

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO CARVACROL E TIMOL SOBRE NINFAS DE *Amblyomma cajennense* (ACARI: IXODIDAE).

Tatiane de Oliveira Souza Senra¹, Fernanda Calmon¹, Viviane Zeringóta Rodrigues¹, Renata Matos¹, Caio Márcio de Oliveira Monteiro², Geovany Amorim Gomes³, Mario Geraldo de Carvalho³, Erik Daemon¹

1 – Programa de Pós-graduação em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, Brasil. 2 – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 3 – Departamento de Química – ICE da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi verificar a atividade acaricida dos monoterpenos carvacrol e timol em diferentes concentrações sobre ninfas não ingurgitadas de *Amblyomma cajennense*. O teste foi realizado nas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 µl/ml (mg/ml), sendo adotado o teste de pacote de larvas com pequenas adaptações. Foi formado um grupo controle com larvas tratadas com etanol 50%. Os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada (27±1°C e UR>80±10%) e para cada tratamento foram feitas 10 repetições. A mortalidade foi avaliada após 24h. Foi observado mortalidade de 64,7 % na menor concentração testada de carvacrol (2,5 µl/ml), atingindo a letalidade de 100% das ninfas nas demais concentrações, nos testes com o timol a mortalidade de 100% dos carrapatos foi observada a partir da concentração de 10,0 mg/ml. Este estudo investigou a atividade carrapaticida de moléculas de origem vegetal, com o intuito de selecionar substâncias que tenham eficiência no controle destes ectoparasitos.

Palavras-chave: *Amblyomma cajennense*, Lamiaceae, Monoterpenos.

INTRODUÇÃO

Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787), é popularmente conhecido como “carrapato estrela”. É encontrado com frequência infestando equídeos, seus hospedeiros preferenciais na fase adulta. Estes ectoparasitos possuem grande importância do ponto de vista da saúde pública e econômico-zootécnico nos sistemas de exploração animal. As infestações por este carrapato ocasionam perdas econômicas importantes, em decorrência da queda de produtividade dos animais e dos gastos com o uso incorreto de produtos carrapaticidas (PRATA et al., 1996).

Os óleos essenciais produzidos pelas plantas são mecanismos de comunicação intra/interespecíficos utilizados por elas em fenômenos envolvendo competição e defesa. São produtos do metabolismo secundário com diversos arranjos moleculares, sendo classificados em diferentes grupos químicos. Essas complexas substâncias são aproveitadas pelo homem para várias finalidades, sendo sintetizadas e exploradas principalmente pelas indústrias farmacêutica e alimentícia. Estudos recentes têm dado atenção especial aos químicos de origem vegetal com propriedades biocidas, onde se revelam promissores no combate às pragas (REGNAULT-ROGER & PHILOGÈNE, 2008).

O controle com substâncias de origem vegetal ou moléculas sintetizadas a partir dessas substâncias tem sido apontado na literatura como promissora alternativa no controle de carrapatos. Entre elas estão os monoterpenos carvacrol e o timol. Cetin et al. (2010) relataram que o óleo essencial de *Origanum minutiflorum*, cujo constituinte majoritário é o carvacrol, teve atividade sobre *Rhipicephalus turanicus* (Pomerantsev, 1936). O mesmo foi observado por Martinez-Velazquez et al. (2011) que testaram o óleo de *Lippia graveolens* sobre larvas de *R. microplus*. A atividade carrapaticida do carvacrol isolado também já foi demonstrada por Cetin et al. (2010), que testaram esse monoterpeno sobre *Hyalomma marginatum* (Kock, 1844) e verificaram alta mortalidade dos adultos. E o timol, presente em óleos de algumas plantas da família Lamiaceae também apresenta atividade carrapaticida sobre *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806), *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) e *A. cajennense* (MENDES et al., 2011). Daemon et al.

(2012) demonstraram que existe diferença quanto a eficácia do timol em relação a metodologia da formulação, ressaltando a potencialização da substância na formulação etanólica. Assim, o presente estudo foi avaliar o potencial carrapaticida do timol em solubilização etanólica e do carvacrol sobre ninfas não ingurgitadas de *A. cajennense*.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP) da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. As ninfas de *A. cajennense* utilizadas nos experimentos foram oriundas de colônia mantida através de infestações artificiais em coelhos.

O carvacrol testado foi obtido na empresa Sigma-Aldrich®, com grau de pureza de 99,9%; já os cristais de timol foram obtidos por intermédio da empresa Henrifarma Químicos e Farmacêuticos LTDA. O solvente utilizado para a diluição das substâncias foi o etanol 50%, sendo testadas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 µl/ml (mg/ml). A solubilização do timol foi feita segundo metodologia proposta por Scoralik et al. (2012).

