

AÇÃO ACARICIDA DE EXTRATOS FOLIARES DE ESPÉCIES DE *COFFEA* (RUBIACEAE) SOBRE *DERMANYSSUS GALLINAE* (DE GEER, 1778) (ACARI, DERMANYSSIDAE)

F. Morrone^{1,2}, M.A.S. Mayworm¹, E.C. Tucci³, A. Salatino⁴, O. Guerreiro Filho⁵

¹Laboratório de Fitoquímica, Universidade de Santo Amaro, Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, CEP 04829-300, São Paulo, SP, Brasil. ²Bolsista Unisa.

RESUMO

A ação acaricida sobre *Dermanyssus gallinae* e o teor de cafeína foram determinados em extratos clorofórmicos, etanólicos e aquosos de folhas secas de espécies de *Coffea*. Forte atividade acaricida foi observada nos extratos clorofórmicos de *C. racemosa* (100%), *C. canephora* (100%), *C. salvatrix* (82%), *C. stenophylla* (73%), *C. arabica* (83%) e no extrato etanólico de *C. canephora* (90%). Outros extratos etanólicos demonstraram moderada atividade contra *D. gallinae* (45-62%). Os extratos aquosos demonstraram fraca atividade acaricida. Os maiores teores de cafeína foram observados nos extratos clorofórmicos de *C. arabica* (0,436%), *C. canephora* (0,246%), *C. stenophylla* (0,132%), *C. liberica* (0,127%) e extratos etanólicos de *C. arabica* (0,131%) e *C. canephora* (0,077%). Testes com soluções de cafeína (0,01 – 1,0%) não demonstraram ação acaricida efetiva.

PALAVRAS-CHAVE: Acaricida, *Coffea*, cafeína, *Dermanyssus gallinae*.

ABSTRACT

Chloroformic, ethanolic and aqueous extracts of dried leaves of *Coffea* species were assessed for acaricide activity against *Dermanyssus gallinae* and caffeine content was measured. Strong acaricide activity was observed on chloroformic extracts of *C. racemosa* (100%), *C. canephora* (100%), *C. salvatrix* (82%), *C. stenophylla* (73%), *C. arabica* (83%) and ethanolic extract of *C. canephora* (90%). Others ethanolic extracts showed moderate activity against *D. gallinae* (45-62%). The aqueous extracts showed weak activity. Higher caffeine content were observed on chloroformic extracts of *C. arabica* (0.436%), *C. canephora* (0.246%), *C. stenophylla* (0.132%), *C. liberica* (0.127%) and ethanolic extracts of *C. arabica* (0.131%) e *C. canephora* (0.077%). Tests with caffeine solutions (0.01 – 1.0%) no demonstrated effective acaricidal activity.

KEY WORDS: Acaricide, *Coffea*, caffeine, *Dermanyssus gallinae*.

INTRODUÇÃO

Entre os ácaros hematófagos que parasitam galinhas de postura no Brasil destaca-se *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae), um ácaro cosmopolita. A espécie é considerada a principal praga em aviários de postura no Estado de São Paulo, determinando grandes prejuízos aos criadores, principalmente devido à redução na produção de ovos (TUCCI, 1992). As aves ficam debilitadas podendo chegar à morte se o parasita não for controlado.

GUIMARÃES & TUCCI (1992), estudando a eficácia do óleo mineral contra *D. gallinae*, obtiveram excelentes resultados no controle dessa espécie. Os autores ressaltaram que o óleo possui baixa toxicidade para a ave

e que a ação do óleo sobre os ácaros é física, ocasionando a morte do parasita por asfixia.

Outros métodos alternativos envolvem a utilização de bactérias como *Bacillus thuringiensis*, proposto por MCKEEN *et al.* (1988) e sílica cuja alta capacidade de absorção leva os ácaros à morte por desidratação (KIRKWOOD, 1974).

