

Atividade biológica de extratos acetato de etila, etanólico e aquoso de timbó (*Lonchocarpus floribundus*) sobre carrapato bovino

Aaron Ferreira MACHADO^{1,2}, Ademir CASTRO E SILVA¹, Helena Camarão Telles RIBEIRO¹
Aldo Rodrigues de Lima PROCÓPIO¹, Carlos Cleomir de Souza PINHEIRO³
João Ricardo de Souza MARTINS⁴, Wilson Castro SILVA^{1,2}

RESUMO

Os extratos acetato de etila, etanólico e aquoso de raízes de *Lonchocarpus floribundus* foram utilizados, a fim de avaliar a atividade biológica sobre carrapato bovino. Carrapatos adultos foram coletados em bovinos infestados artificialmente, separados em grupos de dez indivíduos, pesados e imersos, separadamente, nos extratos de raízes de *L. floribundus*, nas concentrações de 5, 25, 50, 75 e 100 mg mL⁻¹. Para a avaliação em larvas, foram utilizados indivíduos de 14 a 21 dias, os quais foram imersos nos extratos nas concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20 mg mL⁻¹. Após o tratamento, cada grupo foi colocado em placa de Petri e incubado a 27 ± 1 °C e umidade relativa de 80 ± 5%. Os extratos avaliados não foram eficazes para induzir, acima de 50%, a mortalidade de fêmeas ingurgitadas. Os extratos acetato de etila e etanólico induziram 100% de mortalidade de larvas. Entretanto, quanto aos valores de concentração letal mediana (CL₅₀), o extrato etanólico (CL₅₀ = 2,1 mg mL⁻¹) foi mais tóxico que o extrato acetato de etila (CL₅₀ = 4,1 mg mL⁻¹). O extrato etanólico estimou concentração inibitória mediana (CI₅₀) de 3,0 mg mL⁻¹ e foi mais tóxico que os demais extratos quanto a este parâmetro de avaliação. Entre os três extratos avaliados, os extratos acetato de etila e etanólico apresentaram os melhores resultados quanto ao controle de reprodução de *R. (B.) microplus*, atingindo 100% na concentração de 5 mg mL⁻¹. Os extratos de raízes de *L. floribundus* apresentaram atividade biológica sobre carrapato bovino.

PALAVRAS CHAVE: Extratos vegetais, carrapato, fêmeas ingurgitadas, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Biological activity of ethylic acetate, ethanolic and aqueous extracts of timbo (*Lonchocarpus floribundus*) on cattle tick

ABSTRACT

Ethylic acetate, ethanolic and aqueous roots extracts of *Lonchocarpus floribundus* were used to evaluate their biological activity on cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Adult ticks were collected in artificially infested cattle, separated into groups of ten individuals, weighed and immersed separately in the extracts of *L. floribundus* roots at concentrations of 5, 25, 50, 75 and 100 mg mL⁻¹. For biological evaluation 14-21-day-old larvae were used, which were immersed in the extracts at concentrations of 1, 5, 10, 15 and 20 mg mL⁻¹. After treatment, each group was placed in a Petri dish and maintained at 27 ± 1 °C and 80 ± 5% relative humidity. The extracts evaluated were not effective to induce mortality of over 50%-engorged female. The ethylic acetate and ethanolic extracts induced 100% mortality of larvae. The ethanolic extract was more toxic (median lethal concentration, LC₅₀, of 2.1 mg mL⁻¹) than the ethylic acetate extract (LC₅₀ = 4.1 mg mL⁻¹). For the ethanolic extract it was estimated a median inhibitory concentration (IC₅₀) of 3.0 mg mL⁻¹ and it was more toxic than the other extracts on this parameter. Among the three extracts evaluated, the ethylic acetate and ethanolic extracts showed the highest potential for the control of reproduction of *R. (B.) microplus*, reaching 100% at concentration of 5 mg mL⁻¹. The *L. floribundus* root extracts showed biological activity on cattle tick.

KEYWORDS: Vegetable extracts, tick, engorged females, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

¹ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia – Universidade do Estado do Amazonas – Av. Carvalho Leal, 1777, Cachoeirinha, Manaus – AM, 69065-001, Brasil. sprinkler65@gmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Biologia Urbana – Universidade Nilton Lins – Av. Professor Nilton Lins, 3259, Parque das Laranjeiras, Manaus – AM, 69058-030, Brasil.

³ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Av. André Araújo, 2936, Aleixo, Manaus – AM, 69060-001, Brasil.

⁴ Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor. Estrada do Conde, 6000, Eldorado do Sul - RS, 92990-000, Brasil.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui o segundo maior rebanho de bovinos do mundo, totalizando 205.292 milhões de cabeças no ano de 2009 (IBGE 2010), sendo que o agronegócio de carne bovina sustenta, no Brasil, algumas dezenas de segmentos industriais diferentes, produzindo 10 milhões de toneladas de alimentos, respondendo por 20 milhões de empregos e injetando U\$ 5,1 bilhões na economia, somente por meio das exportações. Com a inclusão do beneficiamento e comércio do couro, as exportações alcançaram U\$ 9,2 bilhões em 2009 (Rosa 2009).

