

11029 - Ação de óleos e extratos vegetais no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro

Action of oils and vegetable extracts in the control of Rhipicephalus (Boophilus) microplus in vitro

CASTRO, Karina Neoob de Carvalho.¹; LIMA, David Fernandes²; VASCONCELOS, Luciene Costa³; MAGALHÃES, João Avelar⁴; COSTA, Jandson Vieira⁵; SANTOS, Raimunda Cardoso dos⁶

1 Embrapa Meio-Norte, Br 343, km 35, Parnaíba - PI, karina@cpamn.embrapa.br; 2 Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda, david@vegeflora.com.br; 3 Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda luciene@vegeflora.com.br; 4 Embrapa Meio-Norte avelar@cpamn.embrapa.br; 5 UESPI, jandsonvc@hotmail.com; 6 UFPI, raimundaphb@hotmail.com

Resumo: A infestação por carrapatos é um dos principais entraves à produção de leite isento de resíduos. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia in vitro dos óleos de *Pilocarpus microphyllus* (jaborandi) e *Citrus sp* (laranja), bem como dos extratos etanólico e aquoso e óleo de *Azadirachta indica* (nim) no controle de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Os bioensaios foram realizados pelo método de imersão das carrapatos. O óleo de laranja e o extrato etanólico das folhas do nim inibiram significativamente a reprodução das carrapatos somente quando em concentrações elevadas, portanto, outros estudos devem ser realizados com intuito de aumentar a concentração dos princípios ativos e a eficácia destes produtos.

Palavras-chave: carrapatos, bovinos e extratos.

Abstract: *Infestation by ticks is one of the main constraints to the production of waste free milk. The aim of this study was to evaluate the efficiency in vitro of Pilocarpus microphyllus (jaborandi) and Citrus sp (orange) as well as the ethanolic and aqueous extracts and oil of Azadirachta indica (neem) in the control of engorged females with Rhipicephalus (Boophilus) microplus. Bioassays were performed by immersion of ticks. The orange oil and ethanolic extract of neem leaves significantly inhibited the reproduction of ticks only when in high concentrations, therefore, other studies should be performed in order to increase the concentrations of the active ingredients and the effectiveness of these herbal medicines.*

Keywords: tick, bovine and extracts

Introdução

A infestação pelo *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tem levado a transmissão de doenças aos bovinos, a redução na produtividade de leite e carne e a depreciação do couro, gerando grandes prejuízos para a pecuária nacional (GOMES, 1998). A principal forma de controle deste parasita é o uso de carrapaticidas, o que geralmente é conduzido sem orientação técnica, levando ao comprometimento da eficácia dos produtos e ao desenvolvimento de populações resistentes de carrapatos (FURLONG et al., 2003). O uso indiscriminado destes produtos deixa resíduos nos alimentos de origem animal, gerando risco para saúde humana.

Para produção de leite sem resíduos num manejo agroecológico, um dos principais entraves é o controle do carrapato dos bovinos.

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de óleos e extratos vegetais no controle do *R. (B.) microplus* in vitro.

Metodologia

Os experimentos foram realizados no laboratório de Análises Clínicas Animal - Doenças Parasitárias, pertencente a Embrapa Meio-Norte/UEP-Parnaíba, Parnaíba, Piauí. Foram coletadas, em bovinos mestiços, fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*, sendo 510 selecionadas, pesadas e distribuídas em grupos de dez. Cada grupo foi imerso em soluções de óleos e extratos vegetais em diversas concentrações durante cinco minutos.

