

## AVALIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE EUCALIPTO (*Corymbia citriodora*) NO CONTROLE DO CARRAPATO BOVINO

Ida Rúbia Machado Moulin<sup>1</sup>, Wesley de Aguiar Braga<sup>2</sup>, Ueldiane Quintiliano Lins<sup>3</sup>, Victor Dias Pirovani<sup>2</sup>, Dirlei Molinari Donatele<sup>3</sup>, Luciano Menini<sup>2</sup>, Aparecida de Fátima Madella-Oliveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) Av. Alberto Lamego, nº 2000, Parque Califórnia, CEP: 28013602 - Campos dos Goytacazes, RJ – Brasil, idarubiamoulin@gmail.com

<sup>2</sup>Instituto Federal do Espírito Santo campus Alegre, Rodovia ES-482 (Cachoeiro-Alegre), Km 47. Distrito de Rive – Caixa Postal 47, CEP: 29500000 - Alegre – ES, Brasil, wesley.braga@ifes.edu.br, victor.pirovani@ifes.edu.br, lmenini@ifes.edu.br, madellabio@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário - Departamento de Medicina Veterinária, Centro, CEP: 29500000 - Alegre, ES – Brasil, ueldianeql04@gmail.com, dirleidonatele@hotmail.com

### Resumo

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é a principal espécie que acometem bovinos comprometendo a produção e produtividade leiteira no Brasil, estima-se que sejam gastos 3 bilhões de dólares anuais ocasionados pela sua presença e 18 bilhões/ano com gastos relacionados ao tratamento de doenças transmitidas pelo parasitismo. Sendo assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar *in vitro* a eficácia do óleo essencial *Corymbia citriodora* sobre as fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus microplus* na concentração 20% em diferentes tempos. O bioensaio *in vitro* foi conduzido com fêmeas ingurgitadas, utilizando uma emulsão do óleo com Tween 80, chegando na concentração de 20%. Para avaliar a eficácia do óleo, foi analisado a taxa de mortalidade dos carrapatos em diferentes períodos de tempo (24h, 48h e 74h). Os resultados mostraram um aumento significativo na mortalidade dos carrapatos ao longo do tempo, indicando o potencial do óleo essencial como uma alternativa viável aos acaricidas químicos tradicionais.

**Palavras-chave:** Acaricida. Bovinocultura. Ectoparasita. Teste *in vitro*.

**Área do Conhecimento:** Ciências Biológicas

### Introdução

A pecuária é uma das atividades econômicas mais importantes do Brasil, presente em todo o território nacional. Contudo, enfrenta desafios significativos, como a infestação pelo carrapato-do-boi, um ectoparasita hematófago que parasita principalmente bovinos, mas que também pode infectar outros mamíferos, pássaros, répteis e anfíbios (Pereira, 2000). A presença deste parasita resulta em grandes prejuízos econômicos aos produtores rurais, tanto diretos quanto indiretos, comprometendo o sistema imunológico dos animais e acarretando perdas na produção de leite e carne. Esse problema é particularmente grave na pecuária leiteira, onde as condições tropicais favorecem a proliferação de parasitas e bactérias, elevando os custos com insumos para prevenção e controle de doenças (Figueiredo *et al.*, 2017).

Estima-se que o carrapato atinja cerca de 80% dos bovinos a nível mundial (FAO, 2020), o que o torna um dos maiores desafios para a pecuária brasileira, especialmente devido à sua ampla distribuição geográfica e à transmissão de doenças (Garcia *et al.*, 2019). Investimentos na resiliência e na redução dos prejuízos causados por esse parasita são fundamentais para alcançar um futuro sustentável para o setor (FAO, 2021). Rebanhos leiteiros, compostos por raças taurinas, zebuínas e mestiços, são particularmente suscetíveis à infestação por carrapatos, especialmente em regiões tropicais. Fatores genéticos como cor, pelagem, espessura do couro, idade, peso, sexo e estado nutricional influenciam diretamente a resistência ou suscetibilidade dos animais ao parasita (Blecha, 2018). Enquanto as raças zebuínas demonstram maior resistência, as de origem taurina são mais

vulneráveis às infestações, o que agrava os problemas sanitários e eleva os custos de produção na pecuária leiteira.

O carrapato do boi não apenas reduz a eficiência na conversão alimentar, mas também provoca lesões na pele dos animais, favorecendo a ocorrência de miíases, deteriorando a qualidade do couro, e desencadeando doenças como babesiose e anaplasmose, que fazem parte do complexo conhecido como Tristeza Parasitária Bovina (TPB) (Biegelmeyer *et al.*, 2012). Esses impactos reforçam a necessidade urgente de desenvolver alternativas mais eficazes e sustentáveis para o controle do carrapato.

