histopatologia. 3. Controle de *Rhipicephalus sanguineus*. 4. Estresse oxidativo. 5. Timol. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA TESE: ESTUDO MORFOFISIOLÓGICO DAS GLÂNDULAS SALIVARES, SINGÂNGLIO, ÓRGÃO DE GENÉ E OVÁRIOS DE FÊMEAS DE *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae) TRATADAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE TIMOL

AUTORA: RENATA DA SILVA MATOS

ORIENTADORA: MARIA IZABEL SOUZA CAMARGO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR), pela Comissão Examinadora:

  
Profa. Dra. MARIA IZABEL SOUZA CAMARGO  
Departamento de Biologia / IB Rio Claro

  
Profa. Dra. CECÍLIA JOSÉ VERÍSSIMO  
Laboratório de Referência em Biotecnologia da Produção Animal / Instituto de Zootecnia

  
Prof. Dr. ANDRÉ ARNOSTI  
x / x

  
Prof. Dr. THIAGO FERNANDES MARTINS  
Pós-Doutorando da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / USP

  
Profa. Dra. DÉBORA LAIS JUSTO JACOMINI  
x / Claretiano Faculdade

Rio Claro, 04 de setembro de 2018

**Dedicatória:**

Dedico esse trabalho aos animais que muito contribuem para a ciência.

## Agradecimento

**Muito obrigado à FAPESP pelo apoio financeiro ao projeto 2014/13143-7 e pela confiança em meu trabalho.**

Agradeço primeiramente à **Deus**, por essa tão valiosa oportunidade de aprendizado e evolução, pois com sua infinita bondade e sabedoria colocou em meu caminho as pessoas e as situações exatas que eram necessárias para o meu crescimento.

Agradeço aos meus pais **Manoel e Lúcia** que foram e sempre serão os meus maiores exemplos de força, determinação e humildade, me sinto honrada por terem me recebido como filha nessa jornada e por terem me educado com tanto amor e sabedoria.

Ao meu marido **Rodolfo**, agradeço por todo apoio, amor e dedicação, por ter sido meu alicerce em todos os momentos dessa vida.

Aos meus irmãos e suas famílias, obrigada por sempre me apoiarem e entenderem.

Agradeço a **Professora Doutora Maria Izabel Camargo-Mathias** pela generosidade com que me conduziu durante todo o doutorado..

Ao **Professor Doutor Erik Daemon**, por ter contribuído de maneira grandiosa na realização desse trabalho, como orientador e a todos do **Laboratório de Artrópodes Parasitos** em especial a **Paula Barroso Cruz Marchesini** e a **Camila Delmonte**.

Ao **Professor Doutor Caio Márcio de Oliveira**, pela grande contribuição na realização de várias etapas deste trabalho, sempre atento e generoso.

Ao **Professor Doutor Itabajara da Silva Vaz Júnior**, por ter me recebido gentilmente em seu laboratório colaborando na realização de importantes etapas deste trabalho, agradeço também a toda a sua equipe e em especial a **Gabriela Alves Sabadin** e **Marina Amaral Xavier** por toda a colaboração na execução dos experimentos.

Agradeço aos membros da banca, **Professora Doutora Cecília José Veríssimo**, **Professora Doutora Débora Jacomini**, **Doutor Thiago Fernandes Martins** e **Dr. André Arnosti** pelas contribuições.

Agradeço aos técnicos do Instituto de Biociências da Unesp de Rio Claro/SP **Cristiane**, **Gerson**, **Mônika**, **Senhor Antônio** e **Felipe** por toda a dedicação dispensada ao nosso dia-a-dia nos laboratórios e secretarias.

A todos os amigos do BCSTM em especial **Fredy**, **Bruno**, **Patty**, **Natália**, **Elen**, **Lu**, **Marina**, **Melissa** e **André**.

Muito obrigada a “**Família Furtado**” por todo apoio e amizade durante esses quatro anos, por terem me amparado por tantas vezes.

“Crê em ti mesmo, age e verás os resultados. Quando te esforças, a vida também se  
esforça para te ajudar”

**Chico Xavier**



## RESUMO

Os dados obtidos no presente trabalho comprovaram o potencial acaricida do timol nas concentrações de 1,25; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 mg/mL, visto que o produto foi capaz de provocar alterações morfofisiológicas no singânglio, glândulas salivares, órgão de Gené e ovários de fêmeas da espécie *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae). No singanglio das fêmeas expostas foram detectadas células da região do córtex com citoplasma vacuolizado e núcleos picnóticos. As glândulas salivares também foram alteradas, visto que os ácinos I apresentaram dilatação do lúmen, e os II e III apresentaram células com vacuolização citoplasmática e núcleos fragmentados. As fêmeas ingurgitadas quando foram expostas ao timol diluído nas concentrações de 10,0 e 20,0 mg/mL e tiveram o órgão de Gene analisado, mostraram a presença de glândulas tubulares e acessórias com vacuolização citoplasmática, núcleos com forma irregular e, as vezes, fragmentados ou com seu envoltório rompido. Algumas células tiveram seus limites também rompidos pela ação do produto, provavelmente depois de terem sofrido uma hipertrofia. As mesmas também, quando não foram rompidas, tiveram as invaginações tanto da membrana do labirinto basal quanto das membranas laterais desestruturadas. Ainda no órgão de Gené, o timol na concentração de 20,0 mg/mL provocou aumento na atividade das enzimas GST e caspase 3. Os ovócitos das fêmeas ingurgitadas também sofreram severos danos quando estas foram expostas ao timol principalmente nas concentrações de 10,0 e 20,0 mg/mL. Nestas células germinativas observou-se citoplasma vacuolizado, rompimento dos grânulos de vitelo e presença de mitocôndrias alteradas interna e externamente. A atividade da enzima SOD nos grupos expostos ao etanol 30%, e ao timol nas concentrações de 5,0; 10,0 e 20,0 foi inibida. Nas fêmeas expostas às concentrações de 5,0 e 10,0 mg/mL a atividade da enzima GST foi aumentada. Nas fêmeas expostas a 20,0 mg/mL houve aumento da atividade da caspase 3, o que confirmou que o timol desencadeou o processo de morte celular nestas células germinativas.

**Palavras-chaves:** Controle, histopatologia, caspase, morte celular, carrapato-marrom-do-cão.

## ABSTRACT

The results of this study demonstrated the acaricidal potential of thymol at the concentrations of 1.25; 2.5; 5.0, 10.0 and 20.0 mg/mL, once the product was capable of causing morphophysiological alterations in the synganglion, salivary glands, Gene's organ and ovaries of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) female ticks. The synganglion of the exposed females presented cells with vacuolated cytoplasm and pyknotic nuclei in the cortex region. The salivary glands presented alterations as well, acini I presented enlarged lumen, and the cells of acini II and III displayed cytoplasmic vacuolation and fragmented nuclei. The engorged females that had the Gene's organ analyzed and were exposed to diluted thymol at the concentrations of 10.0 and 20.0 mg/mL presented tubular accessory glands with cytoplasmic vacuolation and irregular nuclei, sometimes fragmented or with ruptured membrane. Some cells were ruptured by the action of the product, probably after having undergone hypertrophy. When not ruptured, these cells presented invaginations both in the basal lamina and in the unstructured lateral membranes. Additionally, the thymol concentration of 20.0 mg/mL caused an increase in caspase 3 and GST activities in the Gene's organ. The oocytes of the engorged females showed severe damages after exposed to thymol, mainly at the concentrations of 10.0 and 20.0 mg/mL, displaying vacuolated cytoplasm, ruptured yolk granules and internally and externally altered mitochondria. The activity of the enzyme SOD in the groups exposed to ethanol 30%, and to thymol at 5.0, 10.0 and 20.0 was inhibited. The females exposed to the concentrations of 5.0 and 10.0 mg/mL showed increased GST enzyme activity. Caspase 3 activity was increased in the females exposed to 20.0 mg/mL, which confirmed that thymol triggered the process of cell death in such germ cells.

**Key words:** Control, histopathology, caspase, cell death, brown dog tick

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>I</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>I</b>
<b>I. 1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
1.1 Carrapato <i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu lato (Acari: Ixodidae).....	<b>11</b>
1.2 Timol .....	<b>11</b>
1.3 Singânglio.....	<b>13</b>
1.4 Glândulas Salivares .....	<b>15</b>
1.5 Ovários .....	<b>16</b>
1.6 Órgão de Gené.....	<b>17</b>
1.7 Estresse oxidativo.....	<b>18</b>
1.8 Caspases e morte celular.....	<b>20</b>
<b>2.0 OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>22</b>
2.1 Objetivos específicos .....	<b>22</b>
<b>3.0 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
3.1 Obtenção das fêmeas de <i>R. sanguineus</i> s.l. ....	<b>24</b>
3.2 Preparação das soluções de timol .....	<b>25</b>
3.3 Exposição das fêmeas semi-ingurgitadas ao timol em diferentes concentrações	<b>25</b>
3.4 Exposição das fêmeas ingurgitadas ao timol em diferentes concentrações.	<b>26</b>
3.4.1 Testes de parâmetros biológicos.....	<b>26</b>
3.4.2 Análises estatísticas dos parâmetros biológicos .....	<b>27</b>
3.4.3 Imersão das fêmeas de <i>R. sanguineus</i> s.l. para análises de diferentes técnicas de microscopia.....	<b>27</b>
3.4.4 Microscopia de Luz Campo Claro (Brief Field – BF) – Histologia .....	<b>28</b>
3.5 Histoquímica - Técnica de von Kossa .....	<b>28</b>
3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	<b>29</b>
3.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	<b>29</b>
3.8 Ensaio enzimáticos.....	<b>30</b>
3.9.1 Superóxido dismutase (SOD) .....	<b>30</b>
3.9.2 Catalase (CAT) .....	<b>31</b>
3.9.3 Glutathione -S-transferase (GST).....	<b>31</b>
3.9.4 Caspase 3 .....	<b>32</b>
<b>4.0 RESULTADOS</b> .....	<b>34</b>

<b>CAPÍTULO 1:</b> .....	<b>37</b>
<b>TÍTULO: Thymol action on cells and tissues of the synganglia and salivary glands of <i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu lato females (Acari: Ixodidae)</b> .....	<b>37</b>
<b>CAPÍTULO 2:</b> .....	<b>62</b>
<b>TÍTULO: TIMOL: POTENCIAL ACARICIDA COM AÇÃO SOBRE AS CÉLULAS DO ÓRGÃO DE GENÉ DE FÊMEAS INGURGITADAS DE <i>RHIPICEPHALUS SANGUINEUS</i> SENSU LATO (ACARI: IXODIDAE)</b> .....	<b>62</b>
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>97</b>
<b>TÍTULO: Avaliação das alterações ultraestruturais e bioquímicas causadas pelo timol sobre as células do órgão de Gené de fêmeas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu lato (Acari: Ixodidae) a ele expostas.</b> .....	<b>97</b>
<b>CAPÍTULO 4:</b> .....	<b>123</b>
<b>TÍTULO: Inibição da vitelogênese nos ovócitos de fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu lato (Acari: Ixodidae) quando expostas ao timol em diferentes concentrações.</b> .....	<b>123</b>
<b>CAPÍTULO 5:</b> .....	<b>156</b>
<b>TÍTULO: Protecting the eggs</b> .....	<b>156</b>
<b>4- DISCUSSÃO GERAL</b> .....	<b>164</b>
<b>5- CONCLUSÕES</b> .....	<b>171</b>
<b>6- REFERÊNCIAS:</b> .....	<b>173</b>

---



## I. 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Carrapato *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae)

Os carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae) os quais têm o cão doméstico como seu hospedeiro preferencial, têm atualmente se tornado objeto de muitos estudos, uma vez que passaram a fazer parte dos ambientes urbano e doméstico, sendo aí introduzidos via animais pet, ou mesmo, via cães que têm outras participações como os cães de guia, por exemplo. Essa espécie de carrapato também é popularmente conhecida como carrapato-vermelho-do-cão (NAVA et al., 2014; DANTAS-TORRES, 2015).

