

Potencial acaricida do extrato de folhas de *Xylopia emarginata* Mart. contra larvas de *Rhipicephalus microplus*

Juliana Pimenta Cruz^{1*}; Viviane de Oliveira Vasconcelos²; Patrícia Conceição Medeiros³; João Carlos Figueiredo⁴; Yule Roberta Ferreira Nunes⁵; Eduardo Robson Duarte⁶; Ana Paula Venuto⁷

DOI: <https://doi.org/10.35699/2447-6218.2021.34636>

Resumo

O objetivo desse trabalho foi avaliar a ação carrapaticida *in vitro* do extrato etanólico (EE) de folhas de *Xylopia emarginata* Mart. com diferentes teores de taninos sobre larvas de *R. microplus*. Para isso, as folhas de *X. emarginata* foram coletadas mensalmente durante o período de 12 meses para avaliar a produção de taninos através da técnica de solvólise catalisada por butanol/HCl. Para avaliar a eficácia do EE, foi realizado o teste do pacote de larvas (TPL) com leitura no intervalo de 24 horas de incubação utilizando as concentrações de 25 a 100 mg mL⁻¹, o controle negativo contendo água destilada e o controle positivo contendo carrapaticida químico. Observou-se que o EE contendo 5,9% de teor de taninos promoveu 80,44% de mortalidade na concentração de 100 mg mL⁻¹. O EE contendo 13,2% de teor de taninos promoveu 97,43% de mortalidade a 100 mg mL⁻¹. Dessa forma, constatou-se alta atividade larvicida dos extratos etanólicos de folhas de *X. emarginata* sobre larvas de *R. microplus* e essa atividade pode estar relacionada aos teores de taninos.

Palavras-chave: Annonaceae. Carrapato bovino. Fitoterapia. Taninos.

Acaricide potential of *Xylopia emarginata* Mart. leaf extract against *Rhipicephalus microplus* larvae

Abstract

The objective of this work was to evaluate the *in vitro* carrapaticidal action of ethanol extract (EE) of *Xylopia emarginata* leaves Mart. with different tannin contents on *R. microplus* larvae. For this, as leaves of *X. emarginata* were collected monthly during the period of 12 months to evaluate the production of tannins through the solventolysis technique catalyzed by butanol/HCl. To evaluate the efficacy of EE, the larvae bundle test (TPL) was performed with reading in the interval of 24 hours of incubation using concentrations of 25 to 100 mg mL⁻¹, the negative control containing distilled water and the positive control containing chemical carrapaticide. It was observed that the EE containing 5.9% tannin content promoted 80.44% mortality at the concentration of 100 mg mL⁻¹. The EE containing 13.2% tannin

¹Universidade Estadual de Montes Claros. Montes Claros, MG. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0001-5115-3136>

²Universidade Estadual de Montes Claros. Montes Claros, MG. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0001-5126-3124>

³Instituto Federal de Minas Gerais. Januária, MG. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0002-2949-3940>

⁴Universidade Estadual de Montes Claros. Montes Claros, MG. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0001-6453-8684>

⁵Universidade Estadual de Montes Claros. Montes Claros, MG. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0003-3328-7506>

⁶Universidade Federal de Minas Gerais. Montes Claros, MG. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0002-2205-9412>

⁷Universidade Estadual de Montes Claros. Montes Claros, MG. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0002-3103-7063>

*Autor para correspondência: JulianaPimenta97@outlook.com

content promoted 97.43% mortality at 100 mg mL⁻¹. Thus, high larvicidal activity of ethanol extracts of leaves of *X. emarginata* on Larvae of *R. microplus* was verified and this activity may be related to tannin contents.

Keywords: Annonaceae. Bovine tick. Phytotherapy. Tannins.

Introdução

O *Rhipicephalus microplus* representa um dos ectoparasitas mais importantes para a bovinocultura. Esse carrapato é responsável por elevadas perdas econômicas na cadeia produtora de leite, carne e couro, podendo ocasionar o óbito (Roy *et al.*, 2017). Além disso, as hemoparasitoses transmitidas por esse vetor compõem um complexo de enfermidades de importância em saúde pública como a babesiose humana (Hajdulek *et al.*, 2013).

