

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

CONCENTRADO EMULSIONÁVEL DE *Melia azedarach* (Meliaceae)
NO CONTROLE DE *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae).

Lorena Alessandra Dias de Sousa
Orientador (a): Prof^a Dr^a Lígia Miranda Ferreira Borges

GOIÂNIA
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

LORENA ALESSANDRA DIAS DE SOUSA

CONCENTRADO EMULSIONÁVEL DE *Melia azedarach* (Meliaceae)
NO CONTROLE DE *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae).

Dissertação apresentada para obtenção do grau
de mestre em Ciência Animal junto à Escola de
Veterinária da Universidade Federal de Goiás

Área de Concentração:
Sanidade Animal

Orientador (a):
Prof^a Dr^a Lígia Miranda Ferreira Borges

Comitê de Orientação:
Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri
Prof^a Dr^a Eliana Martins Lima

GOIÂNIA
2008

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS, razão de toda força e fé.

À Universidade Federal de Goiás - UFG.

Ao curso de Pós-Graduação em Ciência Animal - PPGA.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a Lúgia Miranda Ferreira Borges pela amizade, pelos ensinamentos e principalmente pela paciência.

Aos professores e colegas do curso de Pós-Graduação em Ciência Animal

A Sara pelo companheirismo e pela nobreza em ceder seus conhecimentos.

Ao Hélio por fazer do mestrado, um curso divertido e alegre.

A todos os meus colegas do Laboratório de Parasitologia, Carla, Diana, Kenedy que de diversas formas contribuíram para a realização do projeto.

Ao pessoal da Embrapa Gado de Leite, em especial ao John Furlong,. Éder e Klinger, pela parceria.

Ao Vinicius, por todo amor, paciência e carinho.

À minha família, meu pai, minha mãe, irmãos e sobrinhos, base de toda minha existência.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	2
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 O carrapato <i>Boophilus microplus</i>	4
2.2. Controle do <i>Boophilus microplus</i>	6
2.3 Formas alternativas de controle do <i>B. microplus</i>	8
2.3.1 Uso de plantas com atividades acaricidas.....	9
2.4 Plantas com atividades inseticidas.....	9
2.4.1 <i>Melia azedarach</i>	12
2.5 <i>Melia azedarach</i> no controle de insetos	15
2.6 <i>M. azedarach</i> no controle <i>B. microplus</i>	17
3.OBJETIVO GERAL.....	19
3.1 Objetivos específicos.....	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1 Local dos experimentos e duração.....	20
4.2 Avaliação do teor de umidade do fruto verde de <i>M. azedarach</i>	20
4.3 Preparação do extrato hexânico de frutos verdes de <i>M. azedarach</i>	20
4.4 Preparação dos concentrados emulsionáveis de <i>M. azedarach</i>	21
4.5 Avaliações do extrato e dos concentrados emulsionáveis.....	22
4.5.1 Testes de imersão com fêmeas ingurgitadas.....	22
4.5.2 Testes do sanduíche.....	23
4.6 Avaliação de eficácia de <i>M. azedarach</i> através de testes de estábulos.....	24
4.7Análise estatística.....	27
5 RESULTADOS.....	28
6 DISCUSSÃO.....	35
7 CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS.....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>Melia azedarach</i>	13
Figura 2	Animais utilizados no experimento.....	25
Figura 3	Banho de aspersão, feito com bomba costal.....	25
Figura 4	Método de contagem de carrapatos.....	26

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Constituintes e quantidades utilizadas nas diferentes formulações dos concentrados emulsionáveis de *Melia azedarach*.....21
- Tabela 2 Valores médios dos percentuais de conversão em ovos (ICO), de eclosão (PECL) e percentual de eficácia (PEF) do extrato bruto e dos concentrados 1, 2, 3, 5 e 6 de *M. azedarach* sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*.....29
- Tabela 3 Valores de dose letal (DL50%), limite fiducial (95%) e potência relativa para o extrato bruto de fruto verde *Melia azedarach* e dos concentrados emulsionáveis obtidos a partir deste extrato sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*.....30
- Tabela 4 Valores médios da mortalidade de larvas de *B. microplus* tratadas com extrato e concentrado emulsionável 5 de *M. azedarach*, 24, 72 e 168 horas após o tratamento.....31
- Tabela 5 Peso das fêmeas, percentuais de conversão em ovos (ICO), de eclodibilidade e de controle diário de carrapatos (PCD) *B. microplus* em bezerros tratados com um concentrado emulsionável de *M. azedarach* a 0,5% e 0,25%, comparados com o controle sem tratamento.....32
- Tabela 6 Valores médios de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* colhidas de animais tratados com um concentrado emulsionável de *M. azedarach* nas concentrações 0,25% e 0,5% e animais controle, em diferentes intervalos de dias após o tratamento.....33
- Tabela 7 Valores médios dos percentuais de conversão em ovos (ICO), de eclosão (PECL) e percentual de eficácia (PEF) do concentrado de *M. azedarach* formulado para o teste de estábulo, sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*.....34

