

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TESE

**EFEITO ACARICIDA DE *Metarhizium pingshaense* ASSOCIADO AO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita*, MENTOL e MENTONA SOBRE
Psoroptes ovis e *Dermanyssus gallinae***

ADRIANI DA SILVA CARNEIRO LOPES

2025



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

**EFEITO ACARICIDA DE *Metarhizium pingshaense* ASSOCIADO AO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita*, MENTOL e MENTONA SOBRE
Psoroptes ovis e *Dermanyssus gallinae***

ADRIANI DA SILVA CARNEIRO LOPES

Sob orientação da Professora

Patrícia Silva Gôlo

Co-orientação

Jacenir Reis dos Santos Mallet

Tese submetida como
requisito parcial para a obtenção do
grau de **Doutora em Ciências** no Curso
de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias.

Seropédica

Setembro, 2025

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L864e LOPES, Adriani da Silva Carneiro , 1995-
EFEITO ACARICIDA DE Metarhizium pingshaense
ASSOCIADO AO ÓLEO ESSENCIAL DE Mentha piperita, MENTOL
e MENTONA SOBRE Psoroptes ovis e Dermanyssus gallinae
/ Adriani da Silva Carneiro LOPES. - Rio de
Janeiro, 2025.
79 f.: il.

Orientadora: Patrícia Silva GÔLO.
Coorientadora: Jacenir Reis dos Santos MALLET.
Tese (Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Ciências
Veterinárias, 2025.

1. Fungo entomopatogênico. 2. Controle Biológico.
3. Óleo essencial. 4. Ácaros. 5. Produção Animal. I.
GÔLO, Patrícia Silva , 1987-, orient. II. MALLET,
Jacenir Reis dos Santos, 1958-, coorient. III
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. IV.
Título.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE
JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS**



ATA Nº 4679 / 2025 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.053741/2025-82

Seropédica-RJ, 16 de setembro de 2025.

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

ADRIANI DA SILVA CARNEIRO LOPES

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

TESE APROVADA EM 12/09/2025

(Assinado digitalmente em 24/09/2025 12:02)

KATIA MARIA FAMADAS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)
Matricula: ###S29##

(Assinado digitalmente em 16/09/2025 23:50)

PATRICIA SILVA GOLO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
AI-UFRRJ (12.28.01.00.00.50)
Matricula: ###218##

(Assinado digitalmente em 16/09/2025 16:00)

EMILY MESQUITA DA SILVA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.827-##

(Assinado digitalmente em 17/09/2025 10:53)

MARIANA GUEDES CAMARGO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.816-##

(Assinado digitalmente em 23/09/2025 08:08)

**SIMONE PATRÍCIA CARNEIRO DE
FREITAS**
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.283-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **4679**, ano: **2025**, tipo: **ATA**, data de emissão: **16/09/2025** e o código de verificação: **97a942c3ee**

“Fiz a escalada da montanha da vida removendo pedras e plantando flores.”
(Cora Coralina)

“Eu sou essa gente que se dói inteira porque não vive só na superfície das coisas.”
(Rachel de Queiroz)

“A distância mais curta entre dois pontos pode ser a linha reta, mas é nos caminhos curvos
que se encontram as melhores coisas da vida.”
(Lygia Fagundes Telles)

“Sempre dou o meu jeitinho, é bruto, mas é com carinho. Porque Deus me fez assim, dona de
mim.”
(IZA- Dona de Mim)

**Aos meus pais, por segurarem nas minhas mãos para que realizasse todos os sonhos que
guardei em mim, dedico!**

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu Pai Ogum, minha Mãe Oxum e todos os Orixás e guias de luz que me acompanham, por nunca me deixarem perder a fé em mim mesma. Obrigada Pai Ogum, por me ensinar a guerrear as batalhas da vida.

Aos meus pais, Adriana e Adriano, por serem incansáveis na missão de amar, educar e criar, por terem a coragem de criar uma mulher para o mundo. Por me ensinarem que humildade, respeito e resiliência quebram barreiras. E por me mostrarem que todos os sonhos que guardo e sempre guardei em mim podem, sim, se realizar. Obrigada por cada colo, cada palavra amiga, conselho e por todo o amor destinado a mim. Amo vocês além do que as palavras são capazes de explicar!

Aos meus irmãos, Alessander e Ariani, minha madrinha Andréa, meu primo Vitor e meus avós Advando, Marlene e Jorge, obrigada pelo incentivo, por torcerem e vibrarem a cada conquista. Mas também por compreenderem as ausências em momentos de família, as agitações e estresses que o doutorado traz. Amo vocês, obrigada pelo carinho.

À minha “Mãe Científica” Prof^a Patrícia Gôlo, por todas as trocas e infinitos ensinamentos durante os anos de mestrado e doutorado. Obrigada por sua orientação impecável, atenciosa e solícita, meu crescimento profissional e pessoal durante esses anos de parceria são incalculáveis. A senhora é uma inspiração como mulher e pesquisadora, e continuo convicta de que é a melhor versão de mãe científica que eu poderia ter!

À minha “Mãe Científica II” Prof^a Jacenir Mallet, pelo jeito carinhoso, empático e solícito em ensinar microscopia. Por ser essa mulher acessível, cuidadosa e paciente, que não tem medo de dividir seus conhecimentos, torce e vibra por cada conquista. A senhora foi um grato presente do doutorado!

Às Professoras Vânia Bittencourt e Isabele Ângelo, por todo o apoio e suporte, pela credibilidade e confiança no meu trabalho e por abrirem as portas do LCM conjuntamente com a Prof^a Patrícia, para que pudesse dar o melhor de mim.

À Prof^a Sonia Marques, minha primeira orientadora e amiga de toda uma jornada. Obrigada por sua amizade, por seu carinho, preocupação e por me fazer amar coelhos e galinhas. Palavras nunca expressarão a minha gratidão por todo incentivo à pós-graduação!

À minha prima Gizele, pelas infinitas trocas, pelas conversas aleatórias e os “papos cabeça” e o cuidado em lembrar que “viver não cabe no lattes”, zelando pelo meu autocuidado e saúde mental. Obrigada por tanto carinho e amor.

À minha Mãe de Santo, Mãe Manu da Oxum, por ser colo, abrigo e a mão de luz que fortalece meu Orí. Por ser uma incentivadora e sempre instigar que eu dê o meu melhor. E, à minha família espiritual do Templo de Umbanda Tsara Paixão Cigana (TUTPC), por serem alegria, troca de ideia e aprendizado, obrigada por tantas experiências incríveis. Amo vocês!

As minhas amigas Thainá, Taynara, Marcelle e Júlia, que sempre torcem por mim. Que são abrigo pros momentos de dificuldade, alegria pros dias de sol e que são o papo gostoso pra uma “cervejinha”. Obrigada por sonharem comigo, por vibrarem minhas conquistas e por estenderem a mão quando necessário. Amo vocês, meninas!

Ao meu Thiaguito, a minha versão masculina em forma de amigo. Aquele que é igual e diferente ao mesmo tempo, o que dividiu a graduação, o mestrado e o doutorado no mesmo espaço-tempo que eu. Cada um a seu modo, em sua área, superando a distância física, mas sempre com o coração e o pensamento caminhando lado a lado. Obrigada por estar aqui, por ser meu amigo e por todo o seu amor e amizade há mais de 10 anos. Te amo, meu preto!

Agradeço a equipe do Laboratório de Controle Microbiano (LCM), em especial: Tatazuda, Laurão, Preci, Joanita, Vic, Americão, Tamiris, Pedro Velho, Talita Insolente (piada interna), Thalitão, Thalita III, Lirão, Gigi, Tiago, Vini Boy e Sarão. Obrigada por todo apoio, pelos cafés da tarde, risadas, pelos dias caóticos de experimento com coletas em “Tão Tão Distante”, pelas fofquinhas e pelos almoços aleatórios que inventamos do nada (mas que só nós sabemos fazer). Vocês me ensinaram muito sobre parceria, amizade e cuidado com o próximo, não há palavras que expressem meu carinho e estima pela parceria incrível de vocês. Carrego cada um comigo, amigos!

Aos funcionários da Estação de Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, por ajudarem nos bastidores, nos auxiliando nas atividades do dia a dia, minha eterna gratidão.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES)-Código de Financiamento 001, agradeço o financiamento desta pesquisa.

A todos aqueles que direta ou indiretamente torceram por mim, obrigada!

BIOGRAFIA

Adriani da Silva Carneiro Lopes, filha de Adriana Glória Leite da Silva e Adriano Martins Carneiro Lopes, nasceu em 15 de setembro de 1995 na cidade do Rio de Janeiro – RJ.

Em 21 de outubro de 2013 iniciou seus estudos no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, concluindo-o em dezembro de 2018. Durante os anos de 2014 a 2018 foi bolsista de Apoio Técnico Acadêmico do Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde aprofundou seus conhecimentos na área de produção animal e desenvolvimento rural sustentável. Durante este período participou de eventos científicos, publicou trabalhos em anais de eventos e em revistas científicas. Em 2019 ingressou como mestranda no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ, sendo bolsista CNPq e tendo defendido sua dissertação em 30 de agosto de 2021.

Em setembro de 2021 ingressou no Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ, sem bolsa, realizando atividades profissionais externas. Em outubro de 2022 iniciou sua jornada como docente em um curso de Auxiliar de Veterinária, tendo finalizado suas atividades em março de 2024. A partir de março de 2024 iniciou sua atuação como Especialista Visitante no Projeto de Incentivo à Inovação Agropecuária que é fruto de um Termo de Execução Descentralizada entre o Ministério da Agricultura e Pecuária, o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e o Instituto Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação de Bioinsumos Inovadores (INCT de Bioinsumos Inovadores), no qual é Coordenadora da Regional Centro-Sul acompanhando o trabalho de atuação de 11 consultores em inovação distribuídos pelos estados das regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste, além do Distrito Federal.

RESUMO

Lopes, Adriani da Silva Carneiro. **Efeito Acaricida de *Metarhizium pingshaense* Associado ao Óleo Essencial de *Mentha piperita*, Mentol e Mentona sobre *Psoroptes ovis* e *Dermanyssus gallinae*** 2025. 79 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

Palavras-chave: ácaros, controle biológico, hortelã-pimenta, fungos entomopatogênicos.

O ácaro *Psoroptes ovis* é conhecido popularmente como ácaro da sarna psoróptica, ácaro das ovelhas, ácaro da sarna auricular em coelhos, entre outros, trata-se de um ácaro Astigmata, não escavador e que ocasiona quadros de infestação em animais de produção, comumente. Indivíduos infestados com este ectoparasito tendem a sofrer com prurido intenso, formações de crostas na região afetada, alopecia e há a possibilidade de ocorrência de infecções secundárias ao quadro parasitário. Enquanto, *Dermanyssus gallinae* conhecido popularmente como vermelhinho, piolhinho, entre outros, é um ácaro Mesostigmata, de hábito nidícola e ampla distribuição mundial, responsável por quadros de infestação em aves, principalmente galinhas de postura. Na atualidade o controle desses ectoparasitos é realizado com diferentes acaricidas sintéticos, das mais variadas classes, como: piretróides, organofosforados, lactonas macrocíclicas, dentre outros. Entretanto, o uso indiscriminado desses agentes vem ocasionando quadro de resistência a algumas classes de acaricidas sintéticos. A partir disso, estudos a respeito de alternativas de controle são realizados, incluindo o uso de fungos entomopatogênicos e óleo essenciais para viabilizar o controle desses ectoparasitos. Nessa perspectiva, o presente estudo objetivou avaliar a eficácia de um isolado nativo de *Metarhizium pingshaense* associado ao óleo essencial de *Mentha piperita* e os compostos isolados Mentol e Mentona para controlar os ácaros *P. ovis* e *D. gallinae*. Inicialmente um teste de compatibilidade foi realizado entre o isolado fúngico e o óleo essencial em distintas concentrações e foi evidenciado que há compatibilidade entre eles, permitindo que ensaios *in vitro* de mortalidade com a associação fungo + óleo fossem realizados. Isoladamente, o óleo essencial de *M. piperita*, mentol, mentona (a 0,01 mg/mL) e o fungo (a 10^8 , 10^7 e 10^6) exibiram potencial acaricida significativo reduzindo a sobrevivência dos ácaros. Em *P. ovis* dois dias após o tratamento, as taxas de mortalidade variaram de 21,67% [S09 10^6 + Mentol] a 100% [S09 10^8 ; S09 10^8 + OE e S09 10^8 + Mentona]. No quarto dia, os grupos tratados com as menores concentrações fúngicas apresentaram taxas de mortalidade acima de 75%, diferindo significativamente do controle (40%). Enquanto que em *D. gallinae* após dois dias de tratamento, as taxas de mortalidade variaram de 27.10% [0,01 OE] a 89.50% [S09 10^6 + OE]. No quarto dia, mesmo os grupos tratados com as menores concentrações fúngicas apresentaram mortalidade superior a 71,40%. Nosso estudo evidenciou que a associação S09 10^6 + OE foi promissora no controle de ambos os ácaros estudado, e para uso em formulação é bastante interessante. A análise de *P. ovis* por Microscopia Eletrônica de Varredura revelou desenvolvimento micelial fúngico e alterações cuticulares nos ácaros tratados, consistentes com a penetração e atividade fúngica. No entanto, em *D. gallinae* além do desenvolvimento micelial fúngico notou-se uma diversidade de rachaduras no corpo dos ácaros e desprendimento das patas e estruturas do aparelho bucal. Esses achados reforçam o potencial da integração de fungos entomopatogênicos com compostos bioativos derivados de plantas como parte de estratégias sustentáveis de controle para ácaros de importância veterinária.

ABSTRACT

Lopes, Adriani da Silva Carneiro. **Acaricidal effect of *Metarhizium pingshaense* associated with *Mentha piperita* essential oil, Menthol and Menthone on *Psoroptes ovis* and *Dermanyssus gallinae*.** 2025. 79 p. Thesis (Doctor in Veterinary Sciences), Veterinary Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

Keywords: mites, biological control, peppermint, entomopathogenic fungi.

The mite *Psoroptes ovis* is commonly known as the psoroptic mange mite, sheep mite, or ear mange mite in rabbits, among other names. It is a non-burrowing Astigmata mite that commonly causes infestation in livestock animals. Infested individuals tend to suffer from intense itching, crust formation in the affected areas, alopecia, and may develop secondary infections associated with the parasitic condition. Meanwhile, *Dermanyssus gallinae*, commonly referred to as the red mite or poultry mite, is a nidicolous Mesostigmata mite with worldwide distribution, responsible for infestations in birds, especially laying hens. Currently, control of these ectoparasites is achieved through the use of various synthetic acaricides from several chemical classes, such as pyrethroids, organophosphates, and macrocyclic lactones, among others. However, the indiscriminate use of these agents has led to resistance in some classes of synthetic acaricides. Consequently, studies have focused on alternative control strategies, including the use of entomopathogenic fungi and essential oils to manage these ectoparasites. In this context, the present study aimed to evaluate the efficacy of a native isolate of *Metarhizium pingshaense* combined with *Mentha piperita* essential oil and its isolated compounds menthol and menthone for controlling *P. ovis* and *D. gallinae* mites. Initially, a compatibility test between the fungal isolate and the essential oil at different concentrations was conducted, demonstrating compatibility between them and allowing in vitro mortality assays using the fungus + oil combination to proceed. Individually, *M. piperita* essential oil, menthol, menthone (at 0.01 mg/mL), and the fungus (at 10^8 , 10^7 , and 10^6 conidia/mL) exhibited significant acaricidal potential, reducing mite survival. In *P. ovis*, two days after treatment, mortality rates ranged from 21.67% [S09 10^6 + Menthol] to 100% [S09 10^8 ; S09 10^8 + EO; and S09 10^8 + Menthone]. On the fourth day, groups treated with lower fungal concentrations showed mortality rates above 75%, significantly differing from the control group (40%). For *D. gallinae*, two days after treatment, mortality rates ranged from 27.10% [0.01 EO] to 89.50% [S09 10^6 + EO]. By the fourth day, even groups treated with the lowest fungal concentrations exhibited mortality rates above 71.40%. Our study demonstrated that the S09 10^6 + EO combination was promising for controlling both mite species studied, making it highly interesting for formulation purposes. The analysis of *P. ovis* by Scanning Electron Microscopy revealed fungal mycelial development and cuticular alterations in treated mites, consistent with fungal penetration and activity. However, in *D. gallinae*, in addition to fungal mycelial development, a variety of cracks on the mite bodies and detachment of legs and mouthpart structures were observed. These findings reinforce the potential of integrating entomopathogenic fungi with plant-derived bioactive compounds as part of sustainable control strategies for mites of veterinary importance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo biológico do ácaro <i>Psoroptes ovis</i>	6
Figura 2: Ciclo biológico do ácaro <i>Dermanyssus gallinae</i>	8
Figura 3: Colônia em ponto de inóculo de <i>Metarhizium pingshaense</i> (LCM S09) em substrato sólido de aveia.....	21
Figura 4: Média e erro padrão do percentual de germinação (%) de conídios <i>M. pingshaense</i> (LCMS09), associados ou não com diferentes concentrações do óleo essencial de <i>M. piperita</i> (0,3 mg/mL; 0,1 mg/mL ou 0,01 mg/mL) por 5 h e 24 h. S09: grupo controle (suspensão de <i>M. pingshaense</i> a 1×10^5 conídios/mL); S09 + OE: suspensão fúngica incubada com soluções de OE para atingir concentrações finais de 1×10^5 conídios/mL e OE a 0,3 mg/mL, 0,1 mg/mL ou 0,01 mg/mL. A germinação dos conídios foi avaliada 24 horas após os tempos de incubação (5 ou 24 horas) ($P > 0,05$)......	25
Figura 5: Porcentagem média de sobrevivência e erro padrão de adultos de <i>Psoroptes ovis</i> expostos ao óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> , mentol e mentona de acordo com Log-rank ($p < 0,0001$). CTR (ácaros tratados com Tween 80® aquoso a 1%); 0,3 OE (0,3 mg/mL de <i>Mentha piperita</i> OE); 0,1 OE (0,1 mg/mL de <i>M. piperita</i> OE); 0,01 OE (0,01 mg/mL de <i>M. piperita</i> OE); 0,3 mentol (0,3 mg/mL de mentol); 0,1 mentol (0,1 mg/mL de mentol); 0,01 mentol (0,01 mg/mL de mentol); 0,3 mentona (0,3 mg/mL de mentona); 0,1 mentona (0,1 mg/mL de mentona); 0,01 mentona (0,01 mg/mL mentona)......	26
Figura 6: Valores médios e erro padrão da mortalidade de <i>Psoroptes ovis</i> em resposta à aplicação de diferentes tratamentos contendo <i>Metarhizium pingshaense</i> , óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> , Mentol, Mentona ou a associação entre fungo e óleo essencial ou compostos isolados. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p > 0,05$)......	28
Figura 7: Valores médios e erro padrão da mortalidade de <i>Dermanyssus gallinae</i> em resposta à aplicação de diferentes tratamentos contendo <i>Metarhizium pingshaense</i> , óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> , Mentol, Mentona ou a associação entre fungo e óleo essencial ou compostos isolados. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($P > 0,05$)......	29
Figura 8: Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de adultos de <i>Psoroptes ovis</i> expostos por 24 h a conídios de <i>Metarhizium pingshaense</i> (S09), óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> , mentol e mentona ou à associação entre fungo e óleo ou fungo e compostos isolados. (A) CTR; (B) S09 1×10^8 ; (C) 0,01 OE; (D) S09 + OE; (E) 0,01 mentol; (F) S09 + mentol; (G) 0,01 mentona; (H) S09 + mentona. (g) gnatossoma, (i) idiossoma, (sc) ventosa, (pd) pedicelo, (ol) bilobação opistossomal, (os) cerda do opistossoma, (s) cerda, (f) fungo, (con) conídios, (gt) tubo germinativo, (ap) apressório,	31

(♀) fêmea e (♂)
macho.....

Figura 9: Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de adultos de *Psoroptes ovis* expostos por 48 h a conídios de *Metarhizium pingshaense* (LCM S09), OE de *Mentha piperita*, mentol e mentona ou a associação entre fungo e óleo ou fungo e compostos isolados. (A) CTR; (B) S09 1×10^8 ; (C) 0,01 OE; (D) S09 + OE; (E) 0,01 mentol; (F) S09 + mentol; (G) 0,01 mentona; (H) S09 + mentona. (g) gnatossoma, (i) idiossoma, (sc) ventosa, (pd) pedicelo, (ol) bilobação opistossomal, (cd) disco copulador, (os) cerda do opistossoma, (s) cerda, (f) fungo, (con) conídios, (gt) tubo germinativo, (ap) apressório, (♀) fêmea e (♂) macho.....

32

Figura 10: Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de adultos de *Psoroptes ovis* (A) 24 h e (B) 48 h após a exposição de conídios de *Metarhizium pingshaense* (S09). (cut) cutícula, (f) fungo, (con) conídios, (gt) tubo germinativo, (ap) apressório.....

34

Figura 11: Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de adultos de *Dermanyssus gallinae* expostos por 24 h a conídios de *Metarhizium pingshaense* (LCMS09), óleo essencial de *Mentha piperita*, Mentol e Mentona ou a associação entre fungo e óleo ou fungo e compostos isolados. Sendo (A) Controle (300 μ m); (B) LCM S09 (80 μ m); (C) 0,01 mg/mL de *Mentha piperita* (300 μ m); (D) LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de *Mentha piperita* (50 μ m); (E) 0,01 mg/mL de Mentol (300 μ m); (F) LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de Mentol (80 μ m); (G) 0,01 mg/mL de Mentona (300 μ m); (H) LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de Mentona (50 μ m). Palpo (pal), idiossoma (idi), pata 1 - 4 (p1 – p4), escudo dorsal (ed), cerda (cer), fungo (f), conídio (con), tubo germinativo (tg), apressório (ap).....

36

Figura 12: Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de adultos de *Dermanyssus gallinae* expostos por 48 h a conídios de *Metarhizium pingshaense* (LCMS09), óleo essencial de *Mentha piperita*, Mentol e Mentona ou a associação entre fungo e óleo ou fungo e compostos isolados. Sendo (A) Controle (200 μ m); (B) LCM S09 (100 μ m); (C) 0,01 mg/mL de *Mentha piperita* (300 μ m); (D) LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de *Mentha piperita* (30 μ m); (E) 0,01 mg/mL de Mentol (300 μ m); (F) LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de Mentol (100 μ m); (G) 0,01 mg/mL de Mentona (300 μ m); (H) LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de Mentona (50 μ m). Palpo (pal), idiossoma (idi), escudo dorsal (ed), escudo anal (ea), abertura anal (aa), pata 1 - 4 (p1 – p4), cerda (cer), fungo (f), conídio (con), tubo germinativo (tg), apressório (ap), rac (rachadura).....

38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Cunicultura Brasileira	3
2.2 Avicultura Brasileira.....	4
2.3 <i>Psoroptes ovis</i>	5
2.4 <i>Dermanyssus gallinae</i>	7
2.5 Resistência de <i>Psoroptes ovis</i> e <i>Dermanyssus gallinae</i> a Acaricidas Sintéticos	9
2.6 Controle Biológico Utilizando Fungos Entomopatogênicos: o gênero <i>Metarhizium</i>	11
2.7 Óleos Essenciais e Compostos Isolados: Aplicabilidades no Controle de <i>Psoroptes ovis</i> e <i>Dermanyssus gallinae</i>	15
2.8 O Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i>	16
2.9 Associação de Fungos Entomopatogênicos e Óleos Essenciais: Uma Alternativa de Controle	18
2.10 A Microscopia Eletrônica de Varredura e sua Relevância nos Estudos em Ciências Veterinárias	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Local do Experimento.....	21
3.2 Obtenção do Isolado Fúngico	21
3.3 Obtenção dos Ácaros <i>Psoroptes ovis</i> e <i>Dermanyssus gallinae</i>	22
3.4 Óleo Essencial e Compostos Isolados	22
3.5 Compatibilidade de Conídios de <i>Metarhizium pingshaense</i> com Óleo Essencial <i>Mentha piperita</i>	22
3.6 Atividade Acaricida do Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i> e Compostos Isolados.....	22
3.7 Análise <i>in vitro</i> da Virulência de <i>Metarhizium pingshaense</i> , Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i> e Compostos Isolados sobre Adultos de <i>Psoroptes ovis</i>	23
3.8 Análise <i>in vitro</i> da Virulência de <i>Metarhizium pingshaense</i> , Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i> e Compostos Isolados sobre Adultos de <i>Dermanyssus gallinae</i>	23
3.9 Avaliação da Infecção Fúngica em <i>Psoroptes ovis</i> e <i>Dermanyssus gallinae</i> por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	23
3.10 Análise Estatística.....	24
4 RESULTADOS	25
4.1 Compatibilidade de Conídios de <i>Metarhizium pingshaense</i> com Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i>	25
4.3 Análise <i>in vitro</i> da Virulência de <i>Metarhizium pingshaense</i> , Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i> e Compostos Isolados Sobre Adultos de <i>Psoroptes ovis</i>	26

4.4 Análise <i>in vitro</i> da Virulência de <i>Metarhizium pingshaense</i> , Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i> e Compostos Isolados sobre Adultos de <i>Dermanyssus gallinae</i>	28
4.5 Avaliação da Infecção Fúngica em <i>Psoroptes ovis</i> e <i>Dermanyssus gallinae</i> por Microscopia Eletrônica De Varredura	29
5 DISCUSSÃO	40
6 CONCLUSÃO	44
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
8 ANEXOS	62

1 INTRODUÇÃO

As infestações por ácaros são um problema mundial na pecuária, onde diferentes espécies desses ectoparasitos provocam prejuízos econômicos significativos, redução da produtividade e comprometem o bem-estar dos animais. O ácaro *Psoroptes ovis* é um ectoparasito causador da sarna psoróptica e conhecido por provocar infestação em diferentes animais de produção, como coelhos, bovinos, caprinos, suínos, dentre outros. Enquanto, *Dermanyssus gallinae*, conhecido popularmente como piolhinho, vermelhinho ou ácaro vermelho das aves, é amplamente reconhecido pelos prejuízos significativos que causa na avicultura de postura comercial. Seu hábito de permanecer nos ninhos e se alimentar do sangue das aves pode levar à mortalidade de pintinhos e afetar diretamente a produção de ovos.

A sarna psoróptica é bastante comum na cunicultura, tanto comercial quanto de subsistência. A infestação caracteriza-se por abrasões cutâneas, principalmente na região do conduto auditivo, que progride rapidamente para resposta inflamatória cutânea com formação de crostas e infecção bacteriana secundária. A forma de controle adotada para as infestações por *P. ovis* é o uso de acaricidas sintéticos como piretróides, organofosforados e lactonas macrocíclicas. E, mais recentemente, estudos buscam evidenciar a aplicabilidade de produtos do grupo das isoxazolininas para o controle desse ectoparasito. Apesar do uso de diversos antiparasitários de diferentes bases para o controle de *P. ovis* em coelhos, existe apenas um produto antiparasitário para uso em coelhos aguardando registro no Ministério de Agricultura e Pecuária.

Dermanyssus gallinae é considerado o ácaro temporário de maior relevância na cadeia de avicultura, sendo enxergado como um problema epidemiológico e econômico progressivo na avicultura industrial ao redor do mundo. As altas taxas de infestações de *D. gallinae* nos galpões avícolas estão relacionadas ao seu ciclo de vida e à capacidade de permanecer longos períodos de tempo sem se alimentar. A essa espécie é atribuída a presença de quadros anêmicos, redução da produtividade, estresse e a presença de manchas nos ovos das aves, além de serem alvos de grandes discussões na comunidade científica quanto ao seu potencial vetor de agentes como *Salmonella enteritidis*, *Borrelia burgdorferi*, *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli* e vírus influenza, por exemplo.

Atualmente, o controle para ambos os ácaros *P. ovis* e *D. gallinae* é feito com o uso de acaricidas sintéticos. Mas, por conta do uso indiscriminado, já são relatados casos de resistência a piretróides e lactonas macrocíclicas em *P. ovis*, a ocorrência de resíduos químicos na carne do coelho e são reforçados os riscos de contaminação ambiental. Para *D. gallinae* as questões não são diferentes, são citados dados de resistência a piretróides desde 1984 e demais bases químicas como organoclorados e organofosforados, ademais o uso off-label tem trazido agravos nos casos de resistência.

Como forma de buscar uma alternativa para o controle de *P. ovis* e *D. gallinae* pesquisadores evidenciaram que o uso dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* eram promissores no controle desses ácaros. Sendo importante evidenciar que, pelo fato de *P. ovis* ser um ácaro não escavador e estar vivendo em grupos sobre a pele do hospedeiro, já foi observada que a transmissão por contato direto de micélios entre os ácaros é facilitada.

O uso de fungos entomopatogênicos não se apresenta como a única alternativa que vem sendo estudada, a literatura evidencia a utilização de óleos essenciais e

compostos isolados no controle da sarna psoróptica e do ácaro vermelho das galinhas. Estudos mostram a eficácia no uso de diferentes compostos isolados como citral, linalol, eugenol, geraniol, terpinen-4-ol, timol, carvacrol, dentre outros e também no uso de óleos essenciais integrais como canela, cravo, lavanda, louro, e outras bases botânicas, que apresentam potencial acaricida ou ovicida para *P. ovis*.