O principal método de controle desse parasito é o químico. Entretanto, o uso indiscriminado dos produtos carrapaticidas tem favorecido a resistência, inviabilizando assim o controle efetivo, com aumento de risco de contaminação ambiental e os produtos finais de origem animal como carne e leite (Guerrero *et al.*, 2012). A busca por métodos de controle alternativos para o carrapato é uma estratégia fundamental para a criação de bovinos em condições tropicais (Webster *et al.*, 2015).

Muitos metabólitos secundários de plantas têm sido utilizados no controle alternativo para minimizar os impactos causados pelos produtos químicos (Wiesbrook, 2004). O bioma Cerrado possui ampla diversidade de flora contendo compostos e moléculas importantes com princípio ativos que podem ser utilizados no controle de ectoparasitos (Bahia *et al.*, 2009). A família Annonaceae é abundante nesse bioma. O gênero *Xylopi*, pertencente a essa família (Marimon-Junior e Haridasan, 2005) é reconhecido por apresentar propriedades antimicrobiana, acaricida, inseticida e nematicida (Konning *et al.*, 2004), entretanto ainda não é conhecida sua atividade contra carrapatos. Uma das espécies identificadas no Brasil é *Xylopi emarginata* Mart. conhecida como “pindaíba-reta”, que pode ser encontrada em lugares brejosos e em matas ciliares, principalmente nos estados da Bahia, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul e São Paulo (Lorenzi, 1992).

Neste estudo, o objetivo foi avaliar o efeito carrapaticida *in vitro* do extrato etanólico das folhas de *Xylopi emarginata* contendo diferentes teores de taninos condensados contra larvas de *Rhipicephalus microplus*.

Material e métodos

Obtenção dos extratos etanólicos

O material vegetal foi composto por folhas de *X. emarginata* coletadas no município de Bonito de Minas, no norte de Minas Gerais, na vereda Almescla (coordenadas 45°95'W, 15°88'S e 43°95'W, 14°40'S). As amostras

foram coletadas mensalmente no período de junho e setembro de 2018. As exsiccatas foram depositadas no Herbário Montes Claros, voucher 6774 e a espécie foi identificada considerando as características descritas em Lorenzi (1992).

As folhas foram selecionadas e foram descartadas aquelas com deteriorações. O material foi desidratado em estufa a 40°C por 72 horas, e trituradas com o auxílio de um triturador (Di Grano MDR - 302, Marca, estado, país). O pó foi armazenado em temperatura ambiente e em sacos de papel para evitar incidência de luz.

O extrato etanólico (EE) foi obtido por meio da submersão de 100g de material vegetal em 1000 mL de etanol PA (álcool etílico), em recipientes de vidro âmbar, conservados em local escuro e por sete dias. Os extratos foram filtrados em funil, com gaze e algodão e levados à estufa de circulação forçada de ar a 40°C, até a obtenção de peso constante (Nery *et al.*, 2010). Os extratos secos foram removidos e armazenados em frascos escuros e as subalíquotas foram submetidas ao determinador de matéria seca (Association of Official Analytical Chemists - AOAC, 1990) (mg mL⁻¹) a 105°C para cálculo das concentrações avaliadas.

A determinação dos teores totais de taninos condensados (proantocianidinas) foi avaliada ao longo do período amostral, de acordo com Medeiros *et al.* (2019), após solvólise catalisada por ácido com n-BuOH/HCl 37% (95:5), seguindo metodologia descrita por Hiermann *et al.* (1986). Constatou-se que o EE de folhas coletadas em junho e setembro apresentaram 13,2% e 5,9% de teores de taninos condensados, respectivamente (Medeiros *et al.*, 2019).

Eficácia dos extratos contra larvas de *R. microplus*: teste do pacote de larvas (TPL)

Para o experimento, foram utilizadas larvas de 15 a 28 dias pós-eclosão, provenientes de infestação natural em bovinos provenientes de uma propriedade rural de Bocaiúva-MG. Esses animais não tiveram contato com carrapaticida por aproximadamente 30 dias.

