

# ATIVIDADE CARRAPATICIDA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DO CAPIM-GORDURA<sup>1</sup>

HÉLIO T. PRATES<sup>2</sup>, ALAÍDE B. OLIVEIRA<sup>3</sup>,  
ROMÁRIO C. LEITE<sup>4</sup> e AFRÂNIO A. CRAVEIRO<sup>5</sup>

**RESUMO** – Foram testados o óleo essencial do capim-gordura (*Melinis minutiflora* Beauv.), obtido por arraste com vapor d'água, e os monoterpenos  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno, contra larvas do carrapato-do-boi (*Boophilus microplus*), causando 100% de letalidade, em dez minutos. A análise deste óleo por CG/EM permitiu a indentificação de quatro dentre os cinco componentes principais, como hexanal, 1,8-cineol, 2,6-di-t-butil-4-metilfenol e 9-(E)-eicoseno. O 2,6-di-t-butil-4-metilfenol é proveniente do éter dietílico utilizado na obtenção do óleo essencial.

Termos para indexação: fitoquímica, controle biológico, carrapato-do-boi, *Boophilus microplus*.

## ANTI-TICK EFFECT AND CHEMICAL COMPOSITION OF THE MOLASSES GRASS ESSENTIAL OIL

**ABSTRACT** – The essential oil of molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) obtained by steam distillation and the monoterpenes  $\alpha$  and  $\beta$ -pinene have been tested against *Boophilus microplus* larvae showing lethal effect within ten minutes. GC/MS analysis of the molasses grass essential oil allowed the identification of four out of the five major constituents as hexanal, 1,8-cineole, 2,6-di-t-butil-4-methylphenol and 9-(E)-eicosene. The 2,6-di-t-butil-4-methylphenol was found in the diethyl ether used for the extraction of the essential oil.

Index terms: Phytochemistry, biological control, cattle-tick, *Boophilus microplus*.

## INTRODUÇÃO

Os pêlos ou tricomas glandulares comuns a várias espécies de plantas desempenham um papel de defesa contra insetos fitófagos que delas se alimentam. As substâncias do metabolismo secundário secretadas pelos tricomas devem ter um papel importante nestas interações das plantas que as produzem com os organismos em sua vizinhança. A utilização de metabólitos secundários como substâncias de defesa, os alomônios ou aleloquímicos, já foi comprovada para vários organismos (Levin 1973, Harborne 1977, Wood 1983).

Uma observação interessante é a de que muitas das substâncias de defesa produzidas nos tricomas são encontradas também em insetos (Moore 1964). Assim, vários monoterpenos, que ocorrem no óleo essencial de diversas espécies vegetais, são, também, componentes de secreções defensivas de insetos, particularmente de termitas (Harborne 1977, Baker & Walmsley 1982). Algumas dessas substâncias, como, por exemplo, o limoneno (1),  $\alpha$ -pineno (2) e mirceno (3), são comprovadamente aleloquímicos envolvidos em interações que ocorrem entre plantas e animais (Wood 1983).

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 24 de novembro de 1992.

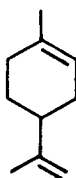
Extraído da Tese de Doutorado apresentada pelo primeiro autor ao Dep. de Química, ICEX, Univ. Fed. de Minas Gerais (UFMG)

<sup>2</sup> Eng.-Quím., Ph.D., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite (CNPGL), Rod. MG 133, Km-42, CEP 36155, Coronel Pacheco, MG.

<sup>3</sup> Farmac., Ph.D., Dep. de Quím., ICEX, UFMG, Prof.-Titular, DPFA, Fac. Farmácia, UFMG.

<sup>4</sup> Med.-Vet., Ph.D., Prof.-Adjunto, Esc. Vet. UFMG.

<sup>5</sup> Quím., Ph.D., Prof.-Titular, Laboratório de Produtos Naturais (L.P.N.). Universidade Federal do Ceará (UFCE).



