



Atividade *in vitro* de óleo essencial de *Tagetes minuta* em carrapatos bovinos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Nathália França da ROSA^{1,2}; Alessandra CARRER², Amanda CHAABAN³; Carlos Eduardo Nogueira MARTINS⁴; André Luis Fachini de SOUZA⁴, Viviane MILCZEWSKI^{4,5}

¹Bolsista PIBIT/CNPq, ²Acadêmica de graduação do IFC – Araquari, ³Médica Veterinária IFC– Araquari, ⁴Docente IFC – Araquari, ⁵Orientador

RESUMO

A infestação por carrapatos *R. microplus* acarreta prejuízos importantes na produção de bovinos. O uso indiscriminado de acaricidas sintéticos levou à resistência parasitária nessa espécie. Nesse sentido, uma alternativa de controle desses parasitos são os óleos essenciais extraídos de plantas. O objetivo foi avaliar o efeito carrapaticida do óleo essencial de *Tagetes minuta*. Nas concentrações de 20% e 25% verificou-se mortalidade de 80 e 96% das larvas. Em teleóginas ocorreu mortalidade de 80 e 100% nas concentrações de 25% e 35%. Constatou-se redução significativa na quantidade de ovos produzidos por fêmeas tratadas nas concentrações de 5%, 25% e 35%.

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Os carrapatos pertencentes à espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* são parasitos que causam diminuição no rendimento produtivo, a espoliação direta, baixa qualidade do couro, além das doenças causadas por agentes patogênicos em bovinos. O uso indiscriminado de carrapaticidas associados ao manejo incorreto contribuiu para o desenvolvimento de populações de carrapatos resistentes aos poucos grupos desses produtos existentes no mercado mundial (MENDES et al., 2011). Nesse cenário, uma alternativa para diminuir os efeitos associados ao uso de substâncias químicas organossintéticas é a aplicação de biocarrapaticidas, produtos de origem natural derivados do metabolismo secundário de plantas.

Tagetes minuta é uma espécie de planta nativa da América (LOVATO et al., 2013) que pertence à família Asteraceae, sendo uma das 56 espécies do gênero *Tagetes*. Alguns estudos apontam que esta espécie vegetal apresenta propriedades





acaricidas (ANDREOTTI et al., 2013). Nesse contexto, este trabalho propõe o estudo do efeito carrapaticida do óleo essencial de *T. minuta*, por meio de testes biológicos *in vitro* e posterior avaliação da letalidade de larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*.

METODOLOGIA

O cultivo da espécie vegetal *T. minuta* foi realizado no Instituto Federal Catarinense – Araquari (IFC-Araquari). Foram coletados cerca de oitenta exemplares da planta, sendo um espécime depositado no Herbário do Museu Botânico de Curitiba – Paraná, sob número de registro 328268.

O processamento das amostras biológicas foi conduzido no Laboratório de Produção Vegetal do IFC-Araquari. Para a extração do óleo essencial (OE), a parte aérea da planta foi submetida à hidrodestilação durante 4 horas, em aparelho de Clevenger.

Foram coletadas fêmeas ingurgitadas de *R. (Boophilus) microplus* de bovinos provenientes do rebanho da Unidade de Ensino e Aprendizagem (UEA) Gado Leiteiro do IFC-Araquari e do Centro Paranaense de Referência em Agroecologia (CPRA), Pinhais.

No Laboratório de Parasitologia Veterinária (LEDVET), inicialmente foram testados os diluentes para o OE (etanol, acetona, tween 80, triton 5% e triton 5% + etanol 10% e água destilada como controle) pelo Teste de Imersão de Adultos (TIA) (FAO, 2004). Depois de escolhido o etanol absoluto como solvente, o processo foi repetido com as seguintes diluições de óleo essencial: 5%, 15%, 25% e 35%, além de cipermetrina, etanol absoluto e água destilada. Para a avaliação da mortalidade de larvas utilizou-se o teste de pacote com larvas (TPL) adaptado de CHAGAS et al. (2016) com as seguintes diluições do OE de *T. minuta*: 2,5; 5; 10; 15; 20 e 25% (v/v), além de etanol absoluto e cipermetrina 5mg/ml. O presente trabalho foi submetido à análise do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do IFC – Araquari com registro sob o número 0155/2016.

A análise estatística das concentrações letais (CL10, CL50 e CL90) foi



realizada por meio da análise de Probit. As médias de tratamentos foram comparadas por meio do teste HSD de Tukey, considerando significativa a 5%. A correlação de Pearson foi realizada entre a massa de fêmeas adultas e ovos com nível de significância de 1%. Foi utilizado software estatístico R versão 3.2.2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito dos solventes a serem utilizados para carrear do OE pode ser observado na Tabela 1. Verificou-se a impossibilidade do emprego apenas da acetona ($p < 0,05$).

Tabela 1. Porcentagem de viabilidade de teleóginas após imersão em diferentes solventes. N = 30

Grupo	Posturas Viáveis (%)	Posturas inviáveis ou fêmeas mortas (%)
Água destilada	93,3 ^a	6,7
Etanol absoluto	90 ^a	10
Acetona	10 ^b	90
Tween 80	86,7 ^a	13,3
Triton 5%	96,7 ^a	3,3
Triton 5% + Etanol 10%	93,3 ^a	6,7

Letras diferentes indicam diferença significativa ($p > 0,05$)

Para os testes com o óleo essencial optou-se pela utilização de etanol como solvente, visto que é um produto de baixo custo e altamente volátil, o qual favorece a ação do óleo empregado. Com relação ao teste de diferentes concentrações de OE de *T. minuta* em teleóginas foi possível verificar diferenças de viabilidade entre os grupos testados (Tabela 2).