D. gallinae é um ácaro hematófago parasita de aves domésticas e silvestres. Em criações industriais de postura, onde as aves permanecem todo o ciclo confinadas em gaiolas, formam suas colônias nas instalações do aviário sob os comedouros, bebedouros e vigas de sustentação das gaiolas onde permanecem todo o dia aglomerados em colônias; à noite, abandonam esses locais em busca de alimento, o repasto

³Laboratório de Parasitologia Animal, Centro de Sanidade Animal, Instituto Biológico

⁴Laboratório de Fitoquímica, Instituto de Biociências/USP

⁵Seção de Genética, Instituto Agrônomo de Campinas

sangüíneo, sobre o hospedeiro. Ao se alimentarem, retiram grandes quantidades de sangue determinando sérios problemas às aves como a susceptibilidade a doenças, anemia, queda na produção de ovos e, em alguns casos, as aves podem chegar à morte caso o parasita não seja controlado. Uma fêmea de *D. gallinae* pode ingerir até 2,7 vezes o seu peso em sangue após cada alimentação.

Atualmente *D. gallinae* é um dos principais ácaros que parasitam galinhas poedeiras criadas em sistemas de confinamento e o seu controle representa um grande desafio ao produtor pelo fato dessa espécie apresentar resistência à maioria dos produtos químicos utilizados em seu controle.

A busca por métodos alternativos de controle, sem o uso de substâncias sintéticas, tem sido uma tendência mundial tanto na área agrícola como na área veterinária, buscando-se alimentos de melhor qualidade, sem resíduos tóxicos e conseqüentemente uma melhor qualidade de vida. Dentro desta filosofia, a utilização de substâncias de origem vegetal com propriedades inseticidas tem sido estudada por diversos pesquisadores com resultados bastante animadores.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a ação acaricida sobre *Dermanyssus gallinae* de extratos foliares de espécies de *Coffea* (Rubiaceae) e as possíveis relações entre os teores de cafeína nos extratos e a ação acaricida.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas as seguintes espécies de *Coffea*: *C. arabica* Benth., *C. canephora* Pierre ex Frehn., *C. salvatrix* Swynnerton & Philipson, *C. racemosa* Lour., *C. stenophylla* G. Don e *C. liberica* Bull. Ex K. Schum. As plantas fazem parte do banco ativo de germoplasma do Instituto Agronômico, de Campinas, Estado de São Paulo. Após a coleta os materiais foram armazenados em freezer.

As plantas foram coletadas a partir do 3º par de folhas, submetidas à secagem em estufa a 60°C com ventilação por 48 horas e trituradas em moinho. O pó foi armazenado em freezer até as extrações seqüenciais com clorofórmio, etanol e água, as quais foram realizadas a partir de 20 a 25 g de pó de cada amostra. As extrações com clorofórmio e etanol foram realizadas em aparelho de Soxhlet, por 12 horas e os extratos aquosos foram produzidos em banho-maria a 70°C pelo mesmo período de tempo, trocando-se a água a cada 2 horas. Os extratos foram concentrados a fim de se obter soluções com concentrações de 1%, sendo armazenados em freezer (MATOS, 1997 modificado).

Testes de ação acaricida com os extratos obtidos foram desenvolvidos no Laboratório de Parasitologia do Instituto Biológico de São Paulo, com *Dermanyssus*

gallinae (De Geer, 1778) (Acari, Dermanyssidae). Os ácaros foram mantidos em sala climatizada, a 25 ± 2°C e umidade relativa do ar de 70 ± 10% segundo metodologia descrita por TUCCI (1997). A colônia de ácaros foi alimentada utilizando-se uma ave jovem da espécie *Gallus gallus domesticus*. Para realização dos bioensaios, frascos de vidro de 4,5 cm de altura e 2,5 cm de diâmetro foram impregnados com 0,5 mL de extrato a 1% e deixados à temperatura ambiente para secagem. Após a completa evaporação do solvente, 20 fêmeas de *D. gallinae* foram introduzidas em cada frasco, com auxílio de um pincel. Os frascos do grupo controle foram impregnados com água. Para cada tratamento foram feitas 5 repetições. Os frascos foram fechados e mantidos em câmara climatizada, sob as mesmas condições de temperatura e umidade relativa do ar descritas anteriormente. As avaliações foram feitas após 2 dias anotando-se o número de ácaros mortos. O critério de mortalidade adotado foi o de ausência total de movimento. Testes de ação acaricida foram também desenvolvidos com soluções de cafeína nas concentrações de 0,01; 0,05; 0,10; 0,15; 0,30; 0,50 e 1%.

