

**Avaliação *in vitro* da ação do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*****SANTOS, F.C.C.\*; VOGEL, F.S.F.***Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Laboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), Universidade Federal de Santa Maria, CEP: 97105-900, Santa Maria-Brasil \*carlini@portoweb.com.br*

**RESUMO:** O uso indiscriminado de produtos químicos no controle do carrapato bovino constitui a principal causa do gradativo aumento do número de cepas resistentes deste parasita às bases disponíveis no mercado. A utilização de óleos essenciais e extratos vegetais é uma prática antiga no controle de carrapatos, porém só recentemente tem recebido a devida atenção dos pesquisadores. O objetivo deste experimento foi avaliar a eficácia *in vitro* do óleo de capim limão (*Cymbopogon citratus*) sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* através do exame de biocarrapaticidograma. Foram testadas seis diluições do óleo de *C. citratus* (1; 5; 10; 25; 50 e 100%) em uma população de carrapatos resistentes a amidínicos e piretróides sintéticos. A inibição de postura foi de 3; 23; 46; 66; 46 e 46%, a eclosão larval foi de 83; 58; 31; 0; 38 e 25% e a eficácia do tratamento foi de 32; 64; 83; 100; 88 e 82%, respectivamente. O óleo de *C. citratus* apresentou controle parcial do carrapato *R. microplus in vitro*, mesmo frente a populações resistentes a produtos químicos.

**Palavras-chave:** carrapaticida, *Cymbopogon citratus*, fitoterápicos, plantas medicinais, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

**ABSTRACT:** *In vitro* evaluation of the action of lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. The indiscriminate use of chemical products to control the cattle tick is the main cause of the gradual increase in the number of strains of this parasite that are resistant to the bases currently available in the market. The use of essential oils and plant extracts is an ancient practice for tick control; however, only recently has it received due attention by researchers. The aim of this experiment was to evaluate the *in vitro* efficacy of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil on engorged females of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* through immersion test. Six concentrations of *Cymbopogon citratus* oil (1; 5; 10; 25; 50 and 100%) were tested against a tick population resistant to synthetic formamidines and pyrethroids. The inhibition of egg-laying was 3; 23; 46; 66; 46 and 46%, the hatching was 83; 58; 31; 0; 38 and 25%, and the treatment efficacy was 32; 64; 83; 100; 88 and 82%, respectively. *C. citratus* oil showed partial control of the tick *R. microplus in vitro*, even against populations resistant to chemical products.

**Key words:** acaricide, *Cymbopogon citratus*, phytotherapeutic medicines, medicinal plants, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

**INTRODUÇÃO**

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é o ectoparasita de maior impacto econômico na pecuária brasileira. Os principais prejuízos causados por este parasita são relacionados à baixa conversão alimentar, perda de peso crônica, redução da produção de leite, redução da qualidade do couro, lesões na pele que favorecem desenvolvimento de miíases, anemia, transmissão de patógenos tais como *Babesia bigemina*, *B. bovis* e

*Anaplasma marginale*. O controle deste ácaro é realizado a base de produtos químicos há muitos anos, o que tem causado a seleção de populações de carrapato com resistência aos acaricidas. Neste contexto, a análise de técnicas alternativas de controle é uma área promissora de pesquisas e investimentos e entre estas áreas destaca-se a fitoterapia. A utilização de extratos vegetais no controle do carrapato tem sido foco de pesquisas a nível mundial (Alvaréz et al., 2008).

*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Poaceae) é erva perene, ereta, de 60 cm a 2 metros de altura, possui folhas esverdeadas, aromáticas, estreitas, longas e paralelinérveas partindo da base. Neste fitoterápico são encontrados flavonóides, alcalóides e triterpenos que lhe conferem várias atividades como antibacteriano, antifúngico, inseticida, diurético, anticarcinogênico, hipotensivo e anti-inflamatório (Silva et al., 2005). É uma planta medicinal que possui em sua estrutura os princípios ativos citral, geraniol, metileugenol, mircenol, citronelal, ácido acético e ácido caproico. O óleo essencial é extraído das folhas que, quando jovens, são compostas na maior parte de citral, sendo que a este componente é atribuído a maioria das propriedades farmacológicas da planta (Silva et al., 2010). Os óleos essenciais de plantas do gênero *Cymbopogon* têm sido alvo de pesquisas devido à ação carrapaticida (Chagas et al., 2012), assim como a possibilidade do uso dentro de sistema orgânico de criação de bovinos.