RESUMO

Boophilus microplus é a principal espécie de carrapato de bovinos de várias partes do mundo, incluindo o Brasil, causando graves prejuízos diretos e indiretos à bovinocultura brasileira. O desenvolvimento de resistência aos acaricidas sintéticos em cepas de *B. microplus* vem se difundindo rapidamente, o que tem incentivado a busca de novos compostos com propriedades inseticidas. Estudos realizados demonstraram o efeito acaricida de extratos da planta *Melia azedarach* sobre *B. microplus*. O objetivo deste trabalho foi verificar a atuação de um concentrado emulsionável obtido a partir de frutos verdes de *M. azedarach* para o controle de *B. microplus*. Frutos verdes foram colhidos e processados no Departamento de Química da UFG para obtenção do extrato, sendo testado, sobre fêmeas e larvas através de testes de imersão em triplicata, com diluições de 0,25% a 0,0156%. Posteriormente foram produzidos 6 concentrados emulsionáveis na Faculdade de Farmácia da UFG, também avaliados como o extrato bruto. A eficácia do extrato e dos concentrados foi avaliada através da comparação do Índice de Eficácia Reprodutiva dos Lotes “Controle e Tratado” para as fêmeas e da mortalidade para as larvas. Frente aos resultados obtidos, selecionou-se o melhor concentrado para a realização do teste de estábulo (desenvolvido na Embrapa Juiz de Fora). Foram realizadas duas extrações, com um total médio de 3,697 kg de frutos secos e moídos, de onde se produziu 264 g (média) de extrato bruto (7,085% rendimento), com teor de umidade médio de 56,20%. Os resultados obtidos “in vitro” demonstraram altos índices de eficácia, principalmente nas maiores concentrações, tanto para o extrato bruto, quanto para alguns concentrados, evidenciando a ação acaricida desenvolvida por *M. azedarach*. Comparativamente o concentrado emulsionável 5 demonstrou superioridade aos demais tratamentos, sendo o concentrado de escolha para realização do experimento. Nos testes realizados sobre larvas de *B. microplus*, tanto o extrato bruto, quanto o concentrado emulsionável 5, causaram altos índices de mortalidade (variando de 5% a 100% para ambos). A mortalidade foi dependente da concentração, sendo o maior índice geralmente observado nas concentrações de 0,25% e 0,125% (100%). Na avaliação do concentrado emulsionável de *M. azedarach* através do teste de estábulo observou-se que o percentual de controle diário variou de -46,7% a 82,6% no grupo tratado com a concentração de 0,25%, e de -16,6% a 89,0% no grupo tratado com a concentração de 0,5% de *M. azedarach* nos diferentes dias após o tratamento. Diferenças significativas foram observadas no número de carrapatos contados, entre o grupo tratado com 0,5% e o controle, com exceção do intervalo 7º ao 13º dia, demonstrando uma eficiência do produto em atuar em fêmeas ingurgitadas e larvas, sendo insignificante sua atuação sobre ninfas. Apesar de promissores, estes resultados não correspondem aos observados em laboratório, sinalizando a necessidade de novos estudos, com novas formulações e sobre estágios específicos.

Palavras-chaves: Carrapato, Cinamomo, Controle-biológico.