A crescente resistência dos carrapatos aos acaricidas comerciais e os prejuízos ambientais associados ao uso contínuo desses produtos químicos têm incentivado a busca por alternativas naturais. O óleo essencial (OE) de eucalipto *Corymbia citriodora*, rico em citronelal, desponta como uma opção promissora, tanto por sua eficácia acaricida quanto por seu menor impacto ambiental. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar *in vitro* a eficácia do óleo essencial *Corymbia citriodora* sobre as fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus micropus* na concentração 20% em diferentes tempos, buscando fornecer uma base científica para o desenvolvimento de novos acaricidas naturais que possam melhorar a saúde animal.

## Metodologia

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética no uso de animais (CEUA) do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Espírito Santo (Ifes campus de Alegre) sob o protocolo Reg. Nº 23.149.002130/2020-17.

### Obtenção dos carrapatos

Foram coletadas manualmente fêmeas adultas de carrapatos do gênero *Rhipicephalus micropus*, com comprimento superiores a 4,5 mm, retiradas das vacas leiteiras mestiças a girolanda, naturalmente infestadas. As amostras de carrapatos, foram coletadas após a ordenha da manhã, utilizando-se materiais de segurança para garantir a integridade das amostras. Após a coleta, as teleóginas foram encaminhadas ao laboratório, onde foram lavadas, secas e armazenadas sob refrigeração por no máximo 24 horas, até a realização dos bioensaios. Antes dos testes, as fêmeas ingurgitadas foram reavaliadas quanto à motilidade e ao grau de ingurgitamento, descartando-se aquelas em más condições.

### Obtenção e caracterização do óleo essencial

O OE de eucalipto *Corymbia citriodora* foi adquirido na loja virtual, da empresa Jacy Fragrâncias LTDA ME, localizada em Santa Bárbara D' Oeste/SP. Sendo armazenado conforme a recomendação do fabricante até o uso.

A amostra do óleo essencial de eucalipto *Corymbia citriodora* foi analisada por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC/FID) (aparelho Shimadzu GC-2010 Plus) e por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS) (aparelho Shimadzu QPMS-2010) seguindo a metodologia de De Souza *et al.* (2017). Foram empregadas em ambas as análises as seguintes condições cromatográficas: coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase estacionária DB5 (0,25 µm de espessura do filme); N<sub>2</sub> (em análise de GC/FID) e He (em análises de GC/MS) como gás de arraste com fluxo de 3,0 mL/min; a temperatura do forno seguiu uma programação em que permaneça por 3 minutos a uma temperatura inicial de 40 °C e em seguida aumentando gradativamente 3 °C/minuto até atingir 240 °C, mantendo-se nesta temperatura por 5 minutos; temperatura do injetor de 250 °C; temperatura do detector de 280 °C; razão de split de 1:30. As análises por GC/MS foram realizadas em um equipamento operando por impacto eletrônico com energia de impacto de 70 eV; velocidade de varredura 1.000; intervalo de varredura de 0,50 fragmentos/segundo e fragmentos detectados de 29 a 400 (m/z). A identificação dos componentes químicos dos óleos foi realizada pela comparação de seus espectros de massas com os disponíveis no banco de dados das espectrotecas Willey7, NIST05, NIST05s com a co-injeção de padrões e pelos Índices de retenção LTPRI.

Para o cálculo dos Índices de LTPRI (Linear Temperature Programmed Retention Indexes), foi utilizada uma mistura de n-alcanos lineares (C7 a C40). O LTPRI calculado para cada composto é

comparado com valores da literatura (Adams, 2007; Lubeck, 1981), sendo calculado através da equação:

$$TPRI = 100n + 100 \frac{t_{R(i)} - t_{R(n)}}{t_{R(n+1)} - t_{R(n)}}$$

Onde: i: é o composto de interesse; n: é o número de átomos de carbono do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente anterior ao tempo de retenção de i; t<sub>Ri</sub>: é o tempo de retenção ajustado; t<sub>Rn</sub>: é o tempo de retenção ajustado; t<sub>Rn+1</sub>: é o tempo de retenção ajustado do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente posterior ao tempo de retenção de i.

O percentual relativo de cada composto do óleo essencial foi calculado através da razão entre a área integral de seus respectivos picos e a área total de todos os constituintes da amostra, dados estes obtidos pelas análises realizadas por cromatografia a gás com detector de ionização de chama (GC/FID).

### Preparo da emulsão do OE

Para o preparo da emulsão, foi realizado pré-teste nas fêmeas ingurgitadas do carrapato com Span 20 e Tween 80, onde o mesmo se mostraram excipientes, optando posteriormente pelo Tween 80 pelo baixo custo do produto.

Para que ocorra a formação da emulsão do OE com a água, a solução foi colocada em Agitador IKARW 20 digital (Multitec) a 1200 rpm por um período de 60 minutos.

Foi preparada uma emulsão estoque a 20%, correspondente a 20 ml de óleo essencial para 2 ml de solubilizante Tween 80. Após o preparo foi verificada visualmente a qualidade da emulsão relacionada à sua estabilidade, não apresentando separação de fases, considerou-se estável. A emulsão foi armazenada em ambiente refrigerado até o seu uso.

### Bioensaios

Os tratamentos foram constituídos utilizando dois grupos controles positivos: água destilada e água destilada + Tween 80 e o controle negativo foi utilizado o OE de eucalipto em uma concentração de 20%.

Foram utilizadas 90 fêmeas, divididas em 10 fêmeas por tratamento. Elas foram colocadas nas placas de Petri (tamanho de 90 mm x 12 mm), sendo três repetições por tratamento.

Foi pulverizado a emulsão, com o auxílio do equipamento Aerógrafo OneTools, com pressão de 15 lb pol<sup>2</sup>, utilizando 2 ml de solução por aplicação por placa. Após a pulverização, as placas de Petri foram envolvidas em papel filme, identificadas de acordo com os tratamentos e incubadas em estufa BOD, em temperatura de 28°C, umidade de 80% (UR), com intuito de estimular a ovoposição e eclosão dos ovos.

As taxas de mortalidade foram registradas com 24, 48 e 72 horas após o início do experimento, com o auxílio Conter, ou seja, foi calculada a mortalidade acumulada, levando-se em consideração o somatório das mortalidades que ocorreram em cada concentração após o período de exposição das fêmeas ingurgitadas dos carrapatos. Através da observação das fêmeas dos carrapatos, foram consideradas mortas aquelas que apresentaram escurecimento cuticular, e as que não conseguiram se mover a uma distância equivalente ao seu corpo.

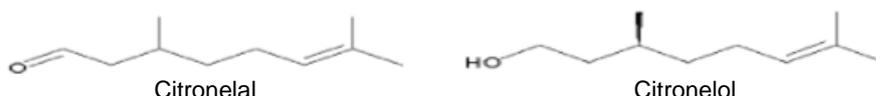
### Análise estatística

Os dados obtidos ao longo da avaliação foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de SNK a 5% de probabilidade através do programa estatístico SAS (2002).

### Resultados

O OE de eucalipto apresentou como predominância os compostos citrionelal (75,64%) e citrionelol (7,93%) (Figura 1), sendo classificados como monoterpenos oxigenados.

Figura 1 - Compostos majoritário identificados no OE de melaleuca e eucalipto



Fonte: Os autores (2024).

Na tabela 1, resultado do bioensaio, foi possível observar um aumento gradativo na mortalidade ao longo do tempo, com 4,66% de mortalidade após 24 horas, 6,66% após 48 horas, e 10% após 72 horas de exposição ao tratamento com 20% de óleo essencial. Em comparação, os grupos controle positivo apresentaram mortalidade mínima, confirmando a eficácia crescente do OE ao longo do tempo (Tabela 1).

Tabela 1 - Taxa de mortalidade de *Rhipicephalus micropus* expostas ao OE de eucalipto ao longo do tempo.

Tratamento	24 horas	48 horas	72 horas
20% OE	4,66±0,57	6,66±1,52	10,00±0,00
Água destilada	0,33±0,57	0,33±0,57	1,00±0,00
Água destilada + Tween 80	0,66±0,57	0,66±0,57	1,66±0,57

Fonte: Os autores (2024).

## Discussão

O OE de eucalipto, especialmente *Corymbia citriodora*, tem se destacado como um potencial agente acaricida e repelente natural contra insetos e artrópodes nocivos, oferecendo uma solução simples, econômica e ecologicamente correta para o controle de pragas. Seus componentes majoritários, como o citronelal, apresentam toxicidade comprovada contra uma ampla gama de organismos, incluindo bactérias, fungos, insetos e ácaros (Batish *et al.*, 2008).

Estes resultados estão de acordo com Ribeiro (2013), que identificou o citronelal como o principal constituinte de *C. citriodora*. Além disso, Santos *et al.* (2015) demonstraram que o óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus*), que também contém citronelal, mostrou uma mortalidade crescente em fêmeas ingurgitadas de carrapatos com o aumento da concentração. A ação acaricida deve-se ao fato de o citronelal permanecer retido principalmente na porção oleosa da planta, comprovando os estudos anteriores de Olivo *et al.* (2008) sobre a eficácia acaricida desse composto.

