

Efeito dos extratos aquoso e etanólico da casca do angico preto (*Anadenanthera macrocarpa*) sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Manoel Lopes da Silva Filho^{1*}, Rozeverter Moreno Fernandes²,
Maria Zenaide Lima das Chagas Moreno Fernandes², Maria Carmo Sousa Batista²,
José Algaci Lopes Silva², Glauciany Soares Lopes³

¹Universidade Federal do Piauí, Campus "Prof.ª Cinobelina Elvas", Bom Jesus, PI, Brasil.

²Universidade Federal do Piauí, Campus "Ministro Petrônio Portela", Teresina, PI, Brasil.

³Secretaria de Educação e Cultura do Estado do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

*Autor correspondente, e-mail: manellopes@ufpi.edu.br

Resumo

Esta pesquisa foi realizada com o objetivo de verificar o efeito dos extratos aquoso (EA) e etanólico (EE) da casca de *Anadenanthera macrocarpa* sobre a ovipostura e eclodibilidade de ovos de teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. As concentrações usadas do EA e EE foram 8,26 mg.mL⁻¹ e 12,5 mg mL⁻¹, respectivamente. Nos testes, utilizaram-se 240 teleóginas para cada extrato, as quais foram limpas e pesadas, divididas em grupos de dez. Estas foram imersas em 20 mL das soluções teste e controle nos tempos de 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, sendo posteriormente fixadas em placas de petri, procedimento este realizado em triplicata. Utilizaram como controles negativos H₂O destilada e Dimetilsulfóxido e como controle positivo Amitraz na concentração de 0,25mg mL⁻¹. Os resultados revelam que o EA no grupo imerso por até sessenta minutos apresentou uma eficiência do produto de 10,85% (p>0,05), sendo que o EE em trinta minutos registrou eficiência de 35,24%. O extrato etanólico interferiu de forma discreta na ovipostura das teleóginas no teste considerado.

Palavras-Chave: Teleóginas, carrapato bovino, ovipostura, eclodibilidade.

Effect of aqueous and ethanolic extracts of angico preto skin on cattle tick teleogines

Abstract

This research was carried out to determine the effect of aqueous (AE) and ethanolic skin extracts (EE) of *Anadenanthera macrocarpa* on the oviposition and the egg eclodibility of teleogines of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. The concentrations used were AE and EE 8.26 mg.mL⁻¹ and 12.5 mg mL⁻¹, respectively. As for the tests, we have used 240 ticks for each extract, which were cleaned, weighed and divided into groups of ten. These were immersed in 20 mL of test and control solutions at 10, 20, 30, 40, 50 and 60 minutes, after they were kept in Petri dishes, procedure which was replicated three times. Distilled H₂O and dimethyl sulfoxide were used as negative controls and Amitraz as positive control at a concentration of 0.25 mg mL⁻¹. The results have shown that the EA group immersed for up to sixty minutes has presented a product efficiency of 10.85% (p>0,05), and EE, in thirty minutes, has registered a 35.24% efficiency mark. conclude that the ethanolic extract has interfered discreetly in oviposition of ticks in the test considered.

Keywords: Engorged females, cattle tick, oviposition, hatchability.

Introdução

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é uma importante espécie de carrapato bovino largamente distribuída na maior parte dos países com clima tropical e subtropical (Cutulle et al., 2009). São ectoparasitos hematófagos e importantes vetores de arboviroses, rickettsioses, espiroquetoses e de protozoários para o homem e para os animais domésticos (Ghosh et al., 2006).

No Brasil, são gastos anualmente cerca de R\$ 800 milhões de reais com produtos químicos no combate aos parasitos. Atualmente, o controle químico do carrapato se caracteriza pelo aumento progressivo do número de cepas resistentes aos principais acaricidas utilizados e, conseqüentemente, pelo aumento na frequência da aplicação (Furlong et al., 2007). Essa prática, efetuada por meio de produtos químicos convencionais, acarreta dois grandes problemas: o desenvolvimento acelerado da resistência ao princípio ativo e os resíduos nos produtos de origem animal, o que tem provocado grande preocupação para a sociedade e para os órgãos governamentais (Leal et al., 2003).

