



BIOTRATAMENTO DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) COM EXTRATOS OBTIDOS DA POLPA DO FRUTO DE *Crescentia cujete* (LINNEU, 1778)

**Biotreatment of *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) with extracts obtained
from the fruit pulp *Crescentia kujete* (LINNEU, 1778)**

Leopoldo Mendonça de Souza¹

Ademir Castro e Silva²

Resumo

A espécie *Rhipicephalus sanguineus*, ocorre em toda a Região Neotropical predominando nas áreas urbanas e acometendo aproximadamente 30% dos cães. No Brasil o controle é baseado no uso de acaricidas químicos, porém, o uso excessivo e sem critérios dos mesmos está levando ao desenvolvimento de cepas resistentes. Neste contexto, objetivando-se subsidiar novas formas de combate ao *Rhipicephalus sanguineus* com componentes naturais é que se verifica a eficácia da polpa do fruto de *Crescentia kujete* (cuieira). Os extratos foram obtidos utilizando-se solvente aquoso e o método a frio. Foram utilizadas fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*, em soluções dos extratos nas concentrações de 2%, 2,5%, 5% e 10%. Foram avaliados os índices de oviposição e a eficiência reprodutiva das fêmeas. Resultados mostram que todas as concentrações inibem a eclosão dos ovos, sendo que a concentração de 5% é onde ocorre a maior inibição e o maior valor para a eficácia carrapaticida do extrato. Conclui-se que o extrato aquoso obtido da polpa do fruto de *Crescentia kujete* possui potencial para inibição da oviposição e redução da atividade reprodutiva do *Rhipicephalus sanguineus*.

Palavras-chave: Carrapato canino, Extrato vegetal, Polpa da cuia.

Abstract

The species *Rhipicephalus sanguineus* occurs throughout the Neotropical Region, predominating in urban areas and affecting approximately 30% of dogs. In Brazil, control is based on the use of chemical acaricides, however, their excessive use and without criteria is leading to the development of resistant strains. In this context, aiming to subsidize new ways of combating *Rhipicephalus sanguineus* with natural components, the effectiveness of the pulp of the fruit of *Crescentia kujete* (calabash tree) is verified. The extracts were obtained using aqueous solvent and the cold method. Engorged females of *Rhipicephalus sanguineus* were used in extract solutions at concentrations of 2%, 2.5%, 5% and 10%. Oviposition rates and reproductive efficiency of females were evaluated. Results show that all concentrations inhibit the hatching of eggs, and the concentration of 5% is where the greatest inhibition occurs and the highest value for the acaricide efficacy of the extract. It is concluded that the aqueous extract obtained from the pulp of *Crescentia kujete* fruit has the potential to inhibit oviposition and reduce the reproductive activity of *Rhipicephalus sanguineus*.

Keyword: dog tick, vegetal extract, calabash pulp.

¹ Licenciado em Ciências Biológicas, Universidade do Estado do Amazonas.

² Doutor em Ciência Biológicas. Professor da Universidade do Estado do Amazonas, Centro de Estudos Superiores de Parintins-CESP/UEA. acesilva@uea.edu.br



Introdução

Os carrapatos são artrópodes da classe Arachnida, ordem Acari e famílias Ixodidae e Argasidae. São de grande importância para economia e saúde pública. Apesar de requererem, obrigatoriamente, sangue de vertebrados e possuírem significativo grau de especificidade os carrapatos podem utilizar o homem como hospedeiro alternativo (MASSARD; FONSECA, 2004). Podem ser encontrados no solo, na vegetação (gramados) e nas frestas de paredes, agarrando-se ao hospedeiro até encontrar um local seguro, como o pescoço ou a cabeça (NEVES, 2011).

De acordo com Soares et al. (2012) os carrapatos precisam de condições específicas para o seu correto desenvolvimento, principalmente de temperatura e umidade, observando-se uma correlação dos níveis de desenvolvimento e das fases com a temperatura e umidade, principalmente na eclosão, já que os ovos são muito susceptíveis a baixa umidade e quanto maior o calor menor o tempo de sobrevivência do carrapato sem se alimentar. Esses autores demonstraram que o período de maior atividade em vida livre das fêmeas adultas e ingurgitadas na ausência de luz, assim como para as primeiras fases de larva e ninfa, se dá em qualquer período do dia.

