

Efeito acaricida *in vivo* do extrato aquoso de *Daphnopsis racemosa* e de Natur N® sobre larvas e ninfas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*¹

Acaricidal effect *in vivo* of aqueous extract of *Daphnopsis racemosa* and Natur N® against larvae and nymphs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Claudia Cristina Gulias Gomes², Robert Domingues³, Bernardo Macke Franck⁴, Gustavo Barcellos Godinho⁵
Valeska Paula Casanova⁶, Marta Lizandra do Rêgo Leal⁷, Alessandro Pelegrine Minho⁸

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

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

³Analista, Setor Sanidade Animal, Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, Brasil.

⁴Técnico, Embrapa Pecuária Sul, Bagé/RS, Brasil.

⁵Iniciação científica, Setor Sanidade Animal, Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, Brasil. Bolsista Fapergs.

⁶Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Clínica de Ruminantes – UFSM, RS, Brasil. Bolsista Fapergs.

⁷Professora Associada do Departamento de Clínica de Grandes Animais, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

⁸Pesquisador, Setor Sanidade Animal, Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS, Brasil.

Resumo: As limitações atuais do controle químico parasitário e a riqueza e grande diversidade da flora brasileira têm estimulado a pesquisa com extratos de plantas na busca por novas formas de controle. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito acaricida do extrato aquoso de *Daphnopsis racemosa* e de Natur N® sobre larvas e ninfas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Os extratos aquosos foram preparados em água destilada e deionizada a uma concentração de 100 mg/mL. As soluções foram filtradas e aplicadas em novilhas brangus, infestadas nove e dois dias antes do tratamento, por meio de banho de aspersão. O efeito do armazenamento do extrato seco de embira sobre a ação larvicida também foi avaliado por meio de teste de imersão de larvas, preparando-se o extrato aquoso no dia do teste *in vivo* e trinta dias após. Não houve diferença significativa entre a infestação dos bovinos tratados com os extratos e o controle negativo (banho com água) para nenhuma das duas infestações. Porém, houve maior mortalidade de carrapatos no banho com acaricida comercial, quando comparado ao tratamento com água, tanto para a primeira ($p < 0,01$), quanto para a segunda infestação ($p < 0,001$). Os resultados indicam que o extrato aquoso de embira e Natur N® não são eficazes para o controle de *R. microplus* nas fases de larva e ninfa por meio de banho de aspersão. A planta moída de embira tem seu efeito larvicida *in vitro* reduzido quando armazenada por mais de 30 dias.

Palavras-chave: acari, fitoterápico, teste a campo

Abstract: The current limitations of chemical control of livestock parasites and, by other side, the richness and diversity of Brazilian flora boosts studies of plant extracts in search of alternative acaricides. This study aimed to evaluate acaricide effect of aqueous crude plant extracts of *Daphnopsis racemosa* and Natur N® against larvae and nymphs of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Aqueous extracts were prepared in distilled and deionized water at 100 mg.mL⁻¹. The solutions were filtered and applied on the bodies of brangus heifers using motorized spray pump. Animals were infested nine and two days before treatments. Additionally, effect of storing the dry extract was evaluated by larval immersion test in the day of field test and thirty days later. There was no significant difference between the numbers of female tick on cattle treated with the extracts compared to water treatment for either infestation. However, there was a higher mortality of ticks in the bath with a commercial acaricide, compared to treatment with water, both the first ($p < 0.01$), as for the second infestation ($p < 0.001$). The aqueous extract of *D. racemosa* and Natur N® are not effective for larval and nymph control by spray formulation. Dried leaves of *D. racemosa* have their larvicidal effect *in vitro* reduced when stored for more than 30 days.

Keywords: acari, field test, phitotherapy

Introdução

A dificuldade atual de produtores para manter o controle das infestações em bovinos por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tem sua origem na ampla difusão da multirresistência aos acaricidas comerciais e escassez de novos princípios ativos. As limitações do controle químico tem induzido a comunidade científica a buscar novos compostos e produtos na linha dos fitoterápicos. A grande diversidade

da flora brasileira e o consequente potencial para descoberta de novas moléculas com ação antiparasitária se constitui em mais um estímulo à pesquisa na área.

