

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE IN VITRO DA ATELEIA GLAZIOVIANA CONTRA O RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS¹

Tiéle Seifert Oldenburg², Camile Lorenz³, Christiane Colet⁴, Luciana Mori Viero⁵.

¹ Projeto Institucional desenvolvido no Departamento de Estudos Agrários (DEAg) e Departamento de Ciências da Vida (DCVida) da UNIJUI;

² Bolsista PIBIC/UNIJUI, acadêmica do Curso de Medicina Veterinária do Departamento de Estudos Agrários da UNIJUI;

³ Bolsista PROBIC/FAPERGS, acadêmica do Curso de Farmácia Do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI;

⁴ Professora Mestre do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI;

⁵ Professora Doutora do Departamento de Estudos Agrários da UNIJUI.

Introdução

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, também é conhecido como carrapato bovino, sendo considerado um dos principais ectoparasitas bovinos, (GOMES, KOLLER e BARROS, 2011). O carrapato é responsável por altos índices de mortalidade do rebanho, é vetor de diversas doenças, tais como febre maculosa, borrelioses e babesiose, sendo algumas destas consideradas zoonoses (MASSARD e FONSECA, 2004). Estas doenças desencadeiam sinais clínicos tais como, anemia, anorexia, hemoglobinúria, prostração e icterícia, associados à febre, e combinados com estresse que o parasitismo gera ao animal levam à uma redução da produtividade do rebanho (GOMES, KOLLER e BARROS, 2011).

Segundo Grisi et al., o carrapato bovino gera um prejuízo para a pecuária brasileira de US\$ 2,6 bilhões. Porém hoje, este valor supera em 52% o valor da década passada, chegando a um prejuízo de US\$ 2,965 bilhões por ano (IEPEC, 2013).

A região sul do país vem se destacando no cenário da bovinocultura de leite nacional, como uma das mais importantes produtoras de leite e a microregião de Ijuí se encontra dentre as 10 microrregiões com maior crescimento nesta atividade (FILHO e OLIVEIRA, 2011).

Atualmente, o controle do carrapato em bovinos envolve o uso intensivo de produtos químicos, que podem deixar resíduos tóxicos na carne e leite, sendo ainda nocivos ao animal e ao ambiente (VIVAN, 2005). O controle e a prevenção dos carrapatos são comumente realizados com métodos sintéticos, biológicos e de manejo (SILVA et al., 2010).

Dentre os aspectos negativos envolvidos nos sistemas de produção agrícola atuais, destacam-se a utilização de insumos químicos sintéticos degradantes ao ambiente e à saúde humana, a insuficiência de pesquisas direcionadas aos novos formatos tecnológicos alicerçados na agroecologia e as limitações da assistência técnica e extensão rural voltada à sustentabilidade.

De acordo com Olivio (2008) o uso de plantas com potencial inseticida é considerado uma alternativa importante no controle de parasitas, podendo reduzir os impactos econômicos e ambientais ao uso de pesticidas convencionais. Ainda, o uso de plantas medicinais no controle de doenças do gado leiteiro diminui os custos de produção, reduzindo o uso de químicos na atividade e

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

melhora a qualidade do leite, tornando ainda mais viável a atividade leiteira nas propriedades (ARCEGO, 2005). A *Ateleia glazioviana* é uma árvore da família Fabaceae e subfamília leguminosae Papilionoideae, de porte médio, que atinge 10 a 20 cm de altura e 30-60 cm de diâmetro no estado adulto. É popularmente conhecida como “timbó”, “cinamomo bravo”, “maria-preta” ou “amargo”. No Brasil, destaca-se no noroeste do Rio Grande do Sul e oeste de Santa Catarina. A ingestão de *Ateleia glazioviana* por bovinos está associada ao nascimento de animais fracos, que morrem no período neonatal, abortos que atingem vacas em qualquer período gestacional, lesões encefálicas, entre outros problemas (GAVA et al., 2001). No entanto, Vivian (2005) constatou uma possível atividade inseticida oriunda do extrato das folhas da *Ateleia glazioviana*. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi elaborar diferentes preparações a base de *Ateleia glazioviana* para posterior realização de testes in vitro destinados a verificar sua possível ação carrapaticida em carrapatos bovinos.