Dosagens de cafeína foram determinadas nos diferentes extratos, utilizando-se o método colorimétrico proposto por MAZZAFERA & MAGALHÃES (1991).

A análise de variâncias dos dados experimentais foi realizada adotando-se modelo fatorial inteiramente casualizado, sendo as espécies de *Coffea* consideradas como efeito principal e os diferentes extratos, como efeito secundário. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Nos testes de ação acaricida em soluções de cafeína foi adotado o delineamento inteiramente casualizado. As médias dos tratamentos foram também neste experimento, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na comparação do efeito acaricida de extratos de folhas de espécies de *Coffea* sobre adultos de *Dermanyssus gallinae* (Tabela 1), constatou-se que de modo geral que, a mortalidade foi maior (76,84%) quando os ácaros foram expostos aos extratos clorofórmicos e menor (12%) após exposição aos extratos aquosos. Observou-se 100% de mortalidade dos ácaros mantidos sobre extratos clorofórmicos de *C. racemosa* e *C. canephora*. Os extratos clorofórmicos de *C. salvatrix* e *C. arabica* mostraram-se também bastante eficientes (82 e 83%, respectivamente). Entre os extratos etanólicos, o extrato de *C. canephora* mostrou a maior eficiência na mortalidade dos ácaros (90%), enquanto nos demais extratos etanólicos as taxas de mortalidade ficaram entre 45 e 62%. Entre os extratos aquosos, as taxas de mortalidade dos ácaros atingi-

ram no máximo 25% (*C. canephora*), mostrando assim baixa eficiência. Em média, extratos de folhas de *C. canephora*, apresentaram maior atividade acaricida (71,67%), seguidos por extratos oriundos de *C. racemosa* (55,67%). Os extratos provenientes de folhas de *C. liberica* foram os que apresentaram menor atividade. Nesta espécie, a atividade acaricida do extrato etanólico foi, ao contrário das demais espécies, superior àquela apresentada pelo extrato clorofórmico.

Com o objetivo de se relacionar a cafeína com a mortalidade dos ácaros, a concentração desse alcalóide foi determinada nos extratos obtidos a partir das espécies de *Coffea* (Tabela 2). Em média, os maiores teores de cafeína foram encontrados entre os extratos clorofórmicos (0,18%), seguido pelos extratos etanólicos (0,062%). Entre os extratos clorofórmicos, os obtidos a partir de folhas de *C. arabica* e *C. canephora* apresentaram os maiores teores de cafeína (0,436 e 0,246%, respectivamente). Nos extratos clorofórmicos de *C. liberica* e *C. stenophylla* os teores de cafeína foram de 0,127 e 0,132%, respectivamente, e os extratos clorofórmicos de *C. racemosa* e *C. salvatrix* apresentaram os menores teores de cafeína (0,095 e 0,047%, respectivamente). Resultados similares foram observados por ASHIHARA & CROZIER (1999), cujo trabalho mostrou que as folhas de *Coffea salvatrix*, *C. eugenioides* e *C. bengalensis* apresentaram menores teores de cafeína quando comparadas com as folhas de *C. arabica*. Os autores sugeriram que os baixos teores de cafeína, das primeiras, foi uma consequência da lenta taxa de biossíntese desse alcalóide. Entre os extratos etanólicos, os maiores teores de cafeína foram detectados em *C. arabica* e *C. canephora* (0,131 e 0,077%, respectivamente). Entre os extratos aquosos não foi detectada a presença de cafeína utilizando-se o mesmo método de análise. MAZZAFERA & MAGALHÃES (1991) trabalhando com folhas adultas de diversas espécies de *Coffea* e utilizando o mesmo método de dosagem, observaram teores diferenciados de cafeína dos observados neste trabalho (Tabela 2). Diversos fatores podem justificar essas diferenças observadas, como variações genéticas (CLLIFORD *et al.*, 1989; MAZZAFERA & MAGALHÃES, 1991), período que antecede a maturação dos frutos (MORAES & CATANI, 1964) e variação sazonal (SUZUKI & WALLER, 1986).