Tabela 2. Porcentagem de inviabilidade e produção de ovos de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* resistentes a cipermetrina tratadas com óleo essencial de *T. minuta*. N = 30

Grupo	Mortas/ Posturas inviáveis %	Massa média das teleóginas (mg)	Massa média de ovos (mg)
Água destilada	6,7 ^a	237,1 ^a	134 ^a
Etanol	10 ^a	242,4 ^a	113,1 ^a
Cipermetrina	3,3 ^a	220,7 ^a	111,7 ^a
C1 - 5%	30 ^{ab}	238,3 ^a	94 ^b
C2 - 15%	56,7 ^b	227,4 ^a	99,8 ^a
C3 - 25%	80 ^{bc}	242,4 ^a	84,6 ^{ab}
C4 - 35%	100 ^c	228,3 ^a	0 ^c

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferenciam estatisticamente.

C1-C4 – diferentes concentrações de óleo essencial de *T. minuta* utilizando etanol como carreador.

Nos grupos com concentração de OETM superior a 15%, verificou-se o aumento significativo da mortalidade ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle. GAZIM et al. (2011), mostrou que a concentração de 0,22% de OE de *Tagetes riparia* foi suficiente para causar uma diferença significativa na mortalidade em relação ao grupo controle. A inviabilidade de 100% das teleóginas ocorreu quando a concentração de OETM foi de 35%. Em relação às fêmeas adultas que realizaram postura, houve diferença significativa na média de pesos de ovos entre as fêmeas submetidas ao tratamento de OETM 5% (v/v), OETM 25% (v/v), OETM 35% (v/v) em comparação com as posturas realizadas por fêmeas do grupo controle. Quanto à correlação entre o peso das fêmeas e dos ovos, notou-se que a mesma só existiu nos grupos de água destilada e de cipermetrina ($p > 0,05$), nos demais grupos houve algum fator que modificou significativamente ($p < 0,05$) essa correlação, necessitando estudos posteriores de avaliação. Na avaliação da eficácia do OETM em larvas de *R. (B.) microplus* foram observadas diferenças significativas entre os grupos avaliados (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem média da mortalidade de larvas de *R. (B.) microplus* provenientes de teleóginas suscetíveis a cipermetrina.

Grupo	Mortalidade %	Desvio Padrão %	Média de larvas por avaliação
Etanol	9,62 ^a	5,18	356,8
C1 2,5%	45,15 ^b	3,19	393,8
C2 5%	54,35 ^b	14,31	413,8
C3 10%	50,31 ^b	12,30	383,6
C4 15%	59,89 ^b	6,03	278
C5 20%	81,78 ^c	5,37	366,8
C6 25%	96,25 ^c	5,97	355
Cipermetrina 5mg/mL	87,57 ^c	6,57	434

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferenciam estatisticamente.

C1-C6 – diferentes concentrações de óleo essencial de *T. minuta* utilizando etanol como carreador.

O OE causou aumento significativo da mortalidade de larvas ($p < 0,05$) em todas as concentrações em relação ao grupo controle. A CL50 e CL90 do OETM foram de 39,5 e 366,5 mg/ml, respectivamente. Com isso, pode-se constatar que esse OE possui efeito acaricida, mas que necessita de uma concentração relativamente alta quando comparado ao OE de *Curcuma longa*, *Lippia alba*, *Lippia gracilis*, *Lippia origanoides*, *Mentha arvensis* e *H. myrtoides* (CHAGAS et al., 2016;



CASTILHO et al., 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que o óleo essencial de *Tagetes minuta* apresenta potencial acaricida superior a 95% para larvas e adultos de *R.(B). microplus* quando utilizado em concentrações de 25 e 35% (v/v), respectivamente

REFERÊNCIAS

ANDREOTTI, R.; GARCIA, M.V.; CUNHA, R.C. et al. Protective action of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil in the control of *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari Ixodidae) in a cattle pen trial. *Veterinary Parasitology*, v. 197, n. 1-2, p. 341-345, 2013.

CASTILHO, C. V. V.; FANTATTO, R. R.; GAÍNZA, Y. A. et al. In vitro activity of the essential oil from *Hesperozygis myrtoides* on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Haemonchus contortus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 27, n. 1, p.70-76, 2017.

CHAGAS, A.C.S.; OLIVEIRA, M.C.S.; GIGLIOTI, R. et al. Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Ticks And Tick-borne Diseases*, v. 7, n. 3, p.427-432, 2016.

FAO. Resistance and management and integrated parasite control in ruminants, 2004. Guidelines. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/aga.html>>. Acessado em: 02 maio 2017.

GAZIM, Z. C.; DEMARCHI, I. G.; LONARDONI, M. V. C. et al. Acaricidal activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari; Ixodidae). *Experimental Parasitology*, v. 129, n. 2, p.175-178, 2011.

LOVATO, P.B.; SCHIEDECK, G.; MAUCH, C.R. Extratos aquosos de *Tagetes minuta* (Asteraceae) como alternativa ao manejo agro-ecológico de afídeos em hortaliças. *Interciencia*, v. 38, n. 9, p.676-680, 2013.

MENDES, M. C.; LIMA, C. K. P.; NOGUEIRA, A. H. C. et al. Resistance to cypermethrin, deltamethrin and chlorpyrifos in populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from small farms of the State of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 178, n. 3-4, p.383-388, 2011.