O controle de carrapatos tem sido objeto de várias pesquisas. No Brasil o controle vem sendo feito através tão somente no uso de acaricidas o que, por outro lado, em função do uso excessivo e sem critérios dos mesmos, tem levado o desenvolvimento de cepas resistentes (SOARES et al., 2012). Segundo Spinosa et al. (2006), a capacidade do carrapato de inativar substâncias químicas é produto da seleção de indivíduos, em baixas frequências, com fatores genéticos com resistência que é elevado com a pressão da utilização dos antiparasitário. Vários estudos têm mostrado a eficiência de extratos vegetais para o combate do gênero *Rhipicephalus* (FERNANDES et al., 2000; FARIAS et al., 2009; PINTO et al., 2011; MACHADO et al., 2013). Outra forma de combate encontra-se nos bioativos de fungos (PRETTE et al., 2005; GARCIA et al., 2008; TAVARES, 2015). Neste contexto, este trabalho objetiva avaliar o potencial carrapaticida do extrato bruto obtido da polpa da cuia (*Crescentia cujete*) sobre fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*.



Metodologia

Coleta das teleóginas

Fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* foram coletadas diretamente do corpo de cães domésticos naturalmente infestados conforme preconiza Gonzales (1993). Estes animais não receberam tratamento por acaricidas por pelo menos 30 dias antes da coleta dos carrapatos. Após a coleta, as fêmeas de *R. sanguineus* foram colocadas em recipientes plásticos com circulação de ar e levadas para o Laboratório de Estudos Fúngicos (LABEF) onde foram higienizadas, com uma passagem em água destilada e o excesso retirado com papel filtro. As fêmeas foram pesadas individualmente em balança semi-analítica, para haver separação homogênea dos grupos tratados e controles.

Bioensaios

Os bioensaios foram realizados no mesmo dia em que os carrapatos foram coletados. As fêmeas foram separadas em grupos de 10 usando três repetições para cada tratamento. Os testes de imersão foram realizados de acordo com o descrito por Drummond et al. (1973). As fêmeas ingurgitadas foram imersas por cinco minutos em 5 mL da solução de cada grupo, posteriormente foram colocadas em placas de Petri acondicionadas em câmara climatizada (27 ± 1 °C e UR > 80%).

A postura total de cada fêmea foi pesada e depois de 8 dias de incubação as posturas foram revisadas diariamente, para avaliar a eclosão da primeira larva e o período de incubação dos ovos de cada fêmea. Para obter-se o percentual de eclosão foi feita a estimativa visual da eclosão de larvas de cada massa de ovos de acordo com o descrito por Amaral (1993).

Avaliação do índice de oviposição (IO) e da eficiência reprodutiva (ER) das fêmeas ingurgitadas

As concentrações elaboradas, para os testes biológicos, foram de 2 %, 2,5 %, 5 %, e 10 %, obtidas dos extratos brutos aquoso da polpa do fruto de *Crescentia cujete*. O extrato bruto aquoso foi solubilizado em água destilada, elaborando as mesmas concentrações supracitadas.

Foram utilizadas 15 fêmeas ingurgitadas coletadas e separadas em grupos de cinco (5). Cada grupo foi pesado e imerso nas concentrações estabelecidas, durante cinco minutos,



conforme metodologia proposta por Drummond et al. (1973). Para os tratamentos controle foram imersos 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 oviposição foram avaliadas no décimo dia após o tratamento. As fêmeas foram retiradas da placa e os ovos foram pesados. Os dados obtidos da pesagem foram utilizados para o cálculo dos Índices de Oviposição (IO) conforme a fórmula proposta por Stendel (1980):

$$\text{IO} = \text{PO} / \text{PIF}$$

$$\% \text{ IO} = \frac{\text{IO (controle)} - \text{IO (tratado)} \times 100}{\text{IO (controle)}}$$

Onde, IO = Índice de Oviposição; % IO = percentual de Oviposição do tratamento.