Os extratos foram avaliados nas concentrações 25, 50, 75 e 100 mg mL⁻¹. Como controle negativo foi utilizado água purificada e a solução de Cipermetrina a 0,025 mg mL⁻¹ (Butox MSD Saúde Animal, São Paulo Brasil) como controle positivo. Os procedimentos foram realizados em quatro repetições.

Os testes foram realizados de acordo com Stone e Haydock (1962), inserindo-se aproximadamente 50 larvas em pacotes confeccionados de papel filtro (Whatmann no1) de 6 x 6 cm para cada repetição. Posteriormente, os pacotes foram vedados com grampos e impregnados pelas soluções. Cada grupo de repetições foi depositado em placas de Petri. As larvas incubadas foram acondicionadas em estufa a 28°C e aproximadamente 70% de umidade relativa por 24 horas. Após esse período os pacotes foram abertos sobre uma superfície branca, e as larvas vivas e mortas foram quantificadas.

Análises estatísticas

O estudo foi realizado em delineamento inteiramente casualizado comparando-se com o controle negativo contendo água e o controle positivo contendo cipermetrina.

O número relativo de larvas mortas sobre o número total de larvas foi utilizado para análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott

com 5% de significância em delineamento inteiramente casualizado. As concentrações letais para matar 90% de larvas (CL90) foram estimadas pela análise de regressão probit do pacote estatístico Saeg 9.1.

Resultados e discussão

Os resultados consistem na primeira verificação da atividade acaricida de EE de folhas de *X. emarginata* frente a larvas de *R. microplus*. O EE extraído de folhas coletadas durante o mês de setembro (5,9% de teor de taninos) promoveu 80,44% de mortalidade larval na concentração 100 mg mL⁻¹ (p ≤ 0,05) (Tabela 1). A CL90 para esse extrato foi de 44,08 mg mL⁻¹ (Figura 1a). O EE extraído de folhas coletadas do mês de junho (13,2% de teor de taninos condensados) promoveu taxas de mortalidade larval entre 96,43 a 97,43% nas concentrações de 75 e 100 mg mL⁻¹ respectivamente e que foram superiores ao controle contendo água destilada (p ≤ 0,05) (Tabela 1). ACL90 para esse extrato foi de 41,54 mg mL⁻¹ (Figura 1 b).

Tabela 1 – Mortalidade larval de *Rhipicephalus microplus* tratados com extrato etanólico de folhas de *Xylopi emarginata* com 5,9% e 13,2% de teor de taninos condensados.

Tratamentos	Taninos condensados	Taninos condensados
(mg mL ⁻¹)	(5,9%)	(13,2%)
100	80,44 Bb	97,43 Aa
75	77,28 Bb	96,43 Aa
50	74,23 Ba	75,49 Ba
25	7,97 Cb	51,24 Ca
Água estéril	0 Da	0 Da
Cipermetrina*	100 Aa	100 Aa
CV(%)**	15	10

* Cipermetrina 0,025 mg /mL (ButoxMSD Saúde Animal, São Paulo Brasil).

**Coeficiente de variação (%)

Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa (p < 0,05) entre os tratamentos e minúsculas indicam diferença significativa (p < 0,05) entre as diferentes concentrações de tanino, por teste de Scott-Knott a 5%.

Ao analisar a eficácia entre os diferentes extratos em relação aos teores de taninos, observou-se diferença significativa nas concentrações de 100, 75 e 25 mg mL⁻¹ dos extratos contendo 13,2% de teor de tanino, sendo estatisticamente superior a eficácia dos extratos com 5,9% de teor de taninos.

Sabe-se que os taninos condensados são importantes no controle de parasitos pois essas substâncias são classificadas como redutores digestivos, com efeito proporcional à concentração (Monteiro *et al.*, 2011). Reduzem significativamente o crescimento e a sobrevivência de artrópodes, uma vez que inativam enzimas digestivas e criam um complexo de taninos-proteínas de difícil digestão (Mello e Silva-Filho, 2002).