ABSTRACT

Boophilus microplus is the main tick species of cattle from various parts of the world, including Brazil, causing severe direct and indirect damage to Brazilian cattle. The development of resistance to synthetic acaricides in strains of *B. microplus* has been spreading rapidly, which has encouraged the search for new compounds with insecticides properties. Studies have demonstrated the acaricide effect of extracts from the plant *Melia azedarach* on *B. microplus*. The objective of this study was to verify the performance of an concentrate emulsion obtained from green fruits of *M. azedarach* for *B. microplus* control. Green fruit were harvested and processed in the Department of Chemistry of UFG for obtaining extract, and tested on females and larvae through tests of immersion in triplicate, with dilutions of 0.25% to 0.0156%. Later were produced 6 concentrated emulsion at the Faculty of Pharmacy, UFG, also valued as the crude extract. The effectiveness of the extract and concentrates was evaluated by comparing the Effectiveness Index of Reproductive Lots of "Control and Treatment" for females and mortality for the larvae. With the results, it was chosen the best concentrate for the test of stable (developed at Embrapa Juiz de Fora). Two extractions were done, with a total average of 3697 kg of nuts and ground, where it produced 264 g (average) of crude extract (7.085% yield), with average moisture content of 56.20%. The results "in vitro" showed high rates of efficiency, especially in higher concentrations, both for the crude extract, and for some concentrated, showing the acaricide action developed by *M. azedarach*. Compared to concentrate emulsion 5, it demonstrated superiority to other treatments, and the concentrate of choice for completion of the experiment. In tests performed on *B. microplus* larvae, the crude extract, as the concentrate emulsion 5, caused high mortality rates (ranging from 5% to 100% for both). Mortality was concentration dependent, and the higher rate generally observed at concentrations of 0.25% and 0.125% (100%). In assessing the concentrate emulsion of *M. azedarach* through the test of stable, it was observed that the percentage of daily control ranged from -46.7% to 82.6% in the group treated with a concentration of 0.25%, and -16.6% to 89.0 % in the group treated with a concentration of 0.5% of *M. azedarach* on different days after treatment. Significant differences were observed in the number of ticks counted among the group treated with 0.5% and control, with the exception of the range 7th to 13th day, showing an efficiency of the product on engorged females and larvae, and insignificant on nymphs . Despite promising, these results do not correspond to those observed in the laboratory, signaling the need for further studies with new formulations and on specific stages.

Key-words: Biological-control, Chinaberry Tree, Tick

1 INTRODUÇÃO

O carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) é sem dúvidas um dos ectoparasitas mais importante dos bovinos devido á sua ampla distribuição geográfica, ocorrendo entre os paralelos 32° Norte e 32° Sul, com alguns focos nos paralelos 35° norte e sul (KESSLER, 1998).

Atualmente *B. microplus*, constitui-se em um dos maiores entraves à pecuária bovina no Brasil. Considerando que as raças bovinas mais susceptíveis a este carrapato são aquelas exploradas para a produção leiteira, este assume especial importância no Estado de Goiás que é o segundo maior produtor de leite do país. A cadeia produtiva do leite é uma das mais importantes do complexo agroindustrial brasileiro, movimentando anualmente cerca de US\$10 bilhões e gerando três milhões de empregos, dos quais acima de um milhão são de produtores rurais. Os prejuízos causados por esse parasita, à pecuária brasileira, superam a um bilhão de dólares anualmente. Tais prejuízos, nos bovinos, são evidenciados, principalmente, pela: a) ingestão de sangue (uma fêmea pode ingerir até 3 mililitros de sangue durante sua alimentação sobre o hospedeiro) que, dependendo do número de infestações, pode comprometer a produção de carne e leite; b) pela inoculação de toxinas nos hospedeiros, promovendo diversas alterações e conseqüências fisiológicas, como a inapetência alimentar; c) pela transmissão de agentes infecciosos, principalmente *Anaplasma* e *Babesia*, responsáveis pela tristeza parasitária bovina (TPB); e d) pela redução da qualidade do couro do animal, por causa das cicatrizes irreversíveis ocasionadas durante a alimentação, verificadas por ocasião de seu beneficiamento no curtume (FURLONG, 1993).

Além desses danos diretos, considerados prejudiciais à bovinocultura brasileira, existem aqueles indiretos, resultantes dos custos da mão-de-obra necessária para o seu combate, assim como as demais despesas com construções e manutenção de banheiros carrapaticidas, compra de equipamentos, aquisição de carrapaticidas, entre outros (EMBRAPA, 2000).