Para *D. gallinae* os estudos apontam que óleo de Neem apresenta bom efeito acaricida, assim como óleos essenciais que possuam carvacrol na sua composição. Além disso, plantas da família Lamiaceae são bastante interessantes no controle desse ácaro, bem como os óleos essenciais de tomilho, lavanda, casca de canela e o botão de cravo, apresentaram interessantes resultados no controle do ácaro vermelho das aves.

A hortelã pimenta (*Mentha piperita*) é uma planta da família Lamiaceae, sendo um híbrido de *Mentha spicata* e *Mentha aquatica*, seu uso culinário e farmacológico é amplamente conhecido, principalmente por suas propriedades antibacterianas, antioxidantes e anti-inflamatórias. A composição química do seu óleo essencial é bastante complexa e variável, tendo relação direta com o clima, cultivar e localização geográfica. Mas, no geral, seus compostos principais são mentol, mentona, mentofurano e acetato de mentila.

O uso de *M. piperita* já foi observado para o controle de artrópodes da ordem Coleoptera como *Sitophilus zeamais* (gorgulho do milho), *S. oryzae* (gorgulho do arroz) e *Tribolium* sp. (besouro de cereais) a nível de pragas agrícolas, como no controle de ecto e endoparasitos de importância veterinária como *Rhipicephalus microplus* (carrapato dos bovinos), *Varroa destructor* (ácaro das abelhas), *Haemonchus contortus* (nematoide de ruminantes) e *Strongyloides venezuelensis* (nematoide de roedores), por exemplo.

Poucos estudos foram observados avaliando a eficácia de uma associação fúngica entre *M. piperita* e fungos entomopatogênicos. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi analisar o potencial acaricida de uma associação de *M. piperita*, seus compostos mentol e mentona e *M. pingshaense* sobre *P. ovis* e *D. gallinae*, através de ensaios *in vitro*, e identificar como a infecção fúngica se estabelece nos ácaros por meio de microscopia eletrônica de varredura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cunicultura Brasileira

O coelho *Oryctolagus cuniculus* (Lilljeborg, 1873) conhecido popularmente como coelho doméstico, se originou há aproximadamente dois milhões de anos na região da Península Ibérica, situada no sudoeste da Europa. Segundo relatos da literatura, os fenícios se depararam com animais que apresentavam uma rápida reprodução, ao chegar em terras que hoje são a Espanha. Inicialmente por semelhanças estruturais como o tamanho e a aparência pensaram que se tratava do damão-do-cabo (Quinton, 2005; Vella; Donnelly, 2012; Naaf; Craig, 2012). A partir disso, os fenícios nomearam aquela região como “País dos coelhos”. Apesar desses relatos, ainda se discute a real origem dos coelhos, pois muitos autores acreditam que esses indivíduos se originaram na Ásia e que teriam migrado para a Europa, onde foram encontrados fósseis na Bacia do Mediterrâneo (Quinton, 2005; Vella; Donnelly, 2012; Tvardovskas; Saturnino, 2012).

Além disso, há relatos históricos de que egípcios, gregos e chineses, já por volta dos séculos XVIII e XIX realizavam a criação de coelhos. Segundo Tvardovskas e Saturnino (2012), há indícios na China de que no período da primavera eram sacrificados mais de 30 mil coelhos como forma de pedir aos Deuses Chineses por fertilidade na terra, e no outono repetia-se o sacrifício dos animais como forma de agradecimento pela fertilidade do solo. A cunicultura, é um sistema de criação que visa não apenas a produção de animais para obtenção de carne ou pele, mas indivíduos para uso em pesquisa, uso em atividades de ensino e animais tipo pet. O coelho ganhou seu espaço no mercado pet, por conta de suas características comportamentais, pelo fato desses indivíduos serem dóceis, demandarem pouco manejo e ocuparem pouco espaço (Hoppmann; Barron, 2007; Melo *et al.*, 2008).

No último Censo Agropecuário (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017) apontava-se uma população cunícola de aproximadamente 200.000 animais, que se distribuíam em 16.095 estabelecimentos, o que gera uma média de 12 animais por estabelecimento, mas cabe lembrar que grande parte dos proprietários não comercializam os animais e temos pequenas criações, restando uma dúvida com relação ao real número de produtores e animais produzidos. Segundo dados da Associação Científica Brasileira de Cunicultura (2021), atualmente no país 1.300 cunicultores se dedicam à criação de coelhos para o mercado pet, com uma média de 49 mil animais alojados nas granjas. Mas, a cunicultura de corte também se apresenta promissora, com 1.050 produtores alojando quase 100 mil animais. Já nos lares brasileiros, estima-se uma média de 468.000 animais alojados. Com base nessas informações, a Associação Científica Brasileira de Cunicultura estima que a receita bruta anual na cunicultura nacional seja de R\$ 447.947.652,00.

A produção brasileira ocorre, basicamente, em propriedades de pequena produção cuja área é de até 10 hectares, espaços esses que não são de cunho comercial (Machado *et al.*, 2014). Segundo Machado e colaboradores (2012) 70% das criações de coelhos no Brasil se localizam na região Sul do país. O país está inserido num dos sete países da América Latina que mais produzem carne de coelhos, embora quando equiparado a escalas mundiais e dentro da própria América Latina o Brasil venha diminuindo sua produção de carne ao longo dos anos (Moura, 2010). Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (2021) a produção de carne de coelhos no Brasil está estimada em 1.167 toneladas/ano, e considerando o contingente populacional brasileiro de 212,6 milhões de pessoas isso geraria uma estimativa de 0,05 kg/pessoa/ano,

um consumo relativamente baixo comparado com outras proteínas de origem animal consumidas regularmente pelos brasileiros.

É importante frisar que apesar do baixo consumo de carne de coelho, o Brasil apresenta grande potencial produtivo por conta de sua grande extensão de terras, facilidade de matéria prima para alimentação dos animais, boas condições climáticas, dentre outras vantagens. O que encontramos, é uma atividade que possui pouco planejamento, falta de políticas públicas e incentivo à produção de coelhos, o que eleva os custos da produção. Sendo necessários investimentos, tanto no aprimoramento de técnicas quanto no enriquecimento de informações dos cunicultores (Ferreira; Machado, 2007; Machado *et al.*, 2012).

2.2 Avicultura Brasileira

A criação de galinhas *Gallus gallus domesticus* (Linnaeus, 1758) é bastante difundida por alguns fatores, sejam pela apreciação da beleza das aves, pelos hábitos que possuem ou por serem fonte de alimento, considerando que o ciclo de criação das aves para corte e postura é relativamente rápido (Piccolo *et al.*, 2024). Segundo Lopes (2010) as aves ganharam espaço para desenvolver-se após o desaparecimento dos dinossauros, o que permitiu esses animais chegarem a lugares que não haviam sido habitados por nenhum outro animal. Mas houve um declive nesse crescimento populacional a partir do desenvolvimento de alguns mamíferos, considerando fatores como predação e competição por alimento.

Dados históricos mostram que a criação avícola no Brasil é datada desde o período da colonização por volta de 1.503 quando foram introduzidas as primeiras aves no que hoje é o Estado do Rio de Janeiro por intermédio do navegador Gonçalo Coelho. A história ressalta que a criação era relativamente demorada e para que as aves obtivessem pelo menos 2,500 kg de peso vivo, era necessário um período de criação de 6 meses. Mas somente por volta de 1.532 é que a criação de aves ganhou maior cuidado, confinando-se os animais nos quintais e provendo alimentação à base de grãos, restos de alimentos humanos e insetos (Lopes, 2011; Quevedo, 2016; Piccolo *et al.*, 2025).

É importante explicitar que inicialmente as aves eram criadas por serem fonte de alimento, desde os princípios da humanidade, mas depois observou-se que eram uma criação rentável. Ademais, com a percepção da capacidade de se tornarem uma fonte interessante de renda, as aves começaram a ser criadas com essa finalidade, inclusive sendo realizado o acasalamento entre raças distintas como uma forma de beneficiar a produção (Flandrin; Montanari, 1998; Lopes, 2011; Piccolo *et al.*, 2025).

Segundo a literatura, o desenvolvimento da produção avícola brasileira passa por três períodos distintos, o primeiro deles antecede o período de 1950, sendo uma fase onde novas linhagens de aves chegaram para substituir animais mais rústicos que eram utilizados na produção. A partir de 1960 indo até 1990, iniciou-se o segundo período, onde novas tecnologias foram aplicadas ao setor avícola, nesse momento também se desenvolviam pesquisas direcionadas à produção de aves, além da introdução de novas linhagens de aves. Pode-se destacar também nessa segunda fase a estruturação da Embrapa Aves e o desenvolvimento agroindustrial do setor avícola. Enquanto, o terceiro período da avicultura teve seu início na década de 1990 com o beneficiamento de processos e produtos nas empresas do setor (Espindola, 2008; Dalmora; Scherma, 2024).

Quando pensamos em avicultura, no Brasil e no mundo, a produção e o consumo de produtos avícolas vêm apresentando crescimento significativo, sendo o Brasil um dos países mais promissores na criação de galináceos (Santos Filho *et al.*, 2020). Segundo

informações da Pesquisa Pecuária Municipal (IBGE, 2023), o efetivo de galináceos está estimado em 1,6 bilhões de cabeças, mas as galinhas representam 263,5 milhões de cabeças, um efetivo que chega à marca de 16,7% em relação ao total de cabeças.

Segundo relatório da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2024) em 2023 foram produzidas 14,833 milhões de toneladas de carne de frango e as exportações ultrapassaram a marca de 5 milhões de toneladas, isso consagrou o Brasil como o segundo maior produtor mundial de carne de frango e o líder mundial em exportações. O valor bruto da produção de carne de frango gira em torno dos R\$ 92 bilhões de reais, e por destinar 34,65% da sua produção ao mercado externo de 150 países, o Brasil gerou US\$ 9,7 bilhões de dólares em receitas cambiais. Além de um consumo per capita de carne de frango de 45,1 kg, apenas no Brasil.

Quanto a avicultura de postura, em 2023 foi registrada uma produção de 52,447 bilhões de unidades de ovos, um crescimento produtivo de 316% em relação a década de 1990, tornando o Brasil o 5º maior produtor de ovos do mundo. O valor bruto da produção atingiu a marca de R\$ 24,5 bilhões de reais, enquanto a exportação de ovos para 63 países gerou uma receita de US\$ 63,2 milhões de dólares com 25,4 mil toneladas de ovos exportados. Sendo importante destacar, que só no Brasil o consumo per capita de ovos é de 242 unidades/ano (ABPA, 2024).

2.3 *Psoroptes ovis*

Psoroptes sp. é um ácaro pertencente ao filo Arthropoda, Classe Arachnida, Subclasse Acari, Ordem Sarcoptiformes e à Família Psoroptidae. Inicialmente foi descrito por Hering em 1838, sendo classificado como pertencente ao gênero *Sarcoptes*. Taxonomicamente diversas foram as descrições para o gênero ao longo dos anos, como: *Psoroptes longirostris*, depois *Psoroptes communis* e suas variedades *ovis* e *bovis*. Posteriormente, Sweatman já em 1958 argumentou que haviam espécies diferentes de acordo com o hospedeiro ao qual infestavam, sendo assim descritas: *Psoroptes cuniculi*, *Psoroptes cervinus*, *Psoroptes ovis*, *Psoroptes equi* e *Psoroptes natalensis* (Zahler *et al.*, 1998; Bates 1999; Zahler *et al.*, 2000; Pegler *et al.*, 2005; Waal; Kolbe, 2006).

Entretanto, apesar da ampla difusão das nomenclaturas descritas por Sweatman e seu uso, estudos mais recentes demonstraram que através de comparações morfológicas e moleculares com uso de sequências de DNA não se observou diferenças significativas entre os ácaros de distintas populações e de hospedeiros diversos. Dessa maneira, definiu-se que a descrição realizada por Hering em 1838 era a mais adequada de ser mantida, portanto *Psoroptes ovis* deve ser aplicado prioritariamente para gênero sinônimo independente do hospedeiro (Zahler *et al.*, 1998; Bates 1999; Pegler *et al.*, 2005; Waal; Kolbe, 2006).

Morfológicamente os indivíduos possuem corpo com aproximadamente 0,5 mm a 0,8 mm de comprimento e formato ovóide, as fêmeas apresentam ventosas nas patas I, II e IV, enquanto os machos apresentam ventosas nas patas I, II e III e bilobação no opistossoma. Além disso, observa-se patas alongadas e robustas com as ventosas tarsais sendo unidas por pedicelo longo e trisegmentados, e o gnatossoma se apresenta mais longo do que largo com quelíceras pontiagudas. Todos os indivíduos possuem ânus terminal, e as fêmeas possuem a abertura genital em formato de “U” invertido. E são indivíduos astigmatas, não possuindo espiráculos respiratório, realizando assim as trocas através da cutícula corporal (Serra-Freire; Mello, 2006; He *et al.*, 2016; Monteiro, 2017).

O ciclo de vida desse ectoparasito é relativamente curto, podendo durar em torno de 11 a 19 dias, compreendendo as fases: ovo, larva, protoninfa, tritoinfa e adultos. No

geral as mudas ocorrem em ciclos curtos, de ovo para larva demoram em média três dias para a troca, de larvas para protoninfa uma média de quatro dias, de protoninfa para tritoninfa uma média de dois dias e de tritoninfa para adultos (machos e fêmeas) um período de cinco dias. Cabe ressaltar que todo este processo ocorre no corpo do hospedeiro. Além disso, as fêmeas adultas podem sobreviver por aproximadamente 42 dias no corpo do hospedeiro e realizar uma oviposição de 80 ovos (Burgess *et al.*, 2019) (Figura 1).

As espécies pertencentes a esse gênero são consideradas ectoparasitos, que vivem nas camadas superficiais da pele ou ácaros não escavadores. A infestação por *P. ovis* pode ocorrer por contato direto entre hospedeiros, no ambiente ou através de fômites, podendo acometer os animais quando estes entram em contato com alguma estrutura infestada no ambiente onde estão alojados ou por algum utensílio utilizado no manejo. A transmissão entre animais é bastante comum, tendo em vista que animais de produção são usualmente alojados em grupos, sejam em baias, gaiolas ou abrigos (Yeruham; Hadani; Rosen, 1985; Pegler *et al.*, 2005; Amorim; Azevedo; Riet-Correa, 2015).



Figura 1: Ciclo biológico do ácaro *Psoroptes ovis*. Fonte: Acervo pessoal.

A sarna psoróptica acomete caprinos, ovinos e coelhos, e traz perdas produtivas significativas. Esses ácaros se alimentam, principalmente, de linfa, restos celulares e exsudatos da pele do hospedeiro, glóbulos vermelhos e emulsões lipídicas. Além disso, a infestação por *Psoroptes ovis* pode provocar intenso prurido, formação de crostas, infecções secundárias, irritabilidade, alopecia e em casos mais graves até mesmo a morte (Islam *et al.*, 2024).

Quando acometidos por esta sarna, os coelhos apresentam no conduto auditivo crostas espessas, prurido intenso, dermatite, alopecia e um quadro de emagrecimento

progressivo (Broek *et al.*, 2003). Além disso, quando a infestação está muito alta, é comum se observar quadros de infecções secundárias, que quando graves podem provocar alterações neurológicas relevantes e até levar o indivíduo à morte. Esses fatores têm impacto direto na produtividade e são economicamente prejudiciais (Bates, 1999; Losson, 2012; Arslan *et al.*, 2014; Shang *et al.*, 2014).

2.4 *Dermanyssus gallinae*

Quando pensamos em avicultura, no Brasil, os principais ectoparasitos envolvidos neste setor pecuário são piolhos, ácaros e carrapatos. Dentro dessa dinâmica, cabe ressaltar três espécies de ácaros que parasitam as aves domésticas: *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus sylviarum* (Canestrini; Fanzago, 1877) e *Ornithonyssus bursa* (Berlese, 1888) (Silva *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2022)

Historicamente a definição do gênero *Dermanyssus* sp. é complexa e não foi completamente esclarecida por pelo menos um século. Segundo relatos, o gênero *Dermanyssus* foi descrito por Dugès em 1834, incluindo cinco novas espécies: *D. avium*, *D. vespertilionis*, *D. convulvuli*, *D. oribatis* e *D. hominis*. A espécie-tipo *D. gallinae* descrita por De Geer (1778) foi considerada por Dugès como *D. avium*. Mais tarde, por questões estruturais *D. gallinae* foi reintegrado à sua nomenclatura original, ao longo dessa jornada diversas espécies foram sinonimizadas (Roy; Chauve, 2007).

D. gallinae é um ácaro pertencente ao filo Arthropoda, Classe Arachnida, Subclasse Acari, Ordem Mesostigmata e à Família Dermanyssidae. É conhecido popularmente como piolhinho, vermelhinho, ácaro vermelho das galinhas, dentre outros nomes populares. Trata-se de um ectoparasito de hábito nidícola, de distribuição cosmopolita e que pratica hematofagismo nas aves, ou seja, é um ácaro que se alimenta de sangue, que ocorre geralmente no período noturno, e sua presença nos criatórios de aves de postura ou aves ornamentais representa sérios problemas sanitários (Kilpinen *et al.*, 2005; Pritchard *et al.*, 2015; Sparagano *et al.*, 2020; Schiavone *et al.*, 2022).

Morfologicamente os ácaros apresentam tamanhos variados, podendo chegar a 1 mm de comprimento, além disso suas patas são alongadas e apresentam uma abertura anal no terço posterior do escudo anal. Seu ciclo biológico é relativamente rápido, podendo durar em média de 7 a 10 dias, e possui como estágios: ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adultos. Após cerca de 24 h do repasto sanguíneo as fêmeas iniciam a oviposição que pode durar cerca de 72 h, neste período de tempo pode ser que ela realize uma nova alimentação e colocará cerca de 30 ovos, até que sua morte ocorra. Posteriormente, larvas irão eclodir dos ovos, mas estas não se alimentam de sangue, até que sofram a muda para protoninfa, este processo pode durar de 1 a 2 dias. A partir da fase de protoninfa podem se alimentar nas aves novamente, e sua mudança para a fase de deutoninfa pode variar de 24 a 48h. Em seguida, realizam novo repasto sanguíneo onde vão realizar a maturação para a fase adulta em machos e fêmeas, processo esse que pode ocorrer em até 72h. Os estágios ninfais podem permanecer no ambiente sem alimentação por até 12 meses, enquanto adultos podem ter uma sobrevida de 3 meses sem realizar o repasto sanguíneo (Tucci; Guimarães, 1998; Mul *et al.*, 2009; Pritchard *et al.*, 2015; Monteiro, 2017) (Figura 2).

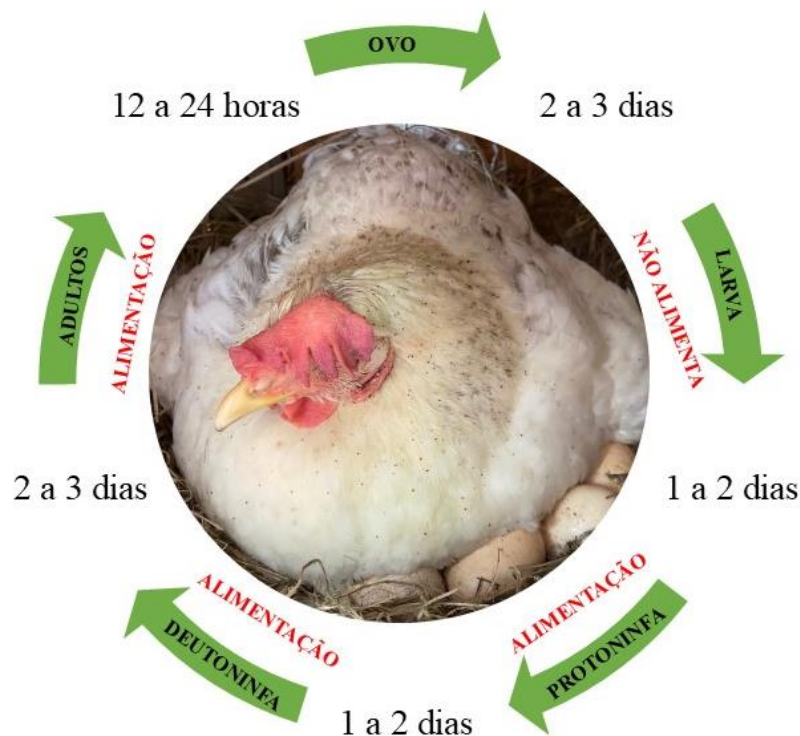


Figura 2: Ciclo biológico de *Dermanyssus gallinae*. Fonte: Acervo pessoal.

A literatura elenca que a ocorrência do ácaro vermelho das galinhas é um problema mundial e que os prejuízos econômicos em decorrência das infestações dos galpões e das aves são grandiosos. Segundo registros, na União Europeia os custos econômicos relacionados com as perdas de produção e controle estão estimados em 231 milhões de euro por ano (Sparagano *et al.*, 2014; Sparagano *et al.*, 2020).

É fato que o modelo do sistema produtivo é uma grande discussão no que tange às infestações por *D. gallinae*. Antigamente acreditava-se que pelo fato de as aves serem debicadas e não terem contato direto com o solo facilitava a ocorrência de *D. gallinae* no sistema de produção, pois acreditava-se que a criação em sistema de gaiolas com adensamento de animais, falta de acesso ao solo e ao calor, eram fatores que facilitavam a manutenção de ectoparasitos no ambiente das granjas (Brown, 1972; Freeman, 1976; Craig; Craig; Vargas, 1986). No entanto, discussões e estudos mais recentes apontam que o ácaro vermelho das aves pode ter maior facilidade de se desenvolver em espaços com sistemas produtivos mais complexos, o que na Europa eles consideram ser o sistema *cage free*. Mas isso ainda é muito discutido em termos produtivos e de saúde única (Sparagano *et al.*, 2014; Sparagano *et al.*, 2020). No Brasil, Pavan e colaboradores (2022) realizaram um estudo que comparou os modelos: 1) Sistema Intensivo Californiano de Gaiolas e 2) Sistema Livre de Gaiolas (*Cage free*) e notaram que houve variação na presença de espécies de ectoparasitos de acordo com o sistema utilizado, sendo o sistema livre de gaiolas o que apresentou maior diversidade de ectoparasitos.

Também é importante apontar que a dispersão deste ectoparasito pode ocorrer por outras questões, e essas podem não estar diretamente conectadas com o modelo do sistema produtivo. Isso é, o trânsito de pessoas, galpões de criação que não respeitem a legislação vigente e mantenham árvores frutíferas no seu entorno, o que pode atrair outras aves, compartilhamento de instrumentos/materiais na rotina, o carregamento mecânico de ácaros através de funcionários infestados, dentre outras questões. Devendo-se considerar

o fato de que estes ectoparasitos podem infestar outros animais e humanos (Abd El-Halim *et al.*, 2009; Roy; Buronfosse, 2011; Collgros *et al.*, 2013; Nascimento, 2019).

Quando infestadas por *D. gallinae* as aves podem apresentar sinais clínicos variados como prostração, estresse, anemia, autobicagem e até mesmo canibalismos, estes sinais podem ocorrer de forma variada, que dependerá diretamente da taxa de infestação. Além do mais, as infestações por *D. gallinae* representam também perdas produtivas significativas na avicultura, por sua vasta relação com a redução de postura, perda da qualidade dos ovos e mortalidade de aves poedeiras. Ademais, apesar de discussões científicas a respeito do tema, esse ectoparasito também é associado como um vetor importante de patógenos, incluindo aqueles com potencial zoonótico. Pesquisadores correlacionam *D. gallinae* como transmissor de patógenos como: *Salmonella* spp., *Borrelia anserina*, poxvírus aviário, dentre outros (Moro; Chauve; Zenner, 2007; Valiente Moro *et al.*, 2009; Pritchard *et al.*, 2014).

2.5 Resistência de *Psoroptes ovis* e *Dermanyssus gallinae* a Acaricidas Sintéticos

A classe Acari compreende diversas espécies de carrapatos e ácaros de importância médica veterinária. Com o aumento pela demanda de alimentos no mundo, a preocupação em controlar ectoparasitoses na medicina veterinária é grande, considerando a relevância de diversas espécies animais como fonte proteica na alimentação humana, como: bovinos, suínos, galináceos e afins (McNair, 2014; Rouck *et al.*, 2023).

É importante frisar que em muitos casos as infestações podem não necessitar de tratamento, entretanto quando causam danos expressivos ao hospedeiro ocasionando danos físicos, redução da produtividade, estresse, dentre outros, pode ser necessário o controle da ectoparasitose. Dessa maneira, o uso de acaricidas sintéticos por muitos anos apresentou-se como uma alternativa importante no controle de ectoparasitos, mas o uso indiscriminado desses produtos vem ocasionando quadros de resistência em diferentes populações de ácaros e outros artrópodes (McNair, 2014; Abbas *et al.*, 2014; Coles; Dryden, 2014; Sturgess-Osborne *et al.*, 2019; Mol *et al.*, 2020; Rouck *et al.*, 2023).

Os acaricidas sintéticos empregados no controle de ácaros-praga possuem diferentes mecanismos de ação, os organofosforados e carbamatos agem inibindo a acetilcolinesterase, os organoclorados atuam no antagonismo dos canais de cloreto que dependem de GABA, os piretróides agem modulando os canais de sódio, as lactonas macrocíclicas atuam como moduladoras alostéricas do receptor de acetilcolina, formamidinas como o amitraz são agonistas dos receptores de octopamina, por exemplo (Abbas *et al.*, 2014; Rouck *et al.*, 2023).

A resistência a acaricidas sintéticos é um problema mundial e de ocorrência progressiva, ou seja, com o passar dos anos é comum observar-se o aumento da resistência a mais de uma base química para uma mesma espécie de artrópode-praga (Katsavou *et al.*, 2020; Agwunobi; Yu; Liu, 2021). Além disso, a dificuldade em controlar as infestações acarreta prejuízos econômicos significativos e problemas com a saúde dos animais (Grisi *et al.*, 2014; Sparagano *et al.*, 2014; Flochlay; Thomas; Sparagano, 2017).

A resistência a acaricidas é definida pela capacidade de tolerar altas doses de produtos tóxicos (Organização Mundial da Saúde, 1957), ocorre através de quatro principais mecanismos: insensibilidade do local-alvo, resistência metabólica, resistência comportamental e redução da penetração cuticular. Pode-se observar a ocorrência desses mecanismos de forma isolada ou conjunta, e a depender da sua interação uma população

de artrópodes praga pode ser resistente a diversos acaricidas (Ferrari, 1996; Organização Mundial da Saúde, 2012; Rodriguez-Vivas; Hodgkinson; Trees, 2012).

A insensibilidade ao local-alvo, ou sítio de ligação, ocorre quando mutações nos nucleotídeos de um gene alteram a sequência de aminoácidos da proteína receptora. Essa modificação impede a ligação eficaz do inseticida/acaricida ao seu alvo, conferindo resistência ao artrópode. Um exemplo é o que ocorre com acaricidas organofosforados e carbamatos que atuam inibindo a enzima acetilcolinesterase (AChE). A resistência a esses compostos se manifesta quando mutações genéticas resultam em uma AChE com estrutura alterada, que não é mais inibida pelo inseticida. Indivíduos com essa enzima modificada sobrevivem à exposição, enquanto os suscetíveis são eliminados, levando à seleção e proliferação da população resistente (Klafke, 2009; Coles; Dryden, 2014).

A resistência metabólica manifesta-se de duas formas principais: pelo aumento da especificidade de enzimas detoxificantes, que degradam o acaricida com maior eficiência, ou pelo aumento da produção dessas enzimas, resultando em um metabolismo acelerado do composto tóxico. Estão envolvidas nesses processos glutathione-S-transferases, esterases, oxidases e hidrolases. Mas, estudos vêm demonstrando através de transcriptomas que a expressão de lipocalinas, dioxigenases de clivagem de anel de intradiol (DOG's), desidrogenases de cadeias curtas e afins, também podem ter participação na resistência metabólica (Ferrari, 1996; Li; Schuler; Berenbaum, 2007; Coles; Dryden, 2014; Rouck *et al.*, 2023).

Já a resistência comportamental e cuticular são mecanismos menos comuns e considerados menos relevantes em comparação com a insensibilidade ao local-alvo e a resistência metabólica. A resistência comportamental manifesta-se por meio de comportamentos que reduzem a exposição ao inseticida, como a evitar superfícies ou áreas tratadas. A diferenciação entre evitação comportamental genética e adaptativa pode ser desafiadora. Enquanto a resistência cuticular, é caracterizada pela redução da penetração do inseticida, o que retarda a absorção do composto. Esse mecanismo, isoladamente, apresenta baixa eficácia, sendo mais relevante quando associado a outros mecanismos de resistência (Ferrari, 1996; Fadini; Pallini; Venzon, 2004; Coles; Dryden, 2014).