Além da sua participação no ambiente urbano, estes artrópodes são importantes quando se trata da sanidade animal, visto os mesmos atuarem como vetores de diversos patógenos (*Ehrlichia canis*, *Babesia vogeli*, *Hepatozoon canis*), bem como já terem sido registrados como vetores da *Rickettsia rickettsii* em humanos de algumas regiões do EUA e do México, e serem classificados como potenciais vetores desta bactéria no Brasil, e ainda são comprovadamente vetor de *R. conorii* na região do Mediterrâneo (WOLDEHIWET, RISTIC, 1993; CUNHA et al., 2009; PACHECO et al., 2011; COSTA et al., 2011, 2012; SERRA-FEIRA et al., 2011; SZABÓ et al., 2013; NAVA et al., 2014; DANTAS-TORRES, 2015).

O controle de *R. sanguineus* s.l. vem sendo realizado via aplicação de acaricidas, diretamente nos animais, por meio de formulações spot-on e em pó, coleiras impregnadas, shampoos, sprays e, por banho de imersão. No entanto, o uso e a aplicação inadequados vem influenciando na seleção de carrapatos resistentes, na persistência de resíduos no meio ambiente, além de estarem causando riscos para os organismos ditos não alvos (CHAGAS, 2004; MIRESMAILLI et al., 2006; MILLER et al., 2001; MARTINS et al., 2006). Diante disso, torna-se urgente a necessidade da realização de pesquisas que busquem novas estratégias de controle que sejam eficientes, porém que provoquem prejuízos mínimos ao homem, aos hospedeiros e ao meio ambiente.

### 1.2 Timol

Dentro da perspectiva e busca de novas alternativas de controle de carrapatos que sejam também sustentáveis, as substâncias de origem vegetal vêm sendo amplamente

estudadas (GEORGE et al., 2014), com destaque para o timol (= 5metil – 2 isopropil – 1-fenol), um monoterpene refringente, volátil, extraído de plantas das famílias Lamiaceae e Apiaceae, o qual já demonstrou ser eficiente no controle de bactérias, insetos, fungos e moluscos (IMDORF et al., 1995; PASTEUR et al., 1995; MANSOUR et al., 2000; JI et al., 2005; CALVET et al., 2005; FERREIRA et al., 2009).

Especificamente como agente do controle de carrapatos, a eficácia do timol foi avaliada em diferentes espécies e estágios deste ectoparasita, em estudos realizados com ovos, estágios imaturos alimentados e não alimentados, assim como em fêmeas ingurgitadas das espécies *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *R. sanguineus* s. l., *Amblyomma sculptum* sendo lato e *Dermacentor nitens* (NOVELINO et al., 2007a,b; MONTEIRO et al., 2009; 2010; SCORALIK et al., 2012; MATOS et al., 2014a; MENDES et al., 2011; DAEMON et al., 2012a; SENRA et al., 2013a, b; ARAÚJO et al., 2015, 2016).

A maioria dos estudos mostrou que o timol teria elevada eficácia para as espécies avaliadas, diferindo do que foi observado para *R. sanguineus* s.l., que de acordo com Daemon et al. (2009) causou apenas 47% de mortalidade de fêmeas da espécie *R. sanguineus* s.l. ingurgitadas quando expostas à concentração de 2%. Porém, para os estágios imaturos (larvas e ninfas), foi observada 100% de mortalidade para essa mesma concentração (DAEMON et al., 2009; SENRA et al., 2013a).

Segundo estudos conduzidos por Scoralik et al. (2012) e Daemon et al. (2012b) o timol poderia ter sua ação potencializada quando diluído em etanol, o que explicaria os diferentes resultados encontrados por Senra et al., (2013b), que utilizaram o timol diluído em etanol 50%. Outro fator que poderia influenciar seria a intensidade da sensibilidade de cada estágio de desenvolvimento do carrapato, citando novamente os experimentos de Senra et al. (2013b) que avaliaram apenas estágios imaturos, ressaltando assim que os diferentes métodos de solubilização poderiam estar potencializando ou minimizando a ação do timol.

Outros estudos conduzidos por Matos et al. (2014b) avaliaram os efeitos histopatológicos do timol solubilizado em etanol 30%, sobre os ovários de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* s.l. Os autores observaram que em doses subletais (1,25; 2,5; 5,0 mg/mL) esta substância provocou o surgimento de vacúolos citoplasmáticos, além de invaginações e deformações nos limites celulares, bem como danos no cório dos ovócitos, demonstrando que esta molécula teria potencial para alterar os sistemas internos de fêmeas adultas desta espécie.

O estudo mais recente tratando desta temática foi desenvolvido por Delmonte et al. (2017) que incorporaram o timol em uma formulação a base de água-em-óleo (semente de

uva) e também de água-em-álcool 50%, expondo a estes diferentes estágios de *R. sanguineus* s.l.. Os resultados demonstraram que quando incorporado em óleo de semente de uva o timol, nas concentrações de 0,75 e 5,0 mg/mL, causou mortalidade acima de 90% nas larvas e nas ninfas ingurgitadas. Para a formulação água e etanol (50%) os resultados também foram animadores quando se considerou os estágios de ninfa e de larva não ingurgitadas, pois apresentaram índices de mortalidade de 88,1% e 91,0% em timol incorporado na formulação hidroetanólica nas concentrações de 2,5 e 1,0 mg/mL, respectivamente.

Independente do fato já comprovado de que o timol tenha potencial para agir como um acaricida, pouco ainda é conhecido da sua ação sobre a morfofisiologia dos sistemas internos dos carrapatos a ele expostos, ficando destacada a necessidade de estudos que demonstrem como esse princípio ativo altera suas células e tecidos, além de se detectar a ocorrência de diferentes respostas às exposições, em vista da susceptibilidade de cada um dos estágios biológicos do ectoparasita, para assim poder-se avaliar qual seria o melhor método de solubilização, ou seja, aquele que permitiria otimizar a ação desse princípio ativo. Obter essa informação poderia auxiliar na busca de uma nova alternativa de controle de carrapatos.

### 1.3 Singânglio

O sistema nervoso dos carrapatos, representado pelo singânglio, é o responsável por coordenar o metabolismo destes animais, incluindo o perfeito funcionamento de seus órgãos vitais, sendo de grande importância para a sobrevivência da espécie, incluindo o sucesso da reprodução e da alimentação (IVANOV, 1983). Este órgão envia estímulos para a liberação de hormônios que terão importante ação nos processos de ecdise, acasalamento, reprodução, alimentação, síntese e secreção de substâncias importantes para o metabolismo dos carrapatos. Segundo Simo et al (2009) existe uma complexa rede neuropeptidérgica que atinge os diferentes tecidos em todo o corpo dos carrapatos e que tem origem no interior do singânglio. No entanto, ainda são poucos os estudos que demonstram como ocorrem os processos moleculares que controlam as diferentes funções (POUND; OLIVER, 1984; MARZOUK et al., 1985)

Os carrapatos Ixodidae possuem o sistema nervoso morfológicamente similar, ou seja, está composto por uma massa compacta de células a partir da qual se formam muitos gânglios e nervos que irão chegar as diferentes partes do corpo. O singânglio está localizado na região ventral, entre o gnatossoma e o poro genital, mais especificamente entre o primeiro e o segundo pares de pernas. O esôfago divide o singânglio em duas regiões distintas

denominadas de: a) supraesofágica de onde partem os nervos que controlam as funções sistêmicas da faringe, esôfago, parte das glândulas salivares, bem como o movimento das quelíceras e b) subesofageal, responsável por controlar a maioria dos órgãos internos, como o sistema reprodutor, digestório, os movimentos das pernas e dos músculos em geral (ROSHDY, MARZOUK, 1984; PRULLAGE et al., 1992; ROMA et al., 2012; SONENSHINE, 2013).

De acordo com Sonenshine (2013), Prullage et al. (1992) e Roma et al. (2012) o singânglio está revestido externamente por uma camada acelular denominada neurilema que tem permeabilidade seletiva e pode assim controlar a difusão de íons e de outros elementos, agindo no controle do que entra e sai do órgão, como se fosse uma barreira de proteção (MARZOUK et al., 2001). Quando existem alterações nos canais de sódio da membrana das células do singânglio, ocorre uma mudança na sensibilidade neural dos carrapatos, o que pode também desencadear a resistência à maioria das bases químicas acaricidas (FURLONG, MARTINS, PRATA, 2007; SANTOS, AREAS, REYES, 2007). Destaque-se que a localização do singânglio na cavidade periganglionar do corpo do carrapato facilita o irrigamento constante do órgão pela hemolinfa, o que permite a absorção e ou a secreção de substâncias nela oriundas/liberadas (COONS; ALBERTI, 1999; LEES; BOWMAN, 2007).

Nos estudos desenvolvidos por Roma et al. (2013) que descreveram a ação da permetrina no sistema nervoso de *R. sanguineus* s.l. ficou demonstrado que este princípio ativo teria potencial de induzir a degeneração deste tecido, provocando a morte celular por apoptose/autofagia, processos estes confirmados pela observação no tecido nervoso de núcleos com cromatina condensada e marginalizada, pela presença de blebs no envoltório nuclear das células, bem como pela presença de núcleos fragmentados dispersos pelo tecido.