A eficiência reprodutiva (ER) e o controle de reprodução (CR) foram avaliados no décimo quinto dia após a pesagem dos ovos, conforme metodologia de Stendel (1980), utilizando as seguintes equações:

$$\text{ER} = (\text{PO} / \text{PI}) \times (\% \text{ E})$$

$$\% \text{ CR} = \frac{\text{ER (controle)} - \text{ER (tratamento)} \times 100}{\text{ER (controle)}}$$

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

Resultados

Os resultados do teste in vitro utilizando diferentes concentrações de polpa da cueira (*Crescentia cujete* L.) em fêmeas ingurgitadas coletadas diretamente dos hospedeiros encontram-se listados na Tabela 1. Entre os parâmetros utilizados e expressos na tabela estão o peso médio das fêmeas ingurgitadas, as posturas e os percentuais de eclosão, que



permitiram o cálculo dos Índices de Eficiência Reprodutiva, utilizados para os cálculos de eficácia das concentrações em teste.

Tabela 1. Peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, percentual de eclosão e índices de eficiência reprodutiva do *Rhipicephalus sanguineus* no grupo controle e tratados nas diferentes concentrações do extrato bruto da polpa da cuia (*Crescente kujete*).

Tratamentos	Peso ingurgitadas (g)	Oviposição (peso ovos, g)	Eficiência Reprodutiva (ER)
Controle	0,78	0,55	0,39
2 %	0,82	0,30	0,17
2,5 %	0,34	0,31	0,25
5 %	0,31	0,10	0,08
10 %	0,43	0,16	0,20

Fonte: arquivo dos autores.

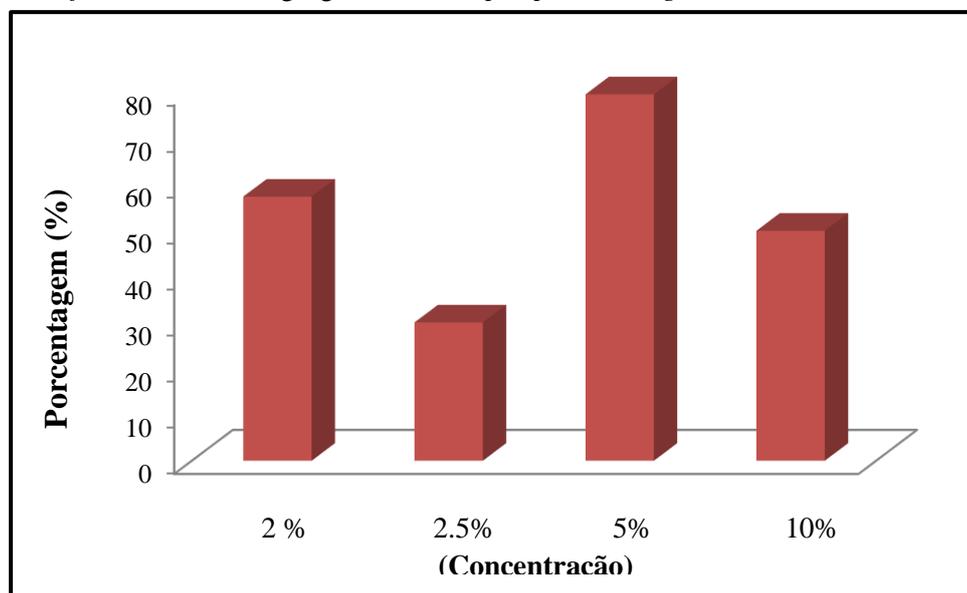
O peso médio das fêmeas ingurgitadas do grupo controle foi de 0,78 g, enquanto que nos grupos tratados com extratos da polpa da cuia variou de 0,31 - 0,82 g. Após quinze dias, a massa de ovos de cada grupo foi pesada evidenciando diferenças entre os grupos, uma vez que o grupo controle apresentou peso médio de postura de 0,55; e nos grupos tratados variou de 0,16 a 0,30 sendo que o menor valor do peso médio de postura ocorreu para a concentração de 10 %.