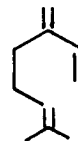
(1)

LIMONENO



(2)

$\alpha$ -PINENO



(3)

MIRCENO

Uma planta que há muito tempo vem sendo estudada como provável obstáculo à infestação de bovinos pelo carrapato-do-boi (*Boophilus microplus*) e que poderia auxiliar no controle biológico desta espécie, é *Melinis minutiflora* Beauv., conhecida popularmente como capim-gordura, capim-meloso, catingueiro, capim-melado, capim-gordo (Corrêa 1952).

Muito sensível à geada, o capim-gordura está bem adaptado às regiões tropicais e subtropicais, desenvolvendo-se, inclusive, em solos de baixa fertilidade. Esta gramínea apresenta folhas e talo cobertos por tricomas glandulares, que produzem uma secreção viscosa, de odor característico (Farias et al. 1986).

Considera-se que o capim-gordura age como obstáculo à infestação de bovinos pelo carrapato, em decorrência do efeito natural de repelência e/ou morte que esta planta exerce sobre as larvas do carrapato durante sua fase de vida livre (Farias et al. 1986).

Verificou-se que, no campo essa forrageira repelia as larvas, sem, no entanto, matá-las (Menéndez 1924), fato este confirmado por Rosenfeld (1925). Posteriormente, Jesus (1934) verificou que essa forrageira provoca a morte das larvas por exaustão (efeito mecânico provocado pela viscosidade do óleo) e por asfixia (a superfície corporal da larva fica coberta pela secreção da planta), além de revelar um efeito de repelência, cujo agente encontra-se no óleo secretado nos pêlos glandulares.

Uma severa redução da população do carrapato na fase não só de larva (Thompson et al. 1978) mas também na fase adulta (Ayacardi et al. 1984), foi atribuída ao capim-gordura, fato este anteriormente constatado por Morgan (1940), que havia observado, também, repelência ao mosquito causador da malária.

A polêmica até então existente na literatura quanto à repelência ou mortalidade de larvas do carrapato pelo capim-gordura foi esclarecida por Hernández et al. (1987), ao constatarem, através de ensaios *in vitro* e *in vivo*, que a atividade biológica desta planta encontra-se no óleo essencial extraído dos tricomas, o qual apresenta ação repelente, acaricida e ovicida. Estes autores afirmam, também, que os efeitos observados são de

natureza química, e não física, como se supunha anteriormente.

Estudo semelhante, conduzido por Sutherst et al. (1982), revelou que as leguminosas tropicais *Stylosanthes scabra* e *S. viscosa* provocam a imobilização e morte de 100% das larvas do carrapato, quando colocadas na base da planta, após um período de 24 horas. Este efeito tóxico foi atribuído a uma mistura dos terpenos  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno (2 e 4) (Sutherst et al. 1982, Sutherst & Wilson 1986).



A atividade acaricida observada por Hernández et al. (1987) para o óleo essencial do capim-gordura levou os autores do presente trabalho a investigar esta atividade no óleo essencial dessa espécie, coletada em Minas Gerais.

Além disso, considerando que a atividade acaricida do óleo essencial de espécies do gênero *Stylosanthes* é devida ao  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno (2 e 4), bem como à existência de terpenos no óleo essencial do capim-gordura, verificada por Alvarez et al. (1986), efetuou-se a análise deste óleo por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM).

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de capim-gordura foram coletadas num mesmo local – o viveiro de mudas do Instituto Estadual de Florestas –, próximo ao CEASA, na BR-040, em Belo Horizonte, MG.

As coletas foram feitas com podão, a 10 cm do solo. O material foi conservado em saco de plástico e submetido a arraste com vapor d'água para obtenção do óleo essencial. Esta técnica foi escolhida com base no trabalho de Hernández et al. (1987), que verificaram ser o óleo secretado nas folhas e talo da planta o responsável pela atividade carrapaticida.