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é o ectoparasita mais importante para pecuária nacional, esse ácaro causa grandes prejuízos econômicos, como a diminuição na produção de leite, no ganho de peso, na natalidade e na qualidade do couro, além de transmitir doenças que ocasionam eventuais mortes no rebanho (Soutello *et al.* 2008). Grisi *et al.* (2002) reportou que as perdas causadas pelo carrapato bovino estão em torno de dois bilhões de dólares ao ano.

O ciclo de vida do carrapato bovino se divide em duas fases: fase parasitária e fase de vida livre. A fase parasitária inicia quando a larva infestante fixa-se no bovino, evolui para ninfa, posteriormente, para adulto e, após o acasalamento, as fêmeas se alimentam e ingurgitam até caírem ao solo (Londt e Arthur 1975) iniciando a fase de vida livre, na qual ocorrem a postura, incubação e eclosão dos ovos (Gonzales 1975).

O uso de acaricidas sintéticos é o principal instrumento de controle de *R. (B.) microplus* (Vargas *et al.* 2003). Esses produtos caracterizam-se por apresentar alta toxicidade, aumento de riscos para a saúde humana, contaminação de nascentes dos rios e diminuição da biodiversidade (Lacey *et al.* 2001). Além disso, o uso inadequado desses produtos, muitas vezes devido à falta de um plano de orientação aos pecuaristas, ocasiona o aparecimento da resistência em populações de carrapatos no campo (Farias *et al.* 2008).

O uso de extratos vegetais é um dos métodos alternativos de controle do ácaro bovino que vem sendo pesquisado. O uso de plantas tóxicas e medicinais no controle de pragas é de grande importância para a agricultura e para o desenvolvimento sustentável. A grande diversidade de plantas encontradas na Amazônia possibilita a pesquisa de novos produtos que poderão vir a substituir ou diminuir o uso de acaricidas sintéticos (Silva 2008).

Na Amazônia, existem inúmeras plantas que se destacam pelo grande potencial econômico por apresentar, nas suas composições químicas, metabólitos secundários com atividades inseticida, acaricida, fungicida e bactericida (Sequeira *et al.* 2009; Alecio *et al.* 2010; Dos Santos *et al.* 2011).

As plantas pertencentes ao gênero *Lonchocarpus* destacam-se por apresentar nas suas composições químicas a molécula rotenona, que é um potente composto inseticida (Caminha

Filho 1940; Kathrina e Antonio 2004). O timbó ou timborana (*Lonchocarpus floribundus*) é uma planta comum na região do Amazonas, pertencente à família Fabaceae, encontrada em áreas não inundáveis, que apresenta alto potencial inseticida (Corrêa 2006).

A investigação de possibilidades de manejo, utilizando recursos de origem natural, para controlar o carrapato dos bovinos, como o uso de moléculas vegetais com potencial acaricida, poderá proporcionar o desenvolvimento de métodos viáveis para reduzir a contaminação química na pecuária e minimizar um dos grandes problemas enfrentados pelos pecuaristas: o aumento da resistência de *R. (B.) microplus* aos acaricidas sintéticos. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade biológica de extratos de *L. floribundus* sobre carrapato bovino.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), no município de Eldorado do Sul - Estado do Rio Grande do Sul, no período de fevereiro a maio de 2011.

Seleção e coleta do material botânico

As raízes de *Lonchocarpus floribundus* (Fabaceae) foram coletadas no Campus da Universidade Federal do Amazonas (3°6'4.58"S; 59°58'46.10"O), no município de Manaus-AM, no mês de junho de 2010 e foram identificadas, por comparação com a exsiccata de número 223876, no herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

Secagem e processamento do material botânico

As raízes de *L. floribundus* (2,5 kg) foram lavadas com água destilada cortadas em pequenos cubos e distribuídas em folhas de jornal para secagem em casa de vegetação, à temperatura de 37 ± 5 °C, durante sete dias. Posteriormente, foram trituradas em um moinho do tipo martelo para reduzir o volume. Em seguida, foram acondicionadas em sacos de papel de três litros e colocadas em estufa, a temperatura de 37° C, durante cinco dias. Após este período, foram novamente trituradas em um moinho do tipo faca, para obtenção do pó das raízes, segundo metodologia descrita por Prista *et al.* (1981).

Obtenção dos extratos vegetais

Os extratos foram obtidos pelo método de maceração durante 48 horas. 400g de raízes trituradas e dois litros de solvente (solvente 1 - acetato de etila; solvente 2 - etanol 95%; solvente 3 - água destilada) foram colocados em frasco Mariotte de 4,0 litros, para extração. As extrações foram realizadas separadamente, utilizando 400g de raízes trituradas e dois litros de cada solvente para cada extração.

Os extratos acetato de etila e etanólico de raízes de *L. floribundus* foram colocados em evaporador rotativo a 40 °C, para eliminação dos solventes e obtenção dos extratos brutos. O extrato aquoso foi congelado e colocado em aparelho liofilizador, à temperatura de -46°C, no qual permaneceu por cinco dias, para obtenção do extrato bruto.

