

Efeito acaricida *in vitro* de extratos vegetais de plantas do Bioma Pampa sobre larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae)¹

Acaricidal effect *in vitro* of Bioma Pampa plants extracts against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae)

Claudia Cristina Gulias Gomes², Robert Domingues³, Natália Janovik⁴, Bernardo Macke Franck⁵, e Alessandro Pelegrine Minho⁵.

¹ Projeto financiado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Macroprograma 2 cadastrado sob nº 02.11.07.006.00.00.

² Pesquisadora, Setor Sanidade Animal, Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, Brasil. E-mail: claudia.gulias@embrapa.br

³ Analista, Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, Brasil.

⁴ Aluna de Graduação de Medicina Veterinária, URCAMP, Bagé, RS, Brasil.

⁵ Técnico, Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, Brasil.

⁶ Pesquisador, Setor Sanidade Animal, Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, Brasil.

Resumo: Os antiparasitários ainda são a principal forma de controle do carrapato em todo o mundo. Entretanto, seu uso como única forma de controle e a falta de assistência técnica a produtores sobre sua aplicação correta tem levado desenvolvimento da resistência dos parasitas e aumento do risco de ocorrência de resíduos químicos na carne e no leite. O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial acaricida de extratos vegetais (frações aquosa, metanólica e hexânica) sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. A maioria das espécies provenientes do Bioma Pampa. Os testes de eficácia dos extratos sobre larvas e teleóginas foram realizados utilizando-se as concentrações de 100, 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,125 mg/mL e 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,125 mg/mL, respectivamente. Os extratos com maior potencial acaricida foram os extratos aquoso (CL₅₀= 3,26 e CL₉₀= 17,25 mg/mL) e hexânico (CL₅₀= 48,34 e CL₉₀= 90,44 mg/mL) de embira, com efeito larvicida, e o extrato hexânico de maria-mole (CL₅₀= 12,49 e CL₉₀= 29,21 mg/mL), que apresentou efeito adulticida.

Palavras-chave: bovinos, carrapato, compostos bioativos, controle parasitário

Abstract: Chemical parasiticides are still the most effective method to tick control in the world. However, their use alone and lack of assistance to farmers regarding appropriate control strategy has led to the development of parasite resistance, besides increased the risk of drug residues in meat and milk. The aim of this study was to evaluate the acaricidal potential of plant extracts (aqueous, methanolic and hexanic fractions) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Most of the plants are from pampa biome. Larvicidal and adulticidal effects were evaluated at concentrations of 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 mg.mL⁻¹ and 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 mg.mL⁻¹, respectively. Extracts with the greatest acaricide potential were larvicidal effect of aqueous (LC₅₀= 3.26 mg.mL⁻¹, LC₉₀= 17.25 mg.mL⁻¹) and hexanic fractions (LC₅₀=48.34 mg.mL⁻¹, LC₉₀=90.44 mg.mL⁻¹) of embira and adulticidal effect of hexanic fraction of maria-mole (LC₅₀=12.49 mg.mL⁻¹, CL₉₀= 29.21 mg.mL⁻¹).

Keywords: bovine, bioactive compounds, parasite control, tick

Introdução

O Bioma Campos Sulinos ou Bioma Pampa compreende 500.000 km² (latitudes 24° e 35° S), abrangendo o Uruguai, Nordeste da Argentina, Sul do Brasil, e parte do Paraguai (Pallarés et al., 2005). Sua enorme diversidade florística alberga mais de 400 espécies de gramíneas e 150 de leguminosas forrageiras. Vários estudos têm demonstrado, *in vitro*, o potencial de uso de plantas medicinais, seus óleos essenciais e substâncias isoladas no controle de ectoparasitos (Chagas et al., 2002).

Espécies do Bioma Pampa podem servir de fonte para a identificação de novas moléculas com ação acaricida e/ou de novos métodos de controle baseados em extratos vegetais. Neste trabalho, fontes vegetais, extratos brutos e suas frações metanólicas e hexânicas, majoritariamente provenientes do Bioma Pampa, foram avaliadas quanto ao seu efeito acaricida *in vitro*.