A técnica descrita por Stone & Haydock (1962), para a determinação da DL<sub>50</sub> para ação carrapaticida, consiste em impregnar papel-filtro (7,5 x 8,5 cm), quadrilado, com as substâncias a serem testadas, em diversas diluições. Este papel é colocado para secar, e so-

bre ele são colocadas as larvas (~ 100). Esta técnica não é adequada para substâncias voláteis e óleos essenciais. Por esta razão, os monoterpenos  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno e o óleo essencial do capim-gordura foram submetidos ao teste de atividade acaricida segundo o método de Sutherst et al. (1982). Este teste consiste em colocar uma gase contendo o óleo essencial dentro de um cilindro de aço inoxidável (1 x 1 cm) à prova de larva, sendo este cilindro colocado dentro de um tubo de vidro (5,0 x 1,2 cm) dentro do qual são colocadas também as larvas (~ 200). Esta técnica foi adaptada utilizando-se uma tira de papel de filtro impregnada com as substâncias/óleo essencial a serem testadas, e colocada dentro de um tubo de ensaio, mantido na posição horizontal, contendo no fundo um chumaço de algodão com solução salina (pH7). Dentro deste tubo são colocadas aproximadamente 100 larvas, sendo então vedado a sua extremidade com rolha de borracha.

**Obtenção do óleo essencial**

Em um balão de vidro, de fundo redondo, de 12 litros foram colocados 700 g do capim-gordura picado (parte aérea, composta de folhas e caules) em pedaços de, aproximadamente, 10 cm. Em outro balão, de fundo redondo, de 6 litros, foi gerado vapor d'água, e, através de conexões com tubo de vidro, fez-se passar uma corrente de vapor no recipiente contendo a planta. O arraste foi realizado por um período de oito horas, sendo o vapor coletado após sua condensação. Como não houve separação de fases, a mistura obtida por arraste com vapor d'água foi extraída com éter dietílico, que, após remoção no evaporador rotatório, forneceu 0,07 g do óleo essencial, portanto, com um rendimento de 0,01% (lit.: 0,001%);(Efawatakala... 1922). O óleo obtido, de cor amarelada, foi conservado em geladeira, em ampola de vidro selada.

**Análise do óleo essencial por CG/EM**

Foi realizada em aparelho Hewlett-Packard, mod. HP 5971, tendo sido utilizada uma coluna capilar de sílica fundida, de 30 m x 0,25 mm, com diâmetro interno de 0,25  $\mu$ m, com SE-54 como fase estacionária, e temperatura programada (50-180°C, 4°C/min e depois 180-250°C, 20°C/min).

**Teste de atividade acaricida**

Para evitar a volatilidade dos terpenos  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno (2 e 4) e verificar a sua atividade acaricida, utilizou-se a técnica adotada por Sutherst et al. (1982), conforme acima descrito. Os substratos puros  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno e o óleo essencial do capim-gordura foram testados de acordo com esta técnica.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados indicados na Tabela 1 mostram que as substâncias puras testadas causam a mortalidade das larvas do carrapato mais rapidamente do que em solução (1M).

A mistura dos dois terpenos,  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno (2 e 4), tem, sobre larvas, o mesmo efeito observado quando testados separadamente.

Quanto ao óleo essencial do capim-gordura, foi confirmada sua atividade acaricida constatada por Hernández et al. (1987).

A análise deste óleo por CG/EM, que compreende a comparação com espectros de massa de padrões de um banco de dados, permitiu a identificação de quatro dos onze componentes para os quais esta busca foi realizada (Tabela 2). O componente principal (43,02%) não foi identificado. Um único

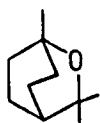
**TABELA 1. Resultados da avaliação da mortalidade das larvas (~ 100) do carrapato-do-boi.**