Infestação e coleta dos carrapatos

Quatro bovinos machos pertencentes à raça holandesa (Holstein), com idade entre 14 e 16 meses, oriundos de uma propriedade no município de Santa Vitória do Palmar, RS, região livre da presença do carrapato *Rhipicephalus Boophilus microplus*, foram transportados para a unidade de isolamento do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), onde ficaram estabulados.

Para infestação dos bovinos foram utilizadas aproximadamente 2500 larvas (oriundas da eclosão de 125mg de ovos) de *R. (B.) microplus*, em cada animal, pertencentes à cepa “São Gabriel”, oriundas do Laboratório de Parasitologia do IPVDF. Esta cepa foi escolhida por apresentar resistência a lactonas macrocíclicas (doramectina, ivermectina e moxidectina), organofosforados, piretróides e amidínicos (Martins e Furlong 2001; Camilo *et al.* 2009). Vinte um dias após a infestação, as fêmeas ingurgitadas (abarrota de sangue) de *R. (B.) microplus* foram coletadas. Para obtenção das larvas, vinte ácaros adultos foram colocados em duas placas de Petri e incubados em estufa de Demanda Bioquímica de Oxigênio (B.O.D.), à temperatura de 27 ± 1 °C e umidade relativa de 80 ± 5%, durante 10 dias, para oviposição. Após a esse período, os ovos foram colocados em recipiente de vidro de 4 x 1,5cm, vedado com algodão e incubados durante 15 dias, para obtenção das larvas.

Avaliação da atividade acaricida sobre fêmeas ingurgitadas

Para avaliar a eficiência de *L. floribundus* como acaricida, foram utilizados os extratos brutos de acetato de etila e etanólico. Cada extrato, separadamente, foi solubilizado em álcool 100% e, posteriormente, diluído para álcool 50%. As concentrações elaboradas, para os testes biológicos, foram de 5, 25, 50, 75 e 100 mg mL⁻¹ para cada extrato. O extrato bruto aquoso foi solubilizado em água destilada, elaborando-se as mesmas concentrações dos demais extratos.

Foram utilizadas 300 fêmeas ingurgitadas coletadas e separadas em grupos de 10 (dez), pesadas de modo a manter um padrão por grupo. Cada grupo foi imerso, separadamente, nos extratos, nas concentrações estabelecidas, durante cinco minutos, conforme metodologia descrita por Drummond *et al.* (1973). Para os tratamentos (tratamento 1 – extrato acetato de etila; tratamento 2 – extrato etanólico), o grupo controle foi imerso em álcool 50%. Para o tratamento 3 - extrato aquoso, o grupo controle foi imerso em água destilada. Após

o tratamento, cada grupo foi colocado em placa de Petri e levado à estufa incubadora B.O.D., temperatura de 27 ± 1 °C e umidade relativa de 80 ± 5%.

As taxas de mortalidade de fêmeas ingurgitadas foram avaliadas, diariamente, durante seis dias. As taxas de oviposição foram avaliadas no décimo quinto dia após o tratamento. A eficiência reprodutiva (ER) e controle de reprodução (CR) foram avaliados no décimo quinto dia após a pesagem dos ovos, conforme metodologia de Stendel (1980).

$$ER = PO(E)/PIF;$$

$$CR = [ER(\text{controle}) - ER(\text{tratado})] \times 100/ER(\text{controle});$$

$$IO = PO/PIF;$$

$$IO = [IO(\text{controle}) - IO(\text{tratado})] \times 100/IO(\text{controle})$$

Onde: PIF = Peso inicial da fêmea; PO = Peso de ovos; E = Eclosão dos ovos (%); ER = Eficiência reprodutiva (%); CR = Controle de reprodução (%); IO = Índice de oviposição.

Avaliação acaricida sobre larvas

Para avaliar a eficiência de *L. floribundus* como larvicida, foi realizado o teste de imersão de larvas, segundo metodologia descrita por Shaw (1966). Foram utilizados os extratos brutos de acetato de etila e etanólico, solubilizados em álcool 100% e, posteriormente, diluídos para álcool 50%, elaborando-se, para os testes biológicos, as concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20 mg mL⁻¹. O extrato bruto aquoso foi solubilizado em água destilada, elaborando-se as mesmas concentrações dos demais extratos.