A cafeína é conhecida por ter efeito tóxico sobre insetos e fungos em concentrações encontradas nas plantas. Lagartas da broca do tabaco, *Manduca sexta*, foram mortas quando alimentadas com uma dieta contendo 0,3% de cafeína. Em concentrações menores observou-se redução no peso das lagartas, devido principalmente à inibição da atividade fosfodiesterase e ao aumento concomitante do AMP (adenosina monofosfato) cíclico intracelular (NATHANSON, 1984). Estudos realizados por JANZEN *et al.* (1977) verificaram a toxicidade de metabólitos secundários como alcalóides

e aminoácidos não-protéicos, em *Callosobruchus maculatus*. Todos os compostos testados entre 0,1 e 5% na dieta apresentaram efeito negativo na taxa de desenvolvimento da fase imatura. Entre 11 alcalóides testados, 9 mostraram-se letais na concentração de 0,1% e outros 2 dentre os quais a cafeína, a concentração letal foi de 1%. Em *Callosobruchus chinensis*, a cafeína causa quase 100% de esterilidade em concentrações de 1,5% (RIZVI *et al.*, 1980a). MAZZAFERA (1991), estudando a composição química das folhas de várias espécies de *Coffea* e a taxa de predação por *Atta* spp., sugeriu que a resistência de algumas espécies de *Coffea* estaria associada a teores mais elevados de cafeína das folhas. Além da ação inseticida, a cafeína tem mostrado ações fungitóxica e fungicida sobre várias espécies de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium* e *Syncephalastrum* (RIZVI *et al.*, 1980b; BUCHANAN *et al.*, 1982). KUMAR *et al.* (1995) estudaram o efeito da cafeína no crescimento micelial, produção e germinação de esporos de *Monocrosporium ambrosium*. Inibição do crescimento micelial foi observada em meio contendo 5.000 ppm de cafeína. Inibição de produção de esporos foi observada em meio contendo 2.000 ppm e a germinação dos conidiósporos foi inibida completamente com 3.750 ppm de cafeína.

No presente trabalho, porém correlacionando-se o efeito acaricida (Tabela 1) e os teores de cafeína (Tabela 2) dos extratos, não é possível justificar a ação acaricida em função dos teores desse alcalóide. Como observou-se na Tabela 1, os extratos clorofórmicos de *C. liberica* e *C. stenophylla* apresentaram ambos cerca de 0,13% de cafeína (Tabela 2). No entanto, a mortalidade de ácaros submetidos aos extratos de *C. liberica* foi de apenas 23% enquanto em *C. stenophylla*, atingiu

Tabela 1 - Mortalidade de adultos de *Dermanyssus gallinae* após exposição a superfícies tratadas com extratos clorofórmicos, etanólicos e aquosos de folhas de espécies de *Coffea*.

Espécie	Número de Ácaros Mortos*		
	Clorofórmico	Etanólico	Aquoso
<i>C. canephora</i>	100,00 a	90,00 a	25,00 a
<i>C. racemosa</i>	100,00 a	55,00 bc	12,00 b
<i>C. salvatrix</i>	82,00 b	62,00 b	9,00 cd
<i>C. arabica</i>	83,00 b	45,00 c	8,00 bc
<i>C. stenophylla</i>	73,00 c	48,00 bc	5,00 bc
<i>C. liberica</i>	23,00 d	56,00 bc	13,00 b
Controle	11,00 e	0,00 d	3,00 d
C.V.** (%)	4,0	6,9	15,3

*Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna ou maiúsculas

iguais nas linhas não diferem entre si segundo Tukey 5%;

**CV = Coeficiente de variação.

Tabela 2 - Teores de cafeína (% P.S.) encontrados nos extratos clorofórmicos, etanólicos e aquosos de folhas de espécies de *Coffea*.