Outros autores como Remédio et al. (2014) avaliaram os efeitos do extrato aquoso de *Azadirachta indica* A. juss (nem) sobre o singânglio de fêmeas semi-ingurgitadas de *R. sanguineus* s.l., e observaram que a exposição às concentrações de 0,1% e 0,2% causaram danos ao tecido nervoso, representados pelo surgimento de áreas vacuolizadas nas células do córtex e da bainha periganglionar.

Outros estudos conduzidos por autores como Pereira et al. (2017) que expuseram fêmeas não alimentadas de *R. sanguineus* s.l. à deltametrina revelaram a neurotoxicidade deste composto, por meio da observação de células do córtex com núcleos picnóticos e/ou hipertrofiados e, ainda nas maiores concentrações, a desorganização estrutural da região neuropíllica, bem como a ruptura do neurilema e do subperineuro.

## 1.4 Glândulas Salivares

As glândulas salivares são importantes órgãos para a sobrevivência e reprodução dos carrapatos, uma vez que a sua integridade é fator limitante para o sucesso do processo de alimentação (CAMARGO-MATHIAS, 2012). A liberação e produção de substâncias por esses órgãos auxiliam: na fixação do ectoparasita aos hospedeiros (MOORHOUSE, TATCHELL, 1966), na osmorregulação (SONENSHINE, 2013), na inibição dos mecanismos de defesa do hospedeiro, bem como nos processos de coagulação e de inflamação (NUTTAL, STRICKLAND, 1908; PAESEN et al., 1999). São ainda responsáveis pela digestão dos tecidos do próprio hospedeiro quando da fixação do ectoparasita (WALKER et al., 1985).

As glândulas salivares ocorrem aos pares na cavidade do corpo, sendo formadas por cerca de 1.400 ácidos (WALKER et al., 1985). Nas fêmeas estão presentes os ácidos I, II e III e nos machos, além destes, também se observa os ácidos do tipo IV (BINNINGTON, 1978; BINNINGTON, STONE, 1981; FURQUIM et al., 2008). Cada tipo de ácido tem função e composição celular específica, sendo aqueles do tipo I classificados como agranulares e com função de controlar o balanço hídrico dos carrapatos (BINNINGTON, 1978; FAWCETT et al., 1986; WALKER et al., 1985; GILL, WALKER, 1987; OLIVIERI, SERRA-FREIRE, 1992; SERRA-FREIRE, OLIVIERI, 1993). Os II e III são classificados como granulares e constituídos por diversos tipos de células que estão envolvidas na produção e na secreção de diversos componentes (BINNINGTON, 1978; WALKER et al., 1985). Os do tipo IV, que só ocorrem nos machos, tem função de secretar moléculas que irão contribuir na fixação e na digestão de tecidos do hospedeiro e possivelmente contribuir no processo de reprodução (SAUER et al., 2000)

Diante da importância das glândulas salivares para a alimentação e reprodução dos carrapatos estudos toxicológicos têm buscado demonstrar como as diversas formulações acaricidas interferem na morfofisiologia desses órgãos. Os estudos de Pereira et al. (2009) demonstraram os efeitos do fipronil nas glândulas salivares de fêmeas não ingurgitadas e semi-ingurgitadas de *R. sanguineus* s.l., expostas às diversas concentrações deste químico sintético e mostraram a ocorrência de dilatação no lúmen nos ácidos I, sugerindo que os mesmos estivessem tentando eliminar o composto tóxico do sistema interno do indivíduo.

Com foco na efetividade e na sustentabilidade, atualmente a busca por produtos acaricidas que reúnam essas duas qualidades tem sido intensa. Vários pesquisadores já vêm demonstrando que compostos naturais têm potencial acaricida, como por exemplo, os ésteres do óleo de *Ricinus communis* (mamona) que em fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* s.l.

quando expostas a ele tiveram suas glândulas salivares sofrendo degeneração prematura. Os autores concluíram então que apesar do produto não causar a morte dos carrapatos os impossibilitou de concluir o seu processo de alimentação (ARNOSTI et al., 2011).

### 1.5 Ovários

O sistema reprodutor feminino dos ixodídeos se encontra localizado na região anteroposterior do corpo e estão constituídos por um ovário com formato de ferradura, útero, vagina e um par de glândulas acessórias que se ligam à abertura genital (SONENSHINE, 2013; DERNARDI et al., 2004; SAITO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2008)

Os ovários são do tipo panoístico, não possuem células nutridoras nem foliculares como descrito para os insetos (DENARDI et al., 2004). Os ovócitos aí produzidos ligam-se aos ovários por uma estrutura celular denominada pedicelo que, além de fixar as células germinativas à parede epitelial do órgão, ainda auxilia no desenvolvimento dos mesmos atuando na síntese e liberação de elementos do vitelo para o ovócito (endógeno), além de participarem do transporte de elementos oriundos da hemolinfa para o interior desta célula germinativa (exógeno). Os ovócitos passam por diversos estágios de desenvolvimento até estarem completamente maduros e prontos para serem ovipositados (SONENSHINE, 2013; DERNARDI et al., 2004; SAITO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2008).

Estudos histopatológicos mostraram a ação de diversos produtos acaricidas sobre os ovários da espécie *R. sanguineus* s.l.. Oliveira et al. (2008; 2009) avaliaram os efeitos do fipronil em fêmeas semi-ingurgitadas e observaram o surgimento de vacúolos citoplasmáticos, bem como morte dos ovócitos que não conseguiram atingir os estágios de desenvolvimento mais avançados. Roma et al. (2011), em exposições de fêmeas semi-ingurgitadas à permetrina registraram significativas alterações nos ovócitos, como o surgimento de vacúolos e a diminuição no tamanho dos grânulos de vitelo, resultando em morte celular e consequente queda de fertilidade da fêmea.

Exposição de carrapatos a produtos de origem natural foram realizados e aqueles conduzidos por Denardi et al. (2010; 2011) revelaram os efeitos causados pelo extrato aquoso de *Azadirachta indica* A. juss (neem) na vitelogênese de carrapatos *R. sanguineus* s.l., quando demonstraram que a concentração mais baixa (10%) causou intensa vacuolização no citoplasma do ovócito, além de fragmentação e alterações na forma da vesícula germinal. Arnosti et al., (2011) avaliaram os efeitos dos ésteres do óleo de *R. communis*, sobre a vitelogênese de carrapatos *R. sanguineus* s.l.. Nesse trabalho os autores alimentaram os

hospedeiros (coelhos) infestados com essa espécie de ectoparasitas com ração enriquecida com esses ésteres, e verificaram o surgimento de alterações citoplasmáticas nos ovócitos as quais viriam a impedir o desenvolvimento destas células germinativas.

Matos et al. (2014b) avaliaram os efeitos do timol sobre os ovários de fêmeas de *R. sanguineus* s.l., e observaram que em concentrações subletais (1,25; 2,5 e 5,0 mg/mL), houve o surgimento de vacúolos citoplasmáticos, invaginações do limite celular, além de danos ao cório.

## 1.6 Órgão de Gené

Juntamente com os ovários, para o sucesso reprodutivo dos carrapatos, é necessário o perfeito desenvolvimento e funcionamento do órgão de Gené, exclusivo das fêmeas de carrapatos e caracterizado por ser um conjunto de três diferentes tipos de glândulas: tubulares, acessórias e lobadas, todas com a função de produzir secreções impermeabilizantes dos ovos (cera e secreções lipídicas) que irão agir como barreira de proteção aos mesmos contra a dessecação, predação e contaminação por patógenos, além de mantê-los unidos (agregados) (LESS, BEAMENT, 1948; TILL, 1961; NELSON, SUKKESTAD, 1970; CHERRY, 1976; HOWARD, BLOMQUIST, 1982; BOOTH, 1992; KAKUDA et al., 1992; SIEBERZ, GOTHE, 2000).

Estudos descrevendo a morfologia deste órgão já foram realizados fazendo uso de ferramentas como a microscopia eletrônica de varredura (MEV), de transmissão (MET) e de luz nas espécies *Boophilus microplus* (BOOTH et al., 1984; BOOTH, 1989), *Dermacentor reticulatus* (SCHÖL, 2001), *Hyalomma dromedarii* (EL SHOURA, 1987), *Haemaphysalis longicornis* (KAKUDA et al., 1992) e *Amblyomma sculptum* sensu lato (SANTOS et al., 2018). De acordo com as observações de Lees e Beament (1948), Booth et al. (1984), El Shoura (1987) e El Shoura (1988), para todas as espécies estudadas até o momento, a estrutura básica do órgão foi similar. As glândulas tubulares também chamadas de tentáculos encontram-se associadas às acessórias, estas últimas constituídas por ácidos. As tubulares estão localizadas na parte anterior do corpo, são contínuas com o apêndice cuticular prorrogável e são compostas por um epitélio colunar simples cujas células apresentam gotículas lipídicas no citoplasma. A disposição das mesmas é tal que se observa a formação de um lúmen secretor central (BOOTH, 1992; KAKUDA et al. 1992).

## 1.7 Estresse oxidativo

Nos seres vivos quando as células se encontram em condições de homeostase observa-se um equilíbrio entre os agentes pró-oxidantes e as moléculas capazes de contornar este fenômeno, conhecidas por atuarem no sistema de defesa antioxidante, garantindo o funcionamento do equilíbrio redox. No entanto, quando existe um desequilíbrio na homeostase celular e, a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) é maior do que o número de moléculas antioxidantes disponível para correção dos danos celulares, ocorre o chamado estresse oxidativo (DANDAPAT et al., 2003).

Estudos que tratam dos mecanismos de defesa e resistência desenvolvidos pelos carrapatos vêm sendo realizados e entre os objetivos está aquele que tenta elucidar os mecanismos de combate ao estresse oxidativo. Segundo a literatura são conhecidos dois sistemas que podem atuar contra o estresse oxidativo: o de “ação não enzimática” e o de “ação enzimática” (DANDAPAT et al., 2003; VALKO et al., 2006).

De acordo com Valko et al. (2006) um antioxidante para ser considerado eficiente deve ser capaz de atuar especificamente sobre os radicais livres, quelar metais com participação no sistema redox, ser capaz de interagir (regenerar) com outros antioxidantes dentro da “rede antioxidante”, ter efeito positivo na expressão gênica, ser prontamente metabolizado pelas células e ter uma concentração em tecidos e biofluidos a um nível fisiologicamente relevante.