Após esse procedimento, os grupos foram secos em papel toalha, colocados em placas de Petri e acondicionados em estufa B.O.D. ($\pm 27^{\circ}\text{C}$ e UR > 70%), durante 16 dias. Em seguida, a massa de ovos foi pesada e introduzida em seringas adaptadas, que retornaram a estufa B.O.D., permanecendo durante 20 dias, para a eclosão dos ovos. A análise da eclodibilidade foi realizada contando-se ovos e larvas em três alíquotas, com auxílio do estereomicroscópio.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo testados cinco produtos de origem vegetal, em três diferentes concentrações e três repetições. O óleo de *Citrus sp* (laranja) foi adquirido comercialmente. O óleo de *Pilocarpus microphyllus* (jaborandi) foi extraído das folhas e o de *Azadirachta indica* (nim) dos frutos secos, sendo cedidos pela indústria farmoquímica Vegeflora Extrações do Nordeste Ltda. O extrato etanólico e o extrato aquoso de nim foram preparados, respectivamente, através da maceração das folhas e dos frutos verdes. Como controle para os óleos e extrato etanólico foi utilizado etanol a 50 % + dmso a 3% e para o extrato aquoso utilizou-se água destilada.

A eficiência reprodutiva (ER) foi estimada pelo cálculo $\{ER = (\text{Peso da massa de ovos} \times \% \text{ de eclosão}) / (\text{peso da massa de fêmeas}) \times 20.000\}$ e a eficácia acaricida dos extratos (EE), pela fórmula $\{EE = (\text{ER controle} - \text{ER tratado}) / (\text{ER controle})\} \times 100$, de acordo com Drummond et al. (1973).

Resultados e discussão

O extrato aquoso dos frutos do nim foi ineficaz contra fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* (Tabela 1), apesar da maior quantidade de azadiractina, uma das principais substâncias tóxicas para insetos, estar presente nesta parte da planta (ERMEL et al., 1987). Makeri et al. (2007), também não observaram ação acaricida com o extrato aquoso da semente seca de nim, no controle de carrapatos da espécie *Amblyomma variegatum* em ovelhas. Todavia, Broglio-Micheletti et al. (2010) registraram a eficácia de 73,2 % do extrato hexânico das sementes de nim em fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*, cujos resultados superaram os do extrato etanólico testado nas mesmas condições.

Tabela 1. Médias de peso dos ovos, eclodibilidade, eficiência reprodutiva e eficácia acaricida em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (B.) microplus* após a imersão em extrato aquoso de frutos do nim.

Fitoterápico	Concentração (mg ml ⁻¹)	Peso dos ovos (g)	Eclusão (%)	Eficiência reprodutiva	Eficácia do produto (%) ²
Nim	25,2	1,3821	86,5	1021599,0	6,5 (13,9) ^a
	12,6	1,3923	90,7	1082193,0	0,9 (8,3) ^a
	6,3	1,4366	92,9	1133012,0	-3,7 (3,7) ^a
Controle ¹		1,3945	90,8	1092254,0	

¹Controle constituído de água destilada. ²Análise com os dados transformados para $X = X+C$. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

A eficácia do óleo de laranja sobre os carrapatos atingiu 47,8% na concentração de 200 mg ml⁻¹, sendo observada ação dose-dependente (Tabela 2). Este resultado pode ser devido ao limoneno, presente no óleo de laranja em grandes proporções, pois, segundo Ferrarini (2008), este monoterpene possui ação carrapaticida e causa letalidade de larvas, além de impedir a eclosão de ovos do *R. (B.) microplus*.

Tabela 2. Médias de peso dos ovos, eclodibilidade, eficiência reprodutiva e eficácia acaricida em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (B.) microplus* após a imersão em fitoterápicos.

Fitoterápico	Concentração (mg ml ⁻¹)	Peso dos ovos (g)	Eclusão (%)	Eficiência reprodutiva	Eficácia do produto (%) ²
Laranja (óleo)	200	0,6483	80,4	483061,4	47,8 (73,1) ^a
	100	0,6563	89,9	533534,4	42,4 (67,6) ^{a b}
	50	1,0010	94,1	848437,4	8,4 (33,6) ^{bcd}
Jaborandi (óleo)	100	1,0690	85,2	827769,6	10,6 (35,9) ^{bcd}
	50	0,9745	88,4	764078,1	17,5 (42,7) ^{abc}
	25	1,1166	93,0	951551,8	-2,7 (22,5) ^{cd}
Nim (óleo)	100	1,0709	87,3	843024,2	9,0 (34,2) ^{bcd}
	50	1,1684	84,1	898577,9	3,0 (28,2) ^{cd}
	25	1,2442	99,2	1101026,0	-18,8 (6,4) ^d
Nim (folhas/extrato etanólico)	100	0,6534	78,8	472834,1	48,9 (74,2) ^a
	50	0,8424	74,8	564674,8	39,0 (64,3) ^{ab}
	25	1,0557	88,9	834072,6	10,0 (35,2) ^{bcd}
Controle ¹		1,1051	93,3	926359,3	

¹Controle constituído de etanol a 50 % + dmsa a 3%. ²Análise com os dados transformados para $X = X+C$. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Ao utilizar o extrato etanólico das folhas do nim, Saueressig (2002) não observou ação sobre a atividade ovarioestática e antiembriogênica do carrapato dos bovinos, assim como Broglio-Micheletti et al. (2009). Já, Costa et al. (2008), ao avaliar a eficácia do extrato hidroalcoólico das folhas secas do nim a 20% sobre fêmeas ingurgitadas obteve eficácia de 32%. Em nossos experimentos, a eficácia do extrato etanólico das folhas de nim foi de 48,9 % (Tabela 2), havendo inibição parcial da reprodução das carrapatos de forma dose-dependente. Segundo Aguiar-Menezes (2005), a azadirachtina age inibindo a maturação dos ovos e comprometendo a troca de tegumento (ecdise) de insetos, neste caso, como consequência da inibição da biossíntese de hormônios. Este pode ser um dos mecanismos responsáveis pela diminuição significativa na taxa de eclosão de ovos de *R. (B.) microplus* (Abdel-Shafy e Zayed, 2002).

Quanto a ação sobre larvas, Silva et al., (2007) observaram a efetividade do extrato hidroalcoólico de nim a 20%, obtendo 100% de mortalidade larval. Já, Furlong et al. (2002) utilizando extratos aquosos e alcoólicos de folhas secas de nim concluíram que a

concentração letal necessária para larvas do *R. (B.) microplus* é elevada, dificultando sua utilização na rotina a campo. Assim também Silva et al., (2002) avaliando duas formulações do óleo de nim sobre fêmeas do *R. (B.) microplus* observaram que a eficácia elevada era obtida somente com altas concentrações dos produtos. Na Tabela 1, observa-se que não houve eficácia do óleo de nim mesmo em concentrações de 100 mg ml⁻¹, enquanto que Silva et al. (2008) obtiveram eficácia de 100% sobre teleóginas numa formulação comercial do óleo de nim a 1%. A eficácia do extrato aquoso das folhas frescas de nim foi observada por Valente et al. (2007), que concluíram em experimento in vivo que este extrato pode substituir a abamectina dentro de um programa zootécnico de controle de carrapatos.

O óleo de laranja e o extrato etanólico das folhas de nim possuem atividade parcial sobre fêmeas de *R. (B.) microplus*, sendo necessário maiores estudos para fracionamento destes extratos, onde haja maior concentração dos princípios ativos e, portanto maior eficácia destes produtos.

Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Paulo Henrique Soares da Silva por ceder o óleo de laranja.

Bibliografia citada

ABDEL-SHAFY, S.; ZAYED, A.A. *In vitro* acaricidal effect of plant extract of neem seed oil (*Azadirachta indica*) on egg, immature, and adult stages of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Ixodoidea: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.106, n.1, p.89-96, 2002.

AGUIAR-MENEZES, E.L. **Inseticidas Botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58 p. Documentos, 205).

BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F.; DIAS, N.S.; VALENTE, E.C.N.; SOUZA, L.A.; LOPES, D.O.P.; SANTOS, J.M. Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.19, n.1, p.1-5, 2010.

BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F.; VALENTE, E.C.N.; SOUZA, L.A.; DIAS, N.S.; ARAÚJO, A.M.N. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.4, p.44-48, 2009.

COSTA, F.B.; VASCONCELOS, P.S.S.; SILVA, A.M.M.; BRANDÃO, V.M.; SILVA, I.A.; TEIXEIRA, W.C.; GUERRA, R.M.S.N.; SANTOS, A.C.G. Eficácia de fitoterápicos em fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, provenientes da mesorregião oeste do Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, supl.1, p.83-86, 2008.

DRUMMOND, R.O.; ERNEST, S.E.; TREVINO, J.L.; GLANDNEY, W.J.; GRAHAM, O.H. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **Journal Economic Entomology**, v.66, n.1, p.130-133, 1973.

ERMEL, K.; PAHLICH, E.; SCHMUTTERER, H. **Azadirachtin content of neem kernels**

from different geographical locations, and its dependence on temperature, relative humidity, and light. In: H. Schmutterer & K.R.S. Ascher (eds.). Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants. Proceedings of the 3^o International Neem Conference. Nairobi, Kenya, GTZ, Eschbom, p.171-184, 1987.

FERRARINI, S.R. **Síntese de β -aminoálcoois derivados do limoneno e avaliação biológica *in vitro*.** Porto Alegre: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas).

FURLONG, J.; COSTA JUNIOR, L.M.; CHAGAS, A.C.S.; REIS, E.S. CL50 e CL90 dos extratos alcoólico e aquoso de nim indiano (*Azadirachta indica*) em larvas de *Boophilus microplus*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. **Anais ...** Rio de Janeiro: CBPV, 2002. 1 CD ROM.

FURLONG, J.; MARTINS, J.R.; PRATA, M.C. Carrapato dos bovinos: controle estratégico nas diferentes regiões brasileiras. **Comunicado Técnico 36**, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Dezembro, 2003, 5p.

GOMES, A. O carrapato-do-boi *Boophilus microplus*: ciclo, biologia, epidemiologia, patogenia e controle. In: KESSLER, R.H.; SCHENK, M.A.M. **Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos.** Campo Grande, MS: Embrapa–CNPGC, 1998. p.9-44.

MAKERI, H.K.; MAIKAI, V.A.; NOK, J.A. Effect of topical application of neem seed (*Azadirachta indica*) extract on sheep infested with *Amblyomma variegatum*. **African Journal of Biotechnology**. v.6, n.20, p.2324-2327, 2007.

SAUERESSIG, T.M. Testes *in vitro* com extratos de plantas para controle alternativo do carrapato do boi: resultados preliminares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002.1 CD-ROM.

VALENTE, M.; BARRANCO, A.; SELLAIVE-VILLAROEL, A.B. Eficácia do extrato aquoso de *Azadirachta indica* no controle de *Boophilus microplus* em bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1341-1343, 2007.

SILVA, F.F.; SOARES, M.C.S.C.; ALVES, L.C.; LIMA, M.M.; SILVA, L.V.A.; FAUSTINO, M.A.G.; SILVA JÚNIOR, F.F. Avaliação comparativa da eficácia de fitoterápicos e produtos químicos carrapaticidas no controle do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) por meio do biocarrapaticidograma. **Medicina Veterinária**, Recife, v.2, n.3, p.1-8, jul-set, 2008.

SILVA, E.G.; SANTOS, A.C.G.; VALE, T.L.; GUERRA, R.M.S.N.C.; TEIXEIRA, W.C. Efeito *in vitro* da atividade de extratos botânicos alcoólicos sobre as larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em condições de laboratório. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 19. 2007, São Luís. **Anais ...** São Luís: UEMA, 2007. p.13-15.

SILVA, W.J.; SILVA, W.C.; BORGES, L.M.F. Avaliação de duas formulações comerciais de *Azadirachta indica* (Meliaceae) sobre fêmeas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12. 2002. Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. CD-ROM.