Na maioria dos quadros de sarna psoróptica, o tratamento adotado é com o uso de fármacos sintéticos como lactonas macrocíclicas, piretróides, organofosforado, e ainda existem estudos avaliando a usabilidade de bases novas que vem surgindo no mercado, como o fluralaner (Bravecto®) (Coelho *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2017; Sheinberg *et al.*, 2017; Machado *et al.*, 2025). O uso frequente dessas drogas, muitas vezes de forma indiscriminada, pode acarretar na seleção de populações resistentes. Para *P. ovis* já se observam relatos de resistência para lactonas macrocíclicas e piretróides (Plant; Lewis, 2011; Sturgess-Osborne *et al.*, 2019), além de resíduos na carne de coelhos e riscos de contaminação do ambiente (Ebani; Mancianti, 2021).

A resistência do ácaro *P. ovis* a acaricidas vem sendo observada há algum tempo e em diversas regiões e com diferentes compostos. Estudos demonstraram que populações resistentes à flumetrina também apresentam resistência cruzada à cis-cipermetrina (BATES, 1999). Além disso, há relatos de resistência a lactonas macrocíclicas, como moxidectina, ivermectina e doramectina (Doherty *et al.*, 2018; Sturgess-Osborne *et al.*, 2019).

Na Argentina a ivermectina é aplicada no controle de *P. ovis* há mais de três décadas. Estudos recentes realizados com ovinos apontaram que ocorreu uma queda na eficácia de

ivermectina sobre o ácaro da sarna psoróptica em testes *in vivo* e os ensaios *in vitro* apontaram que as falhas de controle estão associadas à resistência na aplicação de ivermectina. Ademais, o estudo também evidenciou que também há resistência à doramectina (Soler; Germano; Larroza, 2022).

Mol e colaboradores (2020) avaliaram 16 fazendas de bovinos infestados com *P. ovis*, onde os animais foram tratados com diferentes lactonas macrocíclicas (ivermectina, doramectina ou moxidectina) e observaram que todas necessitaram de duas ou mais aplicações dos tratamentos. Além disso, índices clínicos só sofreram alterações após o segundo tratamento. O estudo caracterizou que 12 fazendas foram consideradas resistentes às lactonas macrocíclicas utilizadas, uma como suspeita de resistência e apenas três como susceptíveis aos fármacos.

Segundo Losson (2012) além dos prejuízos econômicos e do comprometimento com o bem-estar animal, compreender a relação parasito-hospedeiro e os métodos de controle são mecanismos essenciais para que tenhamos melhores ferramentas diagnósticas e de controle, como o uso de agentes biológicos e a criação de vacinas.

Quando falamos de *D. gallinae* um dos primeiros relatos de resistência surgiu na Itália, falando sobre carbamatos e piretróides sintéticos (Genchi *et al.*, 1984). O que persiste até a atualidade como demonstrado por Schiavone e colaboradores (2023). Sequencialmente, foi relatada resistência na antiga Tchecoslováquia, o que hoje são os países da República Tcheca e Eslováquia (Zeman, 1987), além de relatos de resistência na França (Beugnet *et al.*, 1997), Suécia (Nordenfors *et al.*, 2001) e Grécia (Katsavou *et al.*, 2019), por exemplo. Em todos esses países foram confirmados casos de resistência a piretróides sintéticos, como permetrina e cipermetrina.

Com o passar dos anos e a relevância da avicultura no cenário mundial, com a necessidade de se controlar o ácaro vermelho, e quadros de resistência cada vez mais comuns, os estudos a respeito da ineficiência de acaricidas sintéticos sobre *D. gallinae* foram ampliados. Com isso, pode-se perceber que a ocorrência de resistência não estava limitada à Europa, também foi observada em países como Japão (Murano *et al.*, 2015), China (Wang *et al.*, 2021) e Turquia (Koç *et al.*, 2022).

Thomas e colaboradores (2018) evidenciaram através de testes de sensibilidade sobre 13 cepas de campo europeias e brasileiras do ácaro *D. gallinae* que havia resistência a pelo menos um composto como: cipermetrina, propoxur, deltametrina ou foxima. Mas que todas as cepas eram responsivas à fluralaner. Enquanto Sulzbach e colaboradores (2022) ao testarem quatro produtos distintos sobre ácaros adultos e seus ovos, observaram que todos os produtos testados ocasionaram mortalidade nos adultos, mas o controle dos ovos não foi efetivo, sugerindo-se que essa poderia ser uma possibilidade para as altas taxas de reinfestações em aviários.

Segundo Lima-Barbero e colaboradores (2019), o controle de *D. gallinae* é bastante desafiador, principalmente pelo desenvolvimento de quadros de resistência a acaricidas e a lista restrita de produtos autorizados para utilização. Sendo assim, sugerem que um controle eficaz deve combinar métodos alternativos de controle como o controle biológico, estudo e uso de vacinas, uso de compostos derivados de plantas e afins.

2.6 Controle Biológico Utilizando Fungos Entomopatogênicos: o gênero *Metarhizium*

Considerando o cenário de resistência acaricidas sintéticos, o estudo de métodos alternativos de controle para artrópodes de importância médico veterinária ganhou espaço

e vem sendo cada vez mais pesquisado e difundido, inclusive com a busca de políticas públicas para registros de produtos com finalidade pecuária.

São diversas as definições para controle biológico, Debach (1968) definiu que controle biológico era a ação de patógenos, predadores ou parasitoides cuja finalidade era manter em níveis aceitáveis a densidade populacional de determinado organismo. Em outras palavras Alves (1998) sugeriu que o controle biológico possuía a finalidade de manter populações em níveis não econômicos com o uso racional de patógenos. Em complemento Parra (2002) sugeriu que o controle biológico era um mecanismo onde inimigos naturais diversos e setorizados em grupos como: fungos, vírus, bactérias, aves, mamíferos e afins, eram capazes de atacar diferentes fases de vida de um agente praga.

A utilização do controle biológico como estratégia para o manejo de pragas iniciou-se nas práticas agrícolas e são datadas do século III a.C., quando os chineses usaram formigas predadoras para proteger suas plantações de citricultura, o que com o passar do tempo acabou se espalhando e sendo implementado na Arábia medieval, onde os agricultores transportavam colônias das mesmas formigas para combater pragas em palmeiras (Silva *et al.*, 2006; Carvalho, 2006; Finkler, 2012).

Dentro da diversidade de técnicas de controle biológico, o controle microbiano se destaca pelo uso de microrganismos patogênicos para regular populações de pragas, um dos primeiros estudos utilizou o fungo *Entomophthora anisopliae* para controlar larvas do besouro *Anisoplia austriaca*. Segundo dados históricos, o uso de agentes de biocontrole na América Latina é registrado desde o final de século XIX, para diversas finalidades, como a intenção da prática de uma agropecuária mais sustentável até o baixo acesso a produtos sintéticos. No Brasil, uma das primeiras práticas de biocontrole foi com o uso de *Penicillium anisopliae* para o controle de insetos do gênero *Tomaspis* (Alves, 1998).

Isso levou o Brasil a possuir um dos maiores programas de controle biológico do mundo, e estudos que embasam o uso de agentes microbianos no controle de artrópodes praga de importância agropecuária são de extrema relevância. Cabe ressaltar que em 2024 a indústria de bioinsumos brasileira gerou um faturamento de R\$ 4,5 bilhões de reais e investimentos de R\$ 11 milhões em novos registros de produtos. Atualmente, existem 896 produtos biológicos com registro ativo no Brasil, deste total, 71% são agentes microbiológicos para controle de pragas agrícolas (Croplife, 2025).

Nesse contexto, os fungos ascomicetos como os dos gêneros *Metarhizium spp.* e *Beauveria spp.* destacam-se como mais estudados e utilizados no controle biológico de artrópodes. Sua aplicação em estudos prevalece por um conjunto de características favoráveis, como: ampla distribuição geográfica, capacidade entomopatogênica e endofítica, diversidade de hospedeiros naturais, especificidade, baixo impacto ambiental, penetração ativa pela cutícula e ação nos diversos estágios de vida dos artrópodes. Dessa maneira, esses gêneros fúngicos se mostram como ferramentas valiosas em programas de manejo integrado de pragas, oferecendo uma alternativa eficaz e segura aos defensivos químicos (Madelin; Robinson; Williams, 1967; Mascarin *et al.*, 2019; Stone; Bidochka, 2020; Litwin *et al.*, 2020).

A literatura reforça que o processo infeccioso por fungos entomopatogênicos nos artrópodes ocorre através da penetração ativa pela cutícula, através de sete etapas: 1) fixação dos conídios, 2) germinação dos conídios, 3) formação de tubo germinativo, 4) formação do apressório, 5) desenvolvimento no interior do hospedeiro, 6) crescimento sobre a superfície corporal do artrópode após a morte e 7) produção conidial. Apesar

dessas etapas, a susceptibilidade do artrópode ao fungo pode variar significativamente dependendo do isolado fúngico e também pode se dar por fatores como resposta imune, influência da microbiota intestinal e composição da cutícula (Bittencourt; Mascarenhas; Faccini, 1999; Kirkland; Westwood; Keyhani, 2004; Zimmermann, 2007; Ment *et al.*, 2020; Correa *et al.*, 2021; Mesquita *et al.*, 2023).

A vasta diversidade de fungos com potencial patogênico a invertebrados é notável. Segundo Ashraf *et al.* (2020), existem aproximadamente mais de 1.790 espécies com essa capacidade, no entanto nem todas foram taxonomicamente descritas por falta de mapeamento molecular. Existem relato de que estes fungos sejam responsáveis por cerca de 80% das doenças que acometem insetos (Cardoso *et al.*, 2003). Essa relevância destaca o potencial dos fungos entomopatogênicos como agentes de controle biológico.

Metarhizium spp. é um fungo cosmopolita, com espécies encontradas em diversos ambientes e faixas de temperatura (Roberts; St Leger, 2004), pertence ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales e família Clavicipitaceae. Trata-se de um fungo filamentosos com micélio hialino e septado, produzindo conídios de coloração esverdeada. As colônias variam de branco a verde escuro, dependendo do estágio de desenvolvimento (Bischoff; Rehner; Humber, 2009). Seu cultivo é relativamente simples, com amido como fonte nutricional adequada (Azevedo, 1998).

A literatura ressalta que o gênero *Metarhizium* é considerado um dos mais produtivos, atingindo até 10⁶ unidades formadoras de colônia (UFC) provenientes de amostras de solo (Lovett *et al.*, 2019; St Leger; Wang, 2020; Sheng; Mcnamara; St Leger, 2022). Além disso, o gênero possui uma diversidade de espécies que são saprófitas, sendo encontrados em diversos substratos como: raízes de plantas, cadáveres de artrópodes e solo, com potencial endofítico e entomopatogênico, o que permite aos fungos desse gênero beneficiarem a saúde do solo, o crescimento de plantas, a manutenção da biodiversidade e também serem utilizados como controladores de artrópodes praga. Com uma ampla gama de hospedeiros (cerca de 200 espécies de artrópodes), é um agente de biocontrole eficaz, embora algumas cepas apresentem especificidade de hospedeiro. Ademais, pelo menos 30 espécies de *Metarhizium* além de entomopatogênicas são endofíticas (Zimmermann, 1993; Schrank; Vainstein, 2010; Hernández-Domínguez; Guzmán-Franco, 2017; Stone; Bidochka, 2020; Iwanicki *et al.*, 2019; St Leger, 2024).

Fatores ambientais, como temperatura (15-35°C, com ótimo entre 25-30°C), alta umidade relativa (próxima a 100%) e proteção contra radiação solar e ultravioleta influenciam o desenvolvimento de *Metarhizium* e seus propágulos. Outro fator importante é que estudos apontam sobre sua aplicabilidade segura e demonstram que, em condições naturais não são capazes de provocar desequilíbrios em populações de artrópodes não-alvo (Walstad, Anderson; Stambaugh, 1970; Roberts; Campbell, 1977; Milner; Samson; Morton, 2003; Oliveira *et al.*, 2016; Fischhoff; Keesing; Ostfeld, 2017; Corval *et al.*, 2020).

Estudos genéticos revelaram uma notável variabilidade dentro de *M. anisopliae*, indicando que se tratava de um complexo de espécies (Bidochka; Small; Spironello, 2005). Análises filogenéticas, morfológicas e moleculares confirmaram essa hipótese, identificando nove espécies distintas: *M. pingshaense*, *M. anisopliae*, *M. robertsii*, *M. brunneum*, *M. majus*, *M. lepidiotae*, *M. acridum*, *M. globosum* e *M. guizhouense* (Bischoff; Rehner; Humber, 2009).

No entanto, Rehner e Kepler (2017) destacaram que *Metarhizium pingshaense*, *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium robertsii* e *Metarhizium brunneum* são as espécies

mais frequentemente isoladas do solo e de artrópodes. A descoberta de novas espécies, como *Metarhizium alvesii* em solos de plantações de banana no Brasil (Lopes *et al.*, 2018), demonstra a contínua expansão do conhecimento sobre este gênero. Diversos estudos de bioprospecção de fungos são realizados continuamente, seja buscando identificar novas espécies fúngicas ou para o desenvolvimento de produtos (Correa *et al.*, 2022).

No que tange o uso de fungos entomopatogênicos e outros métodos alternativos para o controle de ácaros de importância médico veterinária, vários estudos vêm sendo realizados ao longo do tempo, para diferentes ácaros como *P. ovis* e *D. gallinae*, indicando potenciais formas de biocontrole contra esses ectoparasitos (Lekimme *et al.*, 2006; Abolins *et al.*, 2007; Shang *et al.*, 2016; Gay *et al.*, 2020; Gu *et al.*, 2020; Bayramoğlu *et al.*, 2024; Truong *et al.*, 2024).

Algumas condições tornam o controle biológico com fungos sobre *P. ovis* mais fácil, por serem ácaros do grupo Astigmata, tendo a estrutura corporal menos esclerotizada e com a cutícula mais delgada para a realização de trocas gasosas, facilita-se a colonização fúngica. Além disso, trata-se de ácaros não escavadores e que vivem agrupados nas crostas formadas por sua infestação, isso facilita o contato com o micélio fúngico e sua dispersão entre os ácaros, também facilitando seu controle (Ebani; Mancianti, 2021).

Abolins e colaboradores (2007) estudaram a capacidade de controle de *M. anisopliae* sobre *P. ovis* na presença de pele e lã em ensaio *in vitro*, e evidenciaram que nessas condições não foi impossibilitada a infecção fúngica dos ácaros. Brooks e Wall (2001) evidenciaram através de testes de imersão e de tratamento de superfície com uma concentração conidial de 1×10^8 /mL que *M. anisopliae* era capaz de controlar 77% e 73% de ácaros adultos, respectivamente.

Em estudos comparativos, quando ácaros adultos foram tratados com uma cepa de *Hirsutella thompsonii* e uma cepa de *M. anisopliae* não foi observada patogenicidade de *H. thompsonii*, por exemplo. Também foram realizados estudos comparativos entre *M. anisopliae* e *B. bassiana*, observando maior patogenicidade para *M. anisopliae*, o que segundo a literatura pode estar associado à capacidade desse gênero fúngico em provocar estresse oxidativo nos ácaros. Isso sinaliza que estudos de patogenicidade são essenciais para o desenvolvimento de bioacaricidas (Abolins *et al.*, 2007; Gu *et al.*, 2020; Ebani; Mancianti, 2021).

Alguns estudos ressaltam os principais pontos de atenção para o controle de ácaros e demais artrópodes com fungos entomopatogênicos, e os principais apontamentos são a necessidade de cepas fúngicas estáveis e persistentes no ambiente e também a capacidade do fungo de atuar sobre as diferentes fases de vida do artrópode (Roberts; St Leger, 2004; Briggs; Colwell; Wall, 2006; Ebani; Mancianti, 2021). Logo, a busca por alternativas sustentáveis no controle de pragas agropecuárias tem impulsionado pesquisas sobre fungos entomopatogênicos, com foco em seus mecanismos de ação e virulência. O objetivo principal é desvendar e caracterizar os fatores de virulência desses microrganismos, visando aprimorar o processo de infecção e otimizar seu uso em campo (Schränk; Vainstein, 2010).

A sociedade por vezes ainda subestima as práticas do controle biológico, mas essas práticas de forma direta ou indireta auxiliam no enfrentamento de problemas globais que por vezes são urgentes. Além disso, os estudos evidenciam que a adoção de práticas de controle biológico são eficazes em todas as dimensões da Saúde Única atuando

diretamente em questões como: resistência, perda de biodiversidades, alterações climáticas globais, poluição química e redução de habitat (Schaffner *et al.*, 2024).

2.7 Óleos Essenciais e Compostos Isolados: Aplicabilidades no Controle de *Psoroptes ovis* e *Dermanyssus gallinae*

O uso indiscriminado dos acaricidas sintéticos levou diversos artrópodes a apresentarem quadros de resistência a múltiplas classes químicas. Com isso, a comunidade científica vem buscando novas alternativas de controle, e que além de solucionarem a questão da resistência sejam ecologicamente sustentáveis.

Os produtos derivados de plantas como os óleos essenciais e seus compostos isolados, vem se apresentando como uma interessante alternativa no controle dos artrópodes praga de importância médico veterinária, como carrapatos, pulgas, ácaros e mosquitos, por exemplo. Além da ação acaricida, estudos indicam que por sua baixa toxicidade e boa solubilidade também podem contribuir na produção de carne e leite (Cruz *et al.*, 2013; Shezryna *et al.*, 2020; Selles *et al.*, 2021).

Outra questão que favorece a utilização de óleos essenciais e seus compostos no controle de artrópodes praga é a questão do custo, considerando que dependendo da abundância da planta, os produtos adquiridos dela possuem baixo custo. Além disso, os efeitos residuais são muito poucos o que reduz significativamente a possibilidade de resistência (Rosado-Aguilar *et al.*, 2010; Castro *et al.*, 2018).

Dentro dos grupos dos artrópodes de importância médico veterinária, os carrapatos são os mais estudados e servem como direcionamento para os estudos com outros artrópodes. Segundo a literatura os efeitos dos óleos essenciais sobre os carrapatos podem ocorrer de diferentes maneiras: 1) ação acaricida ou repelente; 2) inibição da alimentação; 3) redução do crescimento/desenvolvimento ou da reprodução; 4) inibição da síntese de quitina e 5) alterações comportamentais (Kaaya, 2000; Goode; Ellse; Wall, 2013; Benelli *et al.*, 2016; Quadros *et al.*, 2020).

Além disso, são relatados três modos de ação distintos: 1) neurotoxicidade: aqui pode ser percebida a inibição da acetilcolinesterase, ações sobre o GABA e antagonismo para o receptor de octopamina, 2) citotoxicidade: através da danificação ou destruição das células e 3) efeitos mecânicos: onde a qualidade hidrofóbica dos óleos essenciais atua com sufocamento rompendo estruturas cuticulares e bloqueando estigmas respiratórios ou estresse hídrico (Selles *et al.*, 2021).

Chen e colaboradores (2019) avaliaram a ação de geraniol, eugenol, 1,8-cineol e carvacrol, em ensaios *in vitro* e com carvacrol *in vivo* com bovinos para o ácaro *P. ovis*. Percebeu-se que com exceção de 1,8-cineol que não foi eficaz em nenhum teste, os demais compostos possuíam ação acaricida dependente da concentração utilizada, no entanto o carvacrol foi o que necessitou de uma menor concentração para levar *P. ovis* à morte. No teste tópico pode-se confirmar a eficácia do carvacrol, mas foi observado leve eritema local transitório. Apesar da reação local, carvacrol se apresentou como um interessante composto para o controle de *P. ovis*.

Fichi e colaboradores (2007) também investigaram os efeitos *in vivo* e *in vitro* da ação de óleo essencial sobre *P. ovis*, utilizando óleo essencial da folha de *Cinnamomum zeylanicum*. Nos ensaios *in vitro*, 2,5 ml do óleo essencial foram diluídos em diferentes concentrações que variaram de 0,03 a 10% em óleo de parafina e aplicado em uma placa de Petri que continham ninfas e adultos de *P. ovis*. Após 24h foram observados efeitos acaricidas para os ácaros tratados com 0,10 a 10% de óleo essencial, comparado com o

grupo controle. Para o ensaio *in vivo* foi utilizada a diluição de 2 ml do óleo essencial na concentração de 2,5% em óleo de parafina, todos os seis coelhos tratados topicamente com duas vezes com intervalo de 7 dias, apresentaram melhora significativa da infestação.

Em um outro estudo avaliando as condições para controle de *P. ovis* em testes *in vitro* e *in vivo*, foram testados extratos advindos de *Adonis coerulea*. Nesse estudo, os autores evidenciaram que especialmente o extrato éter acético da planta era altamente tóxico para o ácaro em condições de laboratório, o que foi corroborado pelos testes *in vivo*, pois de todos os extratos avaliados pela pesquisa o éter acético foi o que promoveu melhor controle em coelhos tratados topicamente (Shang *et al.*, 2013).

Diversos estudos também avaliaram a aplicabilidade de óleo essenciais e compostos isolados sobre o ácaro *D. gallinae*. A exemplo disso, Radsetoumalova e colaboradores (2019) verificaram o efeito acaricida de cinco componentes ativos puros de óleos essenciais sobre fêmeas adultas de *D. gallinae*, sendo eles: eucaliptol do alecrim, linalol de lavanda, eugenol de broto de cravo, cinamaldeído de canela e limoneno de frutas cítricas. As substâncias diluídas em água ou em Tween 20[®] foram aplicadas em diversas concentrações e a toxicidade avaliada de acordo com a dose letal (LD₅₀ ou LD₉₀) e observou-se que a maior mortalidade apresentada foi pelo eugenol, seguido pelo cinamaldeído.

Alimi e colaboradores (2023) avaliaram o efeito acaricida do óleo essencial do lentisco (*Pistacia lentiscus*) uma planta arbustiva e aromática, e seus componentes ativos: α -pineno, D-Limoneno, β -Mirceno, 4-Terpineol, cariofileno e γ -terpineno. A toxicidade do óleo essenciais e de seus compostos foi testada com diferentes concentrações que variaram de 0,43 a 3,50 mcg/cm², através de testes de contato e pulverização. Os pesquisadores puderam notar que a eficácia variava de acordo com o método aplicado e a concentração utilizada, mas que a técnica de pulverização foi mais eficiente que os testes de contato e o composto 4-Terpineol apresentou a maior mortalidade frente aos ácaros.

Tabari e colaboradores (2020) verificaram a toxicidade de sete óleos através de testes de contato com o ácaro *D. gallinae*, e posteriormente a toxicidade residual e de fase de vapor, sendo os óleos essenciais utilizados: *Litchi chinensis*, *Clausena anisata*, *Heracleum sphondylium*, *Pimpinella anisum*, *Lippia alba*, *Crithmum maritimum* e *Syzygium aromaticum*. E notaram que o óleo essencial *S. aromaticum* apresentou a maior toxicidade de contato frente aos demais. Enquanto *L. chinensis* e *C. anisata* apresentaram maior toxicidade nos testes a vapor e *L. chinensis* e *S. aromaticum* nos testes de toxicidade residual após quatro dias.

Dessa maneira, diversos outros estudos vêm buscando compreender a ação de óleos essenciais ou compostos isolados sobre ácaros de importância médico veterinária, isso nos traz a reflexão de que novas alternativas de controle são necessárias, não apenas pela questão da resistência aos produtos químico sintéticos, mas também pela necessidade de se praticar uma agropecuária economicamente viável e acessível a todos e ecologicamente equilibrada, considerando as questões de sustentabilidade ambiental.

2.8 O Óleo Essencial de *Mentha piperita*

A Hortelã-pimenta (*Mentha x piperita*) tem sido uma planta bastante estudada a respeito dos seus potenciais bioativos (Mckay; Blumberg, 2006). Trata-se de uma erva que pertence à família Lamiaceae, de hábito herbáceo, perene, glabra e popularmente conhecida como hortelãzinho, hortelã de folha miúda, entre outros. É originária da Europa, mas sua distribuição no Brasil iniciou-se no período da colonização, e advém do

cruzamento de outras duas plantas do mesmo gênero: *Mentha aquatica* e *Mentha spicata* (Rodrigues; Gonzaga, 2001; Mahendran; Rahman, 2020).

As partes mais utilizadas da planta são as folhas (em especial) e os ramos, o método de extração do óleo essencial é a hidrodestilação ou arraste de vapor e a análise do perfil químico se dá por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). A composição química do óleo é bastante diversificada, podendo-se observar mentol, mentona, isomentona, acetato de mentila, limoneno, pulegona, linalool, b-cariofileno, dentre outros, ou seja, o óleo essencial de plantas do gênero *Mentha* apresenta substâncias como monoterpenos simples e oxigenados, sesquiterpenos e até mesmo fenilpropanóides, e a sua composição pode variar de acordo com o tipo de método de extração utilizado (Souza, 2010; Martins *et al.*, 2011).

Quanto aos usos atribuídos ao óleo essencial da *M. piperita*, tanto no âmbito humano, quanto no veterinário e agrônômico, pesquisas são realizadas para buscar compreender como a química deste óleo essencial, seus compostos e seus potenciais bioativos podem contribuir em termos de aplicabilidades, principalmente as terapêuticas e as de controle. Karpinski (2020), apresenta uma revisão de estudos sobre óleos essenciais de diferentes plantas da família Lamiaceae, dentre elas *M. piperita* e, demonstra que a literatura cita seu potencial antifúngico sobre diferentes gêneros como *Aspergillus*, *Candida*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Cryptococcus*.

Modarresi, Farahpour e Baradaran (2018) conduziram um estudo em camundongos para avaliar o efeito de pomadas preparadas com óleo essencial de *M. piperita* sobre feridas. As lesões foram previamente infectadas com cepas de duas bactérias, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, para que se avaliasse a ação da pomada. Os autores observaram que a administração tópica de pomadas com doses mais elevadas de óleo essencial de *M. piperita* tinham a capacidade de reduzir a reação inflamatória e beneficiavam o processo de cicatrização.

O uso de *M. piperita* também foi observado para o controle de artrópodes como *Sitophilus zeamais*, *S. arylae* e *Tribolium* a nível de pragas agrícolas, como no controle de ecto e endoparasitos de importância veterinária como *Rhipicephalus microplus*, *Varroa destructor*, *Haemonchus contortus* e *Strongyloides venezuelensis*, por exemplo (Castagnino; Orsi, 2012; Carvalho *et al.*, 2012; Singh; Pandey, 2018; Singh *et al.*, 2018). Além disso, Perrucci e colaboradores (1995) mostraram que 0,125% de Mentol já era capaz de levar *P. ovis* a uma mortalidade de 100% através de ensaios *in vitro*, assim como outros compostos e óleos essenciais os são, por exemplo (Else; Wall, 2013).

Kim e colaboradores (2004) avaliaram a aplicabilidade de 56 óleos essenciais sobre *D. gallinae* através de contato direto e fumigação. Nos bioensaios de contato com o papel filtro, os ácaros apresentaram 100% de mortalidade quando o tratamento foi feito com 0,07 mg cm⁻² para o óleo de hortelã pimenta e outros. Enquanto que no tratamento por fumigação o óleo de hortelã pimenta não se apresentou tão promissor quanto outros óleos estudados.

Em um outro estudo, Ratajac e colaboradores (2024) investigaram a aplicabilidade de oito óleos essenciais, dentre eles de *M. piperita*, sobre ácaros adultos de *D. gallinae* e verificaram o efeito tóxico de contato e o residual. A taxa de mortalidade dos ácaros tratados com *M. piperita* foi de 40% para toxicidade de contato e menos de 20% para toxicidade residual. Os ácaros foram melhor responsivos aos tratamentos com *Satarujeta montana* apresentando toxicidade de contato de 100% após 48h, enquanto que para a toxicidade residual a maior taxa apresentada foi de 11% para *Thymus vulgaris*. Dessa

maneira o estudo demonstrou que óleos essenciais são eficazes no controle do ácaro vermelho das aves, entretanto *M. piperita* não se apresentou como um dos mais promissores.

Apesar disso, outros estudos reiteram a eficácia do óleo essencial de *M. piperita* sobre *D. gallinae*. Magdas e colaboradores (2010), avaliaram a eficácia de onze óleos essenciais com três concentrações distintas para controlar o ácaro vermelho das aves através do método de contato direto, e evidenciaram que os óleos de manjerição-doce, coentro, hortelã-pimenta e segurelha de verão foram bastante eficazes no controle do ácaro.

Portanto, pode-se considerar que o estudo dos óleos essenciais e dos compostos isolados para o controle de artrópodes de importância médico veterinária, como os ácaros, sejam causadores de sarna ou não, é de extrema relevância. Pois, distintos estudos comprovam que o contato destes artrópodes com diferentes concentrações de óleos em diferentes métodos de aplicação se mostra eficaz.

2.9 Associação de Fungos Entomopatogênicos e Óleos Essenciais: Uma Alternativa de Controle

Fungos entomopatogênicos e óleos essenciais são alternativas viáveis para o controle de artrópodes praga, tanto na agricultura quanto na pecuária. Um dos princípios do controle biológico utilizando fungos entomopatogênicos elucida que é bastante interessante o uso destes agentes de controle conjugados com óleos essenciais a fim de proporcionar um manejo integrado dos artrópodes praga e aumentar a eficiência do controle de insetos (Lak *et al.*, 2022).