De acordo com a literatura, as enzimas envolvidas no sistema enzimático de combate ao stress oxidativo podem atuar no equilíbrio fisiológico, pois as mesmas combatem os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs), assim como também exercem importante função na detoxicação de xenobióticos (DANDAPAT et al., 2003; AGIANIAN et al., 2003; SABADIN et al., 2017). Algumas das principais enzimas que atuam neste sistema são a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathiona-s-transferase (GST) (FEYEREISEN et al., 1989; HEMINGWAY, 2002; KETTERER et al., 1983; DANDAPAT et al., 2003).

A superóxido dismutase (SOD) é capaz de converter o radical ânion superóxido em peróxido de hidrogênio e água, visando à proteção do organismo contra radicais tóxicos produzidos durante o metabolismo. A catalase (CAT) pode ser encontrada dentro dos peroxissomos e tem altas taxas de conversão de moléculas  $H_2O_2$  em oxigênio e água, podendo chegar a 6 milhões de moléculas/minuto (VALKO ET AL., 2006). As glutathiona-s-transferase (GSTs) são detoxificantes e através da conjugação com a glutathiona reduzida protegem a

célula contra metabólicos endo e exógenos (SALINAS, WONG, 1999; LEE et al., 2002; ROSA DE LIMA et al., 2002; AGIANIAN et al., 2003; DA SILVA VAZ Jr et al., 2004) .

Estudos buscaram conhecer a participação das enzimas antioxidantes no sistema de defesa dos carrapatos. A superóxido dismutase (SODs) é essencial para a proteção das células contra os produtos tóxicos gerados pelo metabolismo, catalisam a conversão de radicais superóxido em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio, que será decomposto pela catalase em água e oxigênio (BAO et al., 2009; GHOSH et al., 2010; TEREVINTO et al., 2010).

A presença de SODs e catalase foi estudada em hemócitos infectados com bactérias no carrapato da espécie *R. (Boophilus) microplus* quando observou-se aumento da sua atividade na diminuição de moléculas antioxidantes (PEREIRA et al., 2001). De acordo com Narasimhan et al. (2007) a SODs exerceria papel importante na contaminação de carrapatos por agentes causadores da doença de Lyme durante o repasto sanguíneo em vertebrados, uma vez que esta bactéria se valeria do mecanismo antioxidante da enzima para conseguir se instalar nas células dos carrapatos.

A catalase é uma enzima antioxidante que desempenha papel fundamental na proteção das células, facilitando a degradação das moléculas de  $H_2O_2$  em oxigênio e água (BOON et al., 1978; KOBAYASHI et al., 2006; DASH, PHILLIPS, 2012). Freitas et al. (2006) observaram o aumento na atividade da catalase durante a embriogênese e o desenvolvimento larval da espécie *R. (Boophilus) microplus*. Em larvas de *H. dromedarii* a presença dessa enzima foi demonstrada por Ibrahim, Ghazy, Masoud (2015). Kumar et al. (2016) demonstraram a importância da catalase no sistema redox e na homeostase na espécie *A. maculatum* pois na presença de um inibidor desta enzima as taxas de eclosão foram significativamente reduzidas. Citelli et al. (2007) demonstraram que carrapatos da espécie *R. (Boophilus) microplus* quando receberam inibidores (3-amino-1,2,4-triazol (AT)) de catalase, apresentaram aumento nos níveis de  $H_2O_2$  no intestino que ainda apresentou células morfológicamente alteradas e conseqüentemente menores tempos de sobrevivência e índices de postura, confirmando que o estudo da catalase poderia colaborar na busca por novas alternativas de controle de carrapatos.

A glutationa-S-transferase (GST) está diretamente ligada ao transporte intracelular, processos digestivos, síntese de prostaglandinas e, principalmente na detoxificação de substâncias endógenas/exógenas e proteção contra o estresse oxidativo (LEE et al., 2002 e ROSA-DE-LIMA et al., 2002). Sua participação nos mecanismos de detoxificação dos acaricidas em carrapatos das espécies *H. longicornis* e *Rhipicephalus appendiculatus* foi

demonstrada quando estes foram expostos aos princípios ativos etion, deltametrina e diazinon, causando nos espécimes a diminuição dos níveis de expressão destas enzimas (DA SILVA VAZ Jr. et al., 2004a). Da Silva Vaz Jr. et al. (2004b) também avaliaram os efeitos da ativação das GSTs em carrapatos *R. (B.) microplus* expostos à diferentes acaricidas (etion, amitraz, clorpirifos, DDT, cipermetrina, diazinona, ivermectina, deltametrina e flumetrina) os quais inibiam a ação desta enzima. Contrariamente a enzima era ativada quando se realizava a exposição ao acaricida coumafos.

### 1.8 Caspases e morte celular

As caspases exercem importante papel nos processos de morte e diferenciação celular. Pertencem à família das cisteínas proteases e são sintetizadas como precursores que serão ativados após um sinal de morte. Elas reconhecem e clivam proteínas com resíduos de aspartato, levando as células à fragmentação nuclear e a externalização de fosfolípidos de membrana, os quais irão servir de sinalizadores para macrófagos (NICHOLSON, THORNBERRY, 1997; BOATRIGT, SALVESEN, 2003; BELL, MEGENEY, 2017).

As caspases podem ser classificadas em iniciadoras as quais possuem pró-domínios longos e estão envolvidas na ativação de cascata proteolítica, e as efetoras, que apresentam pró-domínios curtos ou até mesmo não os apresentam e estão envolvidas na clivagem de diferentes substratos, como o mdm-2 (murine double minute) (RUPNARAIN et al., 2004; SCHULER et al., 2003). De acordo com a literatura as caspases podem ser ativadas por espécies reativas de oxigênio (EROS) (HENGARTNER, 2000; LUM et al., 2005).

Em relação aos carrapatos, registra-se que as caspases exercem importantes funções no metabolismo de defesa de patógenos e também no metabolismo de órgãos como as glândulas salivares. Freitas et al. (2007) demonstraram a presença de caspase 3 nas glândulas salivares e nos ovários de *R. (Boophilus) microplus* depois de 48 e 72 h após a remoção do carrapato do hospedeiro, comprovando que os processos de apoptose contribuem para a manutenção dos tecidos.



## 5- CONCLUSÕES

- A) O timol nas concentrações de 1,25; 2,5 e 5,0 foi capaz de causar danos morfológicos no singânglio das fêmeas semi-ingurgitadas da espécie *R. sanguineus* s.l. Danificou as células das glândulas salivares provocando a dilatação do lumen dos ácinos do tipo I responsáveis pela osmorregulação dos carrapatos. Nos ácinos II provocou alterações que indicaram ocorrência de morte celular.
- B) O timol diluído em etanol 30% mostrou índice de eficácia de controle 98% das fêmeas ingurgitadas quando estas foram expostas a concentração 20,0 mg/mL.
- C) Na concentração de 10,0 mg/mL o percentual de controle foi de 63%, e nas demais concentrações de 1,25; 2,5 e 5,0 mg/mL, o percentual de controle foi inferior a 25%.
- D) As análises morfológicas indicaram que o órgão de Gené nas exposições as concentrações de 10,0 e 20,0 mg/mL de timol, teve suas glândulas tubulares e acessórias alteradas, principalmente com relação às membranas laterais e do labirinto basal o que provocou perda da aderência entre as células, bem como diminuição da eficiência do transporte ativo das mesmas,
- E) O timol interferiu nos mecanismos de defesa ao estresse oxidativo das células do órgão de Gené devido a alta atividade da enzima GST na exposição à concentração de 20,0 mg/mL.
- F) O timol alterou morfológicamente as células germinativas principalmente quando as fêmeas foram expostas as concentrações de 10,0 e 20,0 mg/mL, inviabilizando a formação de um novo indivíduo.
- G) O timol nas concentrações de 5,0 e 10,0 mg/mL provocou maior atividade da enzima GST responsável pela inibição do estresse oxidativo e detoxificação de xenobióticos,.
- H) A enzima caspase 3 esteve com maior atividade nos ovócitos das fêmeas expostas ao timol na concentração 20,0 mg/mL, o que provocou a morte das células germinativas de fêmeas de *R. sanguineus* s.l.



**6- REFERÊNCIAS:**

AEBI, H.1984. Catalase in vitro. **Methods Enzymology**, v.105, p.121-126, 1984.

AGIANIAN, B.; TUCKER, P.A.; SCHOUTEN, A.; LEONARD, K.; BULLARD, B.; GROS, P. Structure of a *Drosophila* Sigma Class Glutathione S-transferase Reveals a Novel Active Site Topography Suited for Lipid Peroxidation Products. **Journal of Molecular Biology**, v. 326, p. 151-165, 2003.

AHMAD, A.; KHAN, A.; AKHTAR, F.; YOUSUF, S.; XESS, I.; KHAN, L.A.; MANZOOR, N. Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 30, p. 41-50, 2011.

AGUILAR-DÍAZ, H.; ESQUIVEL-VELÁZQUEZ, M.; QUIROZ-CASTAÑEDA, R.E.; MIRANDA-MIRANDA, E.; CONDE-BAEYE, R.J.P.; COBAXÍN-CÁRDENAS, M.; OSTOA-SALOMA, P.; COSSÍO-BAYÚGAR, P. Comparative Hemolymph Proteomic and Enzymatic Analyses of Two Strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Ticks Resistant and Susceptible to Ixodocides. **BioMed Research International**, v. 2018, p.16, 2018.

ARAÚJO, R. P., NAVARRO, M. B. M.A., CARDOSO, T. A. O. Febre maculosa no Brasil: estudo da mortalidade para a vigilância epidemiológica. **Caderno Saúde Coletiva**, v. 23, p.354-361, 2015a

ARAÚJO, L.X., NOVATO, T.P.L., ZERINGOTA, V., MATOS, R.S., SENRA, T.O.S., MATURANO, R., PRATA, M.C.A., DAEMON, E., MONTEIRO, C.M.O. Acaricidal activity of thymol against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) under semi-natural conditions. **Parasitology Research**, v.114, p.3271-3276, 2015b.

ARAÚJO, L.X., NOVATO, T., ZERINGOTA, V., MATURANO, R., MELO, D.R., SILVA, B.C., DAEMON, E., CARVALHO, M.G., MONTEIRO, C.M.O. 2016. Synergism of thymol, carvacrol and eugenol on larvae of cattle tick, *Rhipicephalus microplus* and brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Med. and Vet. Entomol.* 30, 377-382, 2016.