A capacidade dos extratos em inibir a reprodução das ingurgitadas foi avaliada através da Eficiência Reprodutiva (ER). De modo geral, todas as concentrações inibem a eclosão de ovos sendo que na concentração de 5 % é onde ocorre a maior inibição seguida das concentrações de 2 %, 10 % e 2,5 %.

Os dados referentes à eficácia carrapaticida das concentrações em teste encontram-se listados na Figura 1. A eficácia observada no grupo tratado contendo 2 % do extrato foi de 57,3 % e de aproximadamente 80 % no grupo tratado com 5 % do extrato bruto. Já no grupo tratado com a formulação contendo 10 % de extrato bruto, a eficácia foi de 50 %. O valor observado no grupo tratado com 5 % do extrato da polpa da cuia foi superior que os demais grupos.



Figura 1. Eficácia carrapaticida das diferentes concentrações do extrato bruto da polpa de *Crescentia cujete* em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* em teste in vitro.



Fonte: arquivo dos autores.

Discussão

Trabalhos na literatura consultada descrevem o uso do biopesticida no controle de *Rhipicephalus sanguineus* através de testes in vitro. Um exemplo é o uso do extrato da folha de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) que demonstrou uma eficácia carrapaticida de 71% do extrato hidroalcoólico (CASTRO et al., 2010) diferente da observada no presente estudo para o extrato aquoso da polpa do fruto de *Crescentia cujete* que girou em torno de 80%.

A eficiência sobre o índice de oviposição demonstrado neste estudo para os extratos de *C. cujete* são comparáveis a resultados obtidos com extratos vegetais e oriundos de outras fontes não vegetais.

Fernandes et al. (2000), por exemplo, analisou o óleo de *Azadirachta indica* (Nim), em diversas concentrações em testes de imersão de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*, e obtiveram, na concentração de 3 %, índice de oviposição de 0,26 enquanto que no presente estudo numa concentração menor de 2,5 % o índice foi de 0,31, ou seja, 5,5 % mais eficiente na inibição da oviposição. Ressalta-se, entretanto, que aqueles autores testaram óleos



essenciais de Nim e no presente estudo foi testado compostos bioativos da polpa do fruto de *Crescentia cujete*.

Pires (2006) utilizou extratos aquosos da planta *Simarouba versicolor* em fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* com o único objetivo de avaliar a inibição da postura dos carrapatos. Os resultados obtidos são diferentes aos do presente estudo ao comparar os extratos aquosos, pois para aquele estudo não houve inibição na postura dos carrapatos, enquanto que no presente estudo observou-se uma maior inibição de postura, ao comparar com o grupo controle, na concentração de 5%. Por outro lado, o extrato vegetal aquoso de *Calotropis procera* A. (algodão de seda) testado para o controle reprodutivo de carrapato do gênero *Rhipicephalus*, mostrou haver controle de 98,5 % na concentração 5 % (LAZARO et al., 2012) resultado similar encontrado no presente estudo para a polpa do fruto de *Crescentia cujete* que foi de 92 % na mesma concentração.

Arruda et al. (2011) utilizaram o extrato etanólico da polpa dos frutos de *Crescentia cujete* L e verificaram o potencial carrapaticida contra as larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* na concentração de 200 mg/mL (73,9 %) e nenhuma inibição na concentração de 10 mg/mL. Nosso resultado mostrou um percentual de 92 % de no controle reprodutivo de *Rhipicephalus sanguineus* do extrato aquoso da polpa do fruto na concentração de 20 mg/mL (= concentração de 5 %). Em carrapatos ixodídeos, cada teleógina ingere intracelularmente em torno de três mililitros de sangue durante o parasitismo em determinado hospedeiro e, transforma 60% de sua massa corporal em ovos (GONZÁLES, 2002). A maioria das proteínas do sangue ingerida é convertida em vitelogenina (OBENCHAIN; GALUN, 1982 apud TAVARES, 2015) uma proteína responsável pelo amadurecimento dos ovócitos. Compostos presentes nos extratos aquoso da polpa do fruto de *Crescentia cujete* podem estar inibindo a produção da vitelogenina ou a conversão de sangue na proteína, sabendo-se que o amadurecimento dos ovócitos não possui uma sincronia, podendo ser encontrado em uma mesma fêmea, diferentes fases de desenvolvimento.