Foram utilizadas aproximadamente 100 larvas, com 14 a 21 dias de idade. Foram utilizados microtubos tipo eppendorf, nos quais foram colocados os extratos, nas concentrações estabelecidas, nos quais as larvas foram imersas durante cinco minutos. Em seguida, foi retirada a umidade excessiva das larvas em papel toalha e as mesmas foram envelopadas em papel filtro e incubadas. Foram utilizados dois grupos controle. Um grupo, para controle dos tratamentos com extrato aquoso, o qual foi imerso em solução Triton X a 0,02% e água destilada; outro grupo, para controle dos tratamentos com extratos acetato de etila e etanólico, o qual foi imerso em álcool 50% mais Triton X a 0,02%. Os pacotes foram mantidos em estufa incubadora B.O.D. a 27 ± 1 °C e umidade relativa de 80 ± 5%. O registro de larvas vivas e mortas foi realizado em 24 horas e o percentual de mortalidade calculado, conforme metodologia descrita pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO Plant Protection Bulletin 1971).

$$\text{Mortalidade (\%)} = \text{larvas mortas} \times 100/\text{total de larvas}$$

Análise dos dados

O delineamento para avaliação dos parâmetros nos bioensaios, tanto para larvas como para fêmeas ingurgitadas,

foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, cinco repetições, mais o grupo controle.

Os dados obtidos nos experimentos foram analisados por análise de variância, seguidos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), com o auxílio do programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS for Windows 17.0) (Green e Salkind 2004). Os gráficos foram elaborados utilizando-se o software Prism Graph Pad. O método de Probit (Finney 1971) foi usado para obtenção dos valores da CL_{50} , CI_{50} e seus respectivos intervalos de confiança 95% (IC-95%). Nos casos de mortalidade natural ocorrida no controle, antes do cálculo da CL_{50} e CI_{50} , os valores da mortalidade, nos tratamentos, foram corrigidos segundo a fórmula de Abbott (1925):

$$Mc(\%) = [Mo - Mt] \times 100 / [100 - Mt]$$

Onde: Mc = Mortalidade corrigida (%); Mo = Mortalidade observada (%); Mt = Mortalidade na testemunha (%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observando-se os resultados obtidos neste trabalho em relação à mortalidade de fêmeas ingurgitadas utilizando o extrato etanólico (Tabela 1), verifica-se semelhança com os resultados obtidos por Pereira e Famadas (2004), que avaliaram a eficiência do extrato etanólico da raiz do timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) para *R. (B.) microplus*, verificando-se mortalidade de 34% de ácaros adultos, assim como os resultados observados por Silva *et al.* (2009) que utilizaram o extrato etanólico de *Piper aduncum* induzindo 35% de mortalidade de fêmeas ingurgitadas.

Tabela 1 - Percentual de mortalidade (%M) e percentual de inibição de oviposição (%IO) de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* expostas a diferentes concentrações de extratos de raízes de *L. floribundus*.

Extrato	Concentração (mg mL ⁻¹)											
	Controle		5		25		50		75		100	
	%M	%IO	%M	%IO	%M	%IO	%M	%IO	%M	%IO	%M	%IO
Acetato de etila	4 ^a	0 ^a	6 ^a	39,3 ^a	6 ^a	66,5 ^a	20 ^a	91,2 ^a	22 ^a	96,1 ^a	32 ^{ab}	100,0 ^a
Etanol	2 ^a	0 ^a	8 ^a	65,9 ^b	14 ^a	78,7 ^a	18 ^a	94,2 ^a	34 ^b	98,9 ^a	46 ^b	100,0 ^a
H ₂ O	4 ^a	0 ^a	10 ^a	14,4 ^c	10 ^a	26,1 ^b	10 ^b	26,9 ^b	18 ^a	40,5 ^b	24 ^a	64,2 ^b

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os resultados obtidos neste trabalho, utilizando extrato vegetal de *L. floribundus*, para induzir a mortalidade de ácaros adultos e larvas de *R. (B.) microplus* (Tabelas 1 e 2), são semelhantes aos resultados encontrados por Catto *et al.* (2009), que avaliaram o efeito acaricida da rotenona extraída de raízes de *Lonchocarpus nicou*, verificando grande eficiência contra a infestação de larvas, porém alcançou um baixo grau de atividade antiparasitária contra o carrapato adulto

Tabela 2 - Porcentagem de mortalidade (%M) de larvas de *R. (B.) microplus* expostas a diferentes concentrações de extratos de raízes de *L. floribundus*.

Extrato	Controle	(%M) Concentração (mg mL ⁻¹)				
		1	5	10	15	20
Acetato de etila	6,8 ^a	28,9 ^a	62,5 ^{ab}	81,3 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a
Etanol	5,5 ^a	45,3 ^b	74,7 ^a	92,7 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a
H ₂ O	6,7 ^a	20,3 ^a	51,3 ^{bc}	90,8 ^a	94,9 ^a	99,1 ^a

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

R. (B.) microplus nos testes *in vitro* e em animais experimentalmente infestados. Esses resultados sugerem que os ácaros adultos são mais resistentes a esses extratos do que as larvas. A diferença de composição da cutícula entre larvas e fêmeas pode justificar os resultados obtidos, devido à formação da camada externa da cutícula dos carrapatos ser formada por ceras (Balashov 1972) e que somente a partir do estágio ninhal o carrapato bovino apresenta essa camada de proteção (Odhiambo 1982). Chagas *et al.* (2003) avaliando a eficácia de solventes para carrapato bovino verificaram que, a utilização de solventes, em conjunto com compostos apolares, causam maior destruição da camada de ceras nas fêmeas ingurgitadas, ocorrendo grande perda de água para o meio, ocasionando maior mortalidade. Em relação às larvas, não ocorre diferença na mortalidade, devido à presença ou ausência de um composto apolar em teste de imersão de larvas.