ARNOSTI, A.; BRIENZA, P.D.; FURQUIM, K.C.S.; CHIERICE, G.O.; CLARONETO, S.; BECHARA, G.H.; SAMPIERI, B.R.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Effects of *Ricinus communis* oil esters on salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari:Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 127, p. 569-574, 2011.

- ARRUDA, W.; CAVASIN, G. M. ; SILVA, I. G. . Estudo ultra-estrutural do efeito da toxicidade do extrato da *Magonia pubescens* (St. Hil.) no mesêntero de larvas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Revista de Patologia Tropical* (Impresso), v. 37, p. 255-267, 2008.
- AYRES, M.; AYRES, M.J.; AYRES, D.L.; SANTOS, S.A. *BioEstat 5,0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. Brasília: **Sociedade Civil Mamirauá**, 2007.
- BALASHOV, Y.S. A., 1972. Translation of bloodsucking ticks (Ixodidae) vectors of diseases of man and animals. *misc. publ. entomol. societ. am.* [S.1], 8, 159-376.
- BAO, Y., LI, L., XU, F., ZHANG, G. Intracellular copper/zinc superoxide dismutase from bay scallop *Argopecten irradians*: its gene structure, mRNA expression and recombinant protein. ***Fish Shellfish Immunology***, v.27, p.210-220, 2009.
- BECHARA, G.H.; SZABÓ, M.P.J.; FERREIRA, B.R.; GARCIA, M.V. *Rhipicephalus sanguineus* tick in Brazil: Feeding and reproductive aspects under laboratorial conditions. ***Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária***, v. 4:61-66, 1995.
- BELL, R. A.V.; MEGENEY, L.A. Evolution of caspase-mediated cell death and differentiation: twins separated at birth. ***Nature***, v. 24, 1359-1368, 2017.
- BENNET, G.F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae). I. Influence of ticks size on egg production. *Acarologia*, Paris, v. 16 (1), p. 52-61, 1974.
- BINNINGTON, K.C. Sequential changes in salivary gland structure during attachment and feeding of the cattletick, *Boophilus microplus*. ***International Journal Parasitology***, v.8, p. 97-115, 1978.
- BINNINGTON, K. C.; STONE, B. F. Developmental changes in morphology and toxin content of the salivary gland of the australian paralysis tick *Ixodes holocyclus*. ***International Journal for Parasitology***, v11(5), p.343-351, 1981.
- BLENAU, W., RADEMACHER, E., BAUMANN, A. Plant essential oils and formamidines as insecticides/acaricides: what are the molecular targets? ***Apidologie***. v.43, p.334-347, 2012.

- BOATRIGHT, K.M.; SALVESEN, G.S. Mechanisms of caspase activation. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 15, p.725-31, 2003.
- BOON, E.M.; DOWNS, A.; MARCEY, D.. Mechanism of catalase in hydrogen peroxide, **Physiological Reviews**, v.13, p. 87-80, 1978.
- BOOTH, I. F.; BEADLE, D. J.; RICHARD, J. H. Ultrastructure of the accessory glands of Gene's organ in the cattle tick, *Boophilus*. **Tissue & Cell**, v. 16 (4), p. 589-599, 1984.
- BOOTH, T.F., BEADLE, D.J. AND HART,. R.J.1986. The effects of precocene treatment on egg wax production in Gené's organ and egg viability in the cattle tick *Boophilus microplus*: an ultrastructural study. *Experimental. Applied. Acarology.*, v.2, p.187-198, 1986.
- BOOTH, T. F. Wax lipid secretion and ultrastructural development in the egg-waxing (Gene's) organ in Ixodid ticks. **Tissue & Cell**, v.21(1), p. 113-122, 1989.
- BOOTH. T. F. Observation on the composition and biosynthesis of egg wax lipids in the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Experimental & Applied Acarology**, v.14, p.137-149, 1992.
- BORGES, L. M. F.; SOARES, S. F.; FONSECA, I. N.; CHAVES, V. V.; LOULY, C. C. B. Resistência acaricida em larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari:Ixodidae) de Goiânia-GO, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 36, n. 1, p. 87-95, 2007.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- CALVET,C.; PINOCHET, J.; CAMPRUBI, A.; ESTAUN,V.; RODRIGUEZ-KABANA,R. Evaluation of natural chemical compounds against ootlesion and root-knot nematodes and side-effects on the infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi. **European Journal Plant Pathology**, v.107, p. 601-605, 2005.
- CAMARGO-MATHIAS, I. 2012. Comparative Results of Action of Natural and Synthetic Acaricides in Reproductive and Salivar Systems of *Rhipicephalus sanguineus*- Searching by a Sustainable ticks control . In: Farzana Perveen. (Org.). Insecticides- Advantages in integrated pest management. 1ed. Rijeka Croatia: In Tech Open, 2011, v. x, p. 391-410.
- CAPERUCCI, D; BECHARA, G. H.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. . Ultrastructure features of the midgut of the female adult *Amblyomma cajennense* ticks Fabricius, 1787

(Acari: Ixodidae) in several feeding stages and subjected to three infestations.. *Micron* (Oxford. 1993), v. 41, p. 710-721, 2010.

CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p. 156-160, 2004.

CHERRY, L. M. Utilization of cholesterol by the cattle tick *Boophilus microplus*: cholesterol economy in the engorged female adult. **Insect biochemistry**, v. 6, p.587-594, 1976.

CITELLI, M.; LARA, F. A.; VAZ-JR, I.S.; OLIVEIRA, P.L. Oxidative stress impairs heme detoxification in the midgut of the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Molecular & Biochemical Parasitology**, v. 151 p.81-88, 2007.

COONS, L.B., ROSHDY, M.A., AXTELL, R.C. Fine structure of the salivary glands of unfed *Dermacentor variabilis*. **Journal. Parasitology**, v. 59, p.900-12, 1973.

COONS, L.B.; ALBERTI, G. The acari-ticks. In: Harrison FW, Foelix R (eds) **Microscopic anatomy of invertebrates**, Chelicerate Arthropoda. Wiley-Liss, New York, pp 267-514, 1999.

COSTA, L.F.S., NUNES, P.H., SOARES, J. F., LABRUNA, M.B.; CAMARGO-MATHIAS, I. Distribution of *Rickettsia rickettsii* in ovary cells of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille 1806) (Acari: Ixodidae). **Parasite Vector**. 222, 2-6, 2011.

COSTA, L. F. S. **Disseminação de *Rickettsia rickettsii* nas glândulas salivares e ovários de fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* (latreille 1806) (acari:ixodidae) por meio da aplicação de técnicas morfológicas**. 2012. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista (UNESP-Rio Claro/SP).

CUNHA, C.N., FONSECA, A.H., REZENDE, J., ROZENTAL, T., FAVACHO, A.R.M., BARREIRA, J.D., MASSARD, C.L., LEMOS, E.R.S. First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. *Pesq. Vet. Bras.* 29, 105-108, 2009.

DAEMON, E.; MONTEIRO, C.M.O.; ROSA, L.S.; CLEMENTE, M.A.; ARCOVERDE, A. Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 105, p.495-497, 2009.

DAEMON, E., MATURANO, R., MONTEIRO, C.M.O., SCORALIK, M. G., MASSONI, T.. Acaricidal activity of hydraethanolic formulations of thymol against *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. **Veterinary Parasitology**, v.186, p.542-545, 2012a.

DAEMON, E.; MONTEIRO CM, MATURANO, R.; SENRA, T.O.S.; CALMON, F.; FAZA, A.; PRATA, M.C.A.; GEORGOPOULOS, S.L.; OLIVEIRA, L.F. Spectroscopic evaluation of thymol dissolved by different methods and influence on acaricidal activity against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.111, p.1901-1906, 2012b.

DANDAPAT, J.; CHAINY, G.B.; RAO, K.J. Lipid peroxidation and antioxiant defense status during larval development and metamorphosis of giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Comp. Biochem. Physiol.** v. 135, p. 221-233, 2003.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A.; BRANDÃO-FILHO, S. P. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** (Impresso), v. 39, n.1, p. 64-67, 2006.

DANTAS-TORRES, F., LATROFA, M.S., WEIGL, S., TARALLO, V.D., LIA, R.P., OTRANTO, D. Hepatozoon canis infection in ticks during spring and summer in Italy. **Parasitology Research**, v. 110, p. 695-698, 2012.

DANTAS-TORRES, F., DOMENICO, O., 2015. Further thoughts on the taxonomy and vector role of *Rhipicephalus sanguineus* group ticks. **Veterinary Parasitology**, v.208, p. 9-132, 2015.

DASH, B.; PHILLIPS, T. D. Molecular characterization of a catalase from *Hydra vulgaris*. **Gene**, v.501, p.144-152, 2012.

DA SILVA VAZ JÚNIOR, I; IMAMURA, S.; OHASHI, K.; ONUMA, M. Cloning, expression and partial characterization of a *Haemaphysalis longicornis* and a *Rhipicephalus appendiculatus* glutathione S-transferases. **Insect Molecular Biology**, v. 13, n.3, p. 329-335, 2004a.

DA SILVA VAZ JÚNIOR, I; LERMEN, T. T.; MICHELON, A.; FERREIRA, C.A.S; FREITAS, D. R. J.; TERMIGNONI, C.; MASUDA, A. Effect of acaricides on the activity of a *Boophilus microplus* glutathione S-transferase. **Veterinary Parasitology**, v. 119, n.2-3, p. 239-247, 2004b.