A ação das formamidinas pode ser outra forma possível de ação do extrato aquoso da polpa do fruto de *Crescentia cujete* na diminuição do índice de oviposição uma vez que segundo Spinosa et al. (2006), agem inibindo a liberação dos ovos de teleóginas, impedindo a



contração da musculatura genital, conseqüentemente, diminuído a massa de ovos liberada pela fêmea ingurgitada de *Rhipicephalus sanguineus*.

Conclusões

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que o extrato aquoso obtido da polpa do fruto da cueira (*Crescentia cujete*) possui atividade acaricida no carrapato canino *Rhipicephalus sanguineus*. Sua utilização resulta na inibição da oviposição e, conseqüentemente, uma acentuada redução da atividade reprodutiva da espécie. A concentração indicada para o controle do carrapato é a de 5%, concentração que atingiu os níveis ótimos de controle. Sugere-se que, em futuros estudos, realizados com a espécie, sejam abordados temas sobre a composição química do extrato da polpa do fruto evidenciando princípios ativos responsáveis por sua ação acaricida, permitindo a legalização de patentes e, conseqüente, regularização de produtos derivados. Outro aspecto é ampliação de estudos químicos e biológico de *C. cujete* com uso de uma variabilidade maior de solventes (em ordem crescente de polaridade) e extração à frio e à quente para se verificar a influência da temperatura na eficiência dos extratos uma vez que muitos princípios ativos presentes em vegetais são termolábeis e os seus extratos devem ser preparados à frio.

Doenças transmitidas e/ou causadas por carrapatos é uma realidade enfrentada pelos proprietários de animais domésticos. A prevenção é feita por inseticidas industriais com boa eficácia, porém de alto custo e em função do uso indiscriminado alguns já apresentam alta taxa de resistência. Outro aspecto deletério desses inseticidas é que deixam resíduos no ambiente e muitas vezes causam reações adversas ao animal. Assim, uma solução viável para minimizar esses impactos seria desenvolver produtos orgânicos acessíveis a todas as classes de criadores. Tendo em vista os resultados obtidos a respeito do uso do extrato da polpa do fruto de *Crescentia cujete* é imprescindível a continuidade da investigação do uso desse extrato no controle/combate do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, sendo necessários novos experimentos que venham elucidar o potencial dos metabólitos secundários. Dessa forma, existe a possibilidade de que, no futuro, o extrato da polpa do fruto de *C. cujete* possa ser utilizado à parte ou em consonância com outras plantas que já possuem tais características de repelência ou morte em carrapatos e/ou vacinas usadas no controle e na prevenção destes



ectoparasitas, levando a uma diminuição do uso de carrapaticidas, minimizando essas desvantagens em torno dos produtos comerciais.

Referências

AMARAL, N.K. Guidelines for the evaluation of ixodicides against the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 2, p. 144–151, 1993.

ARRUDA, M.M.S; PEREIRA, S.G.; LIMA, A.S.; SOUZA, C.S.; SILVA, L.O.; COSTA-JUNIOR, L.M.; GUILHON, G.M.P.; SANTOS, L.S. Estudo preliminar do extrato etanólico de polpa dos frutos de *Crescentia cujete* L. (Bignoniaceae) sobre larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 23 a 26 de maio, 2011. Disponível em <http://sec.s bq.org.br/cdrom/34ra/resumos/T2650-2.pdf>. Acesso em 30 maio 2022.

CASTRO, et al. Prospecção de plantas medicinais para controle do carrapato dos bovinos em Mato Grosso do Sul. **IV Congresso Nordestino de Produção Animal**, RN, 2010.