Nesta perspectiva, as plantas são importantes fontes de substâncias com diferentes estruturas químicas e com diversas atividades contra artrópodes (Sousa, et al., 2008). Dessa forma, acredita-se que o uso de extratos vegetais, de forma isolada ou associada, pode tornar bem mais lento o desenvolvimento da resistência. Outro fator importante é a redução dos resíduos, devido à sua característica biodegradável (Broglia-Micheletti et al., 2009). Tornando assim, a busca de alternativas para o controle do carrapato uma questão fundamental (Kunz & Kemp, 1994). No Brasil, trabalhos que utilizam óleo essencial (Apel et al., 2009; Ribeiro et al., 2011) e extratos vegetais (Pires et al., 2007; Broglia-Micheletti et al., 2009; Silva et al., 2011) mostraram-se promissores no controle deste parasito.

Uma das plantas utilizada na medicina popular é o angico preto (*Anadenanthera macrocarpa*), uma espécie nativa do Brasil, pertencente à família Mimosaceae. Essa espécie também tem potencial para a arborização

de parques, praças e rodovias; as flores são apícolas, a casca, a resina e as folhas são usadas em medicina caseira; a casca também é rica em tanino, utilizada pelos curtumes. Sua madeira pode ser utilizada na construção civil, rural e naval (Durigan et al., 1997; Lorenzi, 2002; Carvalho, 2003).

Considerando a vasta utilização do angico preto na medicina popular e algumas de suas ações cientificamente comprovadas, percebe-se a necessidade de conhecimento de sua atividade sobre carrapatos. Desta forma, a presente pesquisa foi realizada com o objetivo de verificar o efeito inibidor dos extratos aquoso e etanólico da casca de *A. macrocarpa* sobre oviposição e eclodibilidade dos ovos de teleóginas de carrapatos da espécie *R.(B.) microplus*.

Material e Métodos

Os ensaios farmacológicos foram conduzidos no Laboratório de Ciências Fisiológicas do Departamento de Morfofisiologia Veterinária do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, em Teresina.

As cascas

A. macrocarpa foram coletada no município de Angical – PI, em fevereiro de 2006, identificadas e depositadas no Herbário Graziela Barroso/UFPI, exsicata nº 21.643 TEPB. As cascas após serem cortadas e submetidas à secagem em uma estufa de circulação forçada de ar, durante três dias, a uma temperatura de 45°C (± 1), foram trituradas em moinho de facas e o pó fora acondicionado em um frasco de vidro âmbar hermeticamente fechado.

O extrato aquoso (EA) de *A. macrocarpa* foi preparado a partir de 60g da matéria vegetal para 600 mL de água destilada, seguido de cocção por dois minutos. Após filtração, determinou-se peso seco do extrato, usando-se três alíquotas de 1 mL da solução acondicionadas em frascos, os quais foram colocados em estufa com circulação forçada de ar até a obtenção de peso constante. A massa média obtida referente à 1 mL foi relacionada ao respectivo volume total, a qual correspondeu à concentração final de 8,26 mg. mL⁻¹.

O extrato etanólico (EE) foi obtido

mediante maceração da matéria vegetal a frio, após quatro extrações sucessivas em intervalos de cinco dias. Em seguida, foi filtrado e colocado em evaporador rotativo à vácuo, à temperatura de 50°C, sob pressão de 500 a 750 mmHg. O extrato foi congelado em nitrogênio líquido e, em seguida, liofilizado. Posteriormente, pesou-se 2,5 g do extrato e diluiu-se em 25 ml de Dimetilsulfóxido (DMSO) e 175 ml de água destilada, obtendo-se a concentração de 12,5 mg.mL⁻¹.