Os extratos acetato de etila e etanólico de *L. floribundus* induziram 100% de mortalidade de larvas e controlaram alto percentual de reprodução de ácaros adultos (Tabelas 2 e 5). Pereira e Famadas (2004) utilizaram extrato etanólico da raiz do timbó e observaram taxas de mortalidade de 93,9% de larvas e 79,7% no controle de reprodução desse ácaro. Sousa *et al.* (2008) observaram 100% de mortalidade para as larvas com extratos hexânico de frutos maduros e verdes de cinamomo (*Melia Azedarach*) e controle de reprodução variando 5,2 a 99,7% para o extrato de frutos maduros e de 3,6 a 100% para o de frutos verdes. O óleo de andiroba (*Carapa guianensis*) tem apresentado atividade biológica sobre *R. (B.) microplus*, controlando 100% da reprodução (Farias *et al.* 2007). Os nossos resultados se assemelham aos encontrados por estes autores, provavelmente, pela presença nas plantas das famílias Fabaceae e Meliaceae, de um constituinte químico com atividade acaricida ou de vários constituintes atuando em sinergismo.

O extrato etanólico de *L. Floribundus* induziu mortalidade entre 45,3 e 100% de larvas *R. (B.) microplus* com CL_{50} estimada de 2,1 mg mL⁻¹ (Tabela 3). Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Silva *et al.* (2010) que ao

Tabela 3 - Toxicidade de extratos vegetais para larvas de *R. (B.) microplus* (concentração letal mediana – CL₅₀).

Extrato	CL ₅₀ (mg mL ⁻¹)	Intervalo de Confiança (IC-95%)		
		Inferior	Superior	
Acetato de etila	4,1	3,2	5,2	b
Etanol	2,1	1,4	2,8	a
H ₂ O	4,2	3,1	5,4	b

Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

avaliaram a atividade acaricida de *Palicourea marcgravi*, espécie da família Rubiaceae coletada na Amazônia, e verificaram que o extrato etanólico induziu a mortalidade de larvas entre 12,3 e 87,7 com CL₅₀ estimada de 4,4 mg mL⁻¹. Entretanto foram diferentes dos resultados obtidos por Silva *et al.* (2009), os quais verificaram que o extrato etanólico de *Piper aduncum* induziu a mortalidade de larvas de carrapato bovino entre 26,3 e 40,5%.

O extrato etanólico de *L. Floribundus* inibiu 100% da oviposição de *R. (B.) microplus* com CI₅₀ estimada de 3,0 mg mL⁻¹ (Tabela 4). Resultados semelhantes foram encontrados por Pires *et al.* (2007) que, ao avaliarem a influência da *Simarouba versicolor* sobre a oviposição do carrapato bovino, observaram que a concentração de 17,2 mg mL⁻¹ inibiu 100% da oviposição e estimou CI₅₀ de 4,1 mg mL⁻¹.

Tabela 4 - Toxicidade de extratos vegetais para fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* (concentração inibitória mediana – CI₅₀)

Extrato	CI ₅₀ (mg mL ⁻¹)	Intervalo de Confiança (IC-95%)		
		Inferior	Superior	
Acetato de etila	9,1	6,0	12,4	b
Etanol	3,0	1,0	5,5	a
H ₂ O	84,1	66,6	106,3	c

Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Os extratos acetato de etila e etanólico de *L. floribundus*, na concentração de 5 mg mL⁻¹, causaram um percentual de 100% no controle de reprodução de *R. (B.) microplus* (Tabela 5). Davey *et al.* (2008) avaliaram a eficácia do acaricida sintético amitraz sobre o *R. (B.) microplus*, observando baixo percentual de controle de reprodução (34,6%), sendo este produto ineficaz como carrapaticida para uso em programas de controle do carrapato bovino, verificando-se, ainda, que

Tabela 5 - Percentual de eficiência reprodutiva (%ER) e percentual de controle de reprodução (%CR) de fêmeas ingurgitadas do carrapato *R. (B.) microplus* expostas a diferentes concentrações de extratos de raízes de *L. floribundus*.