Entretanto, sabendo-se da ação fungicida que alguns óleos essenciais podem possuir, o que impossibilitaria seus usos em associação com fungos entomopatogênicos, estudos de compatibilidade entre fungos e óleos essenciais são primordiais para o desenvolvimento de novos métodos de controle para artrópodes. Lak e colaboradores (2022) analisaram o sinergismo de óleos essenciais com isolados iranianos de *M. anisopliae* para o controle do gorgulho do feijão. Ao total foram analisados três isolados de *M. anisopliae* e os óleos essenciais de funcho, estragão e lavanda quanto sua compatibilidade e também seu potencial inseticida. Os pesquisadores verificaram que o óleo essencial de estragão não foi compatível com uma das cepas fúngicas estudadas, evidenciando que não são interessantes para uso em associação. Os demais testes de compatibilidade feitos foram compatíveis. Além disso, a mortalidade dos gorgulhos foi significativamente maior quando os isolados de *M. anisopliae* foram associados aos óleos essenciais de lavanda e funcho.

Ebadollahi e colaboradores (2017) estudaram a combinação dos óleos essenciais de *M. piperita* e *M. pulegium* com o fungo *L. muscarium* para verificar sua capacidade de agir sobre o pulgão do melão. Os óleos essenciais foram avaliados por cromatografia e sua composição química era bastante distinta, apesar disso, de forma isolada ambos os óleos essenciais e o fungo entomopatogênico foram capazes de controlar o pulgão. Quando o fungo foi associado aos óleos essenciais, observou-se que pouco inibição do crescimento micelial, e os pulgões apresentaram maior mortalidade perante o produto associado, apesar de os pesquisadores não terem observado nenhum efeito sinérgico, apenas aditivo.

Um outro estudo foi realizado comparando a associação de *B. bassiana* e *M. anisopliae* com o óleo essencial de anis-estrelado para o controle de *Aedes aegypti*. Os autores realizaram uma série de testes para compreender como era a composição do óleo

essencial e também sua atividade biológica. A partir disso, testes de compatibilidade foram executados com os dois gêneros fúngicos e se observou que não ocorreu nenhuma alteração no desenvolvimento dos fungos estudados. Quando as associações foram testadas em larvas de *A. aegypti* percebeu-se uma ação sinérgica de *M. anisopliae* com o óleo de anis-estrelado e uma ação aditiva de *B. bassiana* com o mesmo óleo. O estudo revelou que ambos os fungos possuem a capacidade de serem combinados com o óleo essencial de anis-estrelado para o controle do mosquito da dengue (Rocha *et al.*, 2024).

Ainda em relação a artrópodes ectoparasitos de importância médico veterinária, existem estudos que avaliam a capacidade de fungos entomopatogênicos associados a óleos essenciais ou compostos isolados para controlar o carrapato dos bovinos *R. microplus*. Ferreira e colaboradores (2024) verificaram a combinação de *B. bassiana* e carvacrol e o impacto dessa associação no alterou os níveis de ácidos graxos e colesterol, a mortalidade e reprodução das fêmeas e a além de alterações morfológicas nos ovários de fêmeas do carrapato dos bovinos.

Embora haja uma vasta literatura sobre a eficácia acaricida de fungos entomopatogênicos, óleos essenciais e seus compostos isolados, bactérias e outros agentes de controle biológico, a pesquisa sobre a combinação de fungos entomopatogênicos e óleos essenciais ainda é limitada. A validação da integração dessas técnicas para o controle de pragas pecuárias é crucial para o desenvolvimento de uma legislação abrangente que atenda às necessidades dos criadores de animais. No Brasil, a ausência de registro para produtos biológicos de uso veterinário torna essa validação ainda mais urgente, dessa forma respaldados por dados concretos adquiridos pela academia poder-se-á requerer que políticas públicas sejam desenvolvidas e a legislação se adeque, possibilitando não só que os estudos sobre métodos alternativos de controle sejam ampliados, mas também que produtos sejam validados e disponibilizados no mercado.

2.10 A Microscopia Eletrônica de Varredura e sua Relevância nos Estudos em Ciências Veterinárias

O uso da microscopia eletrônica é um aliado nos estudos das diversas áreas das ciências biológicas e agrárias, trazendo direcionamentos não só a respeito da morfologia, mas também entendimento como determinados mecanismos ocorrem nos indivíduos e como as interações se estabelecem dentro de um ecossistema, por exemplo.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica que utiliza feixes de elétrons advindos de um filamento ou cristal que vai varrer a superfície do material a ser analisado, depois transmite isso a uma tela catódica por meio de um detector, onde a varredura estará sincronizada ao feixe incidente (Bozolla; Russell, 1999).

Um dos primeiros relatos de descrição da microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi feito por Knoll (1935), posteriormente Von Ardenne (1938) estruturou um microscópio de varredura e transmissão com a utilização de bobinas de varredura e a estrutura de um microscópio de transmissão, propriamente dito. Mas a utilização de um MEV ocorreu anos mais tarde (Zworykin, 1942) em para avaliação de amostras espessas (Dedavid; Gomes; Machado, 2007).

Mapstone, Beasley e Wall (2002), realizaram um estudo com base em microscopia eletrônica de varredura para compreender a morfologia do gnatossoma de *P. ovis*, e evidenciaram que o arcabouço das estruturas contidas nessa região, como palpos, quelífera, sensilas, pseudorutelas e afim, sugeriam uma facilitação para o fluxo

bidirecional de líquido, permitindo uma fluidez da saliva e seu derramamento na pele do hospedeiro, num ponto onde a ponta das quelíceras realizam o desgaste da pele.

Mais tarde Amer *et al.* (2015) realizaram a caracterização morfológica e genotípica de ácaros *P. ovis* coletados de búfalos no Egito. Animais naturalmente infestados tiveram conteúdo de pele coletado através de raspagem cutânea após exame clínico, o intuito era definir quais ácaros causavam as dermatopatias parasitárias. Num total de 80 amostras coletadas 17 possuíam apenas *P. ovis*, 27 possuíam *Sarcoptes* e 36 tinham co-infestação dos dois ácaros, a microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para definir as estruturas morfológicas de *P. ovis*.

O uso da microscopia eletrônica no estudo de outros ácaros, também é uma ferramenta de identificação de morfológica. Bhowmick *et al.* (2020) utilizaram microscopia eletrônica de varredura para realizar a identificação de sensilas nas patas do ácaro, revelando-se um maior número de tipos de sensílios nos tarsos anteriores do que nos posteriores das patas dianteiras.

Além disso, para caracterizar e compreender a eficácia e o modo de ação de produtos aplicados em galpões para o controle de *D. gallinae*, foram avaliados doze produtos acaricidas a base de sílica, nove produtos em pó e três de aplicação líquida, onde a microscopia de varredura evidenciou as diferenças de forma e espessura dos materiais utilizados, ou seja, as sílicas naturais e as sintéticas. Ao final do estudo, sugeriu-se uma seleção prévia de acordo com o desejo de cada aplicador, considerando as diferenças de taxas de eficácia apresentadas para cada produto (Schulz *et al.*, 2014).

Sioutas *et al.* (2023) também avaliaram microscopicamente a atividade acaricida de nanopartículas de prata sobre *D. gallinae*. Diferentes concentrações de nanopartículas de prata foram aplicadas nos ácaros sendo a maior concentração 80 ppm, e também se definiu um controle negativo. Para as análises microscópicas optou-se por utilizar a maior concentração, revelou-se que a interação das nanopartículas com os ácaros provocava rachaduras no exoesqueleto e desprendimento de membros. Sendo assim, o uso de técnicas de microscopia é relevante para compreender essas dinâmicas de interação do produto acaricida com o alvo.

A análise de artrópodes de importância médico veterinária infectados com fungos entomopatogênicos utilizando métodos de microscopia eletrônica ainda é muito escassa. Fiorotti *et al.* (2019) avaliaram os efeitos citotóxicos e ultraestruturais de *M. robertsii* sobre células de *R. microplus*, e revelaram que após a infecção fúngica apenas granulócitos e plasmatócitos puderam ser observados, os demais tipos celulares não, além de diversas alterações como vacuolização, redução dos grânulos nos granulócitos e diferentes estágios de degradação.

Bitencourt *et al.* (2021) avaliaram os efeitos de diferentes propágulos e isolados de fungos entomopatogênicos, formulados ou não com óleo sobre larvas de *A. aegypti*. E evidenciaram que as larvas tratadas com a formulação oleosa apresentavam mais fungos do que aquelas que foram tratadas apenas com suspensão aquosa. Além disso, os fungos apresentavam majoritariamente nas peças bucais, intestino e lobos perispiraculares das larvas.

Dessa maneira, aplicar o uso de técnicas de microscopia em estudos que envolvam a ação acaricida de fungos entomopatogênicos, óleos essenciais e afins, é de extrema relevância considerando que os mecanismos de interação ainda não são profundamente conhecidos para determinados grupos de artrópodes de importância médico veterinária.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do Experimento

Os experimentos foram realizados na Estação Experimental para Pesquisas Parasitológicas Wilhelm Otto Neitz (EEPPWON) pertencente ao Departamento de Parasitologia Animal (DPA) do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em Seropédica, Baixada Fluminense do Rio de Janeiro.

3.2 Obtenção do Isolado Fúngico

O isolado fúngico utilizado no experimento foi de *Metarhizium pingshaense* isolado LCMS09, isolado de amostras de solo do município de Seropédica – RJ (Latitude 22° 45' 48" e Longitude 43° 40' 49") (Figura 3). O isolado em questão foi selecionado com base nos estudos sobre tolerância a fatores abióticos e virulência em carrapatos, realizados anteriormente pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes de Importância Médico Veterinária (LCM) (Corval *et al.*, 2020). O presente estudo teve acesso ao patrimônio genético brasileiro, portanto a pesquisa está registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (Sisgen) sob o código AA47CB6.



Figura 3: Colônia em ponto de inóculo de *Metarhizium pingshaense* (LCM S09) em substrato sólido de aveia. Fonte: Acervo pessoal.

3.3 Obtenção dos Ácaros *Psoroptes ovis* e *Dermanyssus gallinae*

Os ácaros *P. ovis* utilizados nos experimentos foram obtidos através de coletas realizadas em coelhos (*O. cuniculus*) naturalmente infestados, mantidos na cunicultura da Pousada Vale dos Sonhos – Pirai (RJ). Para a coleta dos ácaros e a avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle dos mesmos, o estudo foi protocolado na Comissão de Ética no Uso de Animais/IV/UFRRJ nº 1446131022. Os ácaros *D. gallinae* foram coletados através de armadilhas de papelão depositadas na cama de aves de postura e doados para esta pesquisa.

3.4 Óleo Essencial e Compostos Isolados

O óleo essencial estudado foi selecionado por já ter relatos na literatura a respeito da ação de monoterpenos sobre artrópodes, auxiliando em seu controle. O óleo essencial de *M. piperita* utilizado foi comercial da marca Via Aroma®, os compostos isolados Mentol e Mentona foram os da marca Sigma®. Dessa maneira pode-se associar o óleo essencial e seus compostos isolados com o fungo *M. pingshaense* para avaliar sua capacidade de controlar ácaros de importância médico veterinária.

3.5 Compatibilidade de Conídios de *Metarhizium pingsahense* com Óleo Essencial *Mentha piperita*

Conídios de *M. pingshaense* (LCMS09) foram cultivados em meio Ágar Batata Dextrose (BDA) adicionado de 0,01% de Extrato de Levedura em placas de Petri 90 x 15 mm e mantido em câmara climatizada a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e UR $\geq 80\%$ e fotoperíodo de 12 h por 14 dias. Após esse processo os conídios obtidos foram suspensos em uma solução de água destilada estéril com Tween® 80 a 1% (v/v), na concentração de 2×10^5 conídios/mL, que foram quantificadas com auxílio de câmara de Neubauer em microscópio óptico de acordo com Alves (1998). Diferentes concentrações de óleo essencial de *M. piperita* foram preparadas através da pesagem do óleo essencial colocado em Tween® 80 a 1% (v/v), após esse processo em microtubo de 1.5 mL foram associadas à suspensão fúngica e o óleo essencial de *M. piperita* de modo que se obteve suspensão final de 1×10^5 conídios/mL e 0,3 mg/mL, 0,1 mg/mL ou 0,01 mg/mL de óleo essencial. Após 5 h e 24 h do preparo das associações e dos grupos controle (somente fungo 1×10^5 conídios/mL), 20 µL de cada suspensão foi inoculada em placas de Petri contendo meio batata dextrose ágar e armazenados em câmara climatizada a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e UR $\geq 80\%$ e fotoperíodo de 12 h, por 24 h. Após esse período a germinação fúngica era quantificada e a viabilidade relativa calculada segundo descrito por Braga *et al.* (2001). Os experimentos foram considerados válidos quando as placas de controle tinham pelo menos 95% de conídios germinados. Os experimentos foram realizados três vezes com diferentes lotes de conídios.

3.6 Atividade Acaricida do Óleo Essencial de *Mentha piperita* e Compostos Isolados

Um teste inicial onde trinta ácaros adultos de *P. ovis* foram depositados em Placas de Petri 60 mm x 15 mm contendo uma abertura de 4 x 4 cm e papel filtro fixado ao fundo. Após a separação dos ácaros, os grupos foram tratados com 1 mL de suspensão: I) grupo controle (Tween 80® 1%); II) grupo óleo essencial de *M. piperita* 0,3 mg/mL; III) grupo óleo essencial de *M. piperita* 0,1 mg/mL; IV) grupo óleo essencial de *M. piperita* 0,01 mg/mL, V) grupo Mentol 0,3 mg/mL; VI) grupo Mentol 0,1 mg/mL; VII) grupo Mentol 0,01 mg/mL; VIII) grupo Mentona 0,3 mg/mL; IX) grupo Mentona 0,1 mg/mL e X) grupo Mentona 0,01 mg/mL, aplicando-se o tratamento sobre os ácaros e o papel filtro e fechando-se a Placa de Petri com auxílio de parafilme. Após esse processo, as placas foram depositadas em câmara climatizada a $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e UR $\geq 80\%$ e o experimento foi avaliado dia após dia em ciclos de 24 h com o auxílio de microscópio estereoscópico,

essa avaliação durou um período máximo de oito dias. Os ácaros foram considerados mortos quando nenhum movimento foi observado mesmo após tocá-los com uma agulha. Os testes foram realizados duas vezes com diferentes lotes de ácaros, escolhendo-se a menor concentração capaz de controlar os ácaros para conduzir os testes biológicos que combinassem o óleo essencial ao fungo *M. pingshaense*.

3.7 Análise *in vitro* da Virulência de *Metarhizium pingshaense*, Óleo Essencial de *Mentha piperita* e Compostos Isolados sobre Adultos de *Psoroptes ovis*

Adaptando-se a metodologia proposta por Fang *et al.* (2020), trinta ácaros adultos foram coletados das crostas retiradas do conduto auditivo de coelhos naturalmente procedendo-se como descrito na seção anterior. Após a separação dos ácaros, os grupos foram tratados com 1 mL de suspensão: I) grupo controle (Tween 80[®] 1%); II) grupo *M. pingshaense* (1×10^8 , 1×10^7 ou 1×10^6 conídios/mL); III) grupo óleo essencial de *Mentha piperita* (0,01 mg/mL); IV) grupo Mentol (0,01 mg/mL); V) Grupo Mentona (0,01 mg/mL); VI) grupo *M. pingshaense* associado ao óleo essencial de *M. piperita* (diferentes concentrações conidiais + 0,01mg/mL OE); VII) grupo *M. pingshaense* associado ao Mentol (diferentes concentrações conidiais + 0,01mg/mL Mentol) e VIII) grupo *M. pingshaense* associado à Mentona (diferentes concentrações conidiais + 0,01mg/mL Mentona), aplicando-se o tratamento sobre os ácaros e fechando-se a placa de Petri com auxílio de parafilme. Após esse processo, as placas foram incubadas em câmara climatizada a $27^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ e UR $\geq 80\%$ e o experimento foi avaliado dia após dia em ciclos de 24 h com o auxílio de microscópio estereoscópico, durante um período máximo de oito dias. Os ácaros foram considerados mortos quando nenhum movimento foi observado mesmo após tocá-los com uma agulha. Os experimentos foram repetidos três vezes.

3.8 Análise *in vitro* da Virulência de *Metarhizium pingshaense*, Óleo Essencial de *Mentha piperita* e Compostos Isolados sobre Adultos de *Dermanyssus gallinae*

Adaptando-se a metodologia proposta por Fang *et. al.* (2020), trinta ácaros adultos foram coletados das armadilhas advindas na cama de aves de postura de galpões naturalmente infestados e depositados em placas de Petri como descrito na seção anterior. Após a separação dos ácaros, os grupos foram tratados com 1 mL de suspensão: I) grupo controle (Tween 80[®] 1%); II) grupo *M. pingshaense* (1×10^8 , 1×10^7 ou 1×10^6 conídios/mL); III) grupo óleo essencial de *Mentha piperita* (0,01 mg/mL); IV) grupo Mentol (0,01 mg/mL); V) Grupo Mentona (0,01 mg/mL); VI) grupo *M. pingshaense* associado ao óleo essencial de *M. piperita* (diferentes concentrações conidiais + 0,01mg/mL OE); VII) grupo *M. pingshaense* associado ao Mentol (diferentes concentrações conidiais + 0,01mg/mL Mentol) e VIII) grupo *M. pingshaense* associado à Mentona (diferentes concentrações conidiais + 0,01mg/mL Mentona), aplicando-se o tratamento sobre os ácaros e fechando-se a placa de Petri com auxílio de parafilme. Após esse processo, as placas foram incubadas em câmara climatizada a $27^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ e UR $\geq 80\%$ e o experimento foi avaliado dia após dia em ciclos de 24 h com o auxílio de microscópio estereoscópico, durante um período máximo de oito dias. Os ácaros foram considerados mortos quando nenhum movimento foi observado mesmo após tocá-los com uma agulha. Os experimentos foram repetidos três vezes.

3.9 Avaliação da Infecção Fúngica em *Psoroptes ovis* e *Dermanyssus gallinae* por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a análise microscópica de varredura (MEV), foram utilizados os grupos: CTR Tween 80[®] 1%; LCMS09 10^8 ; 0,01 mg/mL óleo essencial de *M. piperita*; 0,01 mg/mL

Mentol; 0,01 mg/mL Mentona; LCMS09 10^8 + 0,01 mg/mL óleo essencial de *M. piperita*; LCMS09 10^8 + 0,01 mg/mL de Mentol e LCMS09 10^8 + 0,01 mg/mL de Mentona, após 24 h e 48 h de tratamento. Foram analisados um total de dez ácaros por grupo, exceto nos grupos 0,01 EO (24 h) e S09 (48 h) de *P. ovis*, onde nove ácaros foram analisados. Seguiu-se o protocolo proposto por Bitencourt *et al.* (2021) de forma adaptada, para ambos os ácaros avaliados (*P. ovis* e *D. gallinae*), inicialmente foram fixados em glutaraldeído 2,5% (v/v) em Cacodilato de Sódio 0,1 M pH 7,2 por 24 h. Em seguida, foram lavados três vezes em Cacodilato de Sódio 0,1 M pH 7,2 (10 min), pós-fixados em solução de Tetróxido de Ósmio 1% por 1 h em temperatura ambiente e o procedimento de lavagem foi repetido três vezes (10 min). A posteriori, os ácaros foram desidratados em séries ascendentes de etanol (7,5-90%) por 10 min e em etanol 100% três vezes (10 min cada). As amostras foram secas no ponto crítico em CO₂, metalizadas com ouro, examinadas e fotografadas usando um Microscópio Eletrônico de Varredura FEG Quanta 250 (Thermo Fisher Scientific®, Hillsboro, OR, EUA - Plataforma de Microscopia Eletrônica Rudolf Barth/FIOCRUZ) para as leituras de *P. ovis* e Microscópio Eletrônico de Varredura Phenom ProX (Thermo Fisher Scientific®, Hillsboro, OR, EUA - Laboratório Multiusuário de Ultraestrutura/UFRRJ) para as leituras de *D. gallinae*.

3.10 Análise Estatística

Os dados dos testes de compatibilidade foram submetidos a teste de normalidade, transformados em arco seno ($Vx/100$) visando a normalização de suas distribuições (Banzato e Kronka, 2006). Em seguida, aplicou-se a análise de variância (ANOVA) para verificar os efeitos dos tratamentos dos tempos de exposição e o teste de Tukey ($P < 0.05$). Os dados de mortalidade dos ácaros foram submetidos, inicialmente, ao teste de normalidade de distribuição de Shapiro-Wilk. Observado tal pressuposto, o efeito dos grupos nos oito dias de avaliação foi avaliado mediante análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Skott-Knott ($p < 0.05$) para agrupamento e comparação das médias observadas. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software Prism Graph Pad 10.2.3.

4 RESULTADOS

4.1 Compatibilidade de Conídios de *Metarhizium pingshaense* com Óleo Essencial de *Mentha piperita*

A germinação relativa dos conídios de *M. pingshaense* expostos a diferentes concentrações de óleo essencial de *M. piperita* durante dois períodos de incubação é apresentada na Figura 4. Não foram observadas variações estatísticas entre os fatores testados (concentração do tratamento: $F = 2,11$ e $P = 0,108$; tempo de incubação: $F = 5,72$ e $P = 0,054$; interação tratamento $\times$ tempo de incubação: $F = 1,71$ e $P = 0,1734$). As suspensões fúngicas analisadas nas diferentes concentrações de óleo essencial (0,3, 0,1 e 0,01 mg.mL⁻¹) e em tempos de incubação (5 h e 24 h), iguais estatisticamente entre si, promoveram média geral de 99,7% de germinação, o que consideramos equivalente à totalidade dos conídios analisados.

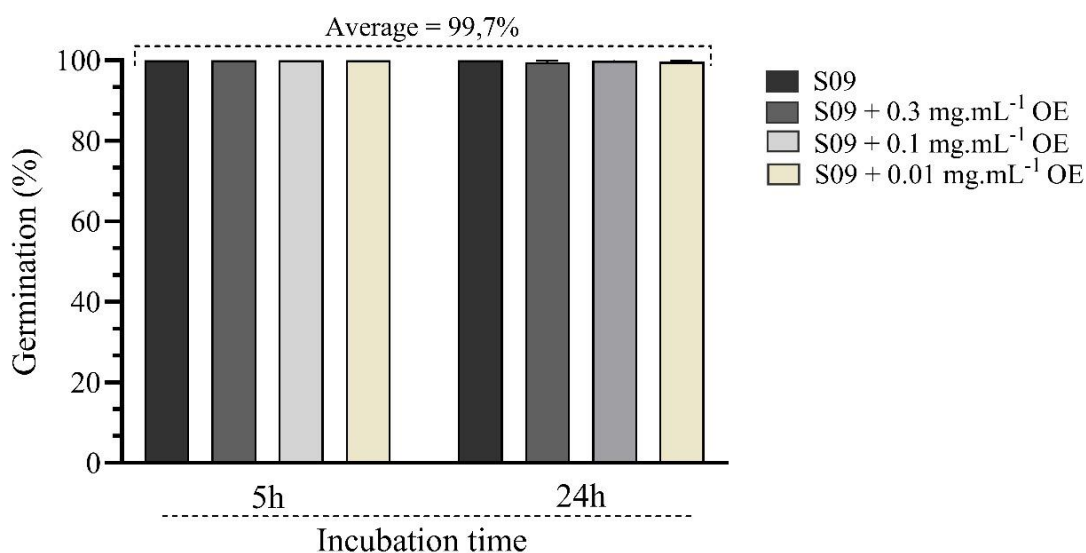


Figura 4: Média e erro padrão do percentual de germinação (%) de conídios *M. pingshaense* (LCMS09), associados ou não com diferentes concentrações do óleo essencial de *M. piperita* (0,3 mg/mL; 0,1 mg/mL ou 0,01 mg/mL) por 5 h e 24 h. S09: grupo controle (suspensão de *M. pingshaense* a 1×10^5 conídios/mL); S09 + OE: suspensão fúngica incubada com soluções de OE para atingir concentrações finais de 1×10^5 conídios/mL e OE a 0,3 mg/mL, 0,1 mg/mL ou 0,01 mg/mL. A germinação dos conídios foi avaliada 24 horas após os tempos de incubação (5 ou 24 horas) ($P > 0,05$).

4.2 Atividade Acaricida do Óleo Essencial de *Mentha piperita* e Compostos Isolados

O OE de *Mentha piperita* e seus principais constituintes, mentol e mentona, reduziram significativamente a sobrevivência de adultos de *P. ovis* em comparação ao grupo tratado com Tween 80® 1% (CTR) (Figura 5). A curva de sobrevivência do grupo controle diferiu significativamente daquelas dos ácaros expostos ao OE de *M. piperita* nas concentrações de 0,3 mg/mL (tempo médio de sobrevivência = um dia; $P < 0,0001$; $\chi^2 = 130,3$), 0,1 mg/mL (tempo médio de sobrevivência = 1,5 dias, $P < 0,0001$; $\chi^2 = 66,3$) e 0,01 mg/mL (tempo médio de sobrevivência = três dias, $P < 0,0001$; $\chi^2 = 106,3$). Da mesma forma, diferenças significativas foram observadas em grupos tratados com mentol em concentrações de 0,3 mg/mL (tempo médio de sobrevivência = um dia; $P < 0,0001$;

$\chi^2 = 128,1$), 0,1 mg/mL (tempo médio de sobrevivência = um dia; $P < 0,0001$; $\chi^2 = 95,77$) e 0,01 mg/mL (tempo médio de sobrevivência = três dias; $P < 0,0001$; $\chi^2 = 63,72$), bem como com mentona a 0,3 mg/mL (tempo médio de sobrevivência = três dias; $P < 0,0001$; $\chi^2 = 58,43$), 0,1 mg/mL (tempo médio de sobrevivência = três dias; $P < 0,0001$; $\chi^2 = 34,79$) e 0,01 mg/mL (tempo médio de sobrevivência = quatro dias; $P < 0,0001$; $\chi^2 = 24,02$).

Embora o OE de *M. piperita* a 0,3 mg/mL, o mentol a 0,3 mg/mL e o mentol a 0,1 mg/mL tenham sido os mais eficazes contra os ácaros, a concentração de 0,01 mg/mL foi escolhida para bioensaios subsequentes contra adultos de *P. ovis* e *D. gallinae*, pois a sobrevivência observada com a menor concentração é satisfatória por sua possibilidade de aplicabilidade e a viabilidade financeira.

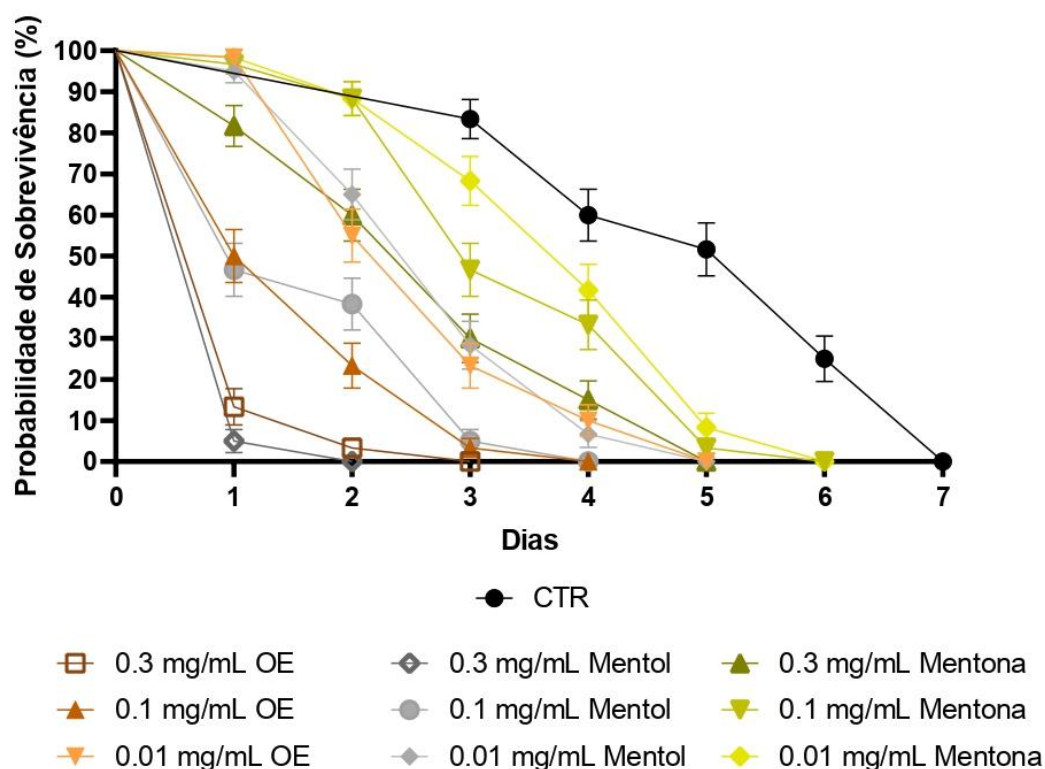


Figura 5: Porcentagem média de sobrevivência e erro padrão de adultos de *Psoroptes ovis* expostos ao óleo essencial de *Mentha piperita*, mentol e mentona de acordo com Log-rank ($p < 0,0001$). CTR (ácaros tratados com Tween 80® aquoso a 1%); 0,3 OE (0,3 mg/mL de *Mentha piperita* OE); 0,1 OE (0,1 mg/mL de *M. piperita* OE); 0,01 OE (0,01 mg/mL de *M. piperita* OE); 0,3 mentol (0,3 mg/mL de mentol); 0,1 mentol (0,1 mg/mL de mentol); 0,01 mentol (0,01 mg/mL de mentol); 0,3 mentona (0,3 mg/mL de mentona); 0,1 mentona (0,1 mg/mL de mentona); 0,01 mentona (0,01 mg/mL mentona).