O método para controle de *B. microplus* mais preconizado é a aplicação de produtos sintéticos, pertencentes a diferentes bases químicas como: organofosforados, piretróides, formamidinas, fluazuron, fipronil, avermectinas e spinosad. Os produtos comerciais assim formulados apresentam toxicidade para o

homem e para animais domésticos, além de causarem impacto prejudicial ao meio ambiente em razão da permanência de substâncias ativas, prejudicando a microfauna e algumas espécies da macrofauna. Algumas dessas bases referidas têm restrição ao uso em animais durante o período de lactação (FURLONG, 2000), agravando seu risco e aumentando os custos econômicos.

A resistência crescente de *B. microplus* aos acaricidas utilizados para o seu controle já se encontra difundida em várias cepas desse ectoparasito provenientes do Brasil e outros países onde ele ocorre (SHAW, 1970; ARTECHE, 1972; WHARTON & ROULSTON, 1977; NOLAN, 1981; LEITE, 1988), tornando-se mais um fator que limita o uso desses compostos para esse fim. Em muitas situações a resistência assume tal proporção que os produtores não dispõem de carrapaticidas para o controle de *B. microplus*. Neste sentido, a busca por novos acaricidas se faz necessária.

Portanto, devido aos problemas de resistência, ao alto custo dos produtos químicos e da mão-de-obra na aplicação dos produtos, bem como o aparecimento de resíduos tóxicos na carne e no leite e a contaminação do ambiente, têm-se procurado novos métodos como formas alternativas de controle do carrapato (NOLAN, 1985).

Entre os pesticidas fitoquímicos mais proeminentes estão àqueles derivados das árvores da família Meliaceae. *Melia azedarach*, planta originária da Índia, bem adaptada às condições climáticas do Brasil, teve a ação comprovada sobre diferentes pragas agrícolas e pecuárias (VALLADARES et al, 1999; JUAN et al, 2000, BRUNHEROTTO & VENDRAMIM, 2001, SOUZA & VENDRAMIM, 2001; BORGES et al, 2003; BORGES et al, 2005). Até o momento, sabe-se que os produtos das árvores desta família são relativamente seguros para os mamíferos incluindo o homem, além de outros organismos benéficos como abelhas e inimigos naturais de pragas. Como outros efeitos benéficos, cabe ressaltar, que não há casos de resistência para os produtos das Meliaceae (MULLA & SU, 1999) e que as plantas são uma fonte auto-sustentável, principalmente quando são utilizados suas folhas e frutos, não havendo a necessidade do abate da árvore.

Diversos fatores podem influenciar a atuação de extratos naturais sobre controle de pragas. Alguns autores compararam a ação de extratos de frutos de *M. azedarach*, em diferentes estádios fisiológicos, sobre insetos e carrapatos, verificando que houve diferença de eficácia entre eles, sendo que em todos os

trabalhos o extrato de frutos verdes foi superior ao de frutos maduros (VALLADARES et al, 1999; SOUZA & VENDRAMIM, 2000; BRUNHEROTTO & VENDRAMIM, 2001; SOUSA & BORGES, 2005).

A necessidade do desenvolvimento de produtos que possam ser testados a campo e comercializados a preços competitivos se torna de fundamental importância no controle do *B. microplus* (CHAGAS, et al., 2002). Em estudo realizado por CHAGAS et al. (2002), foram observados que os óleos essenciais de *Eucalyptus* spp tiveram suas ações potencializadas quando transformados em concentrados emulsionáveis, principalmente sobre as larvas. Estes concentrados são mais potentes que o óleo, pois as partículas estão bem menores, tornando-se mais biodisponíveis para penetrar e agir sobre *B. microplus*.