Extrato (mg mL ⁻¹)	PIF(g)	PO(g)	%ER	%CR
Acetato de etila				
5	3,5 ± 0,0 ^a	0,8 ± 0,1 ^a	4,6 ± 2,2 ^{cd}	86,2 ± 7,1 ^{ab}
25	3,5 ± 0,0 ^a	0,4 ± 0,1 ^b	1,6 ± 1,0 ^d	95,4 ± 2,5 ^a
50	3,5 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,1 ^c	0,2 ± 0,3 ^d	99,6 ± 0,8 ^a
75	3,5 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^d	0,0 ± 0,0 ^d	100,0 ± 0,0 ^a
100	3,5 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^d	0,0 ± 0,0 ^d	100,0 ± 0,0 ^a
Controle	3,5 ± 0,0 ^a	1,2 ± 0,1 ^f	34,7 ± 3,9 ^a	0,0 ± 0,0 ^e
Etanol				
5	3,6 ± 0,1 ^a	0,5 ± 0,1 ^a	1,9 ± 1,4 ^{cd}	94,7 ± 3,6 ^a
25	3,6 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,1 ^b	0,2 ± 0,2 ^d	99,4 ± 0,6 ^a
50	3,6 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,1 ^c	0,0 ± 0,0 ^d	100,0 ± 0,0 ^a
75	3,6 ± 0,1 ^a	0,0 ± 0,0 ^d	0,0 ± 0,0 ^d	100,0 ± 0,0 ^a
100	3,6 ± 0,1 ^a	0,0 ± 0,0 ^d	0,0 ± 0,0 ^d	100,0 ± 0,0 ^a
Controle	3,6 ± 0,1 ^a	1,4 ± 0,1 ^f	37,6 ± 2,7 ^a	0,0 ± 0,0 ^e
H₂O				
5	3,8 ± 0,0 ^a	1,2 ± 0,4 ^{ad}	25,4 ± 12,0 ^a	33,4 ± 30,6 ^d
25	3,8 ± 0,0 ^a	1,1 ± 0,1 ^a	14,5 ± 5,6 ^b	61,7 ± 14,6 ^c
50	3,8 ± 0,0 ^a	1,1 ± 0,1 ^a	12,9 ± 8,3 ^b	65,1 ± 23,5 ^{bc}
75	3,8 ± 0,0 ^a	0,9 ± 0,1 ^b	8,7 ± 4,9 ^{bc}	77,5 ± 11,2 ^{abc}
100	3,8 ± 0,0 ^a	0,5 ± 0,1 ^c	1,5 ± 1,6 ^d	95,9 ± 4,5 ^a
Controle	3,8 ± 0,0 ^a	1,5 ± 0,1 ^d	37,9 ± 2,2 ^a	0,0 ± 0,0 ^e

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05). PIF = Peso inicial de fêmeas; PO = Peso de ovos; ER = Eficiência reprodutiva; CR = Controle de reprodução.

as cepas utilizadas nos testes biológicos, por estes autores, eram resistentes a este carrapaticida sintético do grupo das formamidinas.

O fenômeno da resistência aos carrapaticidas está amplamente difundido, sendo reconhecido por produtores como um dos principais problemas de curto prazo a ser solucionado (Jonsson 1997). Estudos realizados por Gomes *et al.* (2011), para averiguar a sensibilidade do carrapato bovino a diferentes acaricidas sintéticos abrangendo sete princípios ativos pertencentes a três grupos químicos: amidinas, piretróides sintéticos e organofosforados, utilizaram nas principais regiões pecuaristas de Minas Gerais, revelaram baixa suscetibilidade dos ácaros aos acaricidas sintéticos, evidenciando uma reduzida eficácia de todos os grupos químicos testados.

Uma das vantagens do uso de fitoterápicos para o controle do carrapato bovino, em relação aos acaricidas sintéticos, é que produtos naturais apresentam uma composição química variada e complexa, ocasionando assim um desenvolvimento lento da resistência dos parasitas (Roel 2002).

A atividade biológica de *L. floribundus* sobre carrapato bovino pode ser devido à presença do constituinte químico

rotenona nas raízes desta planta, pois foi reportado por Costa *et al.* (1999), que entre as plantas conhecidas como timbó, as que possuem os maiores teores de rotenona são as pertencentes aos gêneros *Derris* e *Lonchocarpus* e a maior concentração desse composto se encontra nas raízes.

A utilização de extratos vegetais, ou seja, biomoléculas naturais em sinergia com outros princípios ativos distintos que aumentem a eficiência letal sobre *R. (B.) microplus*, pode tornar-se uma alternativa para a produção de um acaricida derivado de produtos naturais para o manejo e controle desse ácaro, a fim de substituir ou minimizar o uso de defensivos químicos sintéticos no campo. (Pereira *et al.* 2010)

CONCLUSÕES

A utilização de extratos vegetais para controle do carrapato bovino pode ser uma técnica promissora em empreendimentos pecuários que visam produção sustentável sem uso de agrotóxicos. O extrato etanólico foi o mais eficiente quanto aos parâmetros de mortalidade e inibição de oviposição de *R. (B.) microplus*. A rotenona, princípio ativo encontrado em maiores concentrações nas raízes de plantas do gênero *Lonchocarpus*, é uma molécula de caráter apolar e, conseqüentemente, deveria estar presente em maiores concentrações no extrato acetato de etila, e este deveria apresentar maior atividade acaricida. Estes resultados apontam para a possibilidade do extrato etanólico apresentar constituintes químicos, que atuam em sinergismo com a rotenona, aumentando o potencial acaricida deste extrato, ou de uma molécula, ainda não identificada, eficaz no controle do carrapato bovino, o que justificaria a realização de estudos fitoquímicos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEAM pela concessão da bolsa de mestrado.