O Teste de Imersão de Adultos (TIA) (Drummond et al., 1973) foi usado para determinar a atividade acaricida do extrato aquoso e etanólico da casca de *A. macrocarpa* sobre teleóginas de *R.(B.) microplus* coletadas em fazendas localizadas na zona rural de Teresina/Piauí, região Nordeste do Brasil, situadas na latitude 05°05'21'' e longitude 42°48'07'' W, com temperatura média de 28,8°C e precipitação pluviométrica 1360mm na média anual (Sudene, 1990).

As fêmeas ingurgitadas foram colhidas de hospedeiros que não tinham sido expostos a carrapaticida químico há no mínimo 90 dias. Posteriormente, foram divididas em grupos de 10 e pesadas em balança de precisão (escala 0,0001 g). Em seguida, foram imersas em 20 mL do extrato aquoso, etanólico e soluções controles positivo e negativo nos tempos de exposição 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, com três repetições para cada tempo, sendo os resultados expressos por meio da média dos valores obtidos em cada tempo. Como controle negativo do extrato aquoso foi utilizada água destilada e, para o extrato etanólico, utilizou-se dimetilsulfóxido (DMSO) a 12,5% v/v, com tempo de imersão de 60 (sessenta) minutos, para ambos. Como controle positivo usou-se Amitraz a 0,25 mg.mL⁻¹ por 10 (dez) minutos.

Transcorrido o tempo de imersão, as teleóginas foram retiradas com uma pinça e secas com papel toalha, a seguir foram fixadas em placas de Petri (100x15mm), as quais foram mantidas no laboratório à temperatura de 25-30°C e umidade relativa do ar superior a 70%, aferidas através de termo-higrômetro instalado no local.

Os parâmetros observados foram os seguintes: Peso das teleóginas – peso das

fêmeas antes do tratamento; Peso dos ovos – obtido a partir de vinte dias (pré-postura 3 dias e postura 17 dias), pela separação das posturas que depois foram acondicionadas em tubos de ensaios mantidos a uma temperatura de 25 a 30°C e umidade superior a 70%; Percentual de Eclusão dos Ovos – obtidos após vinte e dois dias que corresponde ao período de eclusão dos ovos com a fórmula (peso dos ovos – peso dos ovos não eclodidos) x 100.

O percentual de susceptibilidade é alcançado quando os resultados são plotados através da equação de Drummond et al. (1973), na qual a eficiência reprodutiva (ER) e a Eficiência do Produto (EfP) foram calculadas por meio das fórmulas: ER = (peso médio dos ovos / peso médio das teleóginas do grupo de 10) x média do % de eclusão x 20000 e EfE = (ER controle) – (ER tratado) / (ER controle) x 100.

Os dados foram analisados por meio da análise da variância ANOVA-One-way, seguida do teste de Duncan, com nível de significância de 5%. A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa Statistical Package for Social Sciences (SPSS), versão 22.0.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1, apresenta-se o efeito do extrato aquoso da *A. macrocarpa* em diferentes tempos de imersão, em que verificou não existir diferença ($P>0,05$) entre os pesos das teleóginas, entre os grupos EA20, EA30 e EA40, embora estes tenham sido diferentes dos grupos EA10, EA50, EA60, Água e Amitraz ($P<0,05$), sendo que o EA10 e água foram semelhantes entre si, bem como EA50 e EA60, ($P>0,05$), enquanto o amitraz diferiu dos demais grupos, exceto de EA50 e EA60.

Quanto ao peso dos ovos do grupo, houve uma redução ($P<0,05$) naqueles tratados com o amitraz (0,17g). Porém, não houve diferença entre EA10, EA20 e água. Da mesma forma, os grupos EA30, EA40, EA50 e EA60 foram semelhantes entre si ($P>0,05$). O grupo exposto por mais tempo ao extrato aquoso (EA60) apresentou redução significativa no percentual de eclusão quando comparado ao controle negativo e aos demais grupos tratados ($P<0,05$), sendo esta redução semelhante ao amitraz, indicando que um maior tempo de imersão tem influência no efeito do extrato.

Tabela 1. Médias¹ ± (erro-padrão) do peso das teleóginas, peso dos ovos, percentual de eclosão, eficiência reprodutiva e eficiência do produto em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* após imersão em diferentes tempos em extrato aquoso (EA) de *Anadenanthera macrocarpa*.

Tratamentos	Peso das Teleóginas (g)	Peso dos Ovos (g)	% de Eclosão	Eficiência Reprodutiva	Eficiência do Produto
EA (10')	2,33±0,08d	1,23±0,04f	99,77±0,09b	1051956,71±4428,61c	-4,64±2,03c
EA (20')	1,94±0,15c	0,99±0,11de	98,69±1,82b	1005399,83±59706,55bc	0,65±7,82bc
EA (30')	1,75±0,17bc	0,89±0,10bcd	97,51±1,87b	992924,76±46728,49bc	2,03±2,32bc
EA (40')	1,81±0,03bc	0,92±0,01cd	97,50±0,60b	994847,82±23856,44bc	1,79±2,07bc
EA (50')	1,60±0,21ab	0,82±0,14bc	97,53±1,73b	998172,56±59298,82bc	1,53±3,54bc
EA (60')	1,59±0,05ab	0,76±0,04b	94,40±3,05a	901880,33±61841,30b	10,85±8,32b
Água	2,02±0,19d	1,04±0,07ef	99,58±0,36b	1013151,64±25151,66bc	0,00±0,00bc
Amitraz	1,39±0,16a	0,17±0,07a	89,71±6,55a	232307,54±119321,16a	77,23±11,45a

¹Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de significância

Quanto à eficiência do extrato aquoso, pode-se verificar que o grupo EA60 diferiu estatisticamente do grupo EA10 e do amitraz, e apresentou uma eficiência sete vezes inferior (10,85%) ao controle positivo (amitraz = 77,23%), demonstrando que o extrato aquoso interferiu de forma discreta na ovipostura das teleóginas (Tabela 1).

Na Tabela 2 encontram-se os resultados obtidos com o extrato etanólico, na qual se verificou que, em relação ao peso das teleóginas houve diferença (P>0,05) apenas

entre os grupos dimetilsulfóxido (DMSO) e EE30 (P<0,05). Já em relação ao peso dos ovos, houve diferença significativa entre os grupos tratados, onde o dimetilsulfóxido (DMSO) apresentou o maior peso (1,36g) e do amitraz que apresentou o menor peso (0,16g) (P<0,05). Broglio-Micheletti et al. (2009) verificou que o extrato etanólico da semente de *Annona muricata* reduziu o peso médio dos ovos de *R.(B.) microplus*, diferindo deste resultado em que a redução não foi significativa.

Tabela 2. Médias¹ ± (erro-padrão) do peso das teleóginas, peso dos ovos, percentual de eclosão, eficiência reprodutiva e eficiência do produto em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* após imersão em diferentes tempos em extrato etanólico (EE) de *Anadenanthera macrocarpa*.

Tratamentos	Peso das Teleóginas (g)	Peso dos Ovos (g)	% de Eclosão	Eficiência Reprodutiva	Eficiência do Produto
EE (10')	1,79±0,10c	0,77±0,03d	96,17±2,42b	835478,51±92104,76b	31,17±2,88b
EE (20')	1,72±0,14c	0,78±0,04d	97,40±0,87b	883317,30±85413,52b	21,39±9,37b
EE (30')	1,25±0,09a	0,48±0,05b	93,89±2,41b	728392,40±112370,29b	35,24±10,43b
EE (40')	1,38±0,17ab	0,56±0,13b	94,83±2,59b	771277,10±127892,99b	31,28±12,96b
EE (50')	1,36±0,15ab	0,59±0,06bc	95,47±1,79b	829368,71±34611,78b	26,30±3,82b
EE (60')	1,59±0,06bc	0,71±0,04cd	94,59±2,29b	841658,48±34327,61b	25,22±3,42b
DMSO	2,38±0,24d	1,36±0,10f	98,52±0,08b	1125930,40±29721,85c	0,00±0,00c
Amitraz	1,52±0,12bc	0,16±0,06a	58,78±7,05a	132245,88±70181,30a	88,34±5,90a