Espécie	Teor de cafeína (% P.S.)*			Média	Mazzafera & Magalhães, 1991
	Clorofórmico	Etanólico	Aquoso		
<i>C. canephora</i>	0,246 b	0,077 b	0,00 a	0,067 b	0,456 **
<i>C. racemosa</i>	0,095 d	0,069 c	0,00 a	0,036 c	0,031
<i>C. salvatrix</i>	0,047 e	0,028 e	0,00 a	0,016 e	0,014
<i>C. arabica</i>	0,436 a	0,131 a	0,00 a	0,116 a	0,929 ***
<i>C. stenophylla</i>	0,132 c	0,035 d	0,00 a	0,036 cd	0,030
<i>C. liberica</i>	0,127 c	0,031 de	0,00 a	0,032 d	0,021

* Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade;

** Cultivar Robusta;

*** Cultivar Catuaí Vermelho;

**** CV = Coeficiente de variação do ensaio.

73% dos ácaros expostos (Tabela 1). Já os extratos clorofórmicos de *C. arabica* e *C. salvatrix* mostraram a mesma eficiência na mortalidade dos ácaros (Tabela 1), porém o extrato de *C. arabica* apresentou 0,436% de cafeína, teor 10 vezes superior ao encontrado no extrato de *C. salvatrix* (Tabela 2). Tais suposições foram corroboradas, observando-se as taxas de mortalidade de *D. gallinae* expostos a soluções com diferentes concentrações de cafeína (Tabela 3), as quais foram semelhantes à encontrada no controle, confirmando a idéia de que nas concentrações presentes nos extratos de folhas de *Coffea*, a cafeína não tem efeito deletério sobre *D. gallinae*. A análise de correlação realizada entre a porcentagem de cafeína nas soluções utilizadas na alimentação e a conseqüente porcentagem de mortalidade de adultos de *D. gallinae* ($r = 0,45$; $P_{(0)} = 0,26$), revelou-se não significativa. Resultados semelhantes foram observados por OLIVEIRA *et al.* (1987), cujo trabalho mostrou que discos foliares de *C. racemosa*, *C. salvatrix*, *C. liberica*, entre outras espécies com baixos teores de cafeína, apresentavam resistência ao ácaro *Oligonychus* (*O.*) *ilicis*, enquanto discos foliares de espécies com teores mais elevados de cafeína eram atacados pelos ácaros.

Dessa forma, os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a alta eficiência de alguns extratos de folhas de *Coffea* na mortalidade de *D. gallinae* deve estar associada a outros compostos secundários que não a cafeína.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHIHARA, H. & CROZIER, A. Biosynthesis and catabolism of caffeine in low-caffeine-containing species of *Coffea*. *J. Agric. Food Chem.*, v. 47, n. 8, p. 3425-3431, 1999.
- BUCHANAN, R.L.; TICE, G.; MARINO, D. Caffeine inhibition of Ochratoxin A production. *J. Food Sci.*, v. 47, n. 1, p. 319-321, 1982.
- CLIFFORD, M.N.; WILLIAMS, T.; BRIDSON, D. Chlorogenic acids and caffeine as possible taxonomic criteria in *Coffea*

Tabela 3 - Efeito acaricida de soluções com diferentes concentrações de cafeína sobre adultos de *Dermanyssus gallinae* expostos a superfícies tratadas.

Teor de cafeína (%)	Mortalidade (%)
Controle	10,0 ± 0,0 a
0,01	8,0 ± 2,4 ab
0,05	4,0 ± 3,3 b
0,10	10,0 ± 3,1 a
0,15	12,0 ± 2,4 a
0,30	12,0 ± 2,4 a
0,50	14,0 ± 3,7 a
1,00	11,0 ± 2,0 a
CV (%)**	24,47

* Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade;

** CV: Coeficiente de Variação.

and *Psilanthus*. *Phytochemistry*, v. 28, n. 3, p. 829-838, 1989.