4.3 Análise *in vitro* da Virulência de *Metarhizium pingshaense*, Óleo Essencial de *Mentha piperita* e Compostos Isolados Sobre Adultos de *Psoroptes ovis*

Todas as suspensões contendo fungos utilizadas nos tratamentos contra ácaros apresentaram viabilidade $\geq 98\%$. A mortalidade de ácaros adultos *P. ovis* em resposta a diferentes tratamentos com concentrações variáveis de *M. pingshaense*, óleo essencial de *M. piperita*, mentol, mentona e suas associações é apresentada na Figura 6. Após dois dias de tratamento, as taxas médias de mortalidade variaram de 100% (S09 10⁸; S09 10⁸

+ óleo essencial; e S09 10⁸ + mentona) a 21,67% (S09 10⁶ + mentol). Quatro dias após o tratamento, os grupos S09 10⁷ (84,33%), S09 10⁶ (76,67%), S09 10⁶ + OE (86,67%), S09 10⁶ + mentol (80,89%) e S09 10⁶ + mentona (83,11%) apresentaram taxas médias de mortalidade significativamente diferentes dos demais grupos de tratamento e do controle (40%). Nos mostrando que o grupo S09 10⁶ + OE foi o mais interessante, considerando a baixa concentração fúngica e a mortalidade dos ácaros frente aos grupos tratados com concentrações fúngicas maiores em associação ou isoladamente ao OE e compostos majoritários.

A análise de variância para mortalidade entre os períodos avaliados revelou diferenças significativas entre os grupos nos dias 2 e 4 ($P < 0,001$), indicando que o tipo de tratamento influenciou fortemente a mortalidade dos ácaros durante esses momentos. Coeficientes de variação (CV%) de 16,1% (2 dias) e 12,3% (4 dias) sugeriram variabilidade moderada nos dados, o que é típico em experimentos biológicos.

Aos 6 e 8 dias após o tratamento, não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos ($P = 0,41$ e $P > 0,5$, respectivamente), visto que todos os grupos atingiram taxas de mortalidade acima de 95%, incluindo CTR, sugerindo estabilização dos níveis de mortalidade e ausência de efeitos do tratamento após o quarto dia. O CV% corrobora ainda mais essa interpretação, com 4,8% aos 6 dias e 0,0% aos 8 dias, indicando alta uniformidade entre os grupos durante esses períodos. Em outras palavras, o efeito do tratamento foi mais pronunciado até o quarto dia, tornando-se insignificante ou uniforme a partir do sexto dia. Esse comportamento está associado ao fato de *P. ovis* ser um ectoparasito obrigatório, cuja capacidade de sobrevivência fora do hospedeiro é significativamente reduzida após cinco dias de abstinência do parasitismo.

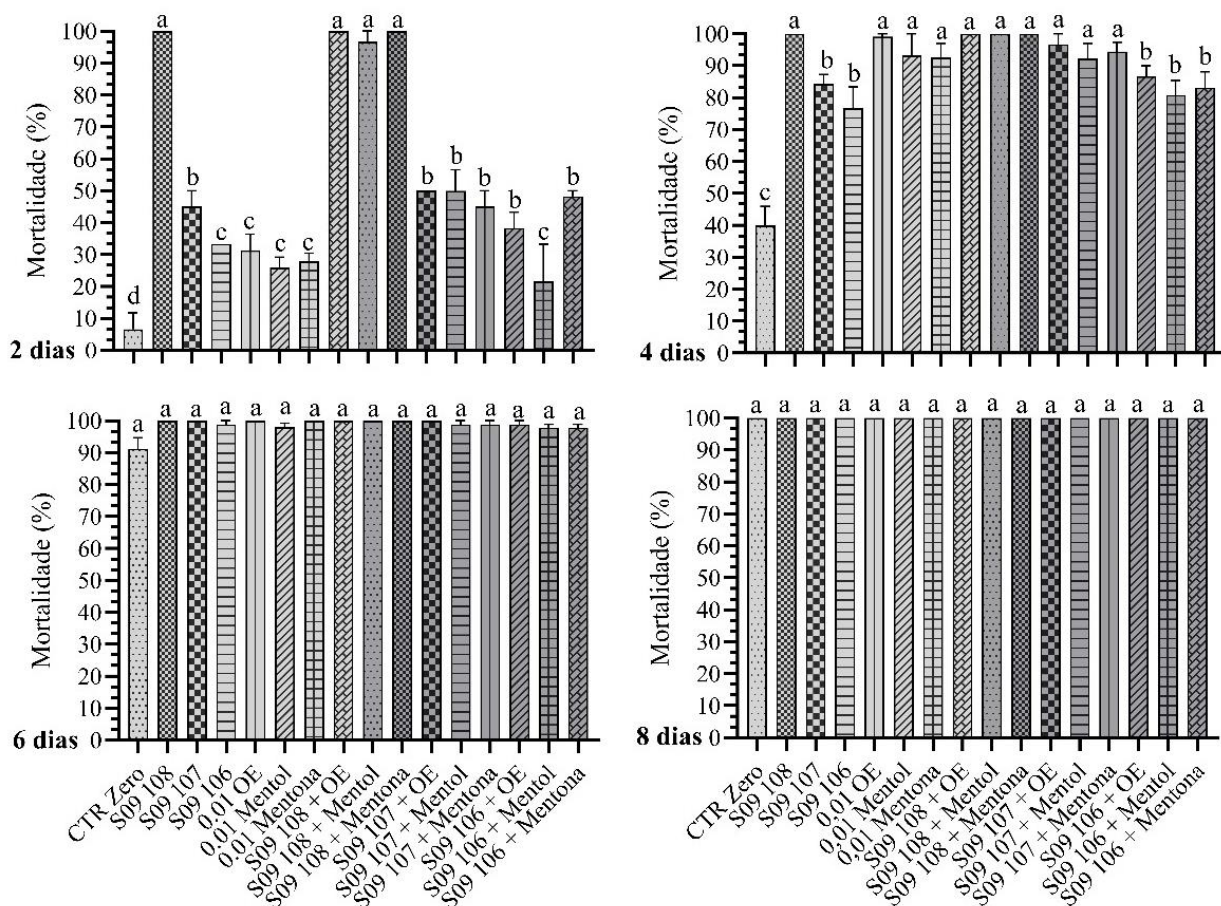


Figura 6: Valores médios e erro padrão da mortalidade de *Psoroptes ovis* em resposta à aplicação de diferentes tratamentos contendo *Metarhizium pingshaense*, óleo essencial de *Mentha piperita*, Mentol, Mentona ou a associação entre fungo e óleo essencial ou compostos isolados. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p > 0.05$).

4.4 Análise *in vitro* da Virulência de *Metarhizium pingshaense*, Óleo Essencial de *Mentha piperita* e Compostos Isolados sobre Adultos de *Dermanyssus gallinae*

Todas as suspensões contendo fungos utilizadas nos tratamentos contra ácaros apresentaram viabilidade $\geq 99\%$. A mortalidade de ácaros adultos *D. gallinae* em resposta a diferentes tratamentos com concentrações variáveis de *M. pingshaense*, óleo essencial de *M. piperita*, mentol, mentona e suas associações é apresentada na Figura 7. Quando analisamos a mortalidade dos ácaros após os tratamentos a cada 2 dias, comparando-os, pode-se perceber que no segundo dia pós-tratamento os grupos LCMS09 10^8 , LCMS09 $10^8 + 0,01$ OE, LCMS09 $10^8 + 0,01$ Mentol, LCMS09 $10^8 + 0,01$ Mentona, LCMS09 $10^7 + 0,01$ OE, LCMS09 $10^7 + 0,01$ Mentol, LCMS09 $10^6 + 0,01$ OE e LCMS09 $10^6 + 0,01$ Mentol apresentam mortalidades que variaram de 50 a 85% para o ácaro *D. gallinae* e não diferiram estatisticamente entre si. No quarto dia pós tratamento, apenas os grupos LCMS09 10^8 , LCMS09 $10^8 + 0,01$ OE, LCMS09 $10^8 + 0,01$ Mentol, LCMS09 $10^8 + 0,01$ Mentona, LCMS09 $10^7 + 0,01$ Mentol e LCMS09 $10^6 + 0,01$ OE apresentam mortalidade em mais de 90% dos ácaros diferindo estatisticamente do controle de mais grupos de tratamento. A partir do 6º dia, todos os grupos diferiram estatisticamente do controle, que apresentou média de 30% de mortalidade ao 6º dia e de 55% ao 8º dia pós tratamento.

Nesse contexto, nota-se que o tratamento S09 10⁶ + OE apresentou-se como o mais interessante em comparação com os demais tratamentos testados.

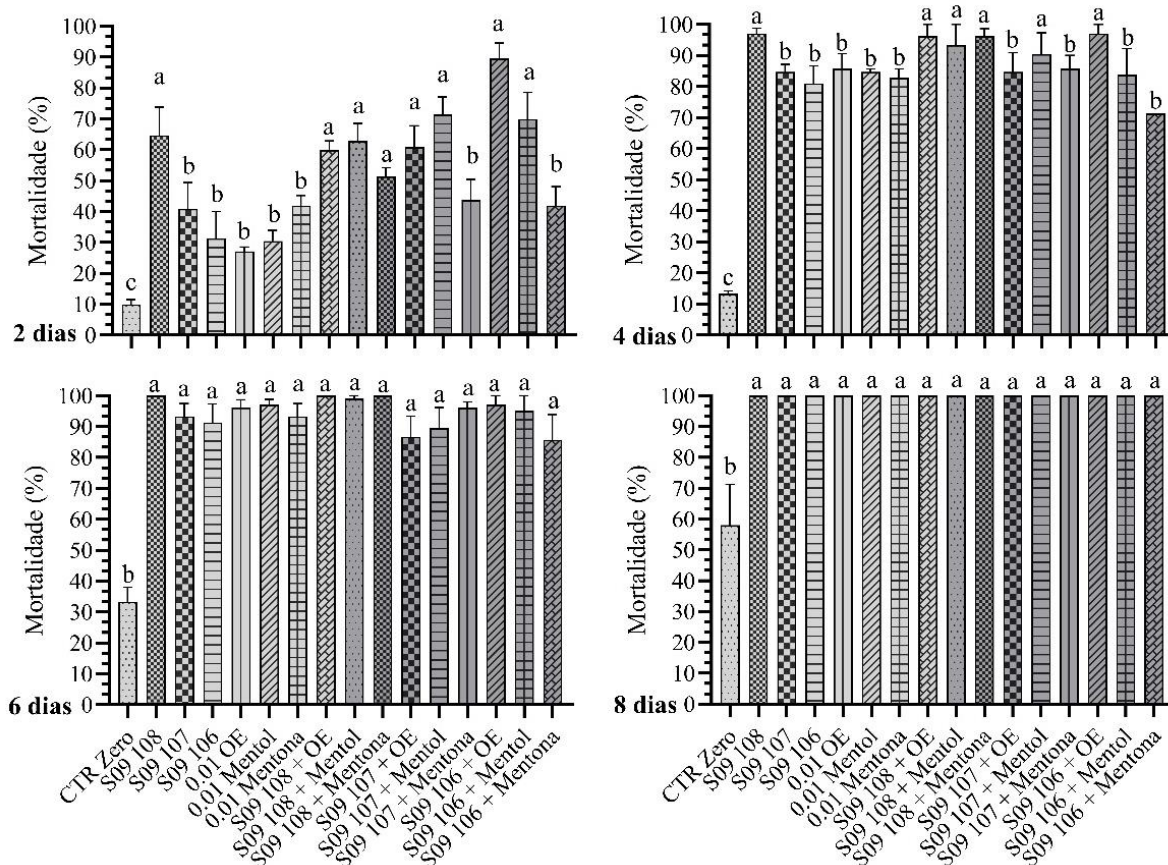


Figura 7: Valores médios e erro padrão da mortalidade de *Dermanyssus gallinae* em resposta à aplicação de diferentes tratamentos contendo *Metarhizium pingshaense*, óleo essencial de *Mentha piperita*, Mentol, Mentona ou a associação entre fungo e óleo essencial ou compostos isolados. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($p > 0,05$).

4.5 Avaliação da Infecção Fúngica em *Psoroptes ovis* e *Dermanyssus gallinae* por Microscopia Eletrônica De Varredura

Ácaros adultos de *P. ovis* machos e fêmeas foram identificados de acordo com Sanders et al. (2000) e Ras et al. (2020), usando amostras do grupo controle para identificação. As Figuras 8 e 9 ilustram os efeitos ultraestruturais dos tratamentos com fungos e OE em adultos de *P. ovis* 24 h e 48 h após o tratamento, respectivamente, enquanto a Figura 10 destaca detalhes das estruturas de adesão e penetração do fungo. Os critérios utilizados para descrever os efeitos observados do tratamento incluíram a presença ou ausência de crescimento fúngico nos ácaros, o grau de desenvolvimento micelial, alterações estruturais na cutícula, sinais de desidratação corporal e evidências de penetração cuticular (por exemplo, dilatações compatíveis com a formação de apressórios).

Os ácaros do CTR não apresentaram crescimento fúngico ou alterações estruturais em seu gnátossoma ou idiossoma (Figuras 8A e 9A). Nos ácaros tratados apenas com o fungo, o desenvolvimento micelial foi evidente 24 h após o tratamento (Figura 8B) e tornou-se mais evidente em 48 h (Figura 9B). Locais específicos da cutícula apresentaram sinais consistentes com penetração fúngica, incluindo dilatações localizadas sugestivas de formação de apressórios (Figura 10). Em geral, a colonização micelial ocorreu inicialmente de forma mais proeminente na região ventral dos ácaros, provavelmente devido ao contato contínuo com o papel de filtro impregnado com suspensões fúngicas, o que favorece a adesão e penetração de conídios nessa área.

Os grupos tratados apenas com OE de *M. piperita* (Figuras 8C e 9C) ou mentol 0,01 mg/mL (Figuras 8E e 9E) e mentona 0,01 mg/mL (Figuras 8G e 9G) apresentaram desidratação acentuada do corpo do ácaro, sem diferenças visíveis entre 24 e 48 h. A associação do isolado S09 com o óleo essencial de *M. piperita* (Figuras 8D e 9D) sugeriu um atraso no desenvolvimento fúngico, visto que o crescimento do tubo germinativo foi mais visível apenas 48 horas após o tratamento (Figura 9D) em comparação com 24 horas (Figura 8D). Da mesma forma, a progressão micelial fúngica em ácaros tratados com S09 e mentol (Figuras 8F e 9F) foi mais evidente 48 horas após o tratamento (Figura 9F), acompanhada de alterações distintas na forma corporal.

A associação de S09 + mentona (Figuras 8H e 9H) resultou em crescimento fúngico mais evidente 24 horas após o tratamento (Figura 8H) em comparação com as outras associações no mesmo período. Nesses ácaros, foi possível observar dilatações compatíveis com a formação de apressório (Figuras 8H e 9H), indicando locais de possível penetração cuticular.

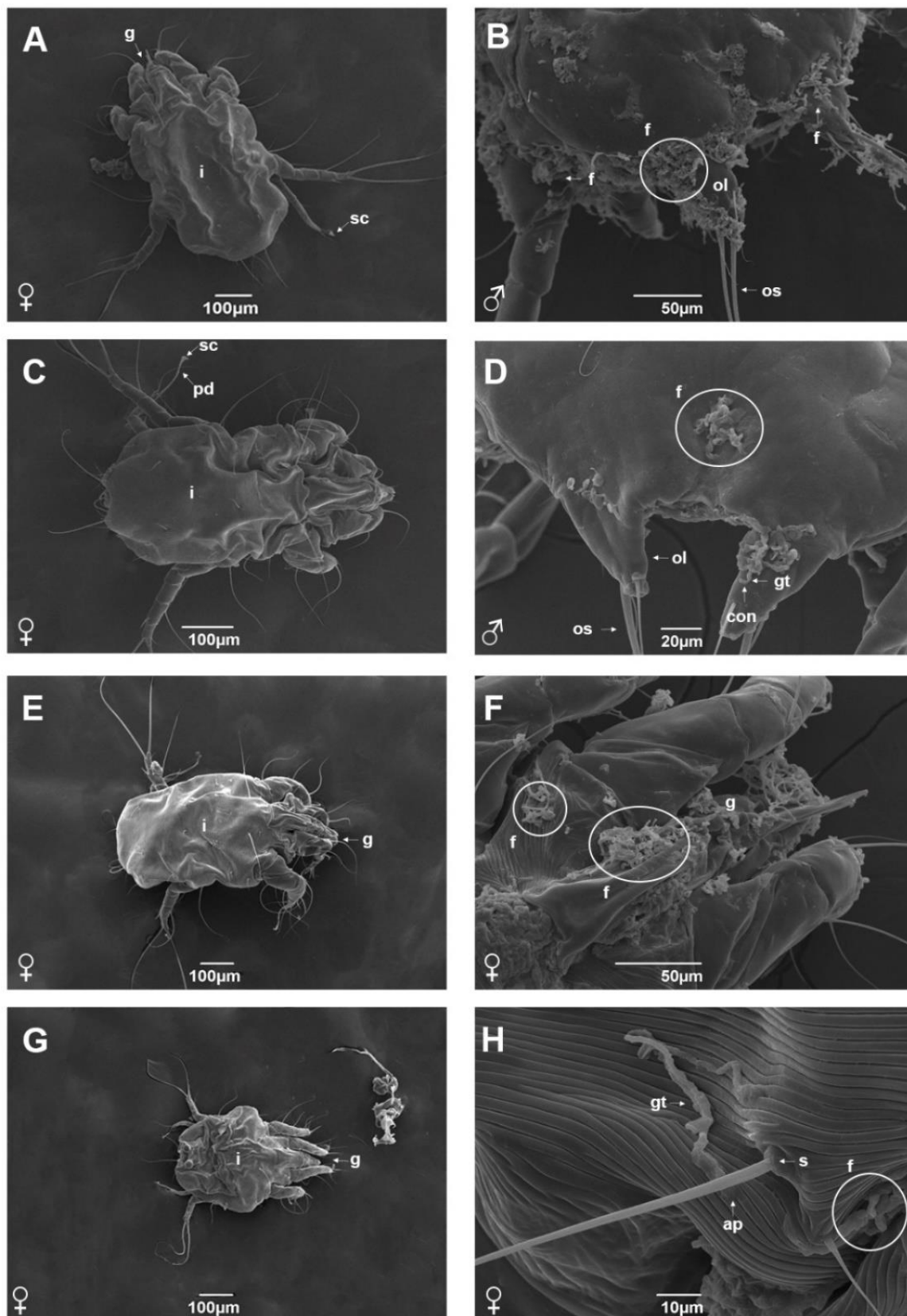


Figura 8: Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de adultos de *Psoroptes ovis* expostos por 24 h a conídios de *Metarhizium pingshaense* (S09), óleo essencial de *Mentha piperita*, mentol e mentona ou à associação entre fungo e óleo ou fungo e compostos isolados. (A) CTR; (B) S09 1×10^8 ; (C) 0,01 OE; (D) S09 + OE; (E) 0,01

mentol; (F) S09 + mentol; (G) 0,01 mentona; (H) S09 + mentona. (g) gnatossoma, (i) idiossoma, (sc) ventosa, (pd) pedicelo, (ol) bilobação opistossomal, (os) cerda do opistossoma, (s) cerda, (f) fungo, (con) conídios, (gt) tubo germinativo, (ap) apressório, (♀) fêmea e (♂) macho.

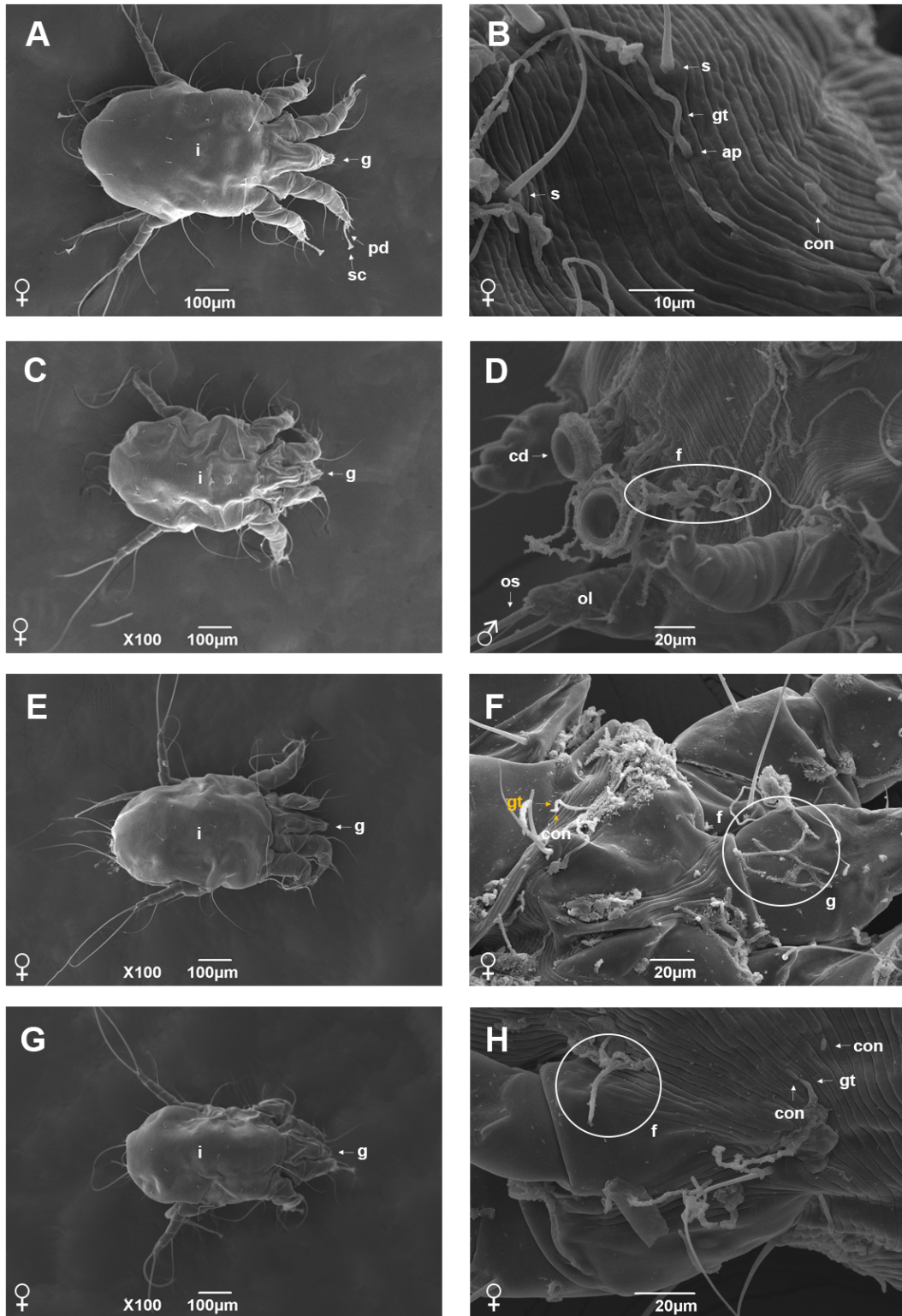


Figura 9: Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de adultos de *Psoroptes ovis* expostos por 48 h a conídios de *Metarhizium pingshaense* (LCM S09), OE de *Mentha*

piperita, mentol e mentona ou a associação entre fungo e óleo ou fungo e compostos isolados. (A) CTR; (B) S09 1×10^8 ; (C) 0,01 OE; (D) S09 + OE; (E) 0,01 mentol; (F) S09 + mentol; (G) 0,01 mentona; (H) S09 + mentona. (g) gnatossoma, (i) idiossoma, (sc) ventosa, (pd) pedicelo, (ol) bilobação opistossomal, (cd) disco copulador, (os) cerda do opistossoma, (s) cerda, (f) fungo, (con) conídios, (gt) tubo germinativo, (ap) apressório, (♀) fêmea e (♂) macho.

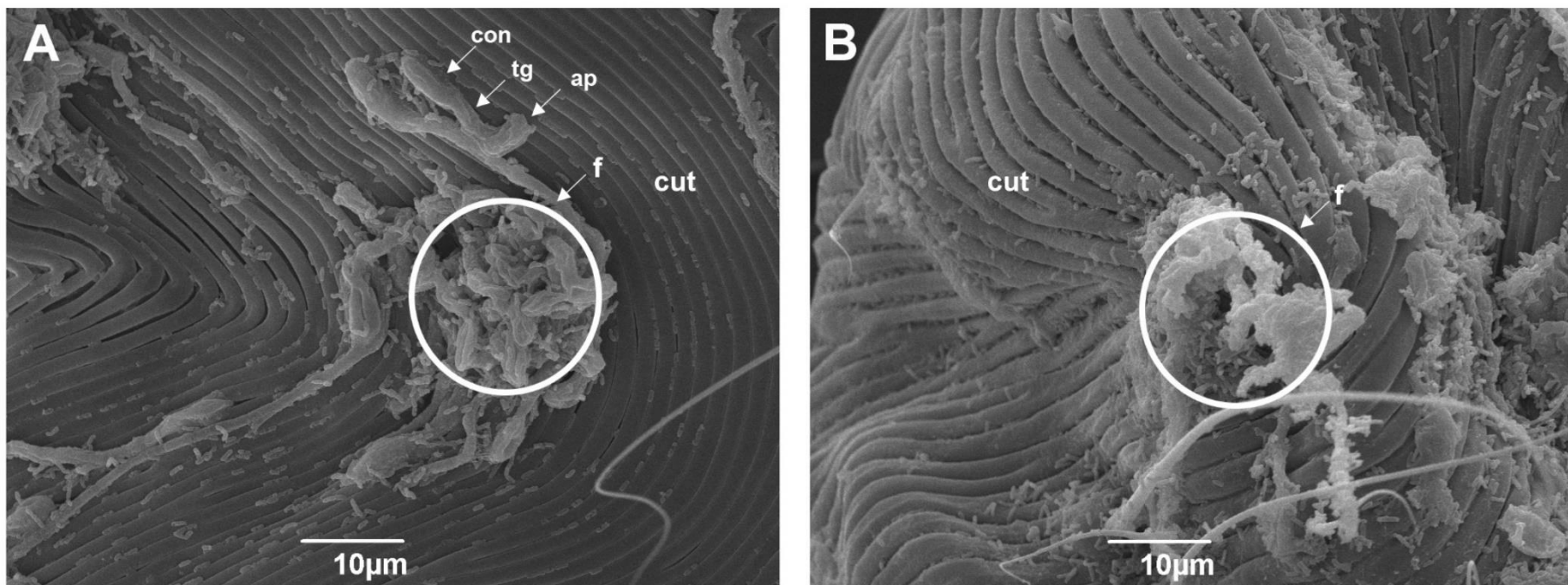


Figura 10: Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de adultos de *Psoroptes ovis* (A) 24 h e (B) 48 h após a exposição de conídios de *Metarhizium pingshaense* (S09). (cut) cutícula, (f) fungo, (con) conídios, (tg) tubo germinativo, (ap) apressório.

Para *Dermanyssus gallinae* foram realizadas imagens dorso-ventrais e ventro-dorsais de adultos, machos e fêmeas (Figuras 11 e 12) após 24h (Figura 11A - 11H) e 48h (Figura 12A – 12H) de tratamento. Pode-se observar que os grupos controle (Tween 80[®] 1%) não apresentaram crescimento fúngico e nem alterações estruturais no gnatossoma ou idiossoma dos ácaros (Figura 11A e 12A). Nas imagens de ácaros tratados apenas com o isolado LCMS09 (*M. pingshaense*) se observou bom desenvolvimento do micélio fúngico, evidenciando-se a presença os conídios, tubos germinativos e apressórios de *M. pingshaense*, independente do horário de tratamento 24h (Figura 11B) e 48h (Figura 12B). Quando observamos os grupos tratados com óleo essencial de *M. piperita* (Figura 11C e 12C) e seus compostos isolados Mentol (Figura 11E e 12E) e Mentona (Figura 11G e 12G) não são observadas alterações estruturais significativas, independente do tempo de avaliação, apesar do ácaro tratado com óleo essencial *M. piperita* 24h apresentar-se mais desidratado visualmente. Nos grupos onde ocorreu a associação entre o isolado LCMS09 com óleo essencial de *M. piperita* (Figura 11D e 12D) se observou desenvolvimento micelial progressivo com a presença de tubo germinativo. Para LCMS09 associado ao Mentol (Figura 11F e 12F), não houve desenvolvimento fúngico significativo, mas notou-se que os ácaros apresentavam uma série de rachaduras no idiossoma e desprendimento de estruturas do aparelho bucal e patas. Quando se associou LCMS09 e Mentona (Figura 11H e 12H), observou-se diferenças quanto ao desenvolvimento micelial para 24h (11H) e 48h (12H).