Metodologia

Inicialmente foi realizada uma pesquisa bibliográfica na qual foram verificadas as principais características da planta, *Ateleia glazioviana*, e sua possível ação inseticida. A partir dos dados obtidos na pesquisa determinamos os extratos que seriam produzidos para a realização dos testes nos carrapatos bovinos.

A planta foi coletada no dia 08 de outubro de 2014, pela manhã, na Cabanha Nossa Senhora da Salete na cidade de Catuípe, Rio Grande do Sul, Brasil. As folhas e caules foram secos por sete dias e em seguida foi realizado o teste de perda por dessecação das folhas de acordo com a Farmacopeia Brasileira (4 ed).

As preparações à base de *Ateleia glazioviana* foram feitas utilizando o método de maceração. A tabela a seguir demonstra as partes utilizadas do timbó, o método de preparo e as referidas quantidades utilizadas para a preparação dos extratos.

Parte da planta	Método	Quantidades	Extrato
Folha	Infusão	25g folha + 500ml água	Aquoso
		25g folha + 500ml álcool	Alcoólico
	Macerado	25g folha + 500ml de acetona	Cetônico
		25g folha + 500ml acetato de etila	Acetato de etila
Caule	Decocção	40,03g caule + 500ml água	Aquoso
		40,38g caule + 500ml de álcool	Alcoólico
	Macerado	40,22g caule + 500ml de acetona	Cetônico

Tabela 1. Preparações realizadas a base de *Ateleia glazioviana* para posteriores testes in vitro.

As preparações com acetona e acetato de etila foram rotaevaporadas no laboratório de Farmacognosia da Unijuí, aos extratos de interesse foram adicionados 500 ml de água destilada,

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

retornando ao recipiente âmbar devidamente limpo e mantido refrigerado. As preparações com álcool foram concentradas em banho-maria e também acrescidos de água destilada 500 ml e por fim, verificou-se a graduação alcoólica.

Biocarrapaticidograma:

Durante o período de coleta dos parasitas houve dificuldade em encontrar-se um número adequado dos mesmos assim como fêmeas ingurgitadas em tamanho ideal para a realização dos testes. Em função desta dificuldade somente um produto foi testado, a maceração do caule do timbó com acetona.

No mês de fevereiro de 2015 foram coletadas fêmeas ingurgitadas (teleóginas) de *Rhipicephallus (Boophilus) microplus* de bovinos naturalmente infectados e que não haviam recebido tratamento antiparasitário pelo menos 21 dias antes das coletas. Foram obtidas 200 teleóginas, que foram submetidas ao teste do biocarrapaticidograma, onde 80 fêmeas foram selecionadas por seus pesos e tamanhos semelhantes, para comporem os grupos com 10 teleóginas para realizar o teste. Os testes foram realizados em quadruplicata.

As teleóginas colhidas foram lavadas em água corrente, submetidas à secagem com papel absorvente e distribuídos em grupos de 10 cada, fazendo-se uma seleção baseada na aparência, motilidade, integridade física e ingurgitamento (LEITE et al., 1995), procedendo-se a separação por ordem decrescente de tamanho, a fim de se obterem pesos mais homogêneos entre os grupos (ARANTES et al., 1995). Em seguida as teleóginas foram pesadas individualmente em balança analítica e transferidos para as Placas de Petri, identificadas com nome da solução e data do teste. Foram calculados o peso médio e total das teleóginas por grupo, bem como o desvio padrão de cada grupo.