- DELMONTE, C.; CRUZ, P. B. ; ZERINGÓTA, V.; DE MELLO, V. ; FERREIRA, F.; AMARAL, M. P. H.; DAEMON, E. Evaluation of the acaricidal activity of thymol incorporated in two formulations for topical use against immature stages of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research* (1987. INTERNET), v.116, p. 2957-2964,2017.
- DENARDI, S.E; BECHARA, G.H.; OLIVEIRA, P.R.; NUNES, E.T.; SAITO, K. C.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Morphological characterization of the ovary and vitellogenesis dynamics in the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 125, p. 379-395, 2004.
- DENARDI, S. E.; BECHARA, G. H.; OLIVEIRA, P. R.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. *Azadirachta indica* A. Juss (neem) induced morphological changes on oocytes of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick females. **Experimental Parasitology**, v. 126, p. 462-470, 2010.
- DENARDI, S. E.; BECHARA, G. H.; OLIVEIRA, P. R.; CAMARGO-MATHIAS, I. M. Inhibitory Action of Neem Aqueous Extract (*Azadirachta indica* A. Juss) on the Vitellogenesis of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) Ticks. **Microscopy Research and Technique**, v. 74, p. 889-899, 2011.
- DENARDI, S. E.; BECHARA, G. H.; OLIVEIRA, P. R.; CAMARGO-MATHIAS, I. M. Ultrastructural Analysis of the Oocytes of Female *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) Ticks Subjected to the Action of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem). **Ultrastructural Pathology**, v.36 (1), p.56-67, 2012.
- DEMMA, L.J.; EREMEEVA, M.; NICHOLSON, W.L.; TRAEGER, M.; BLAU, D.; PADDOCK, C.; LEVIN, M.; DASCH, G.; CHEEK, J.; SWERDLOW, D.; MCQUISTON, J. An outbreak of Rocky Mountain Spotted Fever associated with a novel tick vector, *Rhipicephalus sanguineus*, in Arizona, 2004: Preliminary report. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1078, p.342-343, 2006.
- DRUMMOND, R.O., ERNEST, S.E., TREVINO, J.L., GLADNEY, W.J., GRAHAM, O.H. *Boophilus anulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, p. 130-133, 1973.
- EL SHOURA, S.M. Fine structure of the Gene's organ in the camel tick *Hyalomma (Hyalomma) dromedarii* (Ixodoidea: Ixodidae). **Journal Morphology**, v.193: 91-98, 1987.

EL SHOURA, S. M. Fine Structure of the Vagina, Accessory Glands, Uterus, Oviducts and Gene's Organ in the Unfed Tick, *Ornithodoros (Pavlovskyella) erraticus* (Ixodoidea: Argasidae). **Experimental & Applied Acarology**, v. 4, p.95-108, 1988.

FAWCETT, D.W.; BINNINGTON, K. C.; VOIGHT, W. R. The cell biology of the Ixodid tick salivary gland. In: SAUER, J. R.; HAIR, J. A. (ed.). **Morphology, Physiology and Behavioral Biology of Ticks**. Chichester: Ellis Horwood, p. 22-45, 1986.

FERREIRA, P.S.; Soares, G.L.G.; D'ávila, S.; Bessa, E.C.A. **The influence of caffeine and thymol on the survival, growth and reproduction of *Subulina octona* (Brugüière, 1789) (Mollusca, Subulinidae)**. Brazilian Archives OF Biology and Technology, v.52 n.4, p.45-952, 2009.

FEYEREISEN, R.; KOENER, J.F.; FARNSWORTH, D.E.; NEBERT, D.W. Isolation and sequence of cDNA encoding a cyto-chrome p-450 from na insecticide-resistant strain of the house fly, *Musca domestica*. **Proceeding of the nacional Academy of Science of the United of America**, v. 86, p. 1465-1469, 1989.

FREITAS, D. R. J.; ROSA, R.M. ; MORAES, J. ; CAMPOS, E. ; LOGULLO, C. ; DA SILVA VAZ JR, I. ; MASUDA, A. Relationship between glutathione S-transferase, catalase, oxygen consumption, lipid peroxidation and oxidative stress in eggs and larvae of *Boophilus microplus*. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology**, v. 146, p. 688-694, 2006.

FREITAS, D.R.J.; ROSA, R.M.; MORAES, J., CAMPOS, E.; LOGULLO, C.; DA SILVA VAZ JR, I.; MASSUDA, A. Relationship between glutathione S-transferase, catalase, oxygen consumption, lipid peroxidation and oxidative stress in eggs and larvae of *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.146, p. 688-694, 2007.

FURLONG, J.; MARTINS, J. R.; PRATA, M.C.A. O carrapato dos bovinos e a resitência: Temos o que comemorar? **A hora veterinária**, n. 159, 2007.

FURQUIM, K.C.S.; BECHARA, G.H.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Death by apoptosis in salivary glands of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari:Ixodidae).**Experimental Parasitology** (February, 2008) 39:960-966.ISSN 0014-4894, 2008.

FURQUIM, K. C. S.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. ; ROMA, G.C. ; Hebling, Letícia Maria Gráballos Ferraz ; Bechara, Gervásio Henrique . Morphological plasticity of ticks? salivary

glands and the meaning of hematophagy in hosts immunized with glandular extract of females fed for 4 days. **Animal and Veterinary Sciences**, v. 2, p. 194-207, 2014.

GEORGE, D.R., FINN, R.D., GRAHAM, K. M., OLIVIER, S.A.E.O. Present and future potential of plant-derived products to control arthropods of veterinary and medical significance. **Parasites Vectors**, v.7, p.1-28, 2014.

GEHRKE, F.S.; GAZETA, G.S.; SOUZA, E.R.; RIBEIRO, A.; MARRELLI, M. T.; SCHUMAKER T. T. S. *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia felis* and *Rickettsia* sp. TwKM03 infecting *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis* collected from dogs in a Brazilian spotted fever focus in the State of Rio De Janeiro/Brazil. **Journal Compilation European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, CMI, v.15 (Suppl. 2), 267-268,2009.

GHOSH, K., TYAGI, N., KUMAR, P., SINGH, U., GOEL, N. Stabilization of Mn (II) and Mn (III) in mononuclear complexes derived from tridentate ligands with N<sub>2</sub>O donors: synthesis, crystal structure, superoxide dismutase activity and DNA interaction studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 104, p. 9-18, 2010.

GILL, H.S., WALKER, A.R. The salivary glands of *Hyalomma anatolicum anatolicum*: structural changes during attachment and feeding. **Internatuinal Journal Parasitology**, v.17 (8), 1381-1392, 1987.

HABIG, W.H., PABST, M.J., JAKOBY, W.B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal Biology Chemistry**, v.249, p.7130-7139, 1974.

HEMINGWAY, J. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. **Insect and Biochemistry and Molecular Biology**, v.30, p.1009-015, 2000.

HENGARTNER, M.O. The biochemistry of apoptosis. **Nature**, v.407, p. 770-76, 2000.

HINTON, H.E. Biology of insect egg shells. Pergam, **Oxford**, 1982.

HOWARD, R. W.; BLOMQUIST, G. J. Chemical ecology and biochemistry of insect hydrocarbons. **Annual Review Entomology**, v. 27, p.149-172, 1982.

IMDORF, A.; KILCHENMAN, V.; BOGDANOV, S. Toxizität von thymol, campher, menthol und eucaliptol auf *Varroa jacobsoni* und *Apis mellifera* L. in labortest. **Apidologie**, v. 26, p.27-31, 1995.

IVANOV, V. P. Central nervous system. In: BALASHOV, Y. S. An Atlas of Ixodid Tick Ultrastructure, Leningrad: Naka Publishers, 1983, cap. 7, p. 175-190.

JI, P.; MOMOL, M.T.; OLSON, S.M.; PRADHANANG, P.M.; JONES, J.B. Evaluation of thymol as biofumigant for control of bacterial wilt of tomato under field conditions. **Plant Disease**, v. 89, p.497-500, 2005.

JÚNIOR, D. A.C.; OLIVEIRA, R. Avaliação *in vitro* da eficácia de acaricidas sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) de bovinos no município de Ilhéus, Bahia, Brasil. **Ciência Rural**, v.35, n.6, 1386-1392, 2005.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 13ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 524p.

KAKUDA, H.; MORI, T.; SHIRAISHI, S. Functional morphology of GenO's organ in *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae). **Experimental & Applied Acarology**, v. 16, p.263-275, 1992.

KETTERER, B., COLES, B., MEYER, D.J., 1983. The role of glutathione in detoxification. **Environmental Health Perspectives**, v. 49, p. 59-69, 1983.

KOBAYASHI, I.; TAMURA, T.; SGHAIER, H.; NARUMI, I.; YAMAGUCHI, S.; UMEDA, K.; INAGAKI, I. Characterization of monofunctional catalase KatA from radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101 (4), p. 315-321, 2006.

KUMAR, D.; BUDACHETRI, K.; MEYERS, V.C.; KARIM, S. Assessment of tick antioxidant responses to exogenous oxidative stressors and insight into the role of catalase in the reproductive fitness of the Gulf Coast tick, *Amblyomma maculatum*. **Insect Molecular Biology**, v.25(3), p. 283-294, 2016.

LEE, C.Y., BAEHRECKE, E.H. Steroid regulation of autophagic programmed cell death during development. **Development**, v.128, p.1443-1455, 2001.

- LEE, A.J.; HUNTLEY, J.; VAN DEN BROEK, A.; COATES, D.; ISAAC, R.E. Expression and characterisation of a Psoroptes ovis glutathione - s - transferase. **Veterinary Parasitology**, v. 105, p. 49-63, 2002.
- LEE, S.J. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v.91, n.1, p.131-7, 2005.
- LEES, A. D.; BEAMENT, J. W. L. Anegg-wax in gorgan in ticks. **Quarterly Journal of Microscopical Science**,v. 89, p.291-332, 1948.
- LEES, K.; BOWMAN, A.S. Tick neurobiology: recent advances and the post-genomic era. **Invertebrate Neuroscience**, v. 7, p.183-198, 2007.
- 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**. 1988. 151f. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1988.
- LIMA DE SOUZA, J.R.; REMEDIO, R. N.; ARNOSTI, A.; DE ABREU, R. M. M.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. The effects of neem oil (*Azadirachta indica* a. Juss) enriched with different concentrations of azadirachtin on the integument of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) females. **Microscopy Research and Technique** , v.x, p.01-07, 2017.
- LOULY, C.C.B., FONSECA, I.N., OLIVEIRA, V.F. MENEZES, LB, BORGES LMF Eficácia da flumetrina no controle de *Rhipicephalus sanguineus* em cães do canil da polícia militar do município de Goiânia-Goiás. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13 (supl.1), p.321, 2004.
- LOULY, C. C. B.; FONSECA, I. N.; OLIVEIRA, V. F.; BORGES, L. M. F. Ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* em trabalhadores de clínicas veterinárias e canis do município de Goiânia, Go. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.7, n.1, p.103-106, 2006.
- LUM, J.J.; DEBERARDINIS, R.J.; THOMPSON, C.B. Autophagy in metazoans: cell survival in the land of plenty. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.6, p.439-48, 2005.
- IBRAHIM, M.A.; ABDEL-HADY M.GHAZYHASSAN, A.M.; MASOUD, M.M.. Catalase from larvae of the camel tick *Hyalomma dromedarii*. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v.4, p. 411-416, 2015.