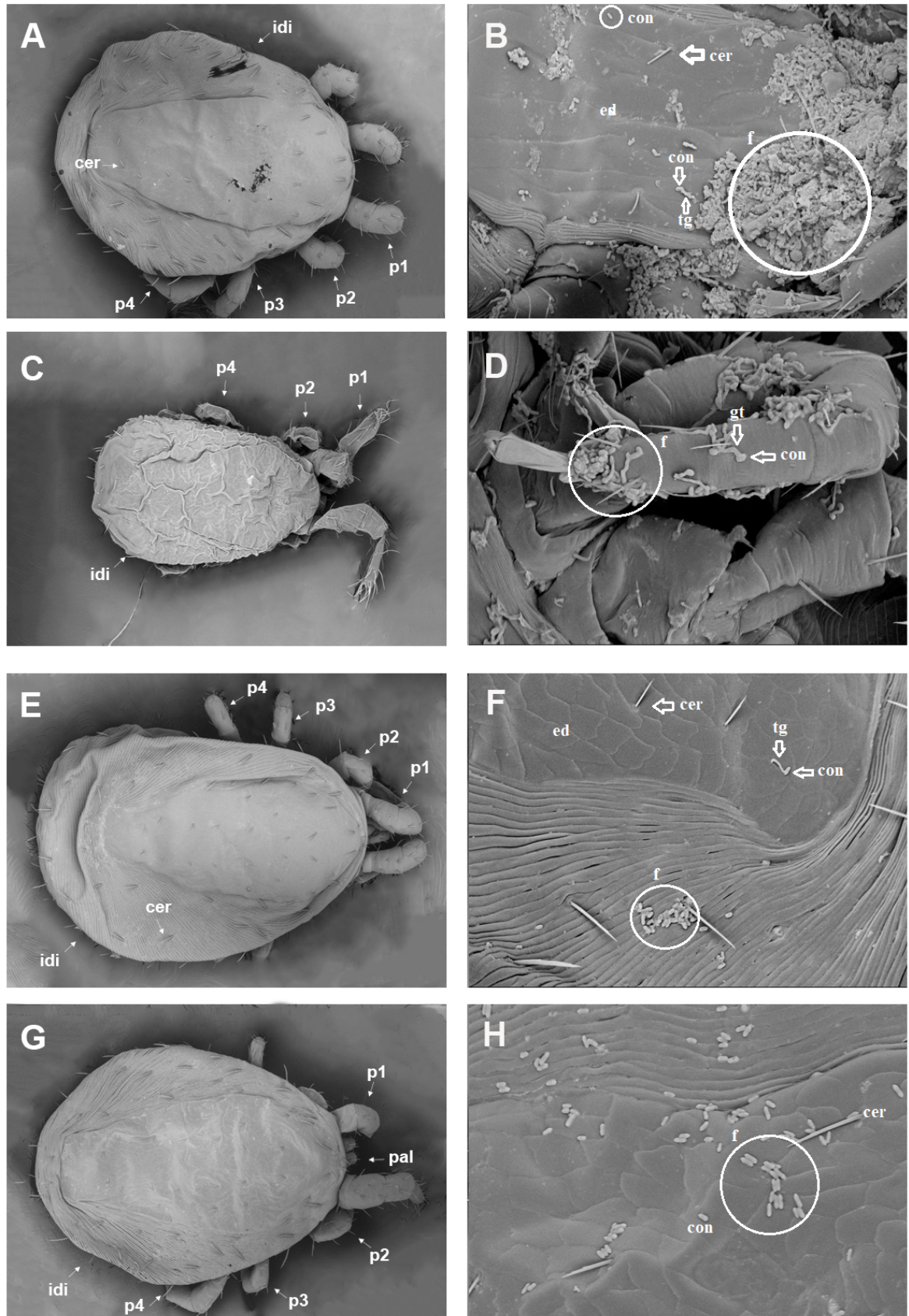


Figura 11: Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de adultos de *Dermanyssus gallinae* expostos por 24 h a conídios de *Metarhizium pingshaense* (LCMS09), óleo essencial de *Mentha piperita*, Mentol e Mentona ou a

associação entre fungo e óleo ou fungo e compostos isolados. Sendo (A) Controle (300 µm); (B) LCM S09 (80 µm); (C) 0,01 mg/mL de *Mentha piperita* (300 µm); (D) LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de *Mentha piperita* (50 µm); (E) 0,01 mg/mL de Mentol (300 µm); (F) LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de Mentol (80 µm); (G) 0,01 mg/mL de Mentona (300 µm); (H) LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de Mentona (50 µm). Palpo (pal), idiossoma (idi), pata 1 - 4 (p1 – p4), escudo dorsal (ed), cerda (cer), fungo (f), conídio (con), tubo germinativo (tg), apressório (ap).

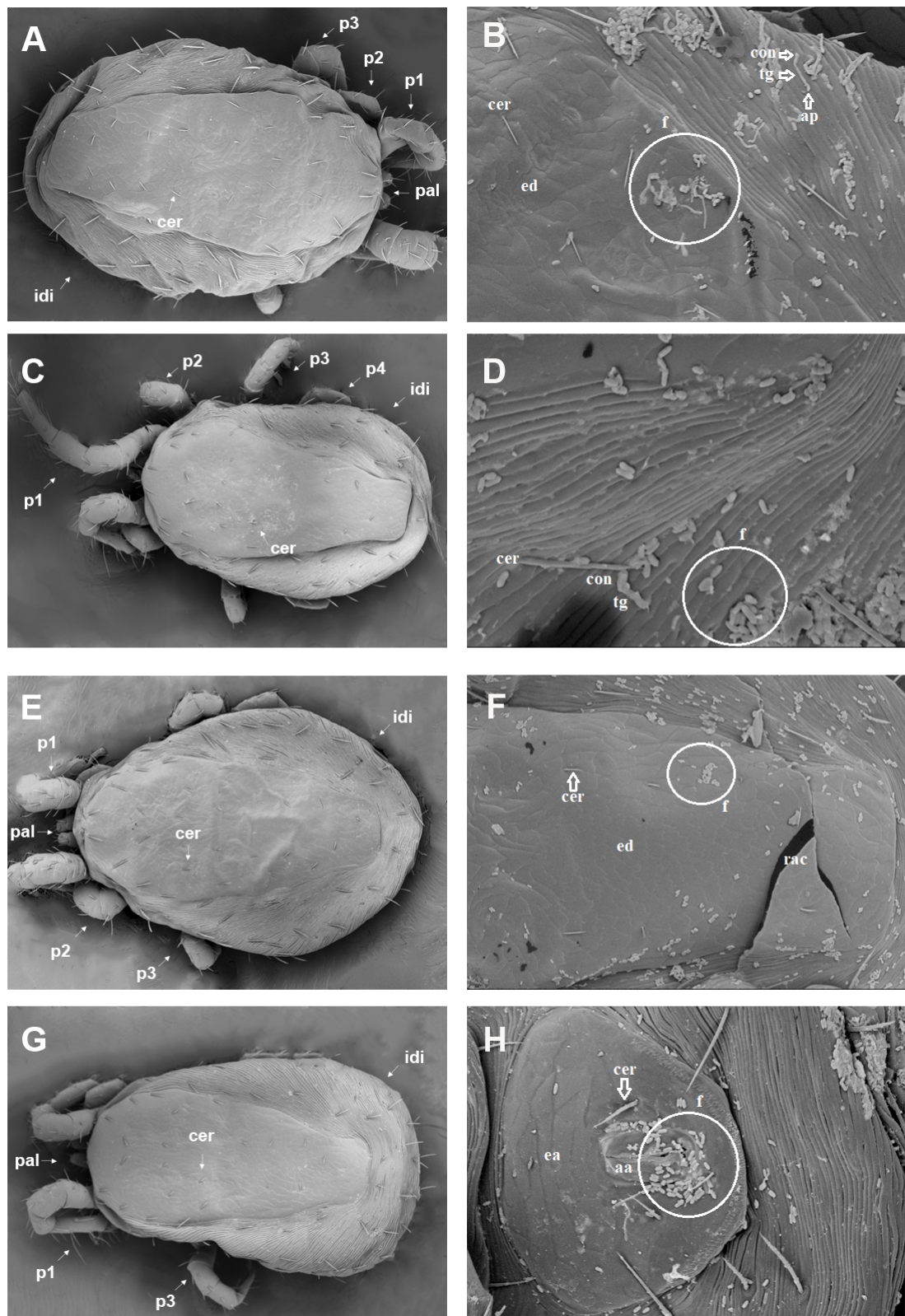


Figura 12: Micrografias de microscopia eletrônica de varredura de adultos de *Dermanyssus gallinae* expostos por 48 h a conídios de *Metarhizium pingshaense* (LCMS09), óleo essencial de *Mentha piperita*, Mentol e Mentona ou a associação entre fungo e óleo ou fungo e compostos isolados. Sendo (A) Controle (200

µm); **(B)** LCM S09 (100 µm); **(C)** 0,01 mg/mL de *Mentha piperita* (300 µm); **(D)** LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de *Mentha piperita* (30 µm); **(E)** 0,01 mg/mL de Mentol (300 µm); **(F)** LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de Mentol (100 µm); **(G)** 0,01 mg/mL de Mentona (300 µm); **(H)** LCMS09 associado com 0,01 mg/mL de Mentona (50 µm). Palpo (pal), idiossoma (idi), escudo dorsal (ed), escudo anal (ea), abertura anal (aa), pata 1 - 4 (p1 – p4), cerda (cer), fungo (f), conídio (con), tubo germinativo (tg), apressório (ap), rac (rachadura).

5 DISCUSSÃO

Considerando que *P. ovis* e *D. gallinae* representam grandes desafios devido aos altos impactos no bem-estar e na produtividade animal, e à crescente preocupação com a resistência a acaricidas (Plant; Lewis, 2011; Abbas *et al.*, 2014; Flochlay; Thomas; Sparagano, 2017; Sturgess-Osborne *et al.*, 2019; Ebani; Mancianti, 2021; Soler; Germano; Larroza, 2022), há necessidade de estratégias alternativas de controle. Estas incluem o uso de compostos bioativos, óleos essenciais e fungos entomopatogênicos como parte do manejo integrado de pragas (Lekimme *et al.*, 2006; Abolins *et al.*, 2007; Shang *et al.*, 2016; Gay *et al.*, 2020; Gu *et al.*, 2020; Bayramoğlu *et al.*, 2024; Truong *et al.*, 2024). No entanto, no que diz respeito sobre a combinação de fungos entomopatogênicos com OE para o controle de *P. ovis*, nunca foram feitos relatos, enquanto que para *D. gallinae* poucos estudos foram realizados (Immediato *et al.*, 2016).

O presente estudo relata, pela primeira vez, a associação do OE de *M. piperita* com o fungo entomopatogênico *M. pingshaense* contra *P. ovis* e *D. gallinae*. O isolado LCM S09 de *M. pingshaense*, quando combinado com OE nas concentrações de 0,3 mg/mL, 0,1 mg/mL e 0,01 mg/mL, não apresentou redução na germinação fúngica. Estudos anteriores, no entanto, relataram efeitos fungicidas do OE de *M. piperita* e seus constituintes contra outras espécies fúngicas, como *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Candida tropicalis* (Bomfim; Queiroz; Santos, 2023; Rodrigues, 2024). Da mesma forma, Borba (2024) observou inibição completa do crescimento de *Metarhizium rileyi* após inoculação com diferentes concentrações de OE de *M. piperita* após 14 dias de incubação. Apoiando essa hipótese, Bitencourt *et al.* (2022) demonstraram que a associação do OE de *Schinus* com as cepas *M. anisopliae* CG 153 e *Beauveria bassiana* CG 206 comprometeu a germinação de conídios em concentrações superiores a 0,0050%. Esses resultados sugerem que tanto a concentração de OE quanto a cepa fúngica são fatores críticos que influenciam a viabilidade fúngica após a exposição. Rosas-Garcia *et al.* (2019), por exemplo, relataram diferenças na germinação de diferentes isolados de *M. anisopliae* quando associados ao OE de *M. piperita* a 5 e 10 µL / mL. Em contraste, Gebauer *et al.* (2024) relataram compatibilidade entre *B. bassiana* e diferentes óleos essenciais de *Mentha* spp., incluindo *M. piperita*, e que essa associação controlou *Alphitobius diaperinus* (o besouro-da-farinha). Consequentemente, tanto a concentração do óleo essencial quanto a cepa fúngica são fatores críticos que influenciam a viabilidade do fungo após a exposição.

Metarhizium spp. são bastante promissores no controle de *P. ovis*, tanto *in vitro* (Smith *et al.*, 2000; Abolins *et al.*, 2007; Gu *et al.*, 2020) quanto *in vivo* (Abolins *et al.*, 2007). Além disso, Perrucci *et al.* (1995) demonstraram que a aplicação tópica de 0,125% de mentol resultou em 97% de mortalidade de *P. ovis*, uma descoberta consistente com a eficácia relatada para outros óleos essenciais e seus compostos bioativos (Ellse; Wall, 2013). No presente estudo, a maior concentração fúngica (10^8 conídios/mL), 48h após o tratamento, resultou em taxas de mortalidade de *P. ovis* superiores a 95% tanto no grupo apenas com fungo quanto nos grupos tratados com o fungo combinado com OE, mentol ou mentona. Ao mesmo tempo, nos grupos tratados com menores concentrações fúngicas (10^7 e 10^6 conídios/mL) combinados com o OE ou compostos isolados, as taxas de mortalidade variaram de 21.67% a 50%. Quatro dias após o tratamento, mesmo os grupos tratados com as menores concentrações fúngicas apresentaram taxas de mortalidade acima de 75%, significativamente diferentes em comparação aos ácaros do grupo controle. Apesar disso, seis dias após o tratamento, todos os grupos, incluindo o controle,

apresentaram altas taxas de mortalidade. Esses resultados possivelmente estão associados ao fato de *P. ovis* ser um ectoparasita obrigatório, cuja capacidade de sobrevivência fora do hospedeiro é significativamente reduzida após cinco dias de retirada do parasitismo. Além disso, Smith e colaboradores (1999) avaliaram os efeitos da temperatura e da umidade sobre *P. ovis* fora de seus hospedeiros e descobriram que temperaturas próximas a 30°C e umidade relativa na faixa de 95% reduziram a sobrevivência dos ácaros para 5 dias, destacando as limitações dos ensaios *in vitro*.

Para *D. gallinae* observamos que a maior concentração fúngica (10^8 conídios/mL), 48 horas após o tratamento, resultou em taxas de mortalidade de ácaros que variaram de 51.3% a 62.8% para os grupos tratados com o fungo combinado com OE, mentol ou mentona e 64.63% para o grupo tratado apenas com fungo. Ao mesmo tempo, nos grupos tratados com concentrações fúngicas mais baixas (10^7 e 10^6 conídios/mL) combinadas com OE ou compostos isolados, as taxas de mortalidade variaram de 41.87% a 89.5%. Quatro dias após o tratamento, mesmo os grupos tratados com as menores concentrações fúngicas apresentaram taxas de mortalidade acima de 71%, significativamente diferentes em comparação com os ácaros não tratados. Dessa maneira a ação de fungos entomopatogênicos, óleos essenciais e compostos isolados também vem sendo estudada há bastante tempo, e diferentes espécies se mostraram eficazes no controle de *D. gallinae* em ensaios *in vitro*. Estudos com fungos evidenciaram que a cepa fúngica, umidade, temperatura e a concentração de fungos utilizadas podem ser interessantes para o controle do ácaro vermelho das galinhas (Tomer *et al.*, 2018; Immediato *et al.*, 2015; Hwang, 2023; Truong *et al.*, 2024). Truong e colaboradores (2024) mostraram que a aplicação de uma suspensão de 1×10^7 conídio/mL de *M. pingshaense* foi capaz de matar 97.78% dos ácaros em 10 dias de tratamento, corroborando com os achados que tivemos sobre a ação desse fungo, no presente estudo.

Quando falamos no uso de óleos essenciais sobre *D. gallinae* diversos deles foram testados contra o ácaro, como: centro, mostarda, tomilho, lavanda e outros, como mostram Ellse e Wall (2013) em uma revisão a respeito da aplicabilidade desses agentes no controle de ectoparasitos. Mas, pensando na associação de fungos entomopatogênicos e óleos essenciais, Immediato e colaboradores (2016) perceberam que *Eucalyptus globulus* a uma concentração de 0,2% e *Beauveria bassiana* a 1×10^9 conídios/mL sozinhos ou associados, eram eficazes no controle de *D. gallinae* em 24h.

Nosso estudo buscou compreender a interação de *M. pingshaense* e o OE de *M. piperita* e seus compostos majoritários. A literatura cita o potencial da combinação de fungos e compostos bioativos visando ao controle de artrópodes. Lak *et al.* (2022) demonstraram que a combinação de OE de erva-doce (*Foeniculum vulgare*), estragão (*Artemisia dracunculus*) e lavanda (*Lavandula angustifolia*) com *M. anisopliae* aumentou significativamente a mortalidade do gorgulho do feijão (*Acanthoscelides obtectus*). Da mesma forma, Rocha *et al.* (2024) relataram que a combinação de OE e fungos entomopatogênicos foi eficaz contra o mosquito da dengue *Aedes aegypti*, incluindo evidências de uma interação sinérgica. Ferreira *et al.* (2024) também observaram que a combinação de carvacrol com *B. bassiana* melhorou significativamente o controle das fêmeas de *R. microplus* e afetou negativamente sua capacidade reprodutiva.

Apesar de nossos resultados demonstrarem que, em alguns casos, a ação do fungo por si só foi suficiente para controlar *P. ovis* e *D. gallinae* (Figuras 6 e 7), *M. piperita* possui propriedades antimicrobianas de amplo espectro, prevenindo ou controlando infecções bacterianas e fúngicas secundárias que exacerbam a inflamação e os danos teciduais no canal auditivo de coelhos ou a pele de aves intensamente afestados (Perrucci

et al., 1995; Boukeloua; Yilmaz; Temel, 2017; Rosato et al., 2018). Assim, estudos como o nosso são importantes para compreender a compatibilidade entre o agente biológico e o composto derivado de plantas, ampliar o espectro de ação e aumentar a eficácia geral.

Sugerimos que alguns fatores podem contribuir para esses resultados: 1) a complexidade química do OE pode variar em sua capacidade de promover o desenvolvimento fúngico dentro do contexto da cutícula do ácaro, 2) os compostos majoritários, quando testados isoladamente, estavam mais concentrados, o que poderia afetar negativamente o desenvolvimento fúngico na cutícula do ácaro e 3) fatores como genética da planta, época de colheita e os métodos usados para secar e extrair o óleo das plantas podem influenciar a composição química do OE. Portanto, embora o OE completo tenha demonstrado compatibilidade, os compostos majoritários isoladamente podem dificultar o crescimento fúngico e a eficácia combinada (Khanavi *et al.*, 2013; Rocha *et al.*, 2014; Riahi *et al.*, 2015; Ebadollahi *et al.*, 2017).

A análise morfológica de *P. ovis* em 48 h pós-tratamento revelou desenvolvimento micelial mais extenso em comparação a 24 h, indicando progressão típica do crescimento fúngico. A colonização micelial ocorreu inicialmente de forma mais proeminente na região ventral dos ácaros, provavelmente devido ao contato contínuo com o papel de filtro impregnado com suspensões fúngicas, o que favorece a adesão e penetração de conídios nessa área. Além disso, a ruptura e a desorganização da estrutura cuticular foram observadas em ácaros tratados com o fungo, seja sozinho ou em associação com OE ou seus compostos isolados.

Essas alterações são consistentes com o modo de ação esperado de fungos entomopatogênicos, que penetram ativamente na cutícula do artrópode por meio de uma sequência de sete estágios: (1) adesão conidial, (2) germinação, (3) formação do tubo germinativo, (4) desenvolvimento do apressório, (5) colonização interna dos tecidos do hospedeiro, (6) crescimento externo na superfície do hospedeiro após a morte e (7) conidiogênese. Tais perturbações estruturais estão intimamente ligadas a fatores específicos do hospedeiro que podem modular a progressão e o sucesso da infecção fúngica. Exemplos desses fatores são: a resposta imune do hospedeiro, a composição da cutícula e a microbiota intestinal (Bittencourt; Mascarenhas; Faccini, 1999; Kirkland; Westwood; Keyhani, 2004; Zimmermann, 2007; Ment *et al.*, 2020; Correa *et al.*, 2021; Mesquita *et al.*, 2023).

Quarenta e oito horas após o tratamento de *P. ovis*, vários pontos na superfície cuticular sugeriram penetração fúngica, e a presença de apressórios também foi observada. O extenso desenvolvimento micelial 48 horas após o tratamento sugere que a morte do ácaro pode ocorrer principalmente por asfixia, um efeito mecânico que pode estar associado a dois fatores: (1) o micélio fúngico pode ter obstruído as trocas gasosas, particularmente relevante para ácaros astigmáticos que dependem da superfície corporal para respiração, e (2) a natureza hidrofóbica dos OE, bem como seus principais compostos, mentol e mentona, podem ter induzido estresse hídrico ou sufocação ao romper as estruturas cuticulares nos grupos tratados (Serra-Freire; Mello, 2006; He *et al.*, 2016; Selles *et al.*, 2021).

Já na análise morfológica de *D. gallinae*, foi observado desenvolvimento micelial quando se compararam os ácaros após 24 e 48 h pós-tratamento. Notando-se que os grupos tratados com fungo de forma isolada ou em associação com o OE e os compostos mantinham uma diversidade de conídios sobre a superfície do idiossoma, mas ainda progredindo com o desenvolvimento micelial após 48 h de tratamento. Observou-se

também que a maior parte dos conídios, aderiu-se à região ventral do corpo dos ácaros, o que consolida o pensamento de que isso pode estar relacionado ao contato contínuo com o papel de filtro impregnado pelos tratamentos.

Não foram notados desarranjos da estrutura cuticular, no entanto observou-se que os ácaros com mais tempo de tratamento possuíam patas, estruturas do aparelho bucal na região do gnatossoma e por vezes parte do idiossoma bastante quebradiços. Ademais, 48 h pós tratamento, os grupos que haviam sido tratados com OE ou compostos majoritários de forma isolada ou em associação, apresentavam maior rugosidade da estrutura cuticular que os grupos controle e tratados apenas com o fungo. Estas alterações podem estar associados à interação de *D. gallinae* com os agentes utilizados no tratamento, pois Sioutas e colaboradores (2023) evidenciaram que após o tratamento com nanopartículas de prata os ácaros apresentavam rachaduras no exoesqueleto e desprendimento de patas.

Além disso, quando se observa maior desidratação da estrutura cuticular, poderia se pensar no protocolo de preparo para microscopia, considerando que Murillo, Aguilar e Sanchez (2014) após testarem múltiplos protocolos de processamento, evidenciaram que glutaraldeído e o tetróxido de ósmio podiam não ser boas opções para *Tyrophagus putrescentiae*. No entanto, os grupos controle e fungo isolado não apresentaram tanta desidratação na estrutura corporal, indicando que a ação do OE ou dos compostos isolados pode sim ter contribuído para tais aspectos micrográficos.

Logo, no presente estudo, destacamos um passo fundamental para a compreensão do processo de infecção de ácaros de relevância veterinária por fungos entomopatogênicos, particularmente aqueles do gênero *Metarhizium*. Nossos resultados mostram o desenvolvimento micelial do fungo e as alterações cuticulares que são consistentes com a penetração do fungo. Além disso, nossas descobertas reforçam o potencial da combinação de fungos entomopatogênicos com OE e compostos isolados, evidenciando que para ambos os ácaros estudados o tratamento S09 10^6 + OE foi promissor no controle dos ectoparasitos. Essas informações nos dão subsídios para o desenvolvimento de alternativas de controle mais eficazes, sustentáveis e economicamente viáveis.

6 CONCLUSÃO

- O isolado nativo de *M. pingshaense* demonstrou compatibilidade com o óleo essencial de *M. piperita* nas concentrações avaliadas (0,3, 0,1 e 0,01 mg/ml), evidenciando a viabilidade de uso conjunto desses agentes no controle de *P. ovis* e *D. gallinae*;
- Tanto o isolado de *M. pingshaense* quanto o óleo essencial de *M. piperita* e seus principais compostos bioativos, Mentol e Mentona, apresentaram potencial acaricida promissor contra *P. ovis* e *D. gallinae*;
- O tratamento S09 10⁶ + OE apresentou-se como uma escolha interessante, considerando a eficácia na mortalidade de *P. ovis* e *D. gallinae*, e o custo benefício considerando as concentrações de fungo e óleo utilizadas;
- A análise por microscopia eletrônica de varredura em *P. ovis* evidenciou intenso crescimento de micélio fúngico sobre o corpo dos ácaros, indicando alta capacidade de colonização;
- A mortalidade de *P. ovis* pode ocorrer tanto por asfixia — em decorrência dos efeitos físicos do fungo, do óleo essencial e de seus compostos — quanto por infecção direta;
- Em *D. gallinae* a análise microscópica de varredura mostrou que também ocorreu desenvolvimento micelial, principalmente na região ventral, indicando capacidade de colonização pelo fungo;
- Em *D. gallinae* notou-se fragilidade cuticular com exoesqueleto quebradiço;
- A mortalidade de *D. gallinae* pode ocorrer tanto por asfixia — em decorrência dos efeitos físicos do fungo, do óleo essencial e de seus compostos — quanto por infecção direta;
- Esses achados destacam o potencial da integração de fungos entomopatogênicos com compostos bioativos derivados de plantas como parte de estratégias sustentáveis para o controle de ácaros de importância veterinária.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, R. Z.; COLWELL, D. D.; IQBAL, Z.; KHAN, A.. Acaricidal drug resistance in poultry Red Mite (*Dermanyssus gallinae*) and approaches to its management. **Worlds Poult Sci J**, 70:113–124, 2014.
- ABD EL-HALIM, A. S.; ALLAM, K. A.; METWALLY, A. M.; EL BORAIEY, A. M.. Seasonal variation of infestation rate with lice, tick and mite among rodents in certain Egyptian regions. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, 39(2), 617-624, 2009.
- ABOLINS, S.; THIND, B.; JACKSON, V.; LUKE, B.; MOORE, D.; WALL, R.; TAYLOR, M. A.. Control of the sheep scab mite *Psoroptes ovis* in vivo and in vitro using fungal pathogens. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 148, n. 3-4, p. 310-317, 2007.
- ACBC, Associação Científica Brasileira de Cunicultura. **Boletim Informativo ACBC**, v. 21, n. 5, p. 1- 41, 2021.
- AGWUNOBI, D. O.; YU, Z.; LIU, J.. A retrospective review on ixodid tick resistance against synthetic acaricides: implications and perspectives for future resistance prevention and mitigation. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, v. 173, p. 104776, 2021.
- ALI, B.; AL-WABEL, N. A.; SHAMS, S.; AHAMAD, A.; KHAN, S. A.; ANWAR, F.. Essential oils used in aromatherapy: a systemic review. **Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine**, v.5, n.8, p. 601-611, 2015.
- ALIMI, D.; HAJRI, A.; JALLOULI, S.; SEBAI, H.. *Pistacia lentiscus* essential oil and its pure active components as acaricides to control *Dermanyssus gallinae* (Acari: mesostigmata). **Veterinary Parasitology**, v. 322, p. 110028, 2023.
- ALKHAIBARI, A. M.; CAROLINO, A. T.; YAVASOGLU, S. I.; MAFFEIS, T.; MATTOSO, T. C.; BULL, J. C.; SAMUELS, R. I.; BUTT, T. M.. *Metarhizium brunneum* blastospore pathogenesis in *Aedes aegypti* larvae: attack on several fronts accelerates mortality. **PLoS Pathogens**, v. 12, n. 7, 2017.
- ALVES, L. F. A.; JOHANN, L.; OLIVEIRA, D. G. P.. Challenges in the Biological Control of Pests in Poultry Production: a critical review of advances in brazil. **Neotropical Entomology**, [S.L.], v. 52, n. 2, p. 292-301, 2023.
- AMER, S.; WAHAB, T. A. E.; METWALY, A. E. N.; FENG, Y.; XIAO, L.. Morphologic and Genotypic Characterization of *Psoroptes* Mites from Water Buffaloes in Egypt. **Plos One**, v. 10, n. 10, 2015.
- AMORIM, M. G. R.; AZEVEDO, S. S.; RIET-CORREA, F. Seasonal prevalence and mean intensity of *Psoroptes ovis* infestation in goats in the Brazilian semiarid region. **Revta. Bra. Parasit. Vet.**, 24(1):59-65, 2015.
- ARSLAN, H. H.; YAVUZ, O.; BEYHAN, Y. E.; CENESIZ, M.; HOKELEK, M. The therapeutic effect of pour-on administered cypermethrin in *Psoroptes cuniculi* infestation in rabbits. **Revue Méd. Vét.**, v. 165, n. 11-12, p.318-322, 2014.
- ASHRAF, S. A.; ELKHALIFA, A. E. O.; SIDDIQUI, A. J.; PATEL, M.; AWADELKAREEM, A. M.; SNOUSSI, M.; ASHRAF, M. S.; ADNAN, M.; HADI, S.. Cordycepin for Health and Wellbeing: a potent bioactive metabolite of an

entomopathogenic medicinal fungus cordyceps with its nutraceutical and therapeutic potential. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 2735, 2020.