Considerando o grande apelo comercial dos biocarrapaticidas em controlar *B. microplus* de um modo menos agressivo ao meio ambiente, a maior facilidade de manejo de produtos formulados para o uso de soluções, bem como a comprovada eficácia do extrato hexânico obtido de frutos verdes de *M. azedarach* sobre *B. microplus*, desenvolveu-se este projeto.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O carrapato *Boophilus microplus*

B. microplus (Canestrini, 1887) é o ectoparasito economicamente mais importante para a pecuária, considerando-se que 75% da população mundial de bovinos são afetados por ele (BORDIN, 1998). Parasita preferencialmente os bovinos e, ocasionalmente outras espécies animais como os ovinos, caprinos, eqüinos, caninos e, mesmo o homem. Sua ocorrência é relatada na Ásia, Austrália, México, América Central, América do Sul e África, tendo se estabelecido dentro dos climas demarcados pelos paralelos 32° Norte e Sul, com alguns focos nos paralelos 35° norte e sul (KESSLER, 1998). No Brasil, todo o território é potencialmente favorável à sobrevivência do *B. microplus* (SOUZA et al., 1997).

Na Antiga Grécia era chamado de *Croton*, semelhante à mamona, e, pela mesma razão, foi denominado *Ricinus* na Antiga Roma. No ano 77, o carrapato foi citado como hematófago por Plínio em sua *Historia Naturalis*. A designação genérica *Boophilus* do grego "amigo do boi", foi introduzida por Curtice, em 1891, sendo *B. microplus* a única, das 5 espécies conhecidas, reconhecida como presente no Brasil (PEREIRA, 1982).

É originário da Ásia, notadamente da Índia e da ilha de Java. Em função das expedições exploradoras registradas na história, com a movimentação de animais e mercadorias, ocorreu a sua expansão e introdução na maioria das regiões tropicais e subtropicais: Austrália, México, América Central, América do Sul e África (NUÑES et al, 1982). No Brasil, sua introdução parece ter-se dado pela vinda de animais comprados do Chile, no início do século XVIII, via o estado do Rio Grande do Sul, encontrando-se distribuído atualmente em todo o país, variando de intensidade de acordo com as condições climáticas e os tipos raciais de bovinos explorados (GONZALES, 1995). De acordo com FURLONG e EVANS (1991), no Brasil, *B. microplus* encontra condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento, do extremo Sul em direção ao Norte ou Nordeste, possibilitando-lhe completar de 2,5 a 3 ou 3 a 4, e potencialmente até 5 gerações por ano, em locais com temperaturas médias anuais acima de 17° C.

É um parasita monoxeno mostrando especificidade ao hospedeiro bovino. Seu ciclo se completa em duas fases, a fase parasitária, que se inicia quando a larva se fixa no hospedeiro, e a fase de vida livre que começa com o desprendimento da teleógina. Na temperatura de 25-27°C, três dias após a queda da fêmea do hospedeiro, começa a postura dos ovos que dura em torno de quinze dias. Conforme a quantidade de sangue, a fêmea pode colocar até três mil ovos. Num período de quatro semanas ocorre a eclosão das larvas, que depois de sete dias estão aptas para subirem nos bovinos e iniciar assim a fase parasitária (PEREIRA, 1982).

A temperatura e a umidade relativa influenciam na fase de vida livre do carrapato. Período seco, de temperaturas mais baixas, entre os meses de abril e setembro, prejudica o desenvolvimento da fase de vida livre, fazendo com que o ciclo se alongue. Já nos meses mais quentes e úmidos (setembro a março), o ciclo fica mais curto (MORENO, 1984; MAGALHÃES & LIMA, 1987; FURLONG, 1993).

Os prejuízos causados aos bovinos geralmente são realizados pelas teleóginas. A fêmea ingere de 0,5 a 3,0 ml de sangue em toda a sua vida. O macho não se alimenta, porém outras formas imaturas o fazem, na sua maioria, de líquidos linfáticos. Com isso, o animal perde peso, produz menos leite e o enfraquecimento é generalizado, o que predispõe a doenças (GONZALES, 1975; FURLONG, 1993).

Os carrapatos são importantes vetores artrópodes de arboviroses, rickettsioses, espiroquetoses e protozoários para o homem e animais domésticos (KAUFMAN, 1989). No Brasil, *B. microplus*, destaca-se como vetor de dois gêneros: a rickettsia *Anaplasma* sp e o protozoário *Babesia* spp, responsáveis pelo complexo conhecido como "Tristeza parasitária bovina" que acarreta grandes prejuízos à bovinocultura.