- GUIMARÃES, J.H. & TUCCI, E.C. Avaliação da eficiência do óleo mineral no controle de *Dermanyssus galinae* (De Geer, 1778) (Acari, Dermanyssidae) em condições de campo e laboratório. *Rev. Bras. Entomol.*, v. 36, n. 4, p. 527-534, 1992.
- JANZEN, D.H.; JUSTER, H.B.; BELL, E.A. Toxicity of secondary compounds to the seed-eating larvae of the bruchid beetle *Callosobruchus maculatus*. *Phytochemistry*, v. 16, n. 2, p. 223-227, 1977.
- KIRKWOOD, A.C. Sorptive dusts for the control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Int. Pest Control*, v. 16, n. 1, p. 12-15, 1974.
- KUMAR, N.S.; HEWAVITHARANAGE, P.; ADIKARAM, N.K.B. Attack on tea by *Xyleborus fornicatus* – inhibition of the symbiote, *Monacrospodium ambrosium*, by caffeine. *Phytochemistry*, v. 40, n. 4, p. 1113-1116, 1995.
- MATOS, F.J.A. *Introdução à fitoquímica experimental*. Fortaleza: Ed. UFC., 1997.
- MAZZAFERA, P. Análises químicas em folhas de cafeeiros atacados por *Atta* spp. *Rev. Agric.*, v. 66, n. 1, p. 33-45, 1991.

- MAZZAFERA, P. & MAGALHÃES, A.C. Cafeína em folhas e sementes de espécies de *Coffea* e *Paracoffea*. *Rev. Bras. Bot.*, v. 14, n.1, p. 157-160, 1991.
- MCKEEN, W.D.; MULLEN, B.A.; RODRIGUEZ, J.L.; MANDEVILLE, J.D. *Bacillus thuringiensis* exotoxin for northern fowl mite control. *Proc. Western Poult. Dis. Conf.*, v. 37, p.140-141, 1988.
- MORAES, F.R.P. & CATANI, R.A. A absorção de elementos minerais pelo fruto do cafeeiro durante sua formação. *Bragantia*, v. 23, p. 331-336, 1964.
- NATHANSON, J.A. Caffeine and related methylxanthines: possible naturally occurring pesticides. *Science*, v. 226, n. 4671, p. 184, 1984.
- OLIVEIRA, C.A.L.; MAURO, S.M.Z.; LUPOLI, S.T. Estudo comparativo da biologia de *Oligonychus (O.) ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) em diferentes cultivares de cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 14., 1987, Campinas, SP. *Anais*. Campinas: 1987. p. 110.
- RIZVI, S.J.H.; PANDEY, S.K.; MUKERJI, D.; MATHUR, S.N. 1,3,7-trimethylxanthine, a new chemosterilant for stored grain pest, *Callosobruchus chinensis* L. *Z. Angew. Entomol.*, v. 90, n. 4, p. 378-380, 1980a.
- RIZVI, S.J.H.; JAISWAL, V.; MUKERJI, D.; MATHUR, S.N. Antifungal properties of 1,3,7-trimethylxanthine, isolated from *Coffea arabica*. *Naturwissenschaften*, v. 67, n. 9, p. 459-460, 1980b.
- SUZUKI, T. & WALLER, G.R. Total nitrogen and purine alkaloids in tea plant throughout the year. *J. Sci. Food Agric.*, v.37, n. 9, p. 765-768, 1986.
- TUCCI, E.C. Ocorrência de ácaros hematófagos em granjas industriais de postura, no Estado de São Paulo e biologia de *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae) em condições de laboratório. São Paulo: 1992. [Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo].
- TUCCI, E.C. A laboratory method for the rearing of *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae). *Arq. Inst. Biol.* São Paulo, v. 64, n.1, p. 1-4, 1997.

Recebido em 6/2/01

Aceito em 14/4/01