Cada grupo de dez teleóginas foi submetido ao banho de imersão, utilizando copo descartável de 50 mL, contendo 10 mL de cada solução a ser testada, mantendo-se o líquido em constante agitação durante cinco minutos. Este procedimento foi realizado para cada um dos produtos e para os grupos controles.

Após o banho de imersão, as teleóginas foram coadas com auxílio de filtro e retornadas às placas de Petri de origem fixadas com fita dupla face. As placas foram colocadas na estufa com temperatura de 28,5°C e umidade controlada e constante e avaliadas por 30 dias, incluindo verificação da ovoposição e também o período de eclosão dos ovos. Os carrapatos foram observados todos os dias, em dois turnos, sendo hidratados com cinco gotas de água em cada observação.

Quando houve ovoposição, após este período, as posturas foram removidas de cada placa, pesadas em balança analítica e transferidas para tubos de ensaio identificados com o número da Placa de Petri.

Avaliação da eficiência reprodutiva e eficiência do produto

Após o período de incubação, foi realizada a leitura da eclodibilidade das larvas, adotando-se como parâmetro a verificação visual. Para a avaliação da eficácia dos produtos foram empregadas as fórmulas matemáticas de acordo com Drummond et al. (1973).

ER = Peso da massa dos ovos X % Eclosão X 20.000 * Peso das Fêmeas

ER = Eficiência Reprodutiva

* = Número de larvas por 1 grama de ovos.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

EP = ER Controle - ER Produto X 100%/ ER Controle

EP = Eficiência do Produto

A eficácia do produto foi calculada com base na E.R. do grupo controle-água destilada. Para a interpretação dos resultados, foi considerado como eficácia do princípio ativo o valor mínimo de 95%, conforme legislação pertinente para a comercialização de carrapaticidas no país (BRASIL, 1990).

Resultados e Discussão

Para a preparação dos extratos de *Ateleia glazioviana* foram utilizadas as folhas e o caule da planta e como solventes para as folhas utilizou-se água, acetona, álcool e acetato de etila; já como solventes para o caule: água, acetona e álcool. O método de rotaevaporação foi utilizado para separar o solvente do extrato desejado e em seguida, ao extrato foi adicionado água para solubilizar e proporcionar quantidade suficiente para realização dos testes *in vitro* que foram realizados em fevereiro no Laboratório de Análises Clínicas, do Hospital Veterinário da Unijuí.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (4 ed) o teste de perda por dessecação não elimina apenas a água presente na planta, mas também os constituintes voláteis que são arrastados juntamente com a água. A mesma fonte define que o máximo de perda seja de 12%. A perda por dessecação obtida para a planta *Ateleia glazioviana* neste experimento foi de 12%, estando no limite do determinado pela Farmacopeia.

Além disso, foi verificada a graduação alcoólica. O extrato da folha apresentou graduação de 10°GL e o extrato do caule 30°GL. Para não influenciar na eficácia do produto busca-se desenvolver formulações cujas graduações estejam entre 10 e 40°GL.

Devido ao baixo número de teleóginas encontrado para coleta e o pequeno tamanho das mesmas, os testes foram prejudicados, podendo ser efetuado somente o teste de um produto sendo este a maceração do caule do timbó com acetona. As teleóginas encontradas foram obtidas de diferentes propriedades da cidade de Toropi – RS.

Os resultados obtidos por meio dos testes de biocarrapaticidograma, realizado no Laboratório de Análises Clínicas, do Hospital Veterinário da UNIJUI, apresentaram uma baixa eficiência do produto, estando abaixo do previsto por lei (BRASIL, 1990). Contudo, no Rio Grande do Sul foram realizados estudos, que apresentaram uma resistência do carrapato bovino aos produtos sintéticos utilizados como o amitraz que teve sua eficácia de 54% e a cipermetrina sendo 70% eficiente (SANTOS e VOGUEL, 2012), assim a maceração do caule do timbó em acetona, apresenta um pequeno potencial acaricida, sendo a sua eficácia de 75%.