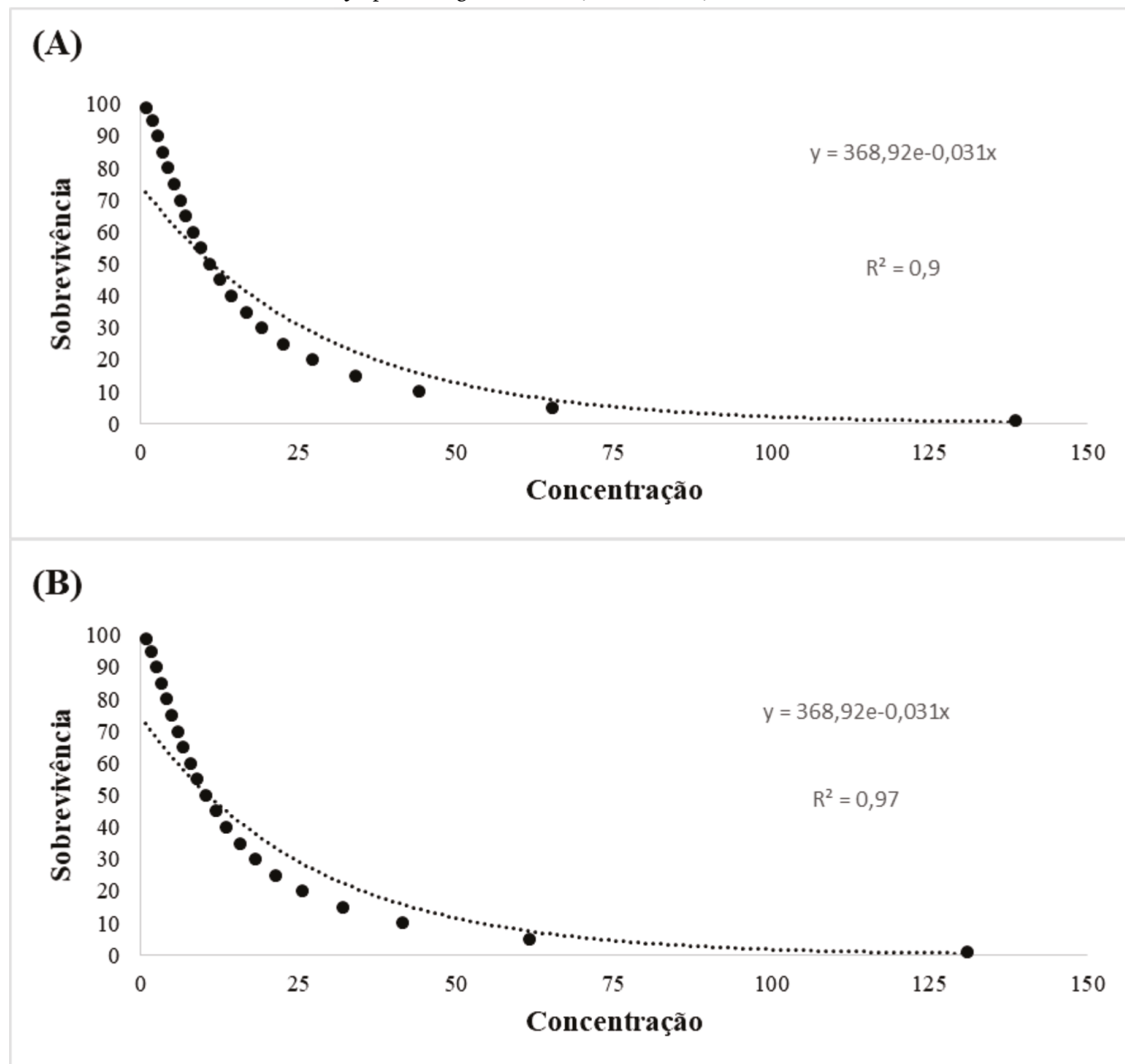
Segundo Fernández -Salas (2011), extratos etanólicos de plantas ricas em tanino como *Acacia pennatula*, *Piscidia piscipula*, *Leucaena aleucocephala* e *Lysiloma latisiliquum* representam alternativa promissora para o controle de *R. microplus*. Entretanto, Vasconcelos *et al.* (2018) observaram que presença de níveis baixos de taninos em extratos etanólicos de *Ximenia americana*, *Piptadenia viridiflora* e *Schinopsis brasiliensis* também promoveram eficácia acaricida contra teleóginas de *Dermacentor nitens* nas concentrações de 100 e 150 mg mL⁻¹, indicando que outros metabólitos também poderiam participar com o efeito acaricida.