- MANSOUR, S.A.; MESSEHEA, S.S.; EL-GENGAIHI, S.E. 2000. Botanical biocides. 4. Mosquitocidal activity of certain *Thymus capitatus* constituents. **Journal of natural toxins**, v.9, p. 49-62, 2000.
- MARTINS, J. R. S.; LEITE, R. C. Controle de carrapatos. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (Orgs). **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical**, São Paulo p. 145-153, 2006.
- MARZOUK, A.; MOHAMMED, F.S.A.; KHALIL, G.M. Neural-endocrine organs in the camel tick, *Hyalomma dromedarii* (Acarina: Ixodoidea: Ixodidae). **Journal Medical Entomology**, v. 22, p.385-391, 1985.
- MARZOUK, A.S.; MOHAMED, F.S.A.; OMAR, N.R. Fine structure of the synganglion of unfed female *Rhipicephalus (Rhipicephalus) sanguineus* (Latreille) (Ixodoidea: Ixodidae). **Journal Egyptian Society Parasitology**, v. 31, p. 1-12, 2001.
- MATOS, R. S.; MELO, D. R.; MONTEIRO, C. M. O.; ZERINGÓTA, V.; SENRA, T. O. S.; CALMON, F.; MATURANO, R.; PRATA, M. C. A.; DAEMON, E. Determination of the susceptibility of unengorged larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) to different methods of dissolving thymol. **Parasitology Research**, v. 113, p. 669-673, 2014a.
- MATOS, R. S.; DAEMON, E.; CAMARGO-MATHIAS, M. I.; FURQUIM, K. ; SAMPIERI, B. ; REMEDIO, R. ; ARAÚJO, L. X. ; NOVATO, T. P. L. Histopathological study of ovaries of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) exposed to different thymol concentrations. **Parasitology Research**, v. 113, p. 4555-4565, 2014b.
- MENDES, A.S.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C.M.O.; MATURANO, R.; BRITO, F.C.; MASSONI, T. Acaricidal activity of thymol on larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.183, p. 136-139, 2011.
- MERLE, C., SOTTO A, BARBUAT C, JOURDAN J. Disease course of Mediterranean Spotted Fever: remark on 16 cases. 7e Colloque sur le Controle Epidemiologique des Maladies Infectieuses, Paris, France. **Medecine et Maladies Infectieuses**, v.21, p.400-401, 1998.
- MILLER, R.J.; GEORGE, J.E.; GUERREIRO, F.; CARPENTER, L.; WELCH, J.B. Characterization of acaricide resistance in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae) collected from the Corozal Army Veterinary Quarantine Center, Panama. **Journal Medical Entomology**, v.38, p. 293-302, 2001.

MIRESMAILLI, S.; BRADBURY, R.; ISMAN, M.B. Comparative toxicity of *Rosmarinus of ficinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. **Pest Management Science**, v.62, p.:366-371, 2006.

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

MONTEIRO, C.M.O; DAEMON, E.; SILVA, A.M.R.; MATURANO, R.; AMARAL C.D. Acaricide and ovicide activities of thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 106, p. 615-619, 2010.

MOORHOUSE, D.E., TATCHELL, R. The feeding processes of the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini): a study in host-parasite relations. Part I. Attachment to the host. **Parasitology**, v.56, p. 623-632, 1966.

NARASIMHAN, S.; SUKUMARAN, B.; BOZDOGAN, U.; THOMAS, V.; LIANG, X.; DEPONTE, K.; MARCANTONIO, N.; KOSKI, R. A.; ANDERSON, J.F.; KANTOR, F.; FIKRIG, E. A Tick Antioxidant Facilitates the Lyme Disease Agent's Successful Migration from the Mammalian Host to the Arthropod Vector. **Cell Host & Microbe**, v.2, p.7-18, 2007.

NAVA, S.; ESTRADA-PEÑA, A.; PETNEY, T.; BAETI, L.; LABRUNA, M.B.; MATIAS P.J. S., VENZAL, J. M., MASTROPAOLO, M.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A. The taxonomic status of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806), **Veterinary Parasitology**, v. 208, p. 2014.

NELSON, D. R.; SUKKESTAD, D.R. Normal and branched aliphatic hydrocarbons from the eggs of the tobacco hornworm. **Biochemistry**, v.9, p.4601-4609, 1970.

NICHOLSON, D.W.; THORNBERRY, N.A. Caspases: killer proteases. **Trends Biochemical Sciences**, v. 22, p.299-306, 1997.

NODARI, E.F., ROMA, G.C., FURQUIM, K.C.S., BECHARA, G.H., CAMARGOMATHIAS, M.I. Cytotoxic effects of permethrin in salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) semi-engorged females. **Experimental Parasitology**. v.128, p.151-158, 2011.

NODARI, E. F., ROMA, G.C.; FURQUIM, K. C. S., BECHARA, G. H., CAMARGO-MATHIAS, M. I. Action of permethrin on *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) semi-engorged females: morpho-physiological evaluation of salivary glands. **Ticks and Tick borne Diseases**, v 3, p.219-226, 2012a.

NODARI, E.F., ROMA, G.C., FURQUIM, K.C.S., BECHARA, G.H., CAMARGO-MATHIAS, M.I. 2012. Degenerative Process and Cell Death in Salivary Glands of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) Semi-Engorged Female Exposed to the Acaricide Permethrin. **Microscopy Research Technique**, v.75, p.1012-1018, 2012 b.

NOIROT, C.; QUENNEDEY, A. Fine structure of insect epidermal glands. **Annual. Review Entomology**, 19, 61-75, 1974.

NORDMANN,R.; RIBIERE, C.;ROUACH, R. Ethanol-induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. **Alcohol & Alcoholism**, v. 25, p. 231-237, 1990.

NOVATO, T., ARAUJO, L.X., MONTEIRO, C.M.O., MATURANO, R., SENRA, T.O.S., MATOS, R. S., GOMES, G.A., CARVALHO, M.G., DAEMON, E. Evaluation of the combined effect of thymol, carvacrol and (*E*)-cinnamaldehyde on *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. **Veterinary Parasitology**, v 212, p. 331-335, 2015.

NOVELINO, A. M. S.; DAEMON, E.; SOARES, G.L.G.; Avaliação da atividade repelente do timol, mentol, salicilato de metila e ácido salicílico sobre larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 700-704, 2007a.

NOVELINO, A.M.S.; DAEMON, E.; SOARES, G.L.G. Evaluation of acaricide effect of thymol, menthol, salicylic acid and methyl salicylate on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitology Research**, v. 101, p. 809–811, 2007b.

NUTTAL, G.H.F, STRICKLAND, C. On the presence of an anticoagulin in the salivary glands and intestines of *Argas persicus*. **Parasitology**, v.1, p.300-310. ISSN: 0031-1820 EISSN: 1469-8161,1908.

OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Evaluation of cytotoxic effects of fipronil on ovaries of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille,

1806) (Acari: Ixodidae) tick female. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2459-2465, 2008.

OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; DENARDI, S. E.; NUNES, E. T.; CAMARGO MATHIAS, M. I. Morphological characterization of the ovary and oocytes vitellogenesis of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 110, n.2, p. 146-156, 2005.

OLIVEIRA, P.R.; BECHARA, G.H.; MORALES, M.A.M.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Action of the chemical agent fipronil on the reproductive process of semi-engorged females of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). Ultrastructural evaluation of ovary cells. **Food and Chemical Toxicology**, v.47,p.1255-1264, 2009.

OLIVEIRA, P.R.; ANHOLETO, L.A.; BECHARA, G.H.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Dinotefuran-induced morphophysiological changes in semi-engorged females *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (Acari: Ixodidae) ticks: Ultra-structural evaluation. **Acta Tropica**, v.166:139-154, 2017.

OLIVIERI, J.A., SERRA-FREIRE, N.M., 1992. Structure of the salivary glands of the unfed female tick *Amblyomma cajennense* (Fabricius) (Acarina: Ixodidae). **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, suppl. I, p.167-174, 1992.

PACHECO, R.C., MORAES-FILHO, J., GUEDES, E., SILVEIRA, I., RICHTZENHAIN, L.J., LEITE, R.C., LABRUNA, M.B.. Rickettsial infections of dogs, horses and ticks in Juiz de Fora, southeastern Brazil, and isolation of *Rickettsia rickettsii* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Med. and Vet. Entomol.* 25, 148-155, 2011.

PAESEN, G.C.; ADAMS, M P.L.; HARLOS, K.; NUTTALL, P.A., STUART, D.I. Tick histamine binding proteins: isolation, cloning and three-dimensional structure. **Molecular Cell** v.3, p.661-671, 1999.

PASTEUR, N.; MENASHEROV, M.; RAVID, U.; JUVEN, B. Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. **Journal Food Protection**, v. 58, p.81-85, 1995.

PEREIRA, C. P. M.; OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Fipronil-induced cell death in salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) semi-engorged females. *Experimental Parasitology*, p. 481-489, 2009.

- PEREIRA, L.S.; OLIVEIRA, P.L.; BARJA-FIDALGO, C.; DAFFRE, S. Production of Reactive Oxygen Species by Hemocytes from the Cattle Tick *Boophilus microplus*. **Experimental Parasitology**, v. **99**, p.66-72, 2001.
- PEREIRA, M. C.; GASPAROTTO, A. E.; JURGILAS, J. P.; DA SILVA, L. A. C. ; PEREIRA, M. C.; SILVEIRA, S. S.; SILVA, T. N. ; ARNOSTI, A. ; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Detrimental effect of deltamethrin on the central nervous system (synganglion) of *Rhipicephalus sanguineus* ticks. **Experimental & Applied Acarology**, v. 71, p. 159-169, 2017.
- POUND, M.; OLIVER J.H. JR. Synganglial and neurosecretory morphology of female *Ornithodoros parkeri* (Cooley). **Journal of Morphology**, v. 173, p.159-177, 1984.
- PRULLAGE, J.B.; POUND, J.M.; MEOLA, S.M. Synganglion morphology and neurosecretory centres of adult *Amblyomma americanum* (L.) (Acari: Ixodidae). **Journal Mededical Entomology**, v. 29, p.1023-1034, 1992.
- REMÉDIO, R.N.; NUNES, P.H.; ANHOLETO, L.A.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. . Morphological alterations in the synganglion and integument of *Rhipicephalus sanguineus* ticks exposed to aqueous extracts of neem leaves (*Azadirachta indica* A. JUSS). **Microscopy Research and Technique**, v.114, p. 431-444, 2014.
- ROMA, G. C.; FURQUIM, K. C. S. ; BECHARA, G. H. ; CAMARGO-MATHIAS, Maria Izabel . Permethrin-induced morphological changes in oocytes of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) semi-engorged females. *Food and Chemical Toxicology*, v. 48, p. 825-830, 2010b.
- ROMA, G.C.; FURQUIM, K.C.S.; BECHARA, G.H.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Cytotoxic effects of permethrin in oocytes of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) fully engorged females: I. Direct or indirect action of the acaricide in germ cells?. *Experimental & Applied Acarology*, v.53, p.287-299, 2011.
- ROMA, G. C.; NUNES, P.H.; REMÉDIO, R. N.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Synganglion histology in different stages of *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.110, p. 2455-2463, 2012.
- ROMA, G. C.; CAMARGO-MATHIAS, M. I.; OLIVEIRA, P. R.; FURQUIM, K. C. S.; BECHARA, G. H. Neurotoxic action of permethrin in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) female ticks. Morphological and cytochemical evaluation of the central nervous system. **Veterinary Parasitology**, v. 196, p. 482-491, 2013.