Material e Métodos

Coleta das plantas e preparo dos extratos: amostras de 12 espécies vegetais (Tabela 1) foram coletadas com autorização do IBAMA (Autorização de Acesso ao Patrimônio Genético para fins de pesquisa da Embrapa Nº002/2008). Como extrato aquoso foi utilizado o pó bruto e seco de cada planta. Os extratos metanólicos e

hexânicos foram obtidos pelo método de extração por refluxo a 40°C por quatro horas. Os sobrenadantes obtidos foram filtrados e submetidos à rotaevaporação a 50°C até que todo o solvente fosse evaporado. Após a rotaevaporação, os extratos foram armazenados protegidos da luz até a realização das análises. As solubilizações dos extratos foram realizadas no dia das avaliações de efeito acaricida. Para os extratos aquosos, o pó da planta seco foi misturado à água deionizada a 40°C, permanecendo em infusão, durante 30 minutos sobre agitação constante. Posteriormente, a solução foi centrifugada e o pellet desprezado. Com o sobrenadante, foram preparadas as diluições seriadas. O extrato aquoso foi diluído em água destilada e deionizada. As frações hexânicas e metanólicas foram diluídas em polissorbato 80 a 5%.

Ensaio *in vitro*: A avaliação da ação larvicida dos extratos seguiu metodologia descrita por Sindhu et al. (2012). A mortalidade das larvas foi avaliada 24 horas após a imersão. Os extratos foram avaliados nas concentrações de 100, 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,125 mg/mL, sete repetições por tratamento e 100 larvas por repetição. A avaliação do efeito adulticida seguiu metodologia descrita por Drummond et al (1973). Para cada extrato, foram avaliadas as concentrações de 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,125 mg/mL. Tanto no teste de imersão de adultos, quanto no teste de imersão de larvas foi utilizado um grupo controle negativo (água deionizada para os extratos aquosos e solução aquosa de polissorbato 80 a 5%, para os extratos metanólicos e hexânicos). O percentual de mortalidade das larvas foi corrigido em relação à mortalidade do grupo controle negativo, de acordo com a fórmula proposta por Abott (1925). Os resultados foram submetidos à análise de variância seguida pela comparação de médias através do teste de Tukey. Os testes foram realizados com o Software GraphPad Prism v.6.05.

Resultados e Discussão

Na avaliação do potencial larvicida *in vitro*, só foi possível calcular as CL50 e CL90 para os extratos aquoso (3,26 e 17,25 mg/mL, respectivamente) e hexânico (48,34 e 90,44 mg/mL, respectivamente) de embira (*Daphnopsis racemosa*). Para os extratos hexânicos das espécies aroeira cinzenta (*Schinus lentiscifolius*) e pitangueira (*Eugenia uniflora*) observou-se CL50 de 51,82 e 389,26 mg/mL, respectivamente. Em relação às demais plantas, a eficácia máxima obtida na maior concentração não foi suficiente para a estimativa da CL50 e 90. Entre todas as espécies e tipos de extratos avaliados, o extrato aquoso de embira foi o mais promissor para o controle de larvas, por apresentar a menor CL90. No entanto, esta planta não apresentou efeito adulticida, ao contrário da maria-mole (*Senecio brasiliensis*), que apresentou CL50 de 12,49 mg/mL e CL90 de 29,21 mg/mL para o extrato hexânico. A Tabela 1 lista a mortalidade e eficácia máxima dos extratos avaliados.

Porcentagens de eficácia entre 50 e 95% são promissoras para potenciais produtos de origem vegetal que possam ser utilizados no controle integrado de ectoparasitos em ruminantes. Como os testes *in vitro* servem apenas como triagem, ou seja, não é possível estimar o efeito *in vivo* com elevada confiabilidade, a busca por extratos vegetais com efeito acaricida ainda é uma promissora, mas laboriosa frente de pesquisa, a qual deve ser incentivada e desenvolvida nas próximas décadas, devido ao crescente impacto econômico da resistência parasitária aos medicamentos carrapaticidas disponíveis comercialmente em todo o mundo.

Conclusões

O extrato aquoso de embira apresenta propriedade acaricida contra larvas de *R. microplus*.

O extrato hexânico de maria-mole apresenta propriedade acaricida contra fêmeas adultas de *R. microplus*.

O extrato aquoso de embira é viável de ser preparado para uso em bovinos no controle de *R. microplus*. No entanto, ensaios complementares são necessários para comprovar o efeito *in vivo*.

O estudo de frações ativas do extrato hexânico de maria-mole podem revelar novos compostos bioativos com ação acaricida.

Tabela 1. Percentuais de mortalidade (Mort.), eficácia, índice de oviposição (IO) e índice de eclosão (IE) máximos observados para os extratos aquosos, hexânicos e/ou metanólico de 12 espécies de plantas contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Concentrações em mg/mL

Espécie	Extrato	Conc.	Mort.	Conc.	Eficácia	Conc.	IO	Conc.	IE
acácia negra <i>Acacia mearnsii</i>	Aquoso	25	0,42	50	11,19	50	9,14	50	2,66
aroeira cinzenta <i>Schinus lentiscifolius</i>	Aquoso	50	0,16	6,25	8,02	6,25	3,72	25	9,27
	Hexânico	50	45,63	50	2,02	50	2,47	6,25	2,57
	Metanólico	50	0,43	3,125	12,72	6,25	7,34	50	6,30
capim-anoni <i>Eragrostis plana</i>	Aquoso	12,5	1,59	6,25	-1,25	6,25	1,62	12,5	1,45
	Metanólico	3,125	0,57	3,125	-0,05	3,125	-3,17	3,125	3,64
caraguatá <i>Eryngium horridum</i>	Aquoso	100	0,71	12,5	9,22	12,5	4,43	100	6,49
	Metanólico	12,5	6,45	3,125	7,25	3,125	6,21	12,5	2,54
carvalho <i>Quercus robur</i>	Aquoso	12500	0,86	50	8,69	50	-1,59	50	10,64
	Metanólico	3,125	0,72	50	10,76	50	4,59	6,25	6,08
cornichão <i>Lotus corniculatus</i>	Aquoso	100	2,43	25	6,28	25	-2,82	25	9,09
	Metanólico	25	0,15	3,125	7,24	3,125	5,28	6,25	2,54
embira <i>Daphnopsis racemosa</i>	Aquoso	100	100,00	100	8,73	12,5	6,90	25	3,16
	Hexânico	50	53,03	12,5	7,40	6,25	9,54	12,5	1,25
	Metanólico	3,125	0,42	3,125	3,85	6,25	1,05	3,125	3,32
erva-lanceta <i>Solidago chilensis</i>	Aquoso	100	1,27	25	12,54	6,25	7,19	25	8,59
	Hexânico	50	0,57	25	9,89	6,25	5,09	25	6,32
	Metanólico	50	0,29	50	20,63	50	11,5	50	10,02
maria-mole <i>Senecio brasiliensis</i>	Aquoso	100	0,14	100	3,84	100	2,57	25	3,72
	Hexânico	50	6,88	50	90,42	25	0,42	50	90,91
picão-preto <i>Bidens pilosa</i>	Aquoso	100	0,14	50	11,18	6,25	5,13	50	12,98
	Hexânico	50	3,39	50	-0,88	50	-3,80	25	3,26
	Metanólico	50	5,99	50	15,06	50	7,77	50	7,95
pitangueira <i>Eugenia uniflora</i>	Aquoso	50	0,72	100	0,33	100	0,97	25	3,21
	Hexânico	50	12,39	25	3,31	25	0,95	6,25	3,27
	Metanólico	50	1,42	12,5	19,36	50	12,5	12,5	8,30
trevo vermelho <i>Trifolium pratense</i>	Aquoso	100	0,43	50	7,72	50	6,37	100	3,69
	Metanólico	50	2,59	12,5	8,88	12,5	4,94	3,125	6,42

Agradecimentos

À Embrapa pelo financiamento do projeto. Ao CNPq pela bolsa PIBIC.

Literatura citada

- Abbott, W. S. A. 1925. Method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-266.
- Chagas, A. C. S.; Passos, W. M.; Prates, H. T.; Leite, R. C.; Furlong, J.; Fortes, I. C. P. 2002. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 39(5): 247-253.
- Drummond, R. O.; Ernst, S. E.; Trevino, J. L.; Gladney, W. J.; Graham, O. H. 1093. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. *Journal Economic Entomology* 66: 130-133.
- Pallarés, O. R.; Berretta, E. J.; Maraschin, G. E. 2005. The South American Campos ecosystem. In: Suttie, J, Reynolds, S.G., Batello, C. *Grasslands of the world*. FAO: 171-219.
- Sindhu, Z. U. D. D; Jonsson, N. N.; Iqbal, Z. 2012. Syringe test (modified larval immersion test): A new bioassay for testing acaricidal activity of plant extracts against *Rhipicephalus microplus*. *Veterinary Parasitology* 188: 362-367.