O potencial acaricida de Annonacea pôde ser comprovado em estudo de Broglio-Micheletti (2009), que avaliou o extrato etanólico das sementes de *Annona*

muricata na concentração de 2% verificando 100% de eficácia para mortalidade de teleóginas de *R. microplus*. O extrato aquoso da casca do fruto de *Annona squamosa* apresentou atividade larvicida contra *R. microplus*, sendo

observadas mortalidades de 92 e 100% nas concentrações de 1.500 e 2.000 ppm, respectivamente (Madhumitha et al., 2012).

Figura 1 – Porcentagem de sobrevivência de larvas de *Rhipicephalus microplus* em função da concentração do extrato etanólico de folhas de *Xylopiia emarginata* com 5,9% (a) e 13,2% (b) de teor de tanino.



Catto et al. (2009), observou em estudo, atividade acaricida elevada dos extratos etanólicos da raiz de *Annona dioica*, que apresentou efeito acaricida de 95% e 98,7% nas concentrações de 5% e 20%. Além disso, óleos essenciais obtidos a partir de frutos e folhas de *Xylopiia sericea* demonstraram atividade acaricida sobre larvas de *Tetranychus urticae* com eficácia de 95% a 10 mg/mL (Pontes et al., 2007).

Deste modo, a espécie *X. emarginata* pode ser incluída como potencial candidata no programa de controle

integrado de *R. microplus*, aumentando a possibilidade de obter produtos naturais como alternativas aos acaricidas sintéticos. Futuros estudos devem ser conduzidos com o objetivo de testar o extrato em fêmeas ingurgitadas, bem como identificar os componentes acaricidas presentes que possam ser utilizados em programa de controle de carrapatos. Além disso, devem ser avaliada também a influência do teor de taninos na mortalidade de fêmeas adultas de *R. microplus* para elucidar a sua influência em diferentes fases de crescimento dessa espécie.

Conclusão

Os extratos etanólicos obtidos de folhas de *Xylopia emarginata* apresentam potencial para o controle de larvas de *Rhipicephalus microplus*, sendo que, o extrato com maior teor de tanino apresentou eficácia mais elevada no controle dessas larvas.

Agradecimentos

Esta pesquisa foi financiada pelo Programa de Pesquisa Ecológica de Longa Duração (PELD-VERE) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 441440/2016-9; 441583/2020-2; 308877/2019-5), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES 88887.136273/2017-00), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG APQ-04816-17; APQ-02983-17; CRA-PPM-00539-18), Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações, Programa de pós graduação em botânica aplicada (PPGBOT-Unimontes).