AZEVEDO, J. L.. Microorganismos endofíticos. IN: MELO, I.S; AZEVEDO, J.L edit Ecologia microbiana. Jaguariuna: Embrapa-CNPMA, 1998. cap4, p.117-137, 1998.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M.. Biological effects of essential oils – A review. **Food And Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. Experimentação Agrícola. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2006.

BARIMANI, A.; YOUSSEFI, M. R.; TABARI, M. A.. Traps containing carvacrol, a biological approach for the control of *Dermanyssus gallinae*. **Parasitology Research**, 115, 3493–3498, 2016.

BATES, P.G. Inter- and intra-specific variation within the genus *Psoroptes* (Acari: psoroptidae). **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 83, n. 3-4, p. 201-217, 1999.

BATISTA A. F.; ALMEIDA, J. E. M.; LAMAS, C.. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotrop Entomol**, 30(3): 437-447, 2001.

BAYRAMOĞLU, M.; BAYRAMOĞLU, Z.; AYDİN, L.; ZENGİN, S. A.; ÇİRAK, V. Y.; DEMİRBAĞ, Z.; DEMİR, İ.. Entomopathogenic fungi with biological control potential against poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*, Arachnida: dermanysidae). **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 328, p. 110155, 2024.

BENELLI, G.; PAVELA, R.; CANALE, A.; MEHLHORN, H.. Tick repellents and acaricides of botanical origin: a green roadmap to control tick-borne diseases?. **Parasitology Research**, v. 115, n. 7, p. 2545-2560, 2016.

BERNARDO, C. C.; PEREIRA-JUNIOR, R. A.; LUZ, C.; MASCARIN, G. M.; FERNANDES, É. K. K.. Differential susceptibility of blastospores and aerial conidia of entomopathogenic fungi to heat and UV-B stresses. **Fungal Biology**, v. 124, n. 8, p. 714-722, 2020.

BHOWMICK, B.; TANG, Y.; LIN, F.; ØINES, Ø.; ZHAO, J.; LIAO, C.; IGNELL, R.; HANSSON, B. S.; HAN, Q.. Comparative morphological and transcriptomic analyses reveal chemosensory genes in the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020.

BIDOCHKA, M.J.; SMALL, C.L.; SPIRONELLO, M. Recombination within sympatric cryptic species of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Environmental Microbiology**, v.7, p.1361-1368, 2005.

BISCHOFF, J. F.; REHNER, S. A.; HUMBER, R. A.. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. **Mycologia**, v. 101, p. 512-530, 2009.

BITENCOURT, R. O. B.; MALLET, J. R. S.; MESQUITA, E.; GÔLO, P. S.; FIOROTTI, J.; BITENCOURT, V. R. E. P.; PONTES, E. G.; ANGELO, I. C. Larvicidal activity, route of interaction and ultrastructural changes in *Aedes aegypti* exposed to entomopathogenic fungi. **Acta Tropica**, [S.L.], v. 213, p. 105732, 2021.

BITENCOURT, R. O. B.; FARIA, F. S.; MARCHESINI, P.; SANTOS-MALLET, J. R.; CAMARGO, M. G.; BITENCOURT, V. R. E. P.; PONTES, E. G.; PEREIRA, D. B.;

- CHAVES, D. S. A.; ANGELO, I. C.. Entomopathogenic fungi and Schinus molle essential oil: the combination of two eco-friendly agents against *Aedes aegypti* larvae. **Journal Of Invertebrate Pathology**, [S.L.], v. 194, p. 107827, 2022.
- BITTENCOURT, V. R. E. P.; MASCARENHAS, A. G.; FACCINI, J. L. H. Mecanismo de infecção do fungo *Metarhizium anisopliae* no carrapato *Boophilus microplus* em condições experimentais. **Ciência Rural**, v. 29, p. 351-354, 1999.
- BOMFIM, Y. G.; QUEIROZ, B. S.; SANTOS, M. S... Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Mentha piperita* e *Citrus limon* contra cepas patogênicas. **Research, Society and Development**, 12(10), e81121043430-e81121043430, 2023.
- BORBA, Jaqueline Grizon. **Controle da *Anticarsia gemmatilis* e compatibilidade do *Metarhizium rileyi* com óleo essencial de *Mentha × piperita***. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Universidade de Caxias do Sul, Campus Universitário de Nova Prata, 2024. Orientador: Camila Bonatto Vicenço. Disponível em: <https://repositorio.ucs.br/11338/13758>.
- BOUKELOUA, A.; YILMAZ, M. A.; TEMEL, H.. Effect of *Mentha piperita* L. fatty oil on full thickness excised wound healing in rabbits. **Int J Biosci**, v. 11, p. 68-74, 2017.
- BOZZOLA, J. J.; RUSSELL, L. D.. **Electron microscopy: principles and techniques for biologists**. Jones & Bartlett Learning, 1999.
- BRAGA, G.U.L.; FLINT, S.D.; MESSIAS, C.L.; ANDERSON, A.J.; ROBERTS, D.W. Effect of UV-B on conidia and germLings of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. **Mycology Research**, v. 105, n. 7, p. 874 – 882, 2001.
- BRASIL. Produtos veterinários farmacêuticos registrados no Brasil. **Ministério de Agricultura e Pecuária**. Disponível em: <https://mapa-indicadores.agricultura.gov.br/publico/single/?appid=a3e9ce67-d63b-43ff-a295-20123996ead7&sheet=4c2ec12f-be27-47f2-8136-e2fd18cbb54a&lang=pt-BR&opt=ctxmenu&select=clearall>
- BRIGGS, L. L.; COLWELL, D. D.; WALL, R. Control of the cattle louse *Bovicola bovis* with the fungal pathogen *Metarhizium anisopliae*. **Veterinary parasitology**, v. 142, n. 3-4, p. 344-349, 2006.
- BROEK, A.H. van Den; HUNTLEY, J.F. Sheep Scab: the disease, pathogenesis and control. **Journal of Comparative Pathology**, v. 128, n. 2-3, p. 79-91, 2003.
- BROEK, A.H.M van Den; HUNTLEY, J. F; HALLIWELL, R. W.; MACHELL, J.; TAYLOR, M.; MILLER, H. R. P. Cutaneous hypersensitivity reactions to *Psoroptes ovis* and Der p 1 in sheep previously infested with *P. ovis*—the sheep scab mite. **Veterinary Immunology And Immunopathology**, v. 91, n. 2, p. 105-117, 2003.
- BROOKS, A. J.; WALL, R. Infection of *Psoroptes* mites with the fungus *Metarhizium anisopliae*. **Experimental & applied acarology**, v. 25, p. 869-880, 2001.
- BROWN, N. S.. The effect of host beak condition on the size of *Menacanthus stramineus* populations of domestic chickens. **Poultry Science**, v. 51, n. 1, p. 162-164, 1972.
- BURGESS, S. T. G.; MARR, E. J.; BARTLEY, K.; NUNN, F. G.; DOWN, R. E.; WEAVER, R. J.; PRICKETT, J. C.; DUNN, J.; ROMBAUTS, S.; LEEUWEN, T. V.; PEER, Y. V.; NISBET, A. J.. A genomic analysis and transcriptomic atlas of gene

expression in *Psoroptes ovis* reveals feeding- and stage-specific patterns of allergen expression. **Bmc Genomics**, v. 20, n. 1, 2019.

BUSIN, V.. What's new (and not so new) about sheep scab. **Livestock**, v. 23, n. 4, p. 195-198, 2018.

CAMARDA, A.; PUGLIESE, N.; BEVILACQUA, A.; CIRCELLA, E.; GRADONI, L.; GEORGE, D.; SPARAGANO, O.; GIANCASPERO, A.. Efficacy of a novel neem oil formulation (RP03TM) to control the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. **Medical and Veterinary Entomology**, 32, 290–297, 2018.

CARDOSO, E.R.; DE FREITAS, S.; NUNES, H.T.; PESSOA, I. G. A.. Seletividade de fungos entomopatogênicos para larvas de primeiro ínstar de *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera: Chrysopidae) utilizando torre de Potter. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, p.167, 2003.

CARNEIRO, A. S.; MESQUITA, E.; MEIRELLES, L. N.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; GOLO, P. S.. Compatibility of different *Metarhizium* spp. propagules with synthetic acaricides for controlling *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 31(1), e018221, 2022.

CARVALHO, C. O.; CHAGAS, A. C. S.; COTINGUIBA, F.; FURLAN, M.; BRITO, L. G.; CHAVES, F. C. M.; STEPHAN, M. P.; BIZZO, H. R.; AMARANTE, A. F. T.. The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 3-4, p. 260-268, 2012.

CARVALHO, I. T.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L.. Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products – a review. **International Journal Of Cosmetic Science**, v. 38, n. 2, p. 109-119, 2015.

CARVALHO, R.S. Biocontrole de moscas-das-frutas: histórico, conceitos e estratégias.

CASTAGNINO, G. L. B.; ORSI, R. O.. Produtos naturais para o controle do ácaro *Varroa destructor* em abelhas africanizadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S.L.], v. 47, n. 6, p. 738-744, 2012.

CASTRO, K. N. C.; CANUTO, K. M.; BRITO, E. S.; COSTA-JÔNIO, L. M.; ANDRADE, I. M.; MAGALHÃES, J. A.; BARROS, D. M. A.. In vitro efficacy of essential oils with different concentrations of 1,8-cineole against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 203-210, 24 maio 2018.

Circular técnica 83 da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, dez., 2006.

COELHO, C. N.; NUNES, T. A.P.; BATISTA, L. C. S.O.; SILVA, D. D.; SANTOS, R. R.; CORREIA, T. R.; SCOTT, F. B.; FERNANDES, J. I. Eficácia da ivermectina oral no controle de *Psoroptes ovis* e *Leporacarus gibbus* em coelhos naturalmente infestados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L.], v. 34, n. 9, p. 832-836, 2014.

COLES, T. B.; DRYDEN, M. W.. Insecticide/acaricide resistance in fleas and ticks infesting dogs and cats. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 8, 2014.

COLLGROS, H.; IGLESIAS-SANCHO, M.; ALDUNCE, M. J.; EXPÓSITO-SERRANO, V.; FISCHER, C.; LAMAS, N.; UMBERT-MILLET, P.. *Dermanyssus*

gallinae (chicken mite): an underdiagnosed environmental infestation. **Clinical And Experimental Dermatology**, v. 38, n. 4, p. 374-377, 2013.

CORREA, T. A.; FIOROTTI, J.; MESQUITA, E.; MEIRELLES, L. N.; CAMARGO, M. G.; COUTINHO-RODRIGUES, C. J. B.; MARCIANO, A. F.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; GOLO, P. S.. How Dopamine Influences Survival and Cellular Immune Response of *Rhipicephalus microplus* Inoculated with *Metarhizium anisopliae*. **Journal Of Fungi**, v. 7, n. 11, p. 950, 2021.

CORVAL, A. R. C.; MESQUITA, E.; CORRÊA, T. A.; SILVA, C. S. R.; BITENCOURT, R. O. B.; FERNANDES, É. K. K.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; ROBERTS, D. W.; GÔLO, P. S.. UV-B tolerances of conidia, blastospores, and microsclerotia of *Metarhizium* spp. entomopathogenic fungi. **Journal Of Basic Microbiology**, v. 61, n. 1, p. 15-26, 2020.

CRAIG, J. V.; CRAIG, J. A.; VARGAS, J. Vargas. Corticosteroids and other indicators of hens' well-being in four laying-house environments. **Poultry Science**, v. 65, n. 5, p. 856-863, 1986.

CROPLIFE BRASIL. Cropdata: números do setor. 2025. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/cropdata/>

CRUZ, E. M. O.; COSTA-JUNIOR, L. M.; PINTO, J. A. O.; SANTOS, D. A.; ARAUJO, S. A.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BACCI, L.; ALVES, P. B.; CAVALCANTI, S. C. H.; BLANK, A. F.. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 195, n. 1-2, p. 198-202, 2013.

CHEN, Z.; MOL, W. V.; VANHECKE, M.; DUCHATEAU, L.; CLAEREBOU, E.. Acaricidal activity of plant-derived essential oil components against *Psoroptes ovis* in vitro and in vivo. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 1, 2019.

DEBACH, P. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. México: **Editora Continental**, 1968, 927p.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G.. Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. **EdiPUCRS**, 2007.

DOHERTY, E.; BURGESS, S.; MITCHELL, S.; WALL, R.. First evidence of resistance to macrocyclic lactones in *Psoroptes ovis* sheep scab mites in the UK. **Veterinary Record**, v. 182, n. 4, p. 106-106, 2018.

EBADOLLAHI, A.; DAVARI, M.; RAZMJOU, J.; NASERI, B.. Separate and Combined Effects of *Mentha piperata* and *Mentha pulegium* Essential Oils and a Pathogenic Fungus *Lecanicillium muscarium* Against *Aphis gossypii* (Hemiptera: aphididae). **Journal Of Economic Entomology**, v. 110, n. 3, p. 1025-1030, 2017.

EBANI, V. V.; MANCIANTI, F. Entomopathogenic Fungi and Bacteria in a Veterinary Perspective. *Biology*, v. 10, n. 6, p. 479, 2021.

ECKARD, S.; BACHER, S.; ENKERLI, J.; GRABENWEGER, G.. A simple in vitro method to study interactions between soil insects, entomopathogenic fungi, and plant extracts. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, v. 163, n. 3, p. 315-327, 2017.

- ELLSE, L.; WALL, R.. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: a review. **Medical And Veterinary Entomology**, v. 28, n. 3, p. 233-243, 2013.
- FADINI, M. A. M.; PALLINI, A.; VENZON, M.. Controle de ácaros em sistema de produção integrada de morango. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1271-1277, 2004.
- FANG, F.; LI, M.; JIANG, Z.; LU, X.; GUILLOT, J.; SI, H.. Comparing acaricidal and ovicidal activity of five terpenes from essential oils against *Psoroptes cuniculi*. **Parasitology Research**, v. 119, n. 12, p. 4219-4223, 2020.
- FARHADI, B.; AMIRI, A.; POURABAD, R. F.; BANDANI, A. R.. Transgenerational effects of peppermint essential oil on life table parameters and antioxidant enzymes in *Callosobruchus maculatus*. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 20721, 2025.
- FARIA, M. R.; WRAIGHT, S. P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 43, p. 237-256, 2007.
- FERRARI, J. A. Insecticide resistance. 1996.
- FERREIRA, W. M.; MACHADO, L. C.; JARUCHE, Y. G.; CARVALHO, G. G.; OLIVEIRA, C. E. A.; SOUZA, J. D. S.; CARÍSSIMO, A. P. G.. **Manual prático de cunicultura**. Bambuí: Ed. do Autor, 2012. 75 f.
- FERREIRA, J. R. T.; BITENCOURT, R. O. B.; ANGELO, I. C.; TONDO, L. A. S.; LIMA, P. P. A. B.; GOLO, P. S.; MATOS, R. S.; UBIALI, D. G.; BITTENCOURT, V. R. E. P.. Combination of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and the plant compound eugenol against the *Rhipicephalus microplus* tick: mortality, morphological alterations and ovarian lipid profile. **Biocontrol**, v. 69, n. 2, p. 169-183, 2024.
- FICHI, G.; FLAMINI, G.; ZARALLI, L. J.; PERRUCCI, S.. Efficacy of an essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* against *Psoroptes cuniculi*. **Phytomedicine**, v. 14, n. 2-3, p. 227-231, 2007.
- FINKLER, C.L.L.; Controle de insetos: Uma breve revisão. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v.8 e 9, p.169-189, 2011/2012.
- FIOROTTI, J.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; GÔLO, P. S.; COUTINHORODRIGUES, C. J. B.; BITENCOURT, R. O. B.; SPADACCI-MORENA, D. D.; ANGELO, I. C.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Ultrastructural and Cytotoxic Effects of *Metarhizium robertsii* Infection on *Rhipicephalus microplus* Hemocytes. **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 654, 2019.
- FISCHHOFF, Ilya R.; KEESING, Felicia; OSTFELD, Richard S. The tick biocontrol agent *Metarhizium brunneum* (= *M. anisopliae*)(strain F52) does not reduce non-target arthropods. **PLoS One**, v. 12, n. 11, p. e0187675, 2017.
- FLOCHLAY, A. S.; THOMAS, E.; SPARAGANO, O.. Poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) infestation: a broad impact parasitological disease that still remains a significant challenge for the egg-laying industry in Europe. **Parasites & Vectors**, 10, 357, 2017.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Faostat – Production: **livestock primary: rabbit meal**. 2021. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em 06 de julho de 2023.

FREEMAN, B. M. Stress and the domestic fowl: a physiological re-appraisal. **World's Poultry Science Journal**, v. 32, n. 3, p. 249-256, 1976.

GAY, M.; LEMPEREUR, L.; FRANCIS, F.; MEGIDO, R. C.. Control of *Dermanyssus gallinae* (De Geer 1778) and other mites with volatile organic compounds, a review. **Parasitology**, [S.L.], v. 147, n. 7, p. 731-739, 21 abr. 2020.

GEORGE, D. R., Finn, R. D., Graham, K. M., & Sparagano, O. A. (2014). Present and future potential of plant-derived products to control arthropods of veterinary and medical significance. *Parasites & vectors*, 7, 1-12.

GU, X.; ZHANG, N.; XIE, Y.; ZHENG, Y.; CHEN, Y.; ZHOU, X.; LI, X.; ZHONG, Z.; HE, R.; YANG, G. *Metarhizium anisopliae* CQMa128 regulates antioxidant/detoxification enzymes and exerts acaricidal activity against *Psoroptes cuniculi* in rabbits: a preliminary study. **Veterinary Parasitology**, v. 279, p. 109059, 2020.

HE, M.L.; XU, J.; HE, R.; SHEN, N. X.; GU, X. B.; PENG, X. R.; YANG, G. Y.. Preliminary analysis of *Psoroptes ovis* transcriptome in different developmental stages. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, 2016.

HERNÁNDEZ-DOMÍNGUEZ, C.; GUZMÁN-FRANCO, A.W. Species Diversity and Population Dynamics of Entomopathogenic Fungal Species in the Genus *Metarhizium*—a Spatio temporal Study. **Microbial Ecology**, v.74, p.194-206, 2017.

HOPPMANN, E.; BARRON H.W. Rodent dermatology. **J. Exo. Pet. Med.** 16(4):238-255, 2007.

HREBIĆ-FILISINSKA, A. M.; BARTKOWIAK, A.. Antioxidative Effect of Sage (*Salvia officinalis* L.) Macerate as “Green Extract” in Inhibiting the Oxidation of Fish Oil. **Antioxidants**, v.11, n.1, p.100, 2021.

HUMBER, Richard A. Fungi: identification. In: **Manual of techniques in insect pathology**. Academic press, 1997. p. 153-185.

HWANG, E. T.. Management of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* with physical control methods by inorganic material and future perspectives. **Poultry Science**, v. 102, n. 7, p. 102772, 2023.

IBGE. Censo Agropecuário. Rio de Janeiro: 2017. Disponível em <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6898>>. Acesso em 23 de setembro de 2023.

IMMEDIATO, D.; CAMARDA, A.; IATTA, R.; PUTTILLI, M. R.; RAMOS, R. A. N.; PAOLA, G.; GIANGASPERO, A.; OTRANTO, D.; CAFARCHIA, C.. Laboratory evaluation of a native strain of *Beauveria bassiana* for controlling *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: dermanysidae). **Veterinary Parasitology**, v. 212, n. 3-4, p. 478-482, 2015.

IMMEDIATO, D.; FIGUEREDO, L. A.; IATTA, R.; CAMARDA, A.; LUNA, R. L. N.; GIANGASPERO, A.; BRANDÃO-FILHO, S. P.; OTRANTO, D.; CAFARCHIA, C.. Essential oils and *Beauveria bassiana* against *Dermanyssus gallinae* (Acari: dermanysidae). **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 229, p. 159-165, out. 2016.

ISLAM, M. A.; ISLAM, O.; ISLAM, M. S.; KIM, S.; BIA, M. M.; CHOE, S.; NA, K. J.. Morphologic and Molecular Characterization of *Psoroptes ovis* from Pet Rabbits in South Korea. **Journal Of Veterinary Clinics**, [S.L.], v. 41, n. 2, p. 88-94, 2024.

IWANICKI, N. S.; PEREIRA, A. A.; BOTELHO, A. B. R. Z.; REZENDE, J. M.; MORAL, R. A.; ZUCCHI, M. I.; DELALIBERA-JÚNIOR, I.. Monitoring of the field application of *Metarhizium anisopliae* in Brazil revealed high molecular diversity of *Metarhizium* spp. in insects, soil and sugarcane roots. **Scientific Reports**, [S. l.], ano 9, n. 4443, p. 1-12, 2019.

KAYAA, Godwin P. The potential for antitick plants as components of an integrated tick control strategy. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 916, n. 1, p. 576-582, 2000.

KATSAVOU, E.; VLOGIANNITIS, S.; KARP-TATHAM, E.; BLAKE, D. P.; ILIAS, A.; STRUBE, C.; KIOULOS, I.; DERMAUW, W.; VAN LEEUWEN, T.; VONTAS, J.. Identification and geographical distribution of pyrethroid resistance mutations in the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. **Pest Management Science**, v. 76, n. 1, p. 125-133, 2019.

KHANA VI, M., H. HAJIMEHDIPOOR, F. EMADI, N. KALANTARI KHANDANI. Essential oil compositions of *Thymus kotschyanus* Boiss. obtained by hydrodistillation and microwave oven distillation. **J. Essent. Oil Bearing Plant** 16: 117–122. 2013.

KILPINEN, O.; ROEPSTORFF, A.; PERMIN, A.; NORGAARD-NIELSEN, G.; LAWSON, L. G.; SIMONSEN, H. B. Influence of *Dermanyssus gallinae* and *Ascaridia galli* infections on behaviour and health of laying hens (*Gallus gallus domesticus*). **British Poultry Science**, v. 46, n. 1, p. 26-34, 2005.

KIRKLAND, B. H.; WESTWOOD, G. S.; KEYHANI, N. O. Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to Ixodidae tick species *Dermacentor variabilis*, *Rhipicephalus sanguineus*, and *Ixodes scapularis*. **Journal of medical entomology**, v. 41p. 705-711, 2004.

KLAFKE, G. M. *Resistência de R. (B) microplus* contra os carrapaticidas. In: Pereira, M. C.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. J. P.; KLAFKE, G. M. ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus – Biologia, controle e resistência***. MedVet Livros, São Paulo, p. 81-106, 2009.

LAK, F.; ZANDI-SOHANI, N.; PARIZIPOUR, M. H. G.; EBADOLLAHI, A.. Synergic effects of some plant-derived essential oils and Iranian isolates of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* Sorokin to control *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: chrysomelidae). **Frontiers In Plant Science**, v. 13, p. 1, 2022.

LEE, S. J.; KIM, H. K.; KIM, G. H.. Toxicity and effects of essential oils and their components on *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). **Experimental and Applied Acarology**, 78, 65–78, 2019.

LEKIMME, M.; MIGNON, B.; TOMBEUX, S.; FOCANT, C.; MARÉCHAL, F.; LOSSON, B. In vitro entomopathogenic activity of *Beauveria bassiana* against

Psoroptes spp. (Acari: psoroptidae). **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 139, n. 1-3, p. 196-202, 2006.

LI, X.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R.. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 52, n. 1, p. 231-253, 2007.

LITWIN, A., NOWAK, M., RÓZALAKA, S. Entomopathogenic fungi: unconventional applications. **Rev Environ Sci Biotechnol.**, 19, 23-42, 2020.

LOPES, R. B.; SOUZA, D. A.; ROCHA, L. F. N.; MONTALVA, C.; LUZ, C.; HUMBER, R. A.; FARIA, M. *Metarhizium alvesii* sp. nov.: A new member of the *Metarhizium anisopliae* species complex. **Journal of Invertebrate Pathology**, [S. l.], v. 151, p. 165-168, 2018.

LOSSON, B. J. Sheep psoroptic mange: an update. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 189, n. 1, p. 39-43, 2012.

LOVETT, B.; BILGO, E.; MILLOGO, S. A.; OUATTARRA, A. K.; SARE, I.; GNAMBANI, E. J.; DABIRE, R. K.; DIABATE, A.; LEGER, R. J. St.. Transgenic *Metarhizium rapidly* kills mosquitoes in a malaria-endemic region of Burkina Faso. **Science**, v. 364, n. 6443, p. 894-897, 2019.

MA, W.; FAN, Y.; LIU, Z.; HAO, Y.; MOU, Y.; LIU, Y.; ZHANG, W.; SONG, X.. The acaricidal activity and mechanism of eugenol on *Psoroptes cuniculi*. **Veterinary Parasitology**, v. 266, p. 56-62, 2019.

MACHADO, L. C.. **Opinião: Panorama da cunicultura Brasileira**. Revista Brasileira de Cunicultura, Bambuí (MG), v. 2, n. 1, set. 2012

MACHADO, L.C.; FERREIRA, W.M. **Organização e estratégias da cunicultura brasileira – A busca por soluções**. V CONGRESO AMERICANO DE CUNICULTURA, MÉXICO, 2014.

MACHADO, L. C.; SCAPINELLO, C.; FERREIRA, W. M.; SOUSA, B.; BRUM JÚNIOR, FERREIRA F. N. A; ARAUJO, I. G.; JARUCHE, Y. G. **Sistemas de produção em cunicultura**. Revista Brasileira de Cunicultura, v. 6, n.1, 2014.

MACHADO, M. A.; BORGES, D. A.; CAMPOS, D. R.; LOPES, N. L.; SCOTT, F. B.; FERNANDES, J. I.. Efficacy of lotilaner for treating rabbits naturally infested by *Psoroptes ovis* and *Leporacarus gibbus*, in Rio de Janeiro, Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 269, p. 108896, 2025.

MADELIN, M. F.; ROBINSON, R. K.; WILLIAMS, R. J. Appressorium-like structures in insect-parasitizing Deuteromycetes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 9, n. 3, p. 404-412, 1967.

MAHENDRAN, G.; RAHMAN, L.. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha× piperita* L.)—A review. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 9, p. 2088-2139, 2020.

MASCARIN, G. M.; LOPES, R. B.; DELALIBERA, Í.; FERNANDES, É. K. K., LUZ, C., FARIA, M. Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for

- microbial control of arthropod pests in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology** v. 165, p. 46-53, 2019.
- MAPSTONE, S. C.; BEASLEY, A.; WALL, R. Structure and function of the gnathosoma of the mange mite, *Psoroptes ovis*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 16, n. 4, p. 378-385, 2002.
- MCNAIR, C. M.. Ectoparasites of medical and veterinary importance: drug resistance and the need for alternative control methods. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology**, v. 67, n. 3, p. 351-363, 2015.
- MELO, R. M. P. S.; FERNANDES, J. I.; VIEIRA, V. P. C.; RIBEIRO, F. A.; BOTELHO, M. C. S. N.; VEROCAI, G. G.; SCOTT, F. B. Eficácia do piretróide permetrina no controle de *Psoroptes ovis* (Hering, 1838) (Acari: Psoroptidae) em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) naturalmente infestados. **Revta Bras. Parasitol. Vet.** 17:55-58, 2008.
- MENT, D.; GINDIN, G.; SAMISH, M.; GLAZER, I.. Comparative response of *Metarhizium brunneum* to the cuticles of susceptible and resistant hosts. **Archives Of Insect Biochemistry And Physiology**, [S.L.], v. 105, n. 4, p. e21756, 2020.
- MESQUITA, E.; MARCIANO, A. F.; CORVAL, A. R. C.; FIOROTTI, J.; CORRÊA, T. A.; QUINELATO, S.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; GOLO, P. S.. Efficacy of a native isolate of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* against larval tick outbreaks under semifield conditions. **Biocontrol**, v. 65, n. 3, p. 353-362, 2020.
- MILNER, R. J.; SAMSON, P.; MORTON, R.. Persistence of conidia of *Metarhizium anisopliae* in sugarcane fields: Effect of isolate and formulation on persistence over 3.5 years. **Biocontrol Science and Technology**, v. 13, n. 5, p. 507-516, 2003.
- MOHAMED, A. K.; PRATT, J. P.; NELSON, F. R.; Compatibility of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* with chemical pesticides. **Mycopathologia**, 99(2): 99-105, 1987.
- MOL, W. van; CLAEREBOU, E.; CASAERT, S.; GELDHOF, P.; LEVECKE, B.. New insights into the use of a mite count reduction test for the detection of therapeutic acaricide efficacy in *Psoroptes ovis* in cattle. **International Journal For Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 14, p. 62-72, 2020.
- MONTEIRO, M. G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**, 2ª ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017. 370 p.
- MORLEY-DAVIES, J.; MOORE, D.; PRIOR, C.. Screening of *Metarhizium* and *Beauveria* spp. conidia with exposure to simulated sunlight and a range of temperatures. **Mycological Research**, [S.L.], v. 100, n. 1, p. 31-38, jan. 1996.
- MORO, C. V.; CHAUVE, C.; ZENNER, L.. Experimental infection of *Salmonella enteritidis* by the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. **Veterinary parasitology**, 146(3-4), 329-336, 2007.
- MOURA, A. S. A. M. T. **Rabbit Production in Latin America**. American Rabbit Congress, Proceedings. Cordoba - Argentina, 2010.
- MUL, M.; NIEKERK, T. V.; CHIRICO, J.; MAURER, V.; KILPINEN, O.; SPARAGANO, O.; THIND, B.; ZOONS, J.; MOORE, D.; BELL, B.; GJEVRE, A. G.; CHAUVE, C. Control methods for *Dermanyssus gallinae* in systems for laying hens:

results for an international seminar. **World's Poultry Science Journal**, v. 65, n. 1, p. 589-600, 2009.