BIBLIOGRAFIA CITADA

Abbott, W.S.A. 1925. Method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. College Park. 18(2): 265-266.

Alecio, M.R.; Fazolin, M.; Coelho Neto, R.A.; Catani, V.; Estrela, J.L.V.; Alves, S.B.; Correa, R.S.; Andrade Neto, R.C.; Gonzaga, A.D. 2010. Ação inseticida do extrato de *Derris amazonica* Killip para *Ceratomyxa arcuatus* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae). *Acta Amazonica*, 40(4): 719-728.

Balashov, Y.S. 1972. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) - Vectors of diseases of man and animals (translation from Russian). *Miscellaneous Publication Australian Entomology*. 8(5): 161-165.

Camilo, G.; Vogel, F.F.; Sangioni, L.A.; Cadore, G.C.; Ferrari, R. 2009. *In vitro* evaluation of acaricides efficiency to bovine's ticks of Rio Grande do Sul State, Brazil. *Ciência Rural*. 39(2): 490-495.

Caminha Filho, A.C. 1940. *Timbós e rotenona*. 2 ed. Rio de Janeiro. 14 pp.

Catto, J.B.; Bianchin, I.; Santurio, J.M.; Feijó, G.L.D.; Kichel, A.N.; Silva, J.M. 2009. Sistema de pastejo, rotenona controle de parasitas em bovinos cruzados: efeito no ganho de peso e no parasitismo. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 18(4): 37-43.

Chagas, A.C.S.; Leite, R.C.; Furlong, J.; Prates, H.T.; Passos, W.M. 2003. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. *Ciência Rural*, Santa Maria, 33(1): 109-114.

Corrêa, R.S. 2006. *Toxicidade de extratos de Lonchocarpus floribundus Benth (Timbó) sobre Toxoptera citricidus Kirkaldy (Pulgão preto dos citros) em condições experimentais*. Dissertação de mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 68pp.

Costa, J.P.C.; Alves, S.M.; Belo, M. 1999. Teores de rotenona em clones de timbó (*Derris* spp., Fabaceae) de diferentes regiões da Amazônia e os seus efeitos na emergência de imagos em *Musca domestica* L. *Acta Amazonica*, 29(4): 563-573.

Davey, R.B.; Miller, R.J.; George, J.E. 2008. Efficacy of amitraz applied as a dip against an amitraz-resistant strain of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) infested on cattle. *Veterinary Parasitology*, 152: 127-135.

Dos Santos, M.R.A.; Lima, R.A.; Silva, A.G.; Teixeira, C.A.D.; Lima, D.K.S.; Polli, A.R.; Facundo, V.A. 2011. Atividade inseticida do extrato de raiz de *Piper hispidum* H.B.K. (Piperaceae) sobre *Hypothenemus hampei* Ferrari. *Revista Saúde e Pesquisa*, 4(3): 335-340.

Drummond, R.O.; Ernest, S.E.; Trevino, J.L.; Gladney, W.J.; Gahan, O.H. 1973. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests of insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 66(1): 130-133.

Farias, M.P.O.; Sousa, D.P.; Arruda, A.C.; Arruda, M.S.P.; Wanderley, A.G.; Alves, L.C.; Faustino, M.A.G. 2007. Eficácia *in vitro* do óleo de *Carapa guianensis* Aubl. (andiroba) no controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) *Revista Brasileira de plantas medicinais*, 9(4): 68-71.

Farias, N.A.; Ruas, J.L.; dos Santos, T.R.B. 2008. Acaricidal efficacy analysis on *Boophilus microplus* tick, in the last decade in the southern of Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, 38(6): 1700-1704.

FAO Plant Protection Bulletin. 1971. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pest to pesticides. Tentative methods for larvae of cattle tick *Boophilus microplus* spp. *FAO method*. 19(7): 15-18.

Finney, D.J. 1971. *Probit analysis*. 3° ed. Cambridge University Press. London, 25pp.

Gomes, A.; Koller, W.W.; Barros, A.T.M. 2011. Suscetibilidade de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a carrapaticidas em Mato Grosso do Sul. *Ciência Rural*, 41(8): 1447-1452.

Gonzales, J.C. 1975. *O controle do carrapato dos bovinos*. 2.ed. Porto Alegre : Sulina, 103pp.

Green, S.B.; Salkind, N.J. 2004. *Using SPSS for windows and macintosh – analyzing and understanding data*. 4 ed. Prentice Hall, New Jersey. 457pp.