ROMA, G.C., CAMARGO-MATHIAS, M. I., NUNES, P.H., REMÉDIO, R.N., DE FARIA, A.U., BECHARA, G.H. Effects of andiroba (*Carapa guianensis*) oil in ticks: Ultrastructural analysis of the synganglion of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Acta Tropica**, v.141, p.7-15, 2015.

ROSA DE LIMA, M.F., FERREIRA, C.A.S., FREITAS, D.R.J., VALENZUELA, J.G., MASUDA, A. Cloning and partial characterization of a *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) glutathione S-transferase. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**. v.32, p.747-754, 2002.

ROSADO-AGUILAR, J.A., ARJONA-CAMBRANES, K., TORRES-ACOSTA, J.F.J., RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I., BOLIO-GONZÁLEZ, M.E., ORTEGA-PACHECO, A., ALZINA-LÓPEZ, A., GUTIÉRREZ-RUIZ, E. J., GUTIÉRREZ-BLANCO, E., AGUILAR-CABALLERO, A.J., 2017. Plant products and secondary metabolites with acaricide activity against ticks. **Veterinary Parasitology**, v. 238, p. 66-76, 2017.

ROSHDY, M.A.; MARZOUK, A.S. The subgenus *Persicargas* (Ixodoidea: Argasidae: Argas): A. (P.) Arboreus central nervous system. **Journal Parasitology**, v.70, p.774-787, 1984.

RUPNARAIN, C.; DLAMINI, Z.; NAICKER, S.; BHOOLA, K.; COLON cancer: genetics and apoptotic events. **Journal of Biological Chemistry**, v.64, p. 385:449-64, 2004.

SABADIN, G.A.; PARIZI, L.F.; KIIO, I.; XAVIER, M. A.; MATOS, R.S.; CAMARGO-MATHIAS, M.I.; GITAKA, N;W.; NENE, V.; DA SILVA VAZ Jr.; I. Effect of recombinant glutathione S-transferase as vaccine antigen against *Rhipicephalus appendiculatus* and *Rhipicephalus sanguineus* infestation. **Vaccine**, v. 35, p. 6649-6656, 2017.

SAITO, K. C.; BECHARA, G.H.; NUNES, E.T.; OLIVEIRA, P. R.; DENARDI, S.E.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. Morphological, histological, and ultrastructural studies of the ovary of the tick *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) (Acari: ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 129, p. 299-311, 2005.

SALINAS, A.E.; WONG, M.G. Glutathione S-transferases - A review. **Current Medecinal Chemistry**, v.6, p.279-309, 1999.

SAMPIERI, B. R.; ARNOSTI, A.; NUNES, P. H.; FURQUIM, K. C. S.; CHIERICE, G. O.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Ultrastructural changes in the ovary cells of engorged *Rhipicephalus sanguineus* female ticks treated with esters of ricinoleic acid from castor oil (*Ricinus communis*). **Microscopy Research and Technique**, v. 75, p. 683-690, 2012.

- SANTOS, M. F.; MALTAURO, S.M. A.; LALLO, M. A.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LIMA-NETTO, S.; SPADACCI-MORENA, D. D. Morphodifferentiation of Gené's organ in engorged *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 female ticks (Acari: Ixodidae). **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 9, p. 519-525, 2018.
- SANTOS, M.A.T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G.R. PIRETRÓIDES - Uma visão geral. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, p. 339-349, 2007.
- SAUER, J.R.; ESSENBERG, R.C.; BOWMAN, A.S. Salivary glands in ixodid ticks: control and mechanism of secretion. *Journal of Insect Physiology*, v.46, 1069-1078, 2000.
- SCHÖL, H.; SIEBERZ, J.; GÖBEL, E.; GOTHE, R. Morphology and structural organization of Gené's organ in *Dermacentor reticulatus* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.25, p. 327-352, 2001.
- SCHULER, M.; MAURER, U. GOLDSTEIN, J.C. p53 triggers apoptosis in oncogene-expressing fibroblasts by the induction of Noxa and mitochondrial Bax translocation **Cell Death & Differentiation**, v.10, p.451-60, 2003.
- SCORALIK, M.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C.M.O.; MATURANO, R. Enhancing the acaricide effect of thymol on larvae of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) by solubilization in ethanol. **Parasitology Research**, v.110, p.645–648, 2012.
- SENRA, T.O.S., CALMON, F., ZERINGÓTA, V., MONTEIRO, C.M.O., MATURANO, R., SILVA M., R., MELO, D., GOMES, G.A., CARVALHO, M.G., DAEMON, E. Investigation of activity of monoterpenes and phenylpropanoids against immature stages of *Amblyomma cajennense* and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 112, p. 3471-3476, 2013a.
- SENRA, T.O.S., ZERINGOTA, V., MONTEIRO, C.M.O., CALMON, F., MATURANO, R., GOMES, G.A., FAZA, A., CARVALHO, M.G., DAEMON, E. Assessment of the acaricidal activity of carvacrol, (E)-cinnamaldehyde, trans-anethole and linalool on larvae of *Rhipicephalus microplus* and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 112, p.1461-1466, 2013b.
- SERRA-FREIRE, N. M.; OLIVIERI, J. A. Structure of the salivary glands of the unfed male tick *Amblyomma cajennense* (Fabricius) (Acari: Ixodidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 2, p.207-213, 1992.

SERRA-FREIRE, N.M., SENA, L.M.M., BORSOI, A.B.P. Parasitismo Humano por Carrapatos na Mata Atlântica, Rio de Janeiro, Brasil. *EntomoBrasilis*. 4, 67-72, 2011.

ŠIMO L, KOČI J, ŽITŇAN D, PARK Y. Evidence for D1 dopamine receptor activation by a paracrine signal of dopamine in tick salivary glands. *Plos One*, v. 6; p.16158, 2011.

SIEBERZ, J. & GOTHE, R. Modus operandi of oviposition in *Dermacentor reticulatus* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.24, p. 63-76, 2000.

SILVA, A.B., DUARTE, M.M., DA COSTA CAVALCANTE R., DE OLIVEIRA, S.V., VIZZONI, V.F., DE LIMA DURÉ, A.Í, DE MELO IANI, F.C., MACHADO-FERREIRA, E, GAZÊTA, G.S. 2017. *Rickettsia rickettsii* infecting *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Latreille 1806), in high altitude Atlantic Forest fragments, Ceara State, Brazil. **Acta Tropica**, v.173, p.30-33, 2017.

SIMO L, SLOVÁK M, PARK Y, ZITNAN, D. Identification of a complex peptidergic neuroendocrine network in the hard tick, *Rhipicephalus appendiculatus*. **Cell**, v.335, p.639-655, 2009.

ŠIMO, L., DUŠAN ŽITŇAN, D., YOONSEONG, P. Neural control of salivary glands in ixodid ticks. 2012. **Journal Insect Physiology**, v. 58 (4), p. 459-466, 2012.

SONENSHINE, D. E. (Ed.). **Biology of ticks**. New York: Oxford University Press, 2013.

SOCOLOVSCHI, C.; MEDIANNKOV, O.; RAOULT, D.; PAROLA, P. The relationship between spotted fever group Rickettsiae and Ixodid ticks. **Veterinary Research**, v.40, p.34, 2009.

SZABÓ, M.P.J., PINTER, A., LABRUNA, M.B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Front. in cell. and infect. Microbiol.* 3, 1-9, 2013.

TEREVINTO, A., RAMOS, A., CASTROMAN, G., CABRERA, M., SAADOUN, A., 2010. Oxidative status, in vitro iron-induced lipid oxidation and superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rhea meat. **Meat Science**, v.84, p. 706-710, 2010.

TILL, W. M. A contribution to the anatomy and histology of the brown ear tick *Rhipicephalus appendiculatus*. Neuman. **Memories of the Entomological Society of Southern Africa** v. 6, p.1-124, 1961.

TOLOSA, E.M.C., JUNQUEIRA, C.R., BEHMER, O.A., NETO, A.G.F. Manual de Técnicas Para Histologia Normal e Patológica, p. 102, 2003.

VALKO, M.; RHODES, C.J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicias, metals and antioxants in oxidative stress-induced câncer Chemico-Biological Interactions, v. 160, p. 1-40, 2006.

VENDRAMINI, M. C. R.; CAMARGO-MATHIAS, M. I.; FARIA, A. U.; BECHARA, G. H.; OLIVEIRA, P. R.; ROMA, G. C. Cytotoxic effects of andiroba oil (*Carapa guianensis*) in reproductive system of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) semiengorged females. **Parasitology Research**, v. 111, p.1885-1894, 2012.

WALKER, A.; GLETCHER, J.d.; GILL, H.S. Structural and histochemical changes in the salivary glands of *Rhipicephalus appendiculatus* during feeding. **International Journal for Parasitology**, v.15(1), p. 81-100, 1985.

WIDERSTEN, M., MANNERVIK, B. Glutathione transferases with novel active sites isolated by phage display from a library of random mutants. **Journal of Molecular Biology**, v.250, p.115-122, 1995.

WIKSWO, M. E., RENJIE, H.U., MARCO E. METZGER, E. M., 2007. EREMEEVA, M. E. Detection of *Rickettsia rickettsii* and *Bartonella henselae* in *Rhipicephalus sanguineus* Ticks from California. **Journal of Medical Entomology**, v. 44 (1), p.158-162, 2007.

WOLDEHIWET, Z.; RISTIC, M. Rickettsial and Chlamydial diseases of domestic animals. New York. USA, 1993.

ZHIVOTOVSKYA, B., ORRENIUS, S. Calcium and cell death mechanisms: A perspective from the cell death community. **Cell Calcium**, v.50, p. 211-221, 2011