DRUMMOND, R.O.; ERNEST, S.E.; TREVINO, J.L.; GLADNEY, W.J.; GRAHAN, O.H. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, n. 1, p. 130-133, 1973.

FARIAS, M.P.O; SOUZA, D.P; ARRUDA, A.C; WANDERLEY, A.G; TEIXEIRA, W.C; ALVES, L.C; FAUSTINO, M.A.G. Potencial acaricida do óleo de andiroba *Carapa guianensis* Aubl. sobre fêmeas adultas ingurgitadas de *Anocentor nitens* Neumann, 1897 e *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 4, p. 877-882, 2009.

FERNANDES, F.F. Atividade *in vitro* de permetrina, cipermetrina e deltametrina sobre larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari, Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 6, p. 621–626, 2000.

GARCIA, M.V; MONTEIRO, A.C; SZABÓ, M.P.J; PRETTE, N. Eventos externos e internos da infecção de larvas e ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* por *Metarhizium anisopliae*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 4, p. 855-863, 2008.



- GONZALES, J.C., MUNIZ, R.A., FARIAS, A. et al. Therapeutic and persistent efficacy of doramectin against *Boophilus microplus* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 49, p. 107–119, 1993.
- GONZÁLES, J.C. O carrapato dos bovinos *Boophilus microplus* (Can. 1887) (Revisão histórica e conceitual). **A Hora Veterinária**, v. 21, n. 125, p. 23-28, 2002.
- LÁZARO, S.F.; FONSECA, L.D.; FERNANDES, R.C.; TOLENTINO, J.S.; MARTINS, E.R.; DUARTE, E.R. Efeito do extrato aquoso do algodão de seda (*Calotropis procera* Aiton) sobre a eficiência reprodutiva do carrapato bovino. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v. 14, n. 2, p. 302-305, 2012.
- MACHADO, A.F; CASTRO E SILVA, A; RIBEIRO, H.C.T; PROCÓPIO, A.R.L; PINHEIRO, C.C. S; MARTINS, J.R. S; SILVA, W.C. Atividade biológica de extratos acetato de etila, etanólico e aquoso de timbó (*Lonchocarpus floribundus*) sobre carrapato bovino. **Acta Amazônica**, v. 43, n. 2, p. 135–142, 2013.
- MASSARD, C.L; FONSECA, A.H. Carrapatos e doenças transmitidas comuns a homens e animais. **A hora veterinária**, v. 135, n. 1, p. 15-23, 2004.
- NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 12. ed. São Paulo: Atheneu, 2011.
- PINTO, Z.T; QUEIROZ, M.M.C; BARBOSA, J.V. Efficiency of the latex from *Euphorbia splendens* var. *hislopilii*, in the control of *Rhipicephalus (Boophilus) sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 3, 2011.
- PIRES, J.E.P. Efeito dos extratos aquoso e etanólico de planta *Simarouba versicolor*, St. Hill sobre larvas e teleóginas de carrapatos *Boophilus microplus*, Canestrini, 1887 e *Rhipicephalus sanguineus*, Latreille, 1806. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2006.
- PRETTE, N; MONTEIRO, A.C; GARCIA, M.V; SOARES, V.E. Patogenicidade de isolados de *Beauveria bassiana* para ovos, larvas e ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 855-861, 2005.
- SOARES, D.B; MARTINS, M.M; GERARDI, M; RAMO, V.N. Distribuição sazonal do *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) no município de Uberlândia, Minas Gerais. **Veterinária Notícias**, v. 18, n. 2 (supl.), p. 27-30, 2012



SPINOSA, H.S; GÓRHIK, S.L; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

STENDEL, W. The relevance of different test methods for the evaluation of tick controlling substances. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 51, n. 3, p. 147-152, 1980.

TAVARES, J.S. **Biotratamento de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) com extratos obtidos de fungos basidiomicetos do Baixo Amazonas**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia- /MBT). Universidade do Estado do Amazonas, Manaus (AM), 2015.

Trabalho apresentado em 30/05/2022

Aprovado em 14/06/2022