Substrato/Extrato	Tempo	Mortalidade (%)
$\alpha$ -pineno (2)	10 min.	100
$\beta$ -pineno (4)	10 min.	100
$\alpha$ + $\beta$ -pineno	10 min.	100
$\alpha$ -pineno 1M*	24 h	100
$\beta$ -pineno 1M*	24 h	100
Óleo essencial do capim-gordura	10 min.	100

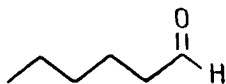
(\*) Solução em azeite de oliva

**TABELA 2. Dados referentes à análise por CG/EM do óleo essencial do capim-gordura.**

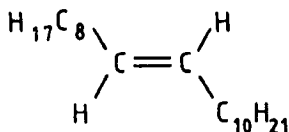
Tempo de retenção (TR)	Índice de Kovats	Teor (%)	Índice de correlação (%)	Identificação
1,49	779	4,60	-	-
1,54	781	43,02	-	-
1,77	788	3,34	-	-
1,84	790	5,00	-	-
3,43	837	5,09	67,48	hexanal (6)
4,70	876	5,24	-	-
9,18	1010	10,60	92,69	1,8-cineol (5)
9,70	1025	4,54	-	-
25,61	1502	9,28	93,24	2,6-di-t-butil-4-metilfenol (8)
35,30	1792	8,02	84,38	9-(E)-eicoseno(7)



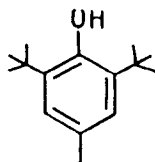
(5)



(6)



(7)



(8)

Substâncias identificadas no óleo mineral do capim-gordura.

monoterpeno foi identificado, o 1-8-cineol (5), que é o segundo componente em abundância (10,60%) no óleo essencial. Os outros dois componentes identificados foram hexanal (6) e 9-(E)-eicoseno (7). Foi identificado, também, o 2,6-di-*t*-butil-4-metilfenol (8), que, provavelmente, é um contaminante proveniente do éter dietílico utilizado na extração durante a obtenção do óleo essencial. De fato, a análise do resíduo obtido após destilação de 1 litro deste mesmo éter mostrou essa abundância como componente principal. Vale ressaltar que não foi observada a presença de  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno (2 e 4), substâncias carrapaticidas de espécies de *Stylosanthes*, e que se supunha poderem estar presentes no óleo essencial do capim-gordura.

A etapa seguinte deste trabalho consistirá na determinação da atividade acaricida para cada um dos componentes do óleo essencial. Dentre os constituintes identificados deste óleo, o 1,8-cineol é reconhecido como ectoparasiticida, e antisséptico (Tyler et al. 1981, Windholz et al. 1983), inibidor do apetite e da oviposição em *Aedes degypti* (Klocke et al. 1987). Estes efeitos permitem supor que ele possa ser um dos componentes responsáveis pela ação acaricida observada no óleo essencial do capim-gordura.

## CONCLUSÕES

### 1. A atividade do óleo essencial do capim-gor-

dua contra larvas do carrapato-do-boi, relatada por Hernández et al. (1987), foi confirmada no presente trabalho.

2. A análise deste óleo por CG/EM permitiu a identificação de quatro dos onze componentes para os quais foi realizada a busca através da biblioteca de padrões. Entre estes está um monoterpeno, o 1,8-cineol (5), que é o segundo componente em abundância (10,6%).

3. Não se detectou  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno (2 e 4), considerados inicialmente como possíveis constituintes desta planta, tendo em vista que estas são substâncias responsáveis pela atividade acaricida de leguminosas do gênero *Stylosanthes*.

## AGRADECIMENTOS

À Sra. Clarice Ribeiro de Castro e ao Sr. João Edmundo Guimarães, Dep. de Química - ICEX - UFMG, pelo apoio técnico no trabalho de fitoquímica; à Sra. Olga Ramos, LPN-UFCE, pela obtenção dos espectros de massa e cromatogramas.

## REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, J. C.; HERNANDEZ, L. E.; RIANO, I.; GALINDO, G. Aislamiento e identificación de algunos compuestos del aceite del pasto *Melinis minutiflora*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*, v.15, p.83-85, 1986.
- AYACARDI, E.; BENAVIDES, E.; GARCIA, O.; MATEUS, G.; HENAO, F.; ZULUAGA, F. N. *Boophilus microplus* tick burdens on grazing cattle in Colombia. *Tropical Animal Health and Production*, v.16, p.78-84, 1984.
- BAKER, R.; WALMSLEY, S. Soldier defense secretions of the South America termites *Cortaritermes silvestri*, *Nasuritermes* sp. n.D. and *Nasuritermes kemneri*. *Tetrahedron*, v.38, n.13, p.1899-1910, 1982.
- CORRÊA, M. P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1952. v.1, p.565.
- EFWATAKALA grass (*Melinis minutiflora*, Beauv.). Kew: Royal Botanic Gardens, 1922. p.305-316 (Bulletin of Miscellaneous Information, 10).

- FARIAS, N. A. R.; GONZALES, J. C.; SAIBRO, J. C. Antibiose e antixenose entre forrageiras e larvas de carrapato-de-boi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.21, n.12, p.1313-1320, 1986.
- HARBORNE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. London: Academic Press, 1977. 166p.
- HERNANDEZ, L. E.; PARRA, D. G.; MARIN, A. C. Acción repelente y acaricida del *Melinis minutiflora* sobre el *Boophilus microplus*. **Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas**, v.16, p.17-21, 1987.
- JESUS, Z. The repellent and killing effect of gordura grass on the larvae of the cattle tick *Boophilus australis*. **The Philippine Journal of Animal Industry**, v.1, p.193-207, 1934.
- KLOCKE, J. A.; DARLINGTON, M. V. BALANDRIN, M. F. 1,8 - Cineole (Eucaliptol) a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). **Journal of Chemical Ecology**, v.13, n.12, p.2131-2141, 1987.
- LEVIN, D. A. The role of trichomes in plant defense. **The Quarterly Review of Biology**, v.48, n.1, p.3-15, 1973.
- MENÉNDEZ, R. R. El *Melinis minutiflora* y la garrapata. **Revista de Agricultura de Puerto Rico**, v.12, n.4, p.219-223, 1924.
- MOORE, B. P. Volatile terpenes from *Nasutitermes* soldiers (Isoptera, Termitidae). **Journal of Insect Physiology**, v.10, p.371-375, 1964.
- MORGAN, E. The tropical grass *Melinis minutiflora* as a preventive against Malaria and other tropical diseases. **The Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.43, p.179, 1940.
- ROSENFELD, A. H. Why not trap crops that entrap? **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.639-640, 1925.
- STONE, B. F.; HAYDOCK, K. P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). **Bulletin of Entomology Research**, v.53, n.3, p.563-578, 1962.
- SUTHERST, R. W.; JONES, R. J.; SCHNITZERLING, H. J. Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. **Nature**, v.295, n.28, p.320-321, 1982.
- SUTHERST, R. W.; WILSON, L. J. Tropical legumes and their ability to immobilize and kill cattle ticks. In: Juniper, B. E.; Southwood, T. R. E. (Eds.). **Insects and the plant surface**. London: Edward Arnold Ltd., 1986. p.185-194.
- THOMPSON, K. C.; ROA, J. E.; ROMERO, I. N. Anti-tick grasses as the basis for developing practical tropical tick control packages. **Tropical Animal Health and Production**, v.10, p.179-182, 1978.
- TYLER, V. E.; BRADY, L. R.; ROBBERS, J. E. **Pharmacognosy**. 8. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981. 345p.
- WINDHOLZ, M.; BUDAVARI, S.; BLUMETTI, R. F.; OTTERBEIN, E. S. **The Merck Index**. 10.ed. New Jersey: Merck & Co., 1983.
- WOOD, W. F. Chemical ecology: chemical communication in nature. **Journal of Chemical Education**, v.60, n.1, p.531-539, 1983.