O objetivo deste experimento foi avaliar a eficácia de diferentes concentrações do óleo essencial *C. citratus* sobre teleóginas de *R. microplus* em experimentos *in vitro*.

## MATERIAL E MÉTODO

Os testes *in vitro* foram conduzidos no Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal de Santa Maria, entre os meses de abril e junho de 2010. Foi coletado um total de 270 teleóginas de *R. microplus*, em bovinos naturalmente infestados. No laboratório, as mesmas foram lavadas, secas e separadas em 9 grupos, com 10 teleóginas cada, baseado na técnica descrita por Drummond et al. (1973). O óleo essencial foi fornecido pela empresa Tecpon (Cachoeirinha, Rio Grande do Sul, Brasil), tendo sido extraído da planta através do método de arraste de vapor.

O estudo foi constituído de 9 tratamentos, sendo que o grupo I correspondeu ao grupo controle não tratado, e os grupos II ao VII corresponderam às diferentes concentrações do óleo de *C. citratus* (1; 5; 10; 25; 50 e 100%, respectivamente). Os tratamentos VIII e IX corresponderam aos produtos químicos amitraz 12,5% e cipermetrina 5%.

As teleóginas foram imersas em 20 mL das soluções correspondentes a cada tratamento por 5 minutos. Após a imersão, as teleóginas foram secas em papel toalha e fixadas através de fita adesiva em placas de Petri, previamente identificadas. A seguir, estas foram levadas à estufa climatizada (27°C, UR>80%) por 14 dias. Após o período de postura, o total de ovos foi pesado e transferiu-se 0,3 g desse conteúdo para tubos de ensaio, vedados com algodão, sendo, novamente, encaminhadas para a estufa onde foram mantidas por 26 dias. Após o período de

incubação dos ovos realizou-se a estimativa do percentual de eclodibilidade larval e, em seguida, foram calculadas a eficiência reprodutiva (ER) e a eficácia do tratamento (ET) de acordo com Drummond et al. (1973), através das seguintes fórmulas:

$$ER = \frac{\text{peso dos ovos} \times \% \text{ de eclosão} \times 20.000}{\text{peso das teleóginas}}$$

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

Os tratamentos foram realizados em triplicata e os resultados foram obtidos através das médias. A avaliação estatística foi realizada pelo método de análise de regressão através do programa SAS 9.0 Analyst, a um nível de significância de 5%.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

Os tratamentos de I a VII apresentaram inibição de postura (IP) de 0; 3; 23; 46; 66; 46 e 46% respectivamente. A eclosão larval (EL) de 100, 83; 58; 31; 0; 38 e 25%, respectivamente. E a eficácia do tratamento (ET) de 0; 32; 64; 83; 100; 88 e 92% respectivamente (Tabela 1). A IP, EL e ET para os produtos amitraz e cipermetrina foi de 40; 50; 71% e 40; 20; 90%, respectivamente, sendo estes os tratamentos VIII e IX, respectivamente.

Na análise de regressão linear com os dados de inibição de postura (x) e concentração do óleo de capim limão (y) foi verificada associação não significativa ( $p > 0,05$ ) expressa na equação  $y = 28,1 + 0,356x$ . Com os dados de eclosão de postura (x) e concentração do óleo (x) foi verificada associação não significativa ( $p > 0,05$ ) expressa na equação  $y = 50,2 - 0,338x$ . Com os dados de eficácia do tratamento (x) e concentração de óleo (y) foi verificada associação significativa ( $p < 0,05$ ) expressa na equação  $y = 64,7 + 0,371x$  (Figura 1). Estes resultados indicam que o óleo de capim limão a 5% seria suficiente para se obter uma eficácia de 100% em avaliações *in vitro* e que concentrações superiores a 5% não necessariamente obtém eficácia máxima.