Conclusão

O insuficiente número de carrapatos inviabilizou a execução de todos os testes propostos. No momento mais produtos estão sendo testados e acredita-se que num período curto de tempo mais resultados possam ser obtidos.

Em específico sobre o teste realizado, os pesquisadores têm a intenção de repetí-lo visto que as fêmeas ingurgitadas utilizadas não possuíam um tamanho uniforme o que pode ter causado um resultado questionável.

Palavras-chave

Eficácia, plantas, carrapato, bovino.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

Referências Bibliográficas

- ARANTES, G. et al. O carrapato do bovino, *Boophilus microplus*, no município de Uberlândia, MG. Análise da sua resistência contra carrapaticidas comerciais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.4, n.2, p.89-93, 1995.
- ARCEGO, M. S. C. Plantas medicinais no controle de doenças no gado leiteiro. 2005. Disponível em: http://www.biodiversidade.rs.gov.br/arquivos/1161520111Plantas_Medicinais_no_controle_de_doenças_em_gado_leiteiro.pdf. Acesso em: 07 mai. 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n.90, de 04 de dezembro de 1989. Normas para produção, controle e utilização de produtos antiparasitários. *Diário Oficial*, 22 jan. 1990, séc. 1, col. 2.
- DRUMMOND, R.O. et al. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory tests of insecticides. *Journal of Economic Entomology*, v.66, p.130, 1973.
- FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 4ed. Brasília, 2010.
- FILHO, P. J. M.; OLIVEIRA, L. F. V. D. A especialização e a concentração da produção de leite nas microrregiões do Rio Grande do Sul (1990 – 2007). *Ensaio FEE*, Porto Alegre, v. 31, n. Especial, junho 2011.
- GAVA A.; BARROS C.S.L. Field observations of *Ateleia glazioviana* poisoning in cattle in Southern Brazil. *Veterinary and Human Toxicology*, v.43, n.1, p. 37-41, 2001.
- GOMES, A.; KOLLER, W. W.; BARROS, A. T. M. D. Suscetibilidade de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a carrapaticidas em. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 41, n. 8, p. 1447-1452, agosto 2011. ISSN 0103-8478.
- GRISI, L. et al. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária*, Porto Alegre, v. 21, n. 125, p. 8-10, 2002.
- IEPEC. Pecuária intensiva agrava problema com carrapatos. Instituto de Estudos Pecuários, 2013. Disponível em: <http://www.iepec.com/noticia/pecuaria-intensiva-agrava-problema-com-carrapatos>. Acesso em: 28 jan. 2015.
- LEITE, R.C. et al. In vitro susceptibility of engorged females from different populations of *Boophilus microplus* to commercial acaricide. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.4, n.2, p.283-294, 1995.
- MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. *A Hora Veterinária*, n. 135, p. 15-23, 2004.
- OLIVO, C.J.; CARVALHO, N.M.; SILVA, J.H.S.; VOGEL, F.F.; MASSARIOL, P.; MEINERZ, G.; AGNOLIN, C.; MOREL, A.F.; VIAU, L.V. Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 406-410, mar-abr, 2008.
- SANTOS, F. C. C.; VOGEL, F. S. F. Resistência do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* frente ao amitraz e cipermetrina em rebanhos bovinos no Rio Grande do Sul de 2005 a 2011. *Revista Portuguesa de Medicina Veterinária*, Santa Maria, p. 121-124, 2012.
- SILVA, T.P.P. Tem veneno na pecuária? Riscos associados ao uso de carrapaticidas na pecuária leiteira. 2010. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente) – Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, 2010. Disponível em:<

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=620597&indexSearch=ID>>. Acesso em: 13 maio de 2014.

VIVAN, MP. Uso do cinamomo (*Melia azedarach*) como alternativa aos agroquímicos no controle do carrapato bovino (*Boophilus microplus*). Florianópolis, 2005. 72p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Curso de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina.