
AÇÃO DO EXTRATO HEXÂNICO DE FRUTOS MADUROS
DE *Melia azedarach* (MELIACEAE)
SOBRE *Boophilus microplus* (ACARI: IXODIDAE)
EM BEZERROS INFESTADOS ARTIFICIALMENTE

Ligia Miranda Ferreira Borges,¹ Pedro Henrique Ferri,² Wellington Córrea Silva,³ Waydson Jerônimo Silva,³ Lorena Socorro Melo,³ Lorena Alessandra Dias Souza,³ Sara Fernandes Soares,³ Karina Alves Faria,³ Natali Almeida Gomes,³ Anderson Mori³ e Nivia Faria Silva³

RESUMO

A eficácia de um extrato hexânico dos frutos de *Melia azedarach* foi avaliada em bezerros infestados artificialmente com *Boophilus microplus*. Os frutos foram submetidos ao processo de secagem e, depois de moídos, o extrato foi produzido em Soxhlet utilizando-se o hexano como extrator. Oito bezerros infestados artificialmente, cinco vezes a cada cinco dias com 2.500 larvas de *B. microplus*, foram divididos em dois grupos (tratado e controle) com base na infestação por carrapatos. No dia zero os animais foram banhados com 3 litros de uma solução a 0,25% do extrato em água e acetona (1,2 litro). Os animais do grupo controle foram banhados com o mesmo volume de água e acetona. Diariamente, as fêmeas ingurgitadas desprendidas naturalmente eram contadas e 40 eram incubadas para acompanhamento dos parâmetros reprodutivos. O número médio de fêmeas, o índice de conversão em ovos (peso da massa de ovos / peso do grupo de fêmeas x 100) e o percentual de eclosão, obtidos nos dois grupos, foram comparados mediante o teste *T* de Student. Após 21 dias de contagens, o número médio de fêmeas ingurgitadas foi significativamente menor ($P < 0,05$) no grupo tratado (188) do que no controle (247). Porém, a conversão e a eclodibilidade das larvas não foram afetadas pelo tratamento. Estes resultados indicam que houve interferência da planta no desenvolvimento do carrapato sobre os animais, mas não na sua reprodução. Comparados com a literatura, os resultados se revelaram promissores. No entanto, novos estudos nos quais se empregue uma formulação adequada em uma concentração mais elevada são necessários para se propor o uso desta planta no controle deste carrapato.

DESCRITORES: *Boophilus microplus*. *Melia azedarach*. Controle.

1 Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia (DMIPP), Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Universidade Federal de Goiás (UFG).

2 Instituto de Química, UFG.

3 Escola de Veterinária, UFG.

Endereço para correspondência: Lígia M. F. Borges, DMIPP, IPTSP, Universidade Federal de Goiás. Rua 235, s/n, Setor Universitário, Cx Postal 131, CEP: 74001-970, Goiânia-GO. Tel: (62) 3521-1574. E-mail: ligia@iptsp.ufg.br

Recebido para publicação em 18/4/2005. Revisto em 25/6/2005. Aceito em 15/7/2005.

INTRODUÇÃO

Boophilus microplus (Canestrini) é um carrapato que tem os bovinos como seus principais hospedeiros. Possui grande importância econômica nas áreas tropicais do mundo, onde é encontrado em alta prevalência e causa redução no ganho de peso e na produção de leite. Além dos danos diretos, é vetor de *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* e *Anaplasma marginale*. No Brasil, as perdas econômicas devidas a este parasito estão estimadas em 2 bilhões de dólares por ano (Grisi et al. 2002).

A resistência crescente de *B. microplus* aos acaricidas (Shaw 1970; Leite 1988), a demanda dos consumidores por carne e leite sem resíduos químicos e a procura por produtos seguros para o meio ambiente têm acelerado a busca por pesticidas botânicos. Entre os pesticidas fitoquímicos com potencial para o controle de carrapatos estão aqueles produzidos com base nas árvores da família Meliaceae. *Melia azedarach*, também conhecida no Brasil como cinamomo ou Santa Bárbara, é originária da Pérsia, Índia e China e, atualmente, encontra-se naturalizada no Brasil onde ocorre com frequência nos ambientes urbano e rural. O efeito desta planta sobre o *B. microplus* foi avaliado recentemente (Borges et al. 2003). A eficácia de diferentes extratos obtidos do fruto maduro de *M. azedarach* foi avaliada sobre larvas e fêmeas ingurgitadas deste carrapato. Inibição total da postura de ovos e mortalidade de quase 100% das larvas foram observadas na concentração de 0,25%, quando o hexano foi usado para a obtenção do extrato. Diante destes resultados promissores, foi desenvolvido este experimento com o objetivo de avaliar, entre bezerros infestados artificialmente com *B. microplus*, a ação do extrato hexânico dos frutos maduros de *M. azedarach* sobre a fase parasitária do carrapato e a interferência da(s) substância(s) ativa(s) sobre alguns índices reprodutivos deste ectoparasito em condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros de *M. azedarach* foram colhidos no Campus da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia (16°34'24"S, 49°17'32"W, 760 m), Goiás, Brasil. Uma excisata desta planta está depositada no herbário da UFG sob o número de registro 27.611. Os frutos após a secagem em estufa com circulação e renovação de ar, foram triturados em moinhos de facas rotativas e, em seguida, submetidos à extração por percolação a frio ou a quente, em Soxhlet, utilizando-se como solvente o hexano. O solvente foi evaporado em aparelho de rotavapor sob pressão reduzida.

Para avaliação da eficácia do extrato hexânico de *M. azedarach* sobre o *B. microplus*, em bezerros infestados artificialmente, foi adotada metodologia descrita por Amaral (1993), com algumas modificações. Oito bezerros machos, mestiços holandês-zebu, com idade entre 6 e 12 meses foram alojados em baias com piso ripado, colocados dois em cada. Cada animal foi tratado com 3 litros de amitraz

(Triatox – Bayer), diluído de acordo com a recomendação do fabricante, usando-se um pulverizador costal. Após 15 dias deste tratamento, foram realizadas cinco infestações a cada cinco dias, com aproximadamente 2.500 larvas de *B. microplus* de 7 a 21 dias de idade. As larvas foram distribuídas ao longo da linha dorsal e cada animal foi contido por duas horas para assegurar a sua fixação. Após 21 dias da primeira infestação, durante três dias foram contadas as fêmeas ingurgitadas ≥ 4 mm presentes nos animais. De acordo com a média de carrapatos, os animais foram agrupados em ordem decrescente. Os dois animais com carga parasitária mais alta foram alocados por sorteio em um dos grupos – controle ou tratado. Assim foi feito com os outros seis animais. Cada grupo ficou composto por quatro bezerros que apresentavam carga parasitária similar.

No dia zero (24 dias após a primeira infestação) cada animal do grupo tratado foi banhado com 3 litros de uma solução a 0,25% do extrato de *M. azedarach* diluído em água e 1,2 litro de acetona. Os animais do grupo controle foram banhados com o mesmo volume de água e acetona. Após o tratamento, diariamente, foram colhidas as fêmeas ingurgitadas que caíram de cada grupo. As fêmeas foram levadas para o laboratório e contadas. Dentre elas 40 foram selecionadas de forma aleatória, depois pesadas e incubadas para o acompanhamento dos índices reprodutivos.

O número médio de fêmeas, o índice de conversão em ovos (peso da massa de ovos / peso do grupo de fêmeas x 100) e o percentual de eclosão obtidos nos dois grupos foram comparados pelo teste *T* de Student, utilizando-se o nível de significância de $P < 0,05$.

O percentual de controle foi calculado segundo as fórmulas descritas por Davey et al. (2001):

$$\text{Percentual de controle} = \frac{\text{IF (controle)} - \text{IF (tratado)}}{\text{IF (controle)}}$$

$$\text{Índice de fertilidade (IF)} = \frac{\text{n.º de } \text{♀♀} \text{ colhidas}}{\text{n.º de } \text{♀♀} \text{ amostradas}} \times \frac{\text{peso da postura}}{\text{peso da fêmea}} \times \% \text{ eclosão}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O percentual de controle do extrato do fruto maduro de *M. azedarach* a 0,25% sobre bezerros artificialmente infestados com *B. microplus* variou de -1,6% a 63,6%, com média de 27,3% nos diferentes dias após o tratamento. Não houve diferença significativa entre os pesos médios das fêmeas (11,7 mg no grupo controle e 11,3 mg no grupo tratado), a conversão em ovos (48,8% e 47,3%) e a eclodibilidade (84% e 88%) (Tabela 1). Após 21 dias de contagens, o número médio de fêmeas ingurgitadas era menor no grupo tratado (188) do que no grupo controle (247); no entanto, quando estas médias foram comparadas a cada sete dias, não houve diferença

entre elas (Tabela 2) ($P < 0,05$). Na maioria dos dias avaliados, o número de fêmeas ingurgitadas foi menor no grupo tratado do que no grupo controle (Figura 1).

Tabela 1. Peso, índice de conversão em ovos (ICO), eclodibilidade e percentual de controle do carrapato *Boophilus microplus* em bezerros tratados com um extrato hexânico de *Melia azedarach* a 0,25%, comparados com o controle sem tratamento

Dia após o tratamento	Peso das fêmeas (g)		ICO (%)		Eclodibilidade (%)		% de controle
	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado	
1	12,4	11,7	51,4	51,4	80	97	6,0
2	13,3	11,7	53,5	52,6	91	89	29,6
3	12,9	11,1	48,1	45,6	80	80	12,9
4	13,5	10,7	44,9	44,1	80	87	52,5
5	13,5	11,8	50,7	49,5	90	95	39,8
6	12,7	11,6	49,7	48,7	87	90	15,2
7	13,2	12,2	48,7	47,6	85	87	46,3
8	12,4	11,6	46,1	47	75	92	-1,3
9	12,5	12,0	47,1	45,1	75	85	44,5
10	12,0	12,0	50,2	49,2	87	92	23,9
11	11,4	13,0	51,0	46,3	92	90	21,5
12	11,3	12,0	51,6	46,7	95	87	31,4
13	11,1	11,2	51,5	46,4	85	92	26,5
14	11,5	11,3	47,8	48,8	82	82	36,4
15	12,0	12,5	51,1	49,4	90	92	15,0
16	12,4	13,1	50,2	51,4	95	92	10,2
17	12,1	11,9	48,3	51,6	90	92	17,8
18	11,7	12,1	46,8	45,6	80	92	21,6
19	10,5	11,1	48,6	47,6	70	87	-1,6
20	7,0	7,2	45,6	37,9	72	72	63,6
21	6,0	4,8	41,8	40,8	87	70	60,8
Média	11,7	11,3	48,8	47,3	84	88	27,3

Os resultados indicam que houve interferência da planta no desenvolvimento do carrapato sobre os animais, mas não ocorreu interferência na sua reprodução. Estes efeitos podem estar associados à morte dos estádios evolutivos parasitários, pois Borges et al. (2003) já haviam observado alta mortalidade (quase 100%) de larvas de *B. microplus* imersas em um extrato hexânico a 0,25% de *M. azedarach*. É possível também que estejam associados a uma ação sobre a regulação

de crescimento. Borges, em pesquisa cujos dados ainda não foram publicados, observou interferência deste mesmo extrato sobre a ecdise de metaninfas e a sobrevivência dos adultos de *B. microplus*. Há de se considerar também uma interferência na alimentação, uma vez que Mulla e Su (1999) relatam este efeito como uma das formas de atuação das plantas da família Meliaceae.

Tabela 2. Média de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* em bovinos tratados com um extrato hexânico de *M. azedarach* a 0,25% e animais controle, em diferentes intervalos após o tratamento.

Intervalo	Controle	Tratado	Teste <i>t</i>
1.º ao 7.º dia	221	168	1,73*
8.º ao 14.º dia	277	204	1,45*
15.º ao 21.º dia	244	193	1,42*
1.º ao 21.º dia	247	188	2,62**

Foi utilizado o teste *t* de Student para comparação entre as médias de fêmeas dos grupos tratado e controle. *Não significativo. ** Significativo ao nível de $P < 0,05$.

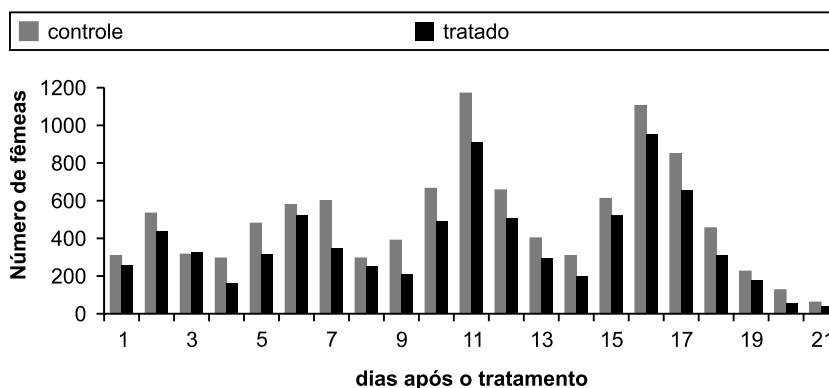


Figura 1. Contagem total de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* em bovinos tratados com um extrato de *M. azedarach* a 0,25% e animais controle, durante 21 dias após o tratamento.

Foi interessante observar que não se verificou nenhuma interferência nos aspectos reprodutivos do carrapato. Estes resultados são diferentes daqueles encontrados por Borges et al. (2003), nos quais foi observada a inibição total da postura de ovos em fêmeas ingurgitadas imersas no extrato de *M. azedarach* a 0,25%. Embora nos dois experimentos – *in vitro* (Borges et al. 2003) e *in vivo* (presente trabalho) – a acetona tenha sido usada para facilitar a diluição do extrato, sabe-se que os produtos naturais mostram um limitado espectro de persistência sob

condições de campo por causa da luz UV, da temperatura, do pH e da degradação microbiana (Mulla; Su 1999).

Não há outros relatos sobre o uso desta planta para o controle de carrapatos em animais infestados. Outra Meliaceae que tem sido avaliada para o controle de carrapatos é a *Azadirachta indica*, conhecida como Neem. Utilizando banhos semanais de um extrato aquoso de Neem a 5%, durante um ano, para o controle de carrapatos Ixodidae em bovinos de diferentes raças, Webb e David (2002) obtiveram percentuais de eficácia variáveis. Maiores eficácias foram observadas nos animais mais resistentes aos carrapatos da raça Tswana (40% a 80%) do que naqueles mais sensíveis da raça Brahman (10% a 36%). Benavides et al. (2001) usaram uma formulação em hidrosol de sementes de *A. indica* a 5% para o controle de *B. microplus* e compararam com o uso do amitraz, que é um carrapaticida comercial. Houve redução no número de fêmeas ingurgitadas desde o primeiro tratamento e não se observou diferença significativa entre as contagens totais de carrapatos dos dois grupos. Um dos problemas ressaltados pelos próprios autores foi a ausência de um grupo controle não tratado, desta forma a redução do número de carrapatos pode ter sido resultado de um fator externo e não dos esquemas de tratamento adotados.

Em virtude das diferenças existentes entre as metodologias do presente trabalho e dos citados anteriormente, torna-se difícil uma comparação entre a eficácia *in vivo* das duas plantas sobre o *B. microplus*. Por outro lado, sabe-se que *in vitro*, *M. azedarach* apresenta mais alta eficácia sobre carrapatos em uma baixa concentração (Borges et al., 2003) do que a *A. indica* (Ndumu et al. 1999; Abdel-Shafy & Zayed 2002; Choudhury 2001). Contudo, para que extrato hexânico do fruto de *M. azedarach* seja recomendado para o controle de *B. microplus*, são necessários novos estudos com o uso de concentrações e formulação mais adequadas.

ABSTRACT

Efficacy of *Melia azedarach* (Meliaceae) hexanic ripe fruit extract against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on artificially infested calves.

The efficacy of *Melia azedarach* ripe fruit extract was evaluated in calves artificially infested with *Boophilus microplus*. The fruits were dried, powdered and extracted with hexane in a Soxhlet extractor. Every five days, for 20 days, eight calves were artificially infested with 2,500 larvae. Three days after the last infestation, the calves were divided into two groups, control and treated, based on tick infestation. The treated calves were sprayed with 3 liters of an extract solution (0.25%) in water (1.8 l) and acetone (1.2 l). The control group was sprayed with the same volume of water and acetone. Every day, the naturally detached females were counted and 40 were incubated to evaluate reproductive parameters. The means of engorged females, egg production (egg mass/female weight x 100) and eclosion percentage were compared using the Student *t*-test. A higher mean number of *B. microplus*

females was observed in the control group (247) than in the treated one (188) ($P < 0.05$); however, the females of both groups had similar indices of egg conversion and hatchability. These results show the interference of *M. azedarach* fruit extract in parasitic stages of *B. microplus*, but no interference against aspects of tick reproduction. These results are promising, but it is necessary to carry out further experiments using a proper formulation for ticks and a higher concentration before using this plant extract to control *B. microplus*.

KEYWORDS: *Boophilus microplus*. *Melia azedarach*. Control.

REFERÊNCIAS

1. Abdel-Shafy S, Zayed AA. In vitro acaricidal effect of plant extract of neem seed oil (*Azadirachta indica*) on egg, immature, and adult stages of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Ixodoidea: Ixodidae). *Vet Parasitol* 106: 89-96, 2002.
2. Amaral, N. K. Guidelines for the evaluation of ixodicides against the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Rev Bras Par Vet* 2: 145-152, 1993, publ 1994.
3. Borges LMF, Ferri PH, Silva WJ, Silva WC, Silva JG. In vitro efficacy of extracts of *Melia azedarach* against *Boophilus microplus*. *Med Vet Entomol* 17: 228-231, 2003.
4. Benavides OE, Hernández MG, Romero NA, Castro AH, Rodríguez BJL. Evaluación preliminar de extractos del Neem (*Azadirachta indica*), como alternativa para el control de la garrapata del ganado *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Rev Colomb Entomol* 27: 1-8, 2001.
5. Choudhury MK. Toxicity of neem seed oil (*Azadirachta indica*) against the larvae of *Rhipicephalus sanguineus* a three-host tick in dog. *J Par Dis* 25: 46-47, 2001.
6. Davey RB, George JE, Snyder DE. Efficacy of a single whole-body spray treatment of spinosad, against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle. *Vet Parasitol* 99: 41-52, 2001.
7. Grisi L, Massard CL, Borja GEM, Pereira JB. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *Hora Vet* 21: 8-10, 2002.
8. Leite RC. *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiográficas da Baixada do Grande-Rio e Rio de Janeiro, uma abordagem epidemiológica. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - UFRRJ, 1988.
9. Mulla MS, Su, T. Activity and biological effects of neem products against arthropod of medical and veterinary importance. *J Am Mosq Control Assoc* 15: 133-152, 1999.
10. Ndumu PA, George JBD, Choudhury MK. Toxicity of neem seed oil (*Azadirachta indica*) against the larvae of *Amblyomma variegatum* a three-host tick in cattle. *Phytother Res* 13: 532-534, 1999.
11. Shaw R D. Tick control on domestic animals. II. The effect of modern methods of treatment. *Trop Sci* 12: 29-40, 1970.
12. Webb EC, David M. The efficacy of neem seed extract (*Azadirachta indica*) to control tick infestation in Tswana, Simmentaler and Brahman cattle. *S Af J Anim Sci* 32: 1-6, 2002.

PRÓXIMOS EVENTOS NA ÁREA DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

XLI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Florianópolis, SC, 6 a 10 de março de 2005. Informações: www.sbmt.org.br

La Enfermedad de Chagas en la Argentina del Siglo XXI. Segunda Reunión Internacional. La Plata, Argentina, 21 a 24 de abril de 2005. Informações: E-mail: incalp@hotmail.com

VI Simpósio Brasileiro de Pesquisa em HIV/AIDS, Ouro Preto, MG, 28 de abril a 1 de maio de 2005. Informações: www.aids.gov.br/simpaid

X Congreso Argentino de Micología, Buenos Aires, Argentina, 22 a 25 de maio de 2005. Informações: www.xcongresomicologia.com.ar

VII Jornada de Doenças Tropicais do Baixo Amazonas, Santarém, PA, 25 a 30 de julho de 2005. Informações: feiras.eventos@valeverdeturismo.com.br

V Congresso Latino-americano de Micologia, Brasília, DF, de 1 a 5 de agosto de 2005. Informações: www.alm.org.br

IV Fórum de Infecções Fúngicas na Prática Clínica, Rio de Janeiro, 2 a 3 de setembro de 2005. Informações: www.planetevents.com.br/infocus

IX International Meeting on Paracoccidioidomycosis, Águas de Lindóia, SP, 2 a 5 de outubro de 2005. Informações: www.sbi.org.br/pbmicosose2005

VII Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedades Parasitarias, Mendoza, Argentina, 16 a 19 de outubro de 2005. Informações: fermfrank@yahoo.com.ar

XXI Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas e Leishmanioses. Uberaba, MG, de 21 a 23 de outubro de 2005. E-mail: jaimesilva@saude.gov.br
Informações: www.xxireuniaouberaba.com.br

XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia, Centro de Eventos da PUCRS, Porto Alegre, RS, de 31 de outubro a 4 de novembro de 2005. Informações: graeteix@pucrs.br (Ver também na página 83 deste número).

XXI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Protozoologia e XXXII Reunião Anual de Pesquisa Básica em Doença de Chagas, Caxambu, MG, 7 a 9 de novembro de 2005. Informações: www.sbpz.org.br

Simpósio Internacional de Micologia Médica, Curitiba, PR, 14 a 18 de novembro de 2005. Informações: queiroz.telles@uol.com.br

XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Mendes Convention Center, Santos, SP, de 23 a 25 de novembro de 2005. Informações: www.sbmicrobiologia.org.br