¹Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de significância

Em relação ao percentual de eclosão dos ovos, não houve diferença (P>0,05) entre os grupos tratados e o controle negativo. Entretanto, o controle positivo foi estatisticamente significativo (P<0,05) em relação aos extratos, confirmando a redução apresentada no peso dos ovos e em seu percentual de eclosão. Analisando a eficiência reprodutiva do extrato etanólico, registrou-se não haver diferença entre os grupos tratados em relação ao tempo de imersão, muito embora estes tenham diferido (P<0,05) do controle negativo e amitraz, uma

vez que o amitraz apresentou uma eficiência do produto aproximadamente três vezes maior que a média dos grupos tratados, cuja eficiência média fora de 32,37%.

Os resultados obtidos quanto à eficiência do amitraz (77,23% e 88,34%) nos experimentos realizados estão de acordo com os resultados obtidos por Camillo et. al. (2009) em levantamento realizado em 42 propriedades do Rio Grande do Sul, quando fora verificada que a resistência do carrapato ao amitraz variou de 0 a 100% e que em apenas seis propriedades

(14,2%) foi observada uma sensibilidade a este produto, o que se coloca acima de 95%, índice recomendado pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2004). Entretanto, nesta pesquisa, quando se observou a viabilidade dos ovos após o tratamento das teleóginas com o amitraz não houve eclosão de larvas em 100% das posturas observadas.

Comparando-se o resultado do extrato aquoso com o etanólico verifica-se que o grupo EA60' foi o que apresentou o maior percentual de eficiência (10,85%), enquanto que no etanólico, o grupo EE30' foi melhor (35,24%), sendo três vezes mais eficaz que o extrato aquoso e mesmo aqueles com menor eficiência EE20' (21,39%), cujo resultado ainda fora duas vezes maior (Tabelas 1 e 2). Esse fato pode ser atribuído ao efeito do dimetilsulfóxido (DMSO) usado como solvente neste extrato, o qual, segundo Chagas et al. (2003), atua como excelente permeabilizador de membrana, permitindo a penetração do extrato. As larvas eclodidas após o tratamento das teleóginas com ambos os extratos, não demonstrando nenhuma inviabilidade aparente, até o quinto dia de observação. Porém, são semelhantes aos resultados encontrados por Krawczak et al. (2011), que avaliou o extrato aquoso e etanólico de *Sambucus australis* sobre teléginas de *R.(B) microplus*, obtendo como eficácia média: 34% e 66%, respectivamente.

Quanto à mortalidade das fêmeas, o Angico preto não interferiu uma vez que estas permaneceram vivas até o final da ovipostura, resultado que difere dos encontrados por Farias et al. (2007) que usaram o óleo da *Carapa guianensis* no controle de *Boophilus microplus* e registraram uma mortalidade de 100% das teleóginas em todas as diluições testadas. O angico preto também não foi capaz de inibir a ovipostura, diferindo dos resultados descritos por Pires et al. (2007) para o extrato aquoso da *Simarouba versicolor* sobre a ovipostura de teléginas de *B. microplus*, que registrara uma concentração inibitória (CI₅₀) de 4,14 mg.mL⁻¹, sendo que a concentração de 17,2 mg.mL⁻¹ foi capaz de inibir 100% da ovipostura.

Conclusão

O extrato etanólico se mostrou mais eficaz que o extrato aquoso ao qual interfere reduzindo de forma discreta a ovipostura das teleóginas de *B. microplus*.