Referências

- Bahia, T. O.; Luz, G. R.; Veloso, M. D. M.; Nunes, Y. R. F.; Neves, W. V.; Braga, L. L.; Lima, P. C. V. 2009. Veredas na APA do Rio Pandeiros: importância, impactos ambientais e perspectivas. *MG. Biota*, 2: 3–13.
- Broglio-Michelletti S. M. F. 2009. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* (Online), 18: 44–48. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpv/a/VdfLqhhshVjkkR5yVRVr7B/?lang=pt> Acesso em: 28 ago. 2018.
- Catto, J. B.; Bianchin, I.; Saito, M. L. 2009. Efeito acaricida in vitro de extratos de plantas do Pantanal no carrapato de bovinos, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Embrapa Gado de Corte, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Campo Grande, MS*.
- Fernández-Salas, A.; Alonso-Díaz, M. A.; Acosta-Rodríguez, R.; Torres-Acosta, J. F.; Sandoval-Castro, C. A.; Rodríguez-Vivas, R. I. 2011. In vitro acaricidal effect of tannin-rich plants against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 175:113–118.
- Guerrero, F. D.; Lovis, L.; Martins, J. R. 2012. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal*, 21:1–6.
- Hajdulek, O.; Šíma, R.; Ayllón, N.; Jalovecká, M.; Perner, J.; Fuente, J.; Kopáček, L. 2013. Interaction of the tick immune system with transmitted pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3: 3–26.
- Hiermann, A.; Kartnig, T. H.; Azzam, S. E. 1986. Beitrag zur quantitative Bestimmung der Procyanidine in *Crataegus*. *Scientia Pharmaceutica*, 54: 331–337.
- Konning, G. H.; Ayare, C.; Ennison, B. 2004. Antimicrobial activity of some medicinal plants from Ghana. *Fitoterapia*, 75: 65–67.
- Lorenzi, H. 1992. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum.
- Marimon-Junior, B. H.; Haridasan, M. 2005. Comparação da vegetação arbórea e características edáficas de um cerrado e um cerrado sensu stricto em áreas adjacentes sobre solo distrófico no leste de Mato Grosso, Brasil. *Acta Botânica Brasílica*, 19: 915–928.
- Madhumitha, G.; Rajakuma, G.; Roopan, S. M.; Rahuman, A. A.; Priya, K. M.; Saral, A. M.; Khan, F. R. N.; Khanna, V. G.; Velayutham, K.; Kamaraj, C.; Elang, G. 2012. Acaricidal, insecticidal, and larvicidal efficacy of fruit peel aqueous extract of *Annona squamosa* and its compounds against blood-feeding parasites. *Parasitology Research*, 111: 2189–2199.
- Medeiros, P. C. 2019. Respostas sazonais fenológicas e do teor de taninos condensados de *Xylopia emarginata* Mart. (Annonaceae) em uma vereda no Norte de Minas Gerais, Brasil, Universidade Estadual de Montes Claros, Minas Gerais, Dissertação de mestrado Disponível em: <http://www.ppgb.unimontes.br/index.php/producoes/dissertacoes>.
- Mello, M. O.; Silva-Filho, M. C. 2002. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanism. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 14 :71–81.
- Monteiro, M. V. B.; Bevilaqua, C. M. L.; Morais, S. M.; Machado, L. K. A.; Camurça Vasconcelos, A. L. F.; Campello, C. C.; Ribeiro, W. L. C.; Mesquita, M. A. 2011. Anthelmintic activity of *Jatropha curcas* L. seedson *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 182: 259–263.
- Nery, P. S.; Nogueira, F. A.; Martins, E. R.; Duarte, E. R. 2010. Effects of *Anacardium humile* leaf extracts on the development of gastrointestinal nematode larvae of sheep. *Veterinary Parasitology*, 171:361–364.
- Pontes, W. J.; Oliveira, J. C. S.; Câmara, C. A. G.; Gondim Júnior, M. G. C.; Oliveira, J. V.; Schwartz, M. O. E. 2007. Atividade acaricida dos óleos de essências de folhas e frutos de *Xylopia* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch). *Química Nova, São Paulo*, 30: 838–841.
- Roy, B. C.; Krücken, J.; Ahmed, J. S.; Majumder, S.; Baumann, M. P.; Clausen, P. H.; Nijhof, A. M. 2017. Molecular identification of tick-borne pathogens infecting cattle in Mymensingh district of Bangladesh reveals emerging species of *Anaplasma* and *Babesia*. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65: 231–242.
- Stone, B. F.; Haydock, K. P. 1962. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus*, *Bulletin of Entomological Research*, 53: 563–578.
- Vasconcelos, V. O.; Costa, E. G. L.; Moreira, V. R.; Morais-Costa, F.; Duarte, E. R. 2018. Efficacy of plants extracts from the Cerrado against adult female of *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, 75: 419–427.
- Webster, A.; Reck, J.; Santi, L.; Souza, U. A.; Dall'Agnol, B.; Klafke, G. M.; Beys-da-Silva, W. O.; Martins, J. R.; Schrank, A. 2015. Integrated control of an acaricide resistant strain of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* by applying *Metarhizium anisopliae* associated with cypermethrin and chlorpyrifos under field conditions. *Veterinary Parasitology*, 207: 302–308, 2015. DOI: [10.1016/j.vetpar.2014.11.021](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.11.021).
- Wiesbrook, M. L. 2004. Natural indeed: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? *Illinois Pesticide Review, Urbana*, 17:1–8.