Ao picar, o carrapato causa uma irritação nos animais provocando desconforto e perda de sangue, devido à sua ação hematófaga, influenciando no ganho de peso, no estado nutricional e, em consequência, na produção animal. Dependendo da intensidade da infestação parasitária pode ocorrer morte do animal (HORN, 1983). A lesão causada na pele dos animais favorece o aparecimento de enfermidades secundárias como as miíases e geram prejuízos no mercado do couro (GONZALES & SERRA-FREIRE, 1992).

Além desses danos diretos, considerados prejudiciais à bovinocultura brasileira, existem aqueles indiretos e mais claramente percebidos pelos produtores

- os econômicos, resultantes dos custos da mão-de-obra necessária para o seu combate, assim como as demais despesas com construções e manutenção de banheiros carrapaticidas, compra de equipamentos, aquisição de carrapaticidas, entre outros (EMBRAPA, 2000).

Em face de todos estes prejuízos causados pelo *B. microplus*, as perdas econômicas devido a este parasito foram avaliadas, no Brasil, em US\$ 2 bilhões por ano (GRISI et al., 2002).

Uma revisão do gênero *Boophilus* e *Rhipicephalus*, com base em estudos moleculares e morfológicos, coloca o gênero *Boophilus* como subgênero do gênero *Rhipicephalus* (MURREL & BARKER, 2003). No entanto, no presente estudo, ainda nos referiremos ao *Boophilus* como gênero.

2.2 Controle do *Boophilus microplus*

A forma mais tradicional de controle de *B. microplus* é realizada através da aplicação de uma variedade de produtos químicos, especialmente executada na fase parasitária. Tal forma de utilização de agentes químicos é adotada pelas autoridades de saúde animal dos Estados Unidos, Austrália e África do Sul desde o final do século dezanove (GEORGE et al., 2004).

A utilização de programas de erradicação realizados em algumas áreas subtropicais, como o sul dos EUA, porção central da Argentina e sul da África, foi bem sucedido. Adoções de medidas rigorosas de quarentena foram exigidas para prevenir as reintroduções em países em que os carrapatos e as doenças foram erradicados. Entretanto, os programas foram menos eficientes em áreas tropicais, onde as condições são mais favoráveis aos carrapatos (MANUAL MERCK DE VETERINÁRIA, 1999). As implementações de programas de controle e de erradicação têm sido historicamente seguidas pelo desenvolvimento de resistência química (DAVEY & GEORGE, 1998).

Ao longo de décadas, foram utilizados, seqüencialmente, acaricidas baseados em compostos arsenicais, organoclorados, organofosforados, carbamato, formamidinas piretróides e lactonas macrocíclicas. A troca dos princípios ativos tem sido uma necessidade devido ao surgimento de populações resistentes. Os mais recentes grupos químicos de produtos contra os carrapatos que se encontram

disponíveis hoje no mercado são: as formamidinas, os piretróides, as avermectinas, os organofosforados, fluazuron, fipronil, e spinosad. Algumas dessas bases referidas têm restrição ao uso em animais durante o período de lactação (FURLONG, 2000), agravando seu risco e aumentando os custos econômicos.

No entanto, o que se observa é uma crise na produção de novas moléculas de parasiticidas e o desenvolvimento acelerado da resistência dos parasitas aos produtos usados - organofosforados desde 1974; piretróides desde 1989; amidinas desde 1994; e as ivermectinas desde 2001 – (ARANTES et al., 1995; BENAVIDES 1995; MARTINS et al., 1995; ORTIZ et al., 1995; ROMERO et al., 1997; MENDES et al., 2001; MARTINS & FURLONG 2001; FRAGOSO et al., 2004).

A resistência dos carrapatos aos acaricidas tem avançado, sobretudo, em rebanhos com aptidão leiteira. Em muitos países os rebanhos leiteiros são altamente suscetíveis a esses parasitos, que se tornaram resistentes aos princípios ativos (OLIVEIRA, 2002). Isso é explicado pelo fato de que uma vez instalada a resistência em uma população de carrapatos a um determinado produto, essa resistência se estende aos outros produtos da mesma família ou grupo químico (FURLONG, 2000). *B. microplus* pode apresentar resistência mais rapidamente que outros carrapatos, presumivelmente, pelo menor período de tempo entre as gerações (SABATINI, 2001), em muitas situações a resistência assume tal proporção que os produtores não dispõem de carrapaticidas para o seu controle, o que demonstra a necessidade de desenvolver novas formas de controle desta espécie.

Segundo CONWAY & COMINS (1979) a resistência é uma resposta genético-evolutiva das populações de artrópodes, expostos a um estresse ambiental severo e contínuo. De acordo com BORDIN (1998) essa situação se deve provavelmente à mutabilidade potencial do parasito (pressão seletiva dos indivíduos resistentes), ao grau variável de desafio relacionado com a variabilidade epidemiológica entre períodos favoráveis e adversos, habilidade bioquímica da espécie, inadequação de algumas práticas terapêuticas, dosagens errôneas, e outros fatores.

Além do desenvolvimento da resistência, o uso dos ectoparasiticidas e seus metabólitos são considerados tóxicos a qualquer animal de sangue quente, inclusive o homem, havendo ainda possibilidade de contaminação dos produtos de origem animal. Os riscos para o consumidor decorrem da insignificante barreira

natural entre a aplicação do produto e a contaminação dos alimentos, e do fato de que os parâmetros para segurança alimentar do consumidor são assuntos negligenciados ou, às vezes, intencionalmente ignorados pelos serviços de inspeção (CHAGAS, 2004). Embora algumas dessas drogas não sejam aprovadas para o uso em vacas em lactação, a sua utilização em rebanhos leiteiros ocorre indiscriminadamente.

2.3 Formas alternativas de controle do *B. microplus*

O homem desenvolveu vários métodos para o controle do carrapato (FERNANDEZ-RUVALCABA et al., 1999), no entanto, nenhum foi capaz de resolver o problema (MONTEIRO et al., 1998; FRISCH, 1999). O uso de substâncias químicas acaricidas vem de encontro aos anseios dos produtores rurais, de uma solução imediata; porém, essas drogas levam ao aparecimento de populações de carrapatos resistentes, bem como determinam a permanência de resíduos em produtos de origem animal e no meio ambiente. Desta forma, a busca por métodos alternativos para o controle do carrapato é uma questão fundamental (FRISCH, 1999).

O controle das populações de artrópodes deve ser realizado também com o propósito de reduzir significativamente seus números populacionais, respeitando, no entanto, a integridade do ecossistema (CUISANCE et al., 1994; KUNZ & KEMP, 1994; MONTEIRO et al., 1998); para isso, vem-se efetivando a busca por métodos alternativos, ou seja, qualquer técnica que refine um método tradicional já existente, ou estabeleça nova metodologia, com a finalidade de redução dos principais efeitos colaterais decorrentes do seu uso, como medida promissora (GRONVOLD et al., 1996; HOGSETTE, 1999; SAMISH & REHACEK, 1999).

O controle biológico pode ser considerado como uma forma de controle, que utiliza organismos vivos para manter a população de determinada praga em equilíbrio no agrossistema, de modo a não ocasionar danos econômicos. Essa estratégia de controle é baseada na utilização de diferentes princípios, que vão desde o uso de parasitóides, predadores, microrganismos e plantas para impedir que as pragas atinjam níveis populacionais elevados, diminuindo os danos econômicos causados, além de substituir químicos ou minimizar seu uso nas

lavouras e animais (REVISTA BIOTECNOLOGIA CIÊNCIA e DESENVOLVIMENTO, 2001).

O uso de fungos entomopatogênicos (MONTEIRO et al., 1998; BITTENCOURT et al., 1996; BITTENCOURT et al., 1999; FRAZZON et al., 2000; BITTENCOURT et al., 2003), cultivo de pastagens que dificultam a sobrevivência das fases de vida livre (FARIAS et al., 1986), ação de predadores naturais (ROCHA, 1984; ALVES-BRANCO et al., 1987), uso de raças resistentes (GONZALES, 1975; MADALENA et al., 1985; MORAES et al., 1986; OLIVEIRA e ALENCAR, 1990); uso de vacinas (COBON et al., 1995; WILLADSEN et al., 1995; WILLADSEN, 1997; BENAVIDES & ROMERO, 2000; PATARROYO & LOMBANA, 2004) são alguns exemplos de métodos de controle.