Ensaio *in vitro* de avaliação do efeito do extrato aquoso de embira (*Daphnopsis racemosa* - Thyalaceae) sobre larvas de *R. microplus* resultou em CL90 de 17,250 mg/mL (dados ainda não publicados), o que motivou a avaliação do extrato em situação de campo. O produto comercial a base da casca de *Acacia mearnsii* (Natur N – Seta S/A) foi incluído no ensaio para se testar a hipótese de que os taninos condensados poderiam interferir na ecdise por enriquecimento do exoesqueleto.

Material e Métodos

Preparo dos extratos: O extrato aquoso de embira foi preparado a partir de folhas coletadas na Embrapa Pecuária Sul em fevereiro de 2015, secas em estufa regulada a 40°C e mantidas a 18°C até a moagem em gramatura de 1mm. O processo de moagem foi realizado nos 10 dias que antecederam o preparo da solução. O pó da planta foi misturado à água destilada e deionizada sob chapa aquecedora regulada a 40°C e 300 rpm pelo período de 30 minutos. Após a homogeneização, a solução foi filtrada em tecido de algodão, seguido de filtragem em funil com algodão hidrófilo. A solução foi preparada um dia antes do banho de aspersão e mantida a 18°C até o momento do teste. O extrato Natur N® foi disponibilizado pela empresa Seta S/A e submetido ao mesmo procedimento de diluição em água, com a diferença de ter sido filtrado somente em algodão hidrófilo. O efeito do armazenamento do extrato seco de embira sobre a ação larvicida foi avaliado por meio de teste de imersão de larvas, de acordo com metodologia descrita por Sindhu et al (2012), preparando o extrato aquoso no dia do teste *in vivo* e trinta dias após.

Experimento à campo: O procedimento experimental de campo foi avaliado e autorizado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFSM, cadastrado sob o número de protocolo 7156160415. Trinta e duas novilhas da raça Brangus, livres de carrapato, foram infestadas com cerca de 10.000 larvas de *R. microplus*, em dois momentos distintos: nove e dois dias previamente ao tratamento. No dia 0, os bovinos foram divididos em quatro grupos, de oito animais cada, e submetidos a banho de aspersão com as seguintes soluções: (1) água destilada e deionizada, (2) acaricida comercial à base de Cipermetrina, Clorpirifós, Butóxido de Piperonila e Citronelal, (3) extrato aquoso de folha de embira (100 mg/mL) e (4) extrato aquoso de Natur N (100 mg/mL). Foi utilizado pulverizador costal motorizado munido com duas lanças e bicos em forma de leque, regulado para pressão aproximada de 250 a 300 psi cada saída. A aplicação foi feita a uma distância de 10 cm do corpo do animal e em direção contrária ao pelo, em volume total de seis litros por animal. Os animais passaram por exame clínico (determinação da frequência cardíaca e respiratória, mensuração da temperatura retal, avaliação das mucosas, pele e pelagem), hemograma completo (hematócrito, hemoglobina, contagem de eritrócitos e leucócitos e leitura diferencial de leucócitos), avaliação hepática (AST, albumina, creatinina, proteína total) e renal (ureia) periódicos, para a verificação de possível toxicidade dos compostos utilizados. Entre o décimo nono ao vigésimo terceiro dia após cada infestação, foi realizada contagem de carrapatos acima de 4,5 mm de comprimento.

Resultados e Discussão

Não houve diferença significativa entre os tratamentos com extratos de plantas e o controle negativo para nenhuma das duas infestações. Porém, pôde-se observar maior mortalidade de carrapatos no uso do acaricida comercial, quando comparado ao tratamento com água, tanto para a primeira ($p < 0,01$), quanto para a segunda infestação artificial ($p < 0,001$) (Figuras 1A e 1B). A baixa carga parasitária observada nos grupos, inclusive no tratamento com água, e a alta variabilidade das contagens geram incerteza para afirmar ausência de efeito acaricida dos extratos de planta avaliados. Por outro lado, a concentração do extrato de embira usado no teste a campo foi cinco vezes maior do que a CL90 obtida em ensaio *in vitro*, o que deveria ser suficiente para uma redução significativa da carga parasitária.

A segunda infestação resultou em carga parasitária menor do que a primeira, para os tratamentos com água, embira e Natur N ($p < 0,05$, teste não paramétrico de Wilcoxon, com desenho experimental pareado e *one-tailed*). É possível que a proximidade de aplicação do jato no banho de aspersão tenha retirado mecanicamente parte das larvas distribuídas pelo corpo dos bovinos, com efeito menor sob os carrapatos da primeira infestação, que já estariam na fase de ninfa. Nenhum dos extratos demonstrou toxicidade no ensaio *in vivo*.

A análise *in vitro* do extrato de embira com 30 dias de armazenamento da planta moída demonstra que apenas o fato de manter o extrato armazenado em condição ambiente e protegido da luz não é suficiente para a manutenção da eficácia do mesmo.

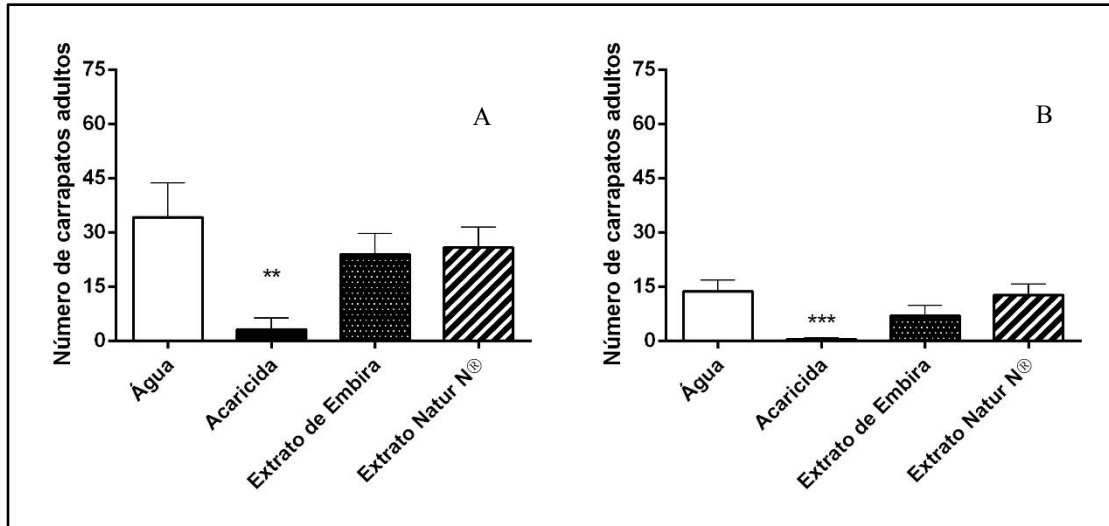


Figura 1 - Número total de carrapatos adultos contados na metade do corpo de novilhas brangus entre o 19º e o 23º dia após infestação artificial nos dias -9 e -2 e tratamento com banho de aspersão no dia zero (gráficos A e B, respectivamente). Teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido de teste de comparação múltipla de Dunn. Barras indicam erro padrão. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

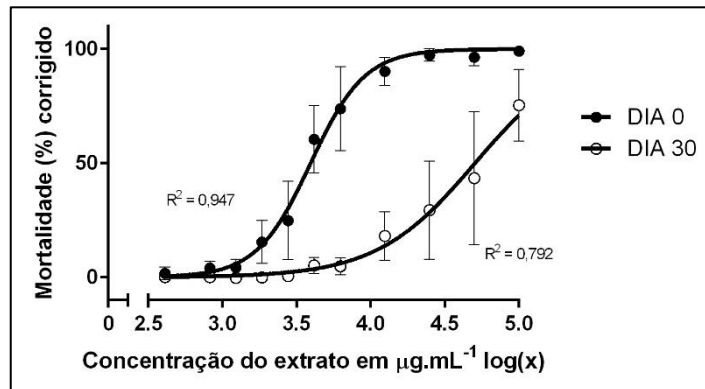


Figura 2 Dose-resposta do efeito larvicida do extrato aquoso de *Daphnopsis racemosa* (embira) preparado no mesmo dia da moagem e com 30 dias de armazenamento da planta moída sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Barras indicam erro padrão.

Conclusões

O extrato aquoso de embira e Natur N® não são eficazes para o controle de *R. microplus* nas fases de larva e ninfa em bovinos por meio de banho de aspersão.

A planta moída de embira tem seu efeito larvicida *in vitro* reduzido quando armazenada por mais de 30 dias.

Literatura citada

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.