As ninfas submetidas aos testes tinham entre 15 e 21 dias após a ecdise, sendo a metodologia utilizada semelhante à de Stone & Haydoc (1962), em que o papel filtro com dimensões de 6x6cm foi dobrado ao meio e teve suas laterais previamente vedadas por clips, formando um envelope; posteriormente foram colocadas cinco ninfas em cada pacote e, depois de vedado, cada lado externo do envelope foi umedecido homogeneamente com 90µl das soluções a serem testadas. Os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada (27±1°C e UR>80%) e a avaliação da mortalidade foi feita após 24h, quando foram quantificadas ninfas vivas e mortas com a utilização de bomba a vácuo acoplada em uma mangueira de borracha com uma ponteira adaptada na extremidade. A mortalidade foi obtida pela seguinte fórmula: Mortalidade (%) = (total de larvas mortas/total de larvas) x 100.

A análise estatística foi realizada utilizando o software Biostat versão 5.0. Os valores percentuais foram transformados em $\sqrt{\text{arco seno } x}$ e analisados por ANOVA e teste de Tukey (p<0,05). No caso de distribuição não paramétrica, os valores foram comparados através dos testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis e Student Newman-Keuls (p<0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos testes realizados com ninfas não ingurgitadas de *A. cajennense* o carvacrol matou 64,7% na menor concentração (2,5 µl/ml) e nas demais concentrações atingiu 100% de mortalidade. Todos os grupos tratados apresentaram diferença significativa (p<0,05) em relação ao grupo controle. O timol causou a mortalidade de 2 e 40 % nas concentrações de 2,5 e 5,0 µl/ml respectivamente, não sendo constatadas diferenças significativas (p<0,05) entre estas concentrações e o grupo controle; entretanto, as demais concentrações apresentaram eficiência de 100% sobre a ninfas (Tabela 1).

O resultado do presente trabalho reforça o potencial carrapaticida do carvacrol também para ninfas não ingurgitadas de *A. cajennense*, que já havia sido descrito por Cetin et al. (2010) para adultos de *Hyalomma marginatum*. O resultado obtido nos grupos tratados com timol em formulação etanólica foi suficiente para causar mortalidade de 100% das ninfas a partir da concentração de 10.0 mg/ml, sendo semelhante ao descrito por Mendes et al. (2011) ao testarem a formulação solubilizada em banho-maria sobre ninfas ingurgitadas da mesma espécie de carrapato. Apesar da semelhança nos resultados obtidos é importante destacar a facilidade e eficiência da solubilização etanólica comprovadas por Daemon et al. (2012), a qual se mostra mais adequada, viabilizando estudos para testes *in vitro* e *in vivo*.

Tabela 1 – Mortalidade média de ninfa não ingurgitada de *A. cajennense* tratadas com diferentes concentrações de timol e carvacrol em condições de laboratório (27±1°C e UR>80±10%).

	Carvacrol	Timol
Controle	0,0 ^a ±0,0*	0,0 ^a ±0,0*
2,5 µl/ml	64,7 ^b ± 26,3	2,0 ^a ±6,3
5,0 µl/ml	100,0 ^b ±0,0	40,0 ^a ±24,9
10,0 µl/ml	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^b ± 0,0
15,0 µl/ml	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^b ± 0,0
20,0 µl/ml	100,0 ^b ±0,0	100,0 ^b ± 0,0

Letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% (p>0,05).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CETIN, H.; CILEK, J. E.; OZ, E.; AYDIN, L.; DEVECI, O. & YANIKOGLU, A. 2010. Acaricidal activity of *Satureja thymbra* L. essential oil and its major components, carvacrol and [gamma]-terpinene against adult *Hyalomma marginatum* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, **170**(3-4): 287-290.
- DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O. ; MATURANO, R.; SENRA, T. O. S.; CALMON, F.; FAZA, A.; AZEVEDO, P. M. C.; GEORGOPOULOS, S. L. & OLIVEIRA, L. F. C. 2012. Spectroscopic evaluation of thymol dissolved by different methods and influence on acaricidal activity against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, DOI: 10.1007/s00436-012-3033-4.
- MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; ROSARIO-CRUZ, R.; CASTILLO-HERRERA, G.; FLORES-FERNANDEZ, J. M.; ALVAREZ, A. H. & LUGO-CERVANTES, E. 2011. Acaricidal effect of essential oils from *Lippia graveolens* (Lamiales: Verbenaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiales: Lamiaceae), and *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, **48**: 822-827.
- MENDES, A. S.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; MATURANO, R.; BRITO, F. C.; & MASSONI, T. 2011. Acaricidal activity of thymol on larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, **183**: 136– 139.
- PRATA, M. C. A.; ALONSO, L. S.; SANAVRIA, A. 1996. Parâmetros biológicos do estágio ninfal de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em coelhos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, **(3)**: 55-57.
- REGNAULT-ROGER, C.; PHILOGÈNE, B. J. R. 2008. Past and current prospects for the use of botanicals and plant allelochemicals in integrated pest management. **Pharmaceutical Biology**, **46**(1/2): 41-52.
- SCORALIK, M.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O. & MATURANO, R. 2012. Enhancing the acaricide effect of thymol on larvae of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) by solubilization in ethanol. **Parasitology Research**, **110**(2):645-648.
- STONE, B. F. & HAYDOCK, K. P. 1962. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *B. microplus* (Can.). **Bulletin of Entomological Research**, **53**: 563-578.