Para um produto químico ser considerado de alta eficácia ele precisa eliminar mais que 95% dos carrapatos, de média eficácia entre 90-95% e de baixa eficácia menos de 90% (Brasil, 1990). Diante dos resultados dos produtos químicos testados pode-se afirmar que esta população é resistente a compostos amidínicos e piretróides sintéticos. O óleo essencial de *C. citratus* a 25% ocasionou morte de todas as teleóginas, obtendo 100% de eficácia. Já os óleos a 50 e 100%, apesar de estarem em maior concentração, apresentaram resultados inferiores, porém ainda relevantes na área da fitoterapia devido ao controle parcial dos carrapatos. Uma possível explicação seria

**TABELA 1.** Médias percentuais de inibição de postura (IP), eclosão larval (EL) e eficácia do tratamento (ET) conforme as diferentes concentrações do óleo de *Cymbopogon citratus* (C) sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Santa Maria, RS, Brasil, 2010.

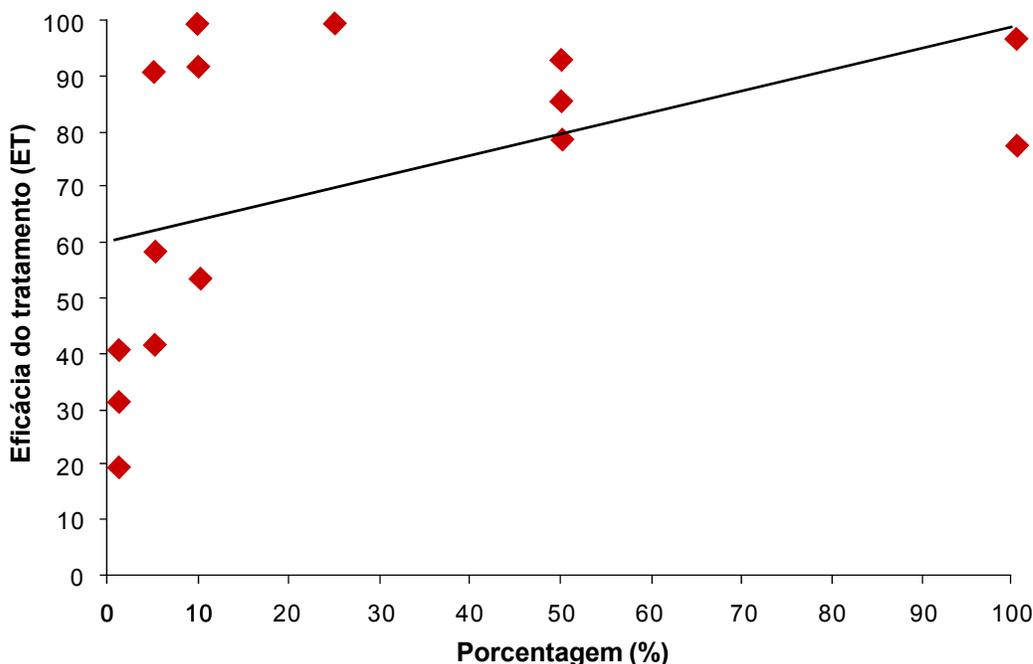
Tratamento	C (%)	IP (%)	EL (%)	ET (%)
I	0	0	100	0
II	1	3	83	32
III	5	23	58	64
IV	10	46	31	83
V	25	66	0	100
VI	50	46	38	88
VII	100	46	25	92
VIII	amitraz	40	50	71
IX	cipermetrina	40	20	90

que o óleo puro tem densidade e capilaridade em níveis diferentes quando comparado ao diluído, e, por isto, o princípio ativo não apresenta o mesmo poder de penetração nos carrapatos formando uma película oleosa ao redor da teleóquina. O óleo em alta concentração também apresenta inferior biodisponibilidade e solubilidade (Chagas et al., 2012). Os resultados indicam que esta planta apresentou controle parcial dos carrapatos e por isto merece maior atenção e pesquisas mais aprofundadas acerca da ação carrapaticida.

*C. citratus* já possui ação fitoterápica comprovada como antimicrobiano (Onawunmi et al., 1984) e contra nematoides gastrintestinais de caprinos em experimentos *in vitro* (Almeida et al., 2003).

Chungsamarnyart & Jiwajinda (1992) estudaram destilados das folhas de *C. citratus* e de *Cymbopogon nardus*, observando que ambos são capazes de causar a morte de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus in vivo*. Os resultados *in vitro* corroboram com os achados *in vivo* deste autores, afirmando uma ação carrapaticida da planta.

Broglio-Micheletti et al. (2009) testaram diversos extratos de fitoterápicos utilizados empiricamente no controle do carrapato bovino. Em ensaios *in vitro*, estes autores verificaram que após a imersão das teleóginas no extrato de *C. citratus* apenas a metade sobreviveu, no entanto, 75% dos ovos eclodiram e geraram larvas, sendo a eficácia do tratamento de 18%. Silva et al. (2007) testando extrato



**FIGURA 1.** Análise de regressão linear com os parâmetros de eficácia do tratamento (ET) (x) e concentração do óleo de capim limão (%) (y) em teleóginas de *R. microplus*. Santa Maria, RS, Brasil, 2010.

alcoólico de *C. citratus*, através do exame biocarrapaticidograma encontraram índice médio de eficácia de 42% e atribuíram este fato à capacidade desta planta em interferir na ovoposição e fecundação das fêmeas ingurgitadas. O atual experimento apresenta resultados que corroboram com esta constatação. Silva et al. (2008) realizaram ensaios *in vitro* com a planta na forma de extrato bruto, solução aquosa, solução alcoólica a 50% e constataram baixa taxa de mortalidade do parasita, alta taxa de eclosão dos ovos, e que nenhum tratamento teve eficácia acima de 50%. Os autores demonstraram que apesar da baixa eficácia, este fitoterápico apresenta controle parcial sobre o carrapato e sugerem pesquisas mais detalhadas sobre métodos de fracionamento dos extratos, identificação, purificação e caracterização estrutural das substâncias presentes no mesmo.

Carneiro et al. (2000) encontraram 68% de eficácia média *in vitro* testando óleo essencial de *C. citratus* em teleóginas de *R. microplus*, resultado similar ao deste experimento onde foi constatado 76,5% de média. Soares (2003), também *in vitro*, testando extrato bruto de *C. citratus* obteve eficácia máxima de 48%, sendo que isto foi atribuído à formulação testada, uma vez que o veículo oleoso apresenta uma melhor difusão dos princípios ativos contidos nesta planta.

Heimerdinger et al. (2006) testaram o extrato alcoólico de *C. citratus* a 2,72% *in vivo* e encontraram eficácia média de 40; 46 e 41% para os dias 3,7 e 14 pós tratamento, respectivamente. Em estudos *in vitro*, Heimerdinger et al. (2009) encontraram eficácia média de 45% utilizando o extrato alcoólico a 23%, indicando controle parcial deste fitoterápico sobre o carrapato bovino. Corroborando com estes resultados, no presente experimento a eficácia de 1% em ensaios *in vitro* foi similar ao encontrado *in vivo* pelo autor citado, mesmo com diferente formulação do fitoterápico.

Clemente et al. (2006) em estudo *in vitro* com óleo essencial de *C. citratus* nas concentrações de 50; 25; 12,5 e 6,25% obtiveram eficácia de 15; 10; 6 e 1%, respectivamente. Estes resultados diferem dos encontrados no presente estudo, onde a eficácia mínima foi de 32% e a maioria dos tratamentos foi superior a 80%. Esta divergência pode ser atribuída ao diferente diluente utilizado pelos autores e a interação com os componentes do fitoterápico e poder de penetração nas teleóginas.