Chagas *et al.* (2002) identificaram os principais OE comercializados no Brasil, como *Eucalipto citriodora*, *E. globulus* e *Eucalipto staigeriana*, destacando o citronelal, 1,8-cineol e outras substâncias que agem sinergicamente contra carrapatos.

O efeito acaricida do citronelal também foi corroborado por Olivo *et al.* (2008) e Olivo (2013), que verificaram uma eficácia de 95% em experimentos *in vitro* com OE de *Corymbia citriodora* a uma concentração de 3,5%. Em experimentos *in vivo*, essa eficácia se manteve superior a 90%, demonstrando o impacto do produto nas formas imaturas dos carrapatos ao longo de 14 a 21 dias pós-aplicação.

Além de sua eficácia, o óleo de eucalipto é classificado como "geralmente considerado seguro" pela FDA (Food and Drug Administration) dos EUA e como não-tóxico pela USEPA (United States Environmental Protection Agency), o que reforça seu potencial como um acaricida seguro e sustentável para uso ecológico (Pereira, 2010; USEPA, 1993).

## Conclusão

O presente estudo demonstrou que o OE de *Corymbia citriodora* apresentou eficácia acaricida significativa sobre as fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus micropus* em concentração de 20%, com aumento progressivo na mortalidade ao longo do tempo. Esses resultados fornecem uma base científica sólida para o desenvolvimento de novos acaricidas naturais, contribuindo para práticas de manejo mais sustentáveis e melhorias na saúde animal. Assim, o óleo de *Corymbia citriodora* se

mostra uma alternativa promissora no controle de ectoparasitas, reforçando seu potencial como um agente eficaz e ecologicamente correto.

## Referências

ADAMS, Robert P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. **Gruver, TX USA: Texensis Publishing, 2017.**

BATISH, Daizy R *et al.* Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. **Forest ecology and management**, v. 256, n. 12, p. 2166-2174, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>. Acesso em: ago. 2024.

BIEGELMEYER, P *et al.* Aspectos da resistência de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, p. 1-11, 2012.

BLECHA, I. M. Z. **Transcriptômica e imunoinformática para identificação de estratégias de controle complementar do carrapato do boi**. 2018. 109 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2018.

CHAGAS, Ana Carolina Souza *et al.* Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp. em *Boophilus microplus*. *Res. anim. Sci., São Paulo*, v. 39, n. 5, p. 247-253, 2002.

DE SOUZA, Tércio da Silva *et al.* **Óleo essencial de *Psidium guajava*: Influência de genótipos e ambiente**. *Scientia Horticulturae*, v. 216, p. 38-44, 2017.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Response to Containment of Tick Resistance and Tick Borne Diseases in Uganda**. Rome: FAO; 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/3/cb1372en/CB1372EN.pdf>.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The impact of disasters and crises on agriculture and food security**. Rome: FAO; 2021. Disponível em: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/cb3673en>.

GARCIA, Marcos Valério *et al.* **Biologia e importância do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) micropus***. In: ANDREOTTI, Renato; GARCIA, Marcos Valério; KOLLER, Wilson Werner (ed). *Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos*. 1. ed. Brasília: Embrapa Gado de Corte, 2019. cap. 1, p. 17-28.

LOPES, Louyse Gabrielli *et al.* **Avaliação de extratos vegetais e suas formulações sobre o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in vitro**. 2017.

OLIVO, C. J *et al.* Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. *Ciência Rural*, v. 38, n. 2, p. 406-410, 2008.

OLIVO, Clair Jorge *et al.* Efeito do óleo de eucalipto (*Corymbia citriodora*) no controle do carrapato bovino. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 43, n. 2, p. 331-337, 2013.

PEREIRA, José Luiz. **Composição química dos óleos essenciais de espécies de *eucalyptus L' Herit (Myrtaceae)***. 2010. 69 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Programa de Pós Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

PEREIRA, Lourivaldo dos Santos. **Resposta imune do carrapato bovino *Boophilus microplus*: investigação da produção de espécies reativas de oxigênio pelos hemócitos**. 2000. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SANTOS *et al.* Estudo in vitro da eficácia de citronela (*Cymbopogon wynterianus*) sobre o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) micropus*. *Science And Animal Health*. v.3, n.1, p. 15-149, jan/jun., 2015.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Standards for the use or disposal of sewage sludge: final rule. *Federal Regulation*, 58. 32: 9248-9415, 1993.

## Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio do Instituto Federal do Espírito Santo – campus de Alegre.