MULLENS, B. A.; MURILLO, A. C.. The future of poultry pest management. In: Mench JA (ed) Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Advances in Poultry **Welfare**. Elsevier, pp 295–321, 2018.

MURILLO, P.; AGUILAR, H.; SANCHEZ, E.. Use of different SEM techniques in the study of *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae) in Costa Rica. **UNED Research Journal/Cuadernos de Investigación UNED**, v. 5, n. 2, p. 201-208, 2014.

NAFF, Katherine A.; CRAIG, Suzanne. The Domestic Rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. **The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, And Other Rodents**, p. 157-163, 2012.

NASCIMENTO, M. M. Armadilhas Impregnadas com *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill. Visando Ao Controle De *Dermanyssus gallinae* (De Geer) (Acari: Dermanyssidae). 2019. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2019.

NECHITA, I. S.; POIREL, M. T.; COZMA, V.; ZENNER, L.. The repellent and persistent toxic effects of essential oils against the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. **Veterinary Parasitology** 214, 348–352, 2015.

NOVATO, T. P. L.; ARAÚJO, L. X.; MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R.; SENRA, T. O. S.; MATOS, Renata da Silva; GOMES, Geovany Amorim; 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. **Veterinary Parasitology**, v. 212, n. 3-4, p. 331-335, 2015.

OLIVEIRA, M. T; MONTEIRO, A. C.; JÚNIOR-SCALA, N. L.; BARBOSA, J. C.; MOCHI, D. A. Sensibilidade de isolados de fungos entomopatogênicos às radiações solar, ultravioleta e à temperatura. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 83, p. 1-7, 2016.

OLIVEIRA, D. G. P.; KASBURG, C. R.; ALVES, L. F. A.. Efficacy of *Beauveria bassiana* against the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Mesostigmata: Dermanyssidae), under laboratory and hen house conditions. **Syst Appl Acarol**, 25:895–905, 2020.

PADILHA, A. F.. Microscopia eletrônica de transmissão. **Departamento de engenharia metalúrgica e de materiais da EPUSP**, p. 1-12, 2020.

PAIXÃO, F. R. S.; MUNIZ, E. R.; BARRETO, L. P.; BERNARDO, C. C.; MASCARIN, G. M.; LUZ, C.; FERNANDES, É. K. K.. Increased heat tolerance afforded by oil-based conidial formulations of *Metarhizium anisopliae* and *Metarhizium robertsii*. **Biocontrol Science And Technology**, v. 27, n. 3, p. 324-337, 2017.

PARRA, J. R.; BOTELHO, P. S. M.; BENTO, J. M; FERREIRA, B. S. Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores. **Editora Manole**, São Paulo, 2002. 609p.

PATEL, A.; FORSYTHE, P. J. **Dermatologia em pequenos animais**. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2011.

- PAVAN, A. M.; SCHUSSLER, M.; SILVA, F. R.; FERLA, N. J.; JOHANN, L.; SILVA, G. L.. Influence of laying hen-systems and ecologic variables on mites of medical and veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 304, p. 109682, 2022.
- PEGLER, K. R.; EVANS, L.; STEVENS, J. R.; WALL, R. Morphological and molecular comparison of hostderived populations of parasitic *Psoroptes* mites. **Medical and Veterinary Entomology**, v.19, p.392–403, 2005.
- PERRUCCI, S.; MACCHIONI, G.; CIONI, P.L.; FLAMINI, G.; MORELLI, I. Structure/activity relationship of some natural monoterpenes as acaricides against *Psoroptes cuniculi*. **Journal of Natural Products-Lloydia**, 58, 1261–1264, 1995.
- PLANT, J. W.; LEWIS, C. J. Treatment and Control of Ectoparasites in Sheep. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 203-212, 2011.
- PRITCHARD, J.; KUSTER, T.; SPARAGANO, O.; TOMLEY, F. Understanding the biology and control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*: a review. **Avian Pathology**, v. 44, n. 1, p. 143–153, 2015.
- PRITCHARD, J.; KÜSTER, T.; GEORGE, D.; SPARAGANO, O.; TOMLEY, F.. Impeding movement of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. **Veterinary Parasitology** 225, 104–107, 2016.
- QUADROS, D. G.; JOHNSON, T. L.; WHITNEY, T. R.; OLIVER, J. D.; CHÁVEZ, A. S. O.. Plant-Derived Natural Compounds for Tick Pest Control in Livestock and Wildlife: pragmatism or utopia?. **Insects**, v. 11, n. 8, p. 490, 2020.
- QUINTON, J. F. **Novos Animais de Estimação: Pequenos Mamíferos**. 1ª edição. Rocca, 2005, 337p.
- RADSETOULALOVA, I.; HUBERT, J.; HAMPEL, D.; LICHOVNIKOVA, M.. Active components of essential oils as acaricides against *Dermanyssus gallinae*. **British Poultry Science**, v. 61, n. 2, p. 169-172, 2020.
- RATAJAC ,R.; PAVLIĆEVIĆ. A.; PETROVIĆ. J.; STOJANOV, I.; ORČIĆ, D.; ŠTRBAC, F.; SIMIN, N.. In vitro evaluation of acaricidal efficacy of selected essential oils against *dermanyssus gallinae*. **Pak Vet J**, 44(1): 93-98, 2024.
- REHNER, S.A.; KEPLER, R. M.. Species limits, phylogeography and reproductive mode in the *Metarhizium anisopliae* complex. **Journal Of Invertebrate Pathology**, v. 148, p.60-66, 2017.
- REZENDE, L. C.; CUNHA, L. M.; TEIXEIRA, C. M.; OLIVEIRA, P. R.; MARTINS, N. R. S.. Mites affecting hen egg production – some considerations for Brazilian farms. **Ciência Rural**, 43, 1230–1237, 2013.
- RIahi, L., H. GHAZGHAZI, B. AYARI, C. AOUDADI, I. KLAY, H. CHOGRANI, A. CHERIF, N. ZOHLAMI. Effect of environmental conditions on chemical polymorphism and biological activities among *Artemisia absinthium* L. essential oil provenances grown in Tunisia. **Ind. Crop Prod.** 66:96–102. 2015.
- ROBERTS, D. W.; CAMPBELL, A. S. Stability of entomopathogenic fungi. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, v. 10, p. 19–76, 1977.

- ROBERTS, D.W.; ST. LEGER, R.J. *Metarhizium* spp., Cosmopolitan Insect-Pathogenic Fungi: Mycological Aspects. **Advances In Applied Microbiology**. p.1-70, 2004.
- ROCHA, I. U.; BITENCOURT, R. O. B.; FREITAS, A. M.; MOREIRA, H. V. S.; MAGALHÃES, K. L. A.; SOUZA, B. A.; GOLO, P. S.; CHAVES, D. S. A.; BITENCOURT, V. R. E. P.; ANGELO, I. C.. Exploiting the combination of entomopathogenic fungi and *Illicium verum* essential oil against *Aedes aegypti* larvae. **Biological Control**, v. 193, p. 105526, 2024.
- RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I.; HODGKINSON, J. E.; TREES, A. J. Resistencia a los acaricidas en *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: situación actual y mecanismos de resistencia. **Revista mexicana de ciencias pecuarias**, v. 3, p. 9-24, 2012.
- RODRIGUES, A. R. D. S. P.. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Mentha piperita* (Lamiaceae: Labiatae) –uma revisão. *Conexão Ciência* (Online), 19(2), 103-114, 2024.
- ROSADO-AGUILAR, J.A.; AGUILAR-CABALLERO, A.; RODRIGUEZ-VIVAS, R.I.; BORGES-ARGAEZ, R.; GARCIA-VAZQUEZ, Z.; MENDEZ-GONZALEZ, M.. Acaricidal activity of extracts from *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: ixodidae). **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 168, n. 3-4, p. 299-303, 2010.
- ROSAS-GARCÍA, N. M.; ALBA-MORENO, I.M.; MIRELES-MARTÍNEZ, M.; VILLEGAS-MENDOZA, J. M.. Evaluación de la compatibilidad del proceso de germinación de *Metarhizium anisopliae* con aceites esenciales. **Acta Universitaria**, v. 29, p. 1-8, 2019.
- ROSATO, A.; CAROCCI, A.; CATALANO, A.; CLODOVEO, M. L.; FRANCHINI, C.; CORBO, F.; CARBONARA, G. G.; CARRIERI, A.; FRACCHIOLLA, G.. Elucidation of the synergistic action of *Mentha piperita* essential oil with common antimicrobials. **Plos One**, v. 13, n. 8, p. e0200902, 2018.
- ROUCK, S. D.; İNAK, E.; DERMAUW, W.; LEEUWEN, T. V.. A review of the molecular mechanisms of acaricide resistance in mites and ticks. **Insect Biochemistry And Molecular Biology**, v. 159, p. 103981, 2023.
- ROY, L.; CHAUVE, C.M.. Historical review of the genus *Dermanyssus* Dugès, 1834 (Acari: mesostigmata). **Parasite**, v. 14, n. 2, p. 87-100, 2007.
- ROY, L.; BURONFOSSE, T.. Using mitochondrial and nuclear sequence data for disentangling population structure in complex pest species: a case study with *Dermanyssus gallinae*. **PLoS One**, v. 6, n. 7, p. e22305, 2011.
- SAAD, M. M. G.; ABOU-TALEB, H. K.; ABDELGALEIL, S. A. M.. Insecticidal activities of monoterpenes and phenylpropenes against *Sitophilus oryzae* and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. **Applied Entomology And Zoology**, v. 53, n. 2, p. 173-181, 2018.
- SANTOS, R. R.; COELHO, C. N.; NUNES, T. A.P.; BATISTA, L. C. S.O.; CORREIA, T. R.; SCOTT, F. B.; LAGUNA, A. G.V.; FERNANDES, J. I. Efficacy of oral doramectin as treatment for *Psoroptes ovis* and *Leporacarus gibbus* in naturally infested rabbits. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 47-51, 2017.

SCHAFFNER, U.; HEIMPEL, G. E.; MILLS, N. J.; MURIITHI, B. W.; THOMAS, M. B.; GC, Y. D.; WYCKHUYS, K. A. G.. Biological control for One Health. **Science Of The Total Environment**, [S.L.], v. 951, p. 175800, 2024.

SCHIAVONE, A.; PUGLIESE, N.; OTRANTO, D.; SAMARELLI, R.; CIRCELLA, E.; DE VIRGILIO, C.; CAMARDA, A.. *Dermanyssus gallinae*: the long journey of the poultry red mite to become a vector. **Parasites Vectors** 15, 29, 2022.

SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M.H. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. **Toxicon**, v.56, p. 1267-1274, 2010.

SCHULZ, J.; BERK, J.; SUHL, J.; SCHRADER, L.; KAUFHOLD, S.; MEWIS, I.; HAFEZ, H. M.; ULRICH, C.. Characterization, mode of action, and efficacy of twelve silica-based acaricides against poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) in vitro. **Parasitology Research**, v. 113, n. 9, p. 3167-3175, 2014.

SCHUMACHER, V.; POEHLING H. M.. *In vitro* effect of pesticides on the germination, vegetative growth, and conidial production of two strains of *Metarhizium anisopliae*. **Fungal Biol**, 116(1): 121-132, 2012.

SMITH, K. E.; WALL, R.; BERRIATUA, E.; FRENCH, N. P.. The effects of temperature and humidity on the off-host survival of *Psoroptes ovis* and *Psoroptes cuniculi*. **Veterinary Parasitology**, v. 83, n. 3-4, p. 265-275, 1999.

SMITH, K. E.; WALL, R.; FRENCH, N. P. The use of entomopathogenic fungi for the control of parasitic mites, *Psoroptes* spp. **Veterinary parasitology**, v. 92, n. 2, p. 97-105, 2000.

SELLES, S. M. A.; KOUIDRI, M.; GONZÁLEZ, M. G.; GONZÁLEZ, J.; SÁNCHEZ, M.; GONZÁLEZ-COLOMA, A.; SANCHIS, J.; ELHACHIMI, L.; OLMEDA, A. S.; TERCERO, J. M.. Acaricidal and Repellent Effects of Essential Oils against Ticks: a review. **Pathogens**, v. 10, n. 11, p. 1379, 2021.

SERRA-FREIRE, NM; MELLO, RP Entomology and acarology in veterinary medicine. **LF Livros, Rio de Janeiro**, p. 200, 2006.

SERRA-FREIRE, N. M.; BENIGNO, R. N. M.; FALCÃO, K. Casos Clínicos de Dermatite por *Leporacarus Gibbus* (Acari: Listrophoridae) em Criações Zootécnicas de Coelho Domésticos (*Oryctolagus Cuniculus*) nos Estados do Pará e São Paulo. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32, n.2, p.111 – 114, 2010.

SHANG, X.; MIAO, X.; WANG, D.; LI, J.; WANG, X.; YAN, Z.; WANG, C.; WANG, Y.; HE, X.; PAN, H.. Acaricidal activity of extracts from *Adonis coerulea* Maxim. against *Psoroptes cuniculi* in vitro and in vivo. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 195, n. 1-2, p. 136-141, 2013.

SHANG, X.; WANG, D.; MIAO, X.; WANG, X.; LI, J.; YANG, Z.; PAN, H The oxidative status and inflammatory level of the peripheral blood of rabbits infested with *Psoroptes cuniculi*. **Parasites Vectors**, v.7, n. 124, 2014.

SHANG, X.; WANG, Y.; ZHOU, X.; GUO, X.; DONG, S.; WANG, D.; ZHANG, J.; PAN, H.; ZHANG, Y.; MIAO, X. Acaricidal activity of oregano oil and its major component, carvacrol, thymol and p-cymene against *Psoroptes cuniculi* in vitro and in vivo. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 226, p. 93-96, ago. 2016.

- SHEINBERG, G.; ROMERO, C.; HEREDIA, R.; CAPULIN, M.; YARTO, E.; CARPIO, J. Use of oral fluralaner for the treatment of *Psoroptes cuniculi* in 15 naturally infested rabbits. **Veterinary Dermatology**, [S.L.], v. 28, n. 4, p. 393-91, 2017.
- SHEZRYNA, S.; ANISAH, N.; SALEH, I.; SYAMSA, R. A.. Acaricidal activity of the essential oils from *Citrus hystrix* (Rutaceae) and *Cymbopogon citratus* (Poaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae (Acari: Ixodidae). *Tropical Biomedicine*, v.37, n. 2, p. 433 – 442, 2020.
- SHENG, H.; MCNAMARA, P. J.; ST LEGER, R. J.. *Metarhizium*: an opportunistic middleman for multitrophic lifestyles. **Current Opinion In Microbiology**, v. 69, p. 102176, 2022.
- SILVA, R.Z.; NEVES, P.M.O.J.; SANTORO, P.H.; CAVAGUCHI, S.A.; Efeito de Agroquímicos à Base de Óleo Mineral e Vegetal sobre a Viabilidade dos Fungos Entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Paecilomyces* sp. Bainier. **BioAssay**, v.1 p.1-5, 2006.
- SILVA, D. D.; LAMBERT, M. M.; COELHO, C.N.; BATISTA, L. C. S.; NUNES, T. A.; CORREIA, T. R.; SCOTT, F. B.; FERNANDES, J. I.. Eficácia da flumetrina a 1% “spot-on” em coelhos naturalmente infestados para *Psoroptes ovis*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 37 (Supl.1), 1–5, 2015.
- SILVA, M. A.. **Tópicos especiais em ciência animal IX**. 1 ed., Dados eletrônicos. - Alegre: CAUFES, 2020. 404 p.
- SILVA JÚNIOR, M. S. F. S.; BORGES, A. A. S.; SANTOS, S. R. N.; MOURA, V. G.; DIAS, A. C. S.; SILVA, G. R.; ARAÚJO, A. M.; OLIVEIRA FILHO, J. W. G.. Caracterização genética de galinhas (*Gallus Gallus domesticus*) de comunidades rurais do meio-norte do Brasil. **Suinocultura e Avicultura: Do Básico a Zootecnia de Precisão**, Editora Científica Digital, p. 116-128, 2021.
- SINGH, R.; SHUSHNI, M. A. M.; BELKHEIR, A.. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. **Arabian Journal Of Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 322-328, 2015.
- SINGH, P.; PANDEY, A. K.. Prospective of Essential Oils of the Genus *Mentha* as Biopesticides: a review. **Frontiers In Plant Science**, v. 9, 2018.
- SINGH, N. K.; MILLER, R. J.; KLAFKE, G. M.; GOOLSBY, J. A.; THOMAS, D. B.; LEON, A. A. P. In-vitro efficacy of a botanical acaricide and its active ingredients against larvae of susceptible and acaricide-resistant strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini (Acari: ixodidae). **Ticks And Tick-Borne Diseases**, v. 9, n. 2, p. 201-206, 2018.
- SIOUTAS, G.; TSOUKNIDAS, A.; GELASAKIS, A. I.; VLACHOU, A.; KALDELI, A. K.; KOUKI, M.; SYMEONIDOU, I.; PAPADOPOULOS, E.. In Vitro Acaricidal Activity of Silver Nanoparticles (AgNPs) against the Poultry Red Mite (*Dermanyssus gallinae*). **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, p. 659, 2023.
- SOLER, P.; GERMANO, M.; LARROZA, M.. First report of in vitro resistance of *Psoroptes ovis* to ivermectin in Argentina. **Experimental Parasitology**, [S.L.], v. 235, p. 108229, 2022.

- SPARAGANO, O. A. E.; GEORGE, D. R.; HARRINGTON, D. W. J.; GIANGASPERO, A.. Significance and control of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. **Annu. Rev. Entomol.** 59, 447–466, 2014.
- SPARAGANO, O. A. E.; GEORGE, D. R.; FINN, R. D.; GIANGASPERO, A.; BARTLEY, K.; HO, J.. *Dermanyssus gallinae* and chicken egg production: impact, management, and a predicted compatibility matrix for integrated approaches. **Experimental And Applied Acarology**, v. 82, n. 4, p. 441-453, 2020.
- STONE, L.B.L.; BIDOCHKA, M.J. The multifunctional lifestyles of *Metarhizium*: evolution and applications. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, 104, 9935-9945, 2020.
- ST LEGER, R. J.; WANG, J. B.. *Metarhizium*: jack of all trades, master of many. **Open Biology**, v. 10, n. 12, 2020.
- ST LEGER, R. J.. The evolution of complex *Metarhizium*-insect-plant interactions. **Fungal Biology**, v. 128, n. 8, p. 2513-2528, 2024.
- STURGEES-OSBORNE, C.; BURGESS, S.; MITCHELL, S.; WALL, R. Multiple resistance to macrocyclic lactones in the sheep scab mite *Psoroptes ovis*. **Veterinary Parasitology**, v. 272, p. 79-82, 2019.
- TABARI, M. A.; ROSTAMI, A.; KHODASHENAS, A.; MAGGI, F.; PETRELLI, R.; GIORDANI, C.; TAPONDJOU, L. A.; PAPA, F.; ZUO, Y.; CIANFAGLIONE, K.; YOUSSEFI, M. R.. Acaricidal activity, mode of action, and persistent efficacy of selected essential oils on the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). **Food And Chemical Toxicology**, v. 138, p. 111207, 2020.
- TOMER, H.; BLUM, T.; ARYE, I.; FAIGENBOIM, A.; GOTTLIEB, Y.; MENT, D.. Activity of native and commercial strains of *Metarhizium* spp. against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* under different environmental conditions. **Veterinary Parasitology**, v. 262, p. 20-25, 2018.
- TRUONG, A-T.; YOO, M.-S.; WOO, S. D.; LEE, H.; PARK, Y.; NGUYEN, T-T.; YOUN, S. Y.; MIN, S.; LIM, J.; YOON, S-S.; CHO, Y. S.. Evaluation of acaricidal activity in entomopathogenic fungi for poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) control. **Veterinary Parasitology**, [S.L.], v. 331, p. 110292, 2024.
- TUCCI, E. C.; GUIMARÃES, J. H. Biologia de *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari, Dermanyssidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 7, n. 1, p. 27–30, 1998.
- TUCCI, E. C.; PRADO, A. P.; ARAUJO, R. P.. Thermal requirements of *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) 397 (Acari: Dermanyssidae). **Braz J Poultry Sci**, 17:67–72, 2008.
- TVARDOVSKAS, L.; SATURNINO, H. M.. História da cunicultura no Brasil e estratégias para seu desenvolvimento. **IV SEMINÁRIO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM CUNICULTURA**, v. 22, n. 06, 2013.
- VALIENTE MORO, C.; DE LUNA, C. J.; TOD, A.; GUY, J. H.; SPARAGANO, O. A.; ZENNER, L.. The poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*): a potential vector of pathogenic agents. **Control of poultry mites (Dermanyssus)**, pp.93-104, 2009.
- VELLA, D.; DONNELLY, T. M. Basic anatomy, physiology, and husbandry. In: **Ferrets, rabbits, and rodents**. WB Saunders, 2012. p. 157-173.

- WALL, R.; KOLBE, K.. Taxonomic priority in *Psoroptes* mange mites: *P. ovis* or *P. equi*?. **Experimental & applied acarology**, v. 39, p. 159-162, 2006.
- WALSTAD, J. D.; ANDERSON, R. F.; STAMBAUGH, W. J. Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*). **Journal of Invertebrate pathology**, v. 16, n. 2, p. 221-226, 1970.
- WANG, S.; MECKLING, K. A.; MARCONE, M. F.; KAKUDA, Y.; TSAO, R.. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59(3), p. 960-968, 2011.
- WANG, Y. B.; YANG, Z. H.; YU, J. J.; ZHANG, Y. A.; XUE, J. J.; LI, Z.; LI, J. J.; WANG, C. Y.; WANG, Z.; HOU, J. G.. Comparison between conidia and blastospores of *Esteya vermicola*, an endoparasitic fungus of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. **World Journal Of Microbiology And Biotechnology**, v. 29, n. 12, p. 2429-2436, 2013.
- WANG, Q.; XU, P.; SANCHEZ, S.; DURAN, P.; ANDREAZZA, F.; ISAACS, R.; DONG, K.. Behavioral and physiological responses of *Drosophila melanogaster* and *D. suzukii* to volatiles from plant essential oils. **Pest Management Science**, v. 77, n. 8, p. 3698-3705, 2021.
- WEBSTER A.; RECK, J.; SANTI L.; SOUZA, U. A.; DALL'AGNOL, B.; KLAFKE, G. M.; BEYS-DA-SILVA, W. O.; MARTINS, J. R.; SCHRANK, A... Integrated control of an acaricide-resistant strain of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* by applying *Metarhizium anisopliae* associated with cypermethrin and chlorpyrifos under field conditions. **Vet Parasitol**, 207(3-4): 302-308, 2015.
- YERUHAM, I.; HADANI, A.; ROSEN, Shoshana. Psoroptic ear mange (*Psoroptes cuniculi*, Delafond, 1859) in domestic and wild ruminants in Israel. **Veterinary Parasitology**, v. 17, n. 4, p. 349-353, 1985.
- ZAHLER, M.; ESSIG, A.; GOTHE, R.; RINDER, H.; Genetic evidence suggests that *Psoroptes* isolates of different phenotypes, hosts and geographic origins are conspecific. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p.1713–1719, 1998.
- ZAHLER, M.; HENDRIKX, W. M.L.; ESSIG, A.; RINDER, H.; GOTHE, R. Species of the genus *Psoroptes* (Acari: Psoroptidae): A taxonomic consideration. **Experimental and Applied Acarology**, v.24, p.213-225, 2000.
- ZIMMERMANN, G. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. **Pesticide Science**. v. 37, p. 375–379, 1993.
- ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, p. 879-920, 2007.
- ZWORYKIN, V. K. The scanning electron microscope. **Scientific American**, v. 167, n. 3, p. 111-113, 1942.

8 ANEXOS



UFRRJ
Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro

Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro



*Comissão de Ética no
Uso de Animais*

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DO EFEITO ACARICIDA DE *Metarhizium pingshaense* ASSOCIADO AO ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha piperita* SOBRE *Psoroptes ovis* var. *cuniculi*", protocolada sob o CEUA nº 1446131022 (10 002472), sob a responsabilidade de **Patrícia Silva Gôlo** e equipe; *Adriani da Silva Carneiro Lopes; Thais Almeida Corrêa; Victória Silvestre Bório; Laura Nóbrega Meirelles* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 23/01/2023.

We certify that the proposal "EVALUATION OF THE ACARICIDE EFFECT OF *Metarhizium pingshaense* ASSOCIATED TO THE ESSENTIAL OIL OF *Mentha piperita* ON *Psoroptes ovis* var. *cuniculi*", utilizing 30 Rabbits (males and females), protocol number CEUA 1446131022 (10 002472), under the responsibility of **Patrícia Silva Gôlo** and team; *Adriani da Silva Carneiro Lopes; Thais Almeida Corrêa; Victória Silvestre Bório; Laura Nóbrega Meirelles* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 01/23/2023.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 01/2023 a 12/2024 Área: Parasitologia Animal

Origem: Animais de proprietários

Espécie: Coelhos

sexo: Machos e Fêmeas

idade: 6 a 60 meses

Quantidade: 30

Linhagem: Nova Zelândia

Peso: 500 a 3000 g

Seropédica, 23 de janeiro de 2023

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro

Viviane de Souza Magalhães

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de
Animais

Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro





CERTIFICADO DE ANALISE QUIMICA

Solicitante: VIA AROMA Industria de Aromatizadores de Ambientes Ltda CNPJ : 04.612.952/0001-17

ÓLEO ESSENCIAL de MENTA PIPERITA

Nome comercial: Óleo Essencial de Menta Piperita

Nomenclatura botânica: *Mentha piperita* L.

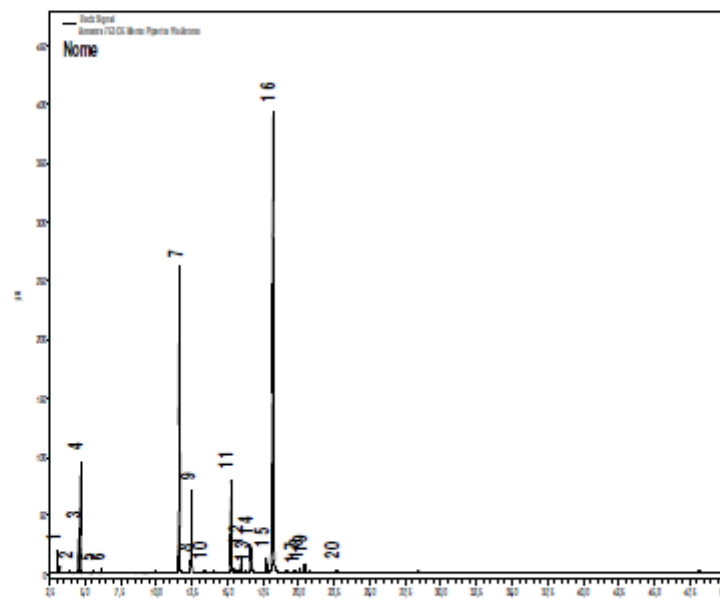
Extração: Destilação

Parte da planta: Folhas

Composição Química

Pico	IR _{calc}	Composto	Area %
1	1170	α -felandreno	0,7
2	1196	mirreno	0,1
3	1213	limoneno	1,7
4	1217	1,8-cineol	4,7
5	1242	Z- β -ocimeno	0,1
6	1260	E- β -ocimeno	0,2
7	1420	mentona	23,3
8	1442	hidrato de cis-sabineno	0,9
9	1445	isomentona	5,6
10	1470	mentofurano	0,1
11	1525	acetato de mentila	6,9
12	1545	linalol	1,3
13	1556	terpinen-4-ol	0,1
14	1565	β -cariofileno	3,1
15	1597	neo-mentol	1,2
16	1611	mentol	47,1
17	1657	α -humuleno	0,1
18	1665	pulegona	0,3
19	1675	E- β -farneseno	0,6
20	1740	α -farneseno	0,1
		outros	1,9

Mirra Angelina Neres da Silva
Mirra Angelina Neres da Silva
Química UFMG/DQ
labchrom25dq@qui.ufmg.br
mirrajolie@yahoo.com.br
Belo Horizonte, 07 de
fevereiro de 2022.



Método de análise:

Cromatografia Gasosa de Alta Resolução. Cromatógrafo a Gás AGILENT 7820A, ECTMwax-10 30m x 0,32mm x 0,25 μ m (Alltech). Temp.: Coluna: 50°C (5 min), 3 °C/min a 200°C. Injetor: 200°C Split: 1/50. Detec tor FID:220°C. Volume de injeção: 1 μ l. 2,0% m/v em acetato de etila.