- Grisi, L.; Massard, C.L.; Moya-Borja, G.E.; Pereira, J.B. 2002. Impacto das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária*, 21: 8-10.
- IBGE, 2010. *Efetivo nacional de bovinos cresce 1,5% em 2009*. (http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1761&cid_pagina=1). Acesso em 15/08/2011.
- Jonsson, N.N. 1997. Control of the cattle ticks (*Boophilus microplus*) on Queensland dairy farms. *Australian Veterinary Journal*, 75(11): 802-807.
- Kathrina, G.A.; Antonio, L.O.J. 2004. Controle biológico de insetos mediante extractos botânicos. In: Cabral, M.; Guaharay, F. (Ed.). *Control Biologico de Plagas Agrícolas*. Managua: CATIE, Série Técnica. Manual Técnico/CATIE, 53, p.137-160.
- Lacey, L.A.; Frutos, R.; Kaya, H. K.; Vails, P. 2001. Insects pathogens as biological control agents: do they have a future? *Biological Control*, 21: 230-248.
- Londt, J.G.H.; Arthur, D.R. 1975. The structure and parasitic life cycle of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888) in South Africa (*Acarina: Ixodidae*). *Journal of the Entomological Society of South Africa*, 38: 321-340.
- Martins, J.R.; Furlong, J. 2001. Avermectin resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. *Veterinary Record*, 149(2): 64-68.
- Odhiambo, T.R. 1982. *Current themes in tropical science: physiology of ticks*. Pergamon Press, Oxford, 508pp.
- Pereira J.R.; Famadas, K.M. 2004. Avaliação "in vitro" da eficiência do extrato da raiz do timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) (Leguminosae, Papilionoidae, Millettidae) sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) na região do Vale do Paraíba, São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, 71(4): 443-450.
- Pereira, C.D.; Souza, G.R.L.; Baffi, M.A. 2010. *Carrapato dos Bovinos: métodos de controle e mecanismos de resistência a acaricidas*. EMBRAPA CERRADOS. Planaltina, Distrito Federal. 28pp.
- Pires, J.E.P.; Fernandes, R.M.; Fernandes, M.Z.L.C.M.; Viana, G.E.N.; Dourado, J.C.L.; Sousa, S.A.A. 2007. Determinação da concentração inibitória média (CI₅₀) do extrato aquoso de *Simarouba versicolor*, St. Hill sobre a ovipostura do carrapato bovino (*Boophilus microplus*, Canestrini, 1887). *Revista Brasileira de plantas medicinais*, 9(4): 23-26.
- Prista, L.N.; Alves, A.C.; Morgado, R.M.R. 1981. *Técnica farmacêutica e farmácia galênica*. Calouste Gulbenkian, Lisboa, 147pp.
- Roel, A.R. 2002. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. *Revista Internacional de Desenvolvimento Local*, 1(2): 43-50.
- Rosa, F.T.C. 2009. *Carne bovina: cuidado com meias verdades*. (<http://www.pecuaria.com.br/info.php?ar=1&&ver=5188>). Acesso em 10/07/2011.
- Sequeira, B.J.; Vital, M.J.S.; Pohlit, A.M.; Pararols, I.C.; Caúper, G.S.B. 2009. Antibacterial and antifungal activity of extracts and exudates of the Amazonian medicinal tree *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson (common name: *sucuba*). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(4): 659-661.
- Shaw, R.D. 1966. Culture of an organophosphorus strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. *Bulletin of Entomological Research*, 56: 389-405.
- Silva, W.C. 2008. *Potencialidade acaricida sobre Rhipicephalus (Boophilus) microplus e estudo fitoquímico de Piper aduncum L. (Piperaceae), Palicourea margravii St. Hil (Rubiaceae) e Derris negrensis Benth (Fabaceae)*. Tese de Doutorado – Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, Rio Grande do Sul. 128pp.
- Silva, W.C.; Martins, J.R.S.; Souza, H.E.M.; Heinzen, H.; Cesio, M.V.; Mato, M.; Albrecht, F.; Azevedo, J.L.; Barros, N.M. 2009. Toxicity of *Piper aduncum* L. (Piperales: Piperaceae) from the Amazon Forest for the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 164: 267-274.
- Silva, W.C.; Martins, J.R.S.; Cesio, M.V.; Azevedo, J.L.; Heinzen, H.; Barros, N.M. 2010. Acaricidal activity of *Palicourea margravii*, a species from the Amazon forest, on cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary Parasitology*, 179: 189-194.
- Sousa, L.A.D.; Soares, S.F.; Junior, H.B.P.; Ferri, P.H.; Borges, L.M.F. 2008. Avaliação da eficácia de extrato oleosos de frutos verdes e maduros de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17(1) 36-40.
- Soutello, R.V.G.; Seno, M.C.Z.; Oliveira, F.P.; Vacari, A.C.; Teixeira, W.F.P.; Fonzar, J.F.; Coelho, W.M.D. 2008. Ocorrência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, em novilhas da raça Nelore, Guzerá e Mestiços Angus. *Veterinária e Zootecnia*, 15(2): 81.
- Stendel, W. 1980. The relevance of different test methods for the evaluation of tick controlling substances. *Journal of The South African Veterinary Association*, 51(3): 147-152.
- Vargas, M.S.; Céspedes, N.S.; Sánchez, H.F.; Martins, J.R.; Céspedes, C.O.C. 2003. Avaliação *in vitro* de uma cepa de campo de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) resistente à amitraz. *Ciencia Rural*, 33: 737-742.

Recebido em:19/01/2012
Aceito em:05/05/2012