Referências Bibliográficas

- Apel, M. A. et al. 2009. Chemical composition and toxicity of the essential oils from *Cunila* species (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Parasitology Research*, v. 105, n.3, p.863-68.
- Broglio-Micheletti, S.M.F. et al. 2009. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. v.18, n. 4, p. 44-48.
- Camillo, G. et al. 2009. Eficiência in vitro de acaricidas sobre carrapatos de bovinos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*. v.39, n.2, p.490-5.
- Carvalho, P. E. R. 2003. *Espécies arbóreas brasileiras*. Colombo: Embrapa Florestas. V. 1, 1039p.
- Chagas, A. C. S. et al. 2003. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. *Ciência Rural*, v. 33, n. 1, p. 109-114.
- Cutulle, C., Jonsson, N.N., Seddon, J. 2009. Population of structure Australina isolates of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; *Veterinary Parasitology* v.161, n.3-4, p. 283-91.
- Durigan, G.; Figliolia, M. B.; Kawabata, A.; Garrido, M. A. O.; Baitello, J. B. 1997. *Sementes e mudas de árvores tropicais*. São Paulo: Instituto Florestal. 65p.
- Drummond, R. O. et al. 1973. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*; Laboratory tests of insecticides. *Journal of Economic Entomology*. v 66, p.130-133.
- FAO, 2004. Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants – Guidelines, Module 1 – Ticks: Acaricide Resistance: Diagnosis, Management and Prevention. Food and Agriculture Organization, Animal Production and Health Division, Rome, p. 53.
- Farias, M.P.O. et al. 2007. Eficácia in vitro do óleo da *Carapa guianensis* Aubl. (andiroba) no controle de *Boophilus microplus* (Acara: Ixodidae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. v.9, n.4, p. 68-71.
- Furlong, J.; Martins, J. R.; Prata, M.C.A. 2007. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar?. *A Hora Veterinária*, v. 27, p. 26-32.

Ghosh, S.; Azhahianambi, P. and de la Fuente, J. 2006. Control of ticks of ruminants with special emphasis on livestock farming system in India— present and future possibilities for integrated control: a review *Experimental & Applied. Acarology* v.40, p.49–66.

Krawczak, F. S. et al. 2011. Atividade acaricida de extratos de folhas de *Sambucus australis* Schlttdl (Caprifoliaceae) a 2% sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Ciência Rural*, v. 41, n. 12, 2159-63.

Kunz, S.E., Kemp, D.H. 1994. Insecticides and Acaricides: resistance and environmental impact. *Review of Science and Technology*, v. 14, p. 1249-86.

Leal, A.T., Freitas, D.R.J., Vaz Junior, I.S. 2003. Perspectivas para o controle do carrapato bovino. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 31, n. 1, p. 1-11.

Lorenzi, H. 2002. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Editora Plantarum. V. 1, 4. Ed., 384p.

Pires, J.E.P. et al. 2007. Determinação da concentração inibitória média (CI₅₀) do extrato aquoso da *Simarouba versicolor*, St. Hill sobre a ovipostura do carrapato bovino (*Boophilus microplus*, Canestrini, 1887). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. v.9, n.4, p. 23-6.

Ribeiro, V.L.S. et al. 2011. Acaricidal properties of essential oil and precocene II obtained from *Calea aerrata* (Astraceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*. v.179, p.195-8.

Silva, W.C., et al. 2011. Acaricidal Activity of *Palicourea marcgravii*, a species from the Amazon forest, on cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary Parasitology* 179, 189-94.

Sousa, L. A. D. et al. 2008. Avaliação da eficácia de extratos oleosos de frutos verdes e maduros de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, n. 1, p. 36-40.

SUDENE - Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste. 1990. Dados pluviométricos mensais do nordeste: Estado do Piauí. Recife: SUDENE, T. p. 75-77.