Uma possível explicação para divergência de resultados entre os autores seria a diferença quanto à forma de armazenamento e extração do óleo, a quantidade e a parte utilizada da planta, a época de colheita, o manejo do solo, entre outros. Com o intuito de prevenir esta situação seria necessária uma padronização no método de colheita, manipulação e extração do óleo essencial de *C. citratus*, assim como

estudos fitoquímicos aprofundados sobre a sua composição e modo de ação. A escassa informação técnica a respeito da interação de resultados *in vitro* e *in vivo* também é limitação da fitoterapia.

## CONCLUSÃO

O óleo de *C. citratus* apresenta controle parcial em teleóginas ingurgitadas de *R. microplus* em ensaios *in vitro*, e, após avaliações *in vivo*, pode possuir um uso promissor como carrapaticida, inclusive em populações resistentes a bases químicas.

## REFERÊNCIA

- ALMEIDA, M.A. et al. Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (capim santo) e de *Digitaria insularis* (L.) Fedde (capim açu) sobre cultivos de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.12, n.3, p.125-9, 2003.
- ÁLVAREZ, V. et al. Control *in vitro* de garrapatas (*Boophilus microplus*; Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales. **Revista de Biología Tropical**, v.56, n.1, p.291-302, 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n. 90, de 04 dez. Normas para produção, controle e utilização de produtos antiparasitários. **Diário Oficial**, 22 jan, s. 1, col. 2, 1990.
- BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F. et al. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.4, p.44-8, 2009.
- CARNEIRO, M.C.B. et al. Susceptibilidade *in vitro* de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* a alguns óleos vegetais. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16., 2000, Recife, **Anais...**, Recife, 2000, 264p.
- CLEMENTE, M.A.S. et al. Avaliação do potencial acaricida de *Cymbopogon nardus* e *Cymbopogon citratus* no controle de fêmeas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). In: SEMANA DE BIOLOGIA E MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA, 29. e 12., 2006, Juiz de Fora, **Anais...** Juiz de Fora, 2006, 256p.
- CHAGAS, A.C.S. et al. *In vitro* efficacy of plant extracts and synthesized substances on *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.110, n.1, p.295-303, 2012.
- CHUNGSAMARNYART, N.; JIWAJINDA, S. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and citronella grasses on tropical cattle ticks. **Kasetsart Journal**, National Science, v.26, p.46-51, 1992.
- DRUMMOND, R.O. et al. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests for insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v.66, n.1, p.130-3, 1973.
- HEIMERDINGER, A. et al. Extrato alcoólico de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*) no controle do carrapato (*Boophilus microplus*) de bovinos leiteiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.1, p.37-9, 2006.

HEIMERDINGER, A. et al. Extratos de capim-cidreira e amitraz em teste in vitro sobre o carrapato bovino. **Livestock Research for Rural Development**, v.21, n.1, article 5, 2009. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd21/1/heim21005.htm>> Acesso em: 23 jan. 2012.

ONAWUMNI, G.O.; YISAK, W.A.; OGUNLANA, E.O. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Journal of Ethnopharmacology**, v.12, n.3, p.279-86, 1984.

SOARES, M.C.S.C. **Avaliação comparativa da eficácia de fitoterápicos e produtos químicos carrapaticidas no controle de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) por meio do biocarrapaticidograma**. 2003. 98p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Departamento de Ciências Veterinárias Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

SILVA, W.W. et al. Ação do extrato alcoólico do capim santo (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. **Agropecuária**

**Científica no Semi-Árido**, v.1, p.46-9, 2005.

SILVA, W.W. et al. Efeitos do neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) e do capim santo [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf] sobre os parâmetros reprodutivos de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) no semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.3, p.1-5, 2007.

SILVA, F.F. et al. Avaliação comparativa da eficácia de fitoterápicos e produtos químicos carrapaticidas no controle do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) por meio do biocarrapaticidograma. **Medicina Veterinária**, v.2, n.3, p.1-8, 2008.

SILVA, M.A.L. et al. Avaliação da composição química de *Cymbopogon citratus* Stapf cultivado em ambientes com diferentes níveis de poluição e a influência na composição do chá. Universidade Federal de Pernambuco, **Acta Scientiarum**, Health Sciences, v.32, n.1, p.67-72, 2010.