2.3.1 Uso plantas com atividade acaricidas

A utilização de extratos vegetais no controle do carrapato também tem sido foco de pesquisas em vários países. No Brasil, trabalhos utilizando extratos e óleos emulsionáveis de diferentes plantas, como eucalipto (*Eucalyptus* spp.), rotenóides extraídos do timbó (*Derris urucu*), e de plantas da família Meliaceae (*Melia azedarch*) (BORGES et al., 2003; BORGES et al., 2005), mostraram-se promissores no controle do *B.microplus*. Esse assunto será tratado com maior profundidade em capítulo posterior.

2.4. Plantas com atividades inseticidas

Planta medicinal é aquela que contém um ou mais princípios ativos que conferem atividade terapêutica (ASSIS, 2000). Extratos são preparações concentradas obtidas de drogas vegetais ou plantas frescas por meio de um solvente apropriado seguido de sua evaporação total ou parcial e ajuste do concentrado a padrões previamente estabelecidos (OLIVEIRA & AKISUE, 1997). Droga vegetal é a planta ou suas partes que, após sofrerem processo de coleta, preparo e conservação (secagem, estabilização), justifique seu emprego na preparação de medicamentos, utilizando então o(s) princípio(s) ativo(s). Já a

fitoterapia é o método de tratamento de enfermidades que emprega vegetais frescos, drogas vegetais ou extratos vegetais (OLIVEIRA & AKISUE, 1997).

Assim, as plantas têm sido uma importante fonte de substâncias com diferentes estruturas químicas e com diversas atividades contra insetos. Segundo ROEL (2001), a utilização de plantas com atividade inseticida apresenta inúmeras vantagens quando comparada ao emprego de produtos sintéticos: os inseticidas naturais são obtidos a partir de recursos renováveis, sendo rapidamente degradáveis; o desenvolvimento da resistência dos insetos a essas substâncias - compostas da associação de vários princípios ativos - é um processo lento; não deixam resíduos nos alimentos e, ainda, são de fácil acesso e obtenção pelos agricultores, o que representa um menor custo de produção.

As substâncias químicas extraídas das plantas, normalmente, são classificadas em metabólitos primários e metabólitos secundários. Os metabólitos primários são substâncias amplamente distribuídas na natureza, ocorrendo em praticamente todos os organismos. Esses compostos se concentram freqüentemente nas sementes e órgãos de armazenamento e são necessários para o desenvolvimento fisiológico, já que têm papel importante no metabolismo celular básico. São usados principalmente como matéria-prima industrial, alimento ou aditivo alimentar e incluem produtos como, óleos vegetais, ácidos graxos e carboidratos (BALANDRIN, 1985). Os metabólitos secundários são compostos derivados bio-sinteticamente dos metabólitos primários, mas têm distribuição limitada a determinados grupos taxonômicos do reino vegetal. Aparentemente, não têm função no metabolismo primário da planta, mas, freqüentemente, têm um papel ecológico: atrativo para polinizadores, adaptação química à pressão ambiental ou servindo como defensores contra microrganismos, insetos e predadores superiores e, até mesmo, contra outras plantas. Os metabólitos secundários são geralmente armazenados pelas plantas em quantidades menores que os metabólitos primários e tendem a ser sintetizados em células especializadas e em estágios de desenvolvimento distintos, o que muitas vezes dificulta sua extração e purificação. Dessa forma, muitos metabólitos secundários são considerados como materiais especiais ou substâncias químicas refinadas e são mais valorizados no mercado. São utilizados comercialmente como produtos farmacêuticos (terapêuticos, aromatizantes, flavorizantes) e pesticidas. Alguns exemplos de metabólitos secundários são a nicotina, as piretrinas, a rotenona, cocaína, morfina, óleo de

rosas, óleo de eucalipto, etc. Os metabólitos secundários, geralmente têm estruturas altamente complexas, que determinam sua atividade biológica, sendo sua síntese inviável economicamente. Um bom exemplo é a azadiractina extraída da *Azadirachta indica*, cuja estrutura é bastante complexa (BALANDRIN, 1985).

As plantas com atividade inseticida podem causar diversos efeitos sobre os insetos, como repelência, inibição de oviposição e da alimentação, alterações no sistema hormonal, causando distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases. A extensão dos efeitos e o tempo de ação são dependentes da dosagem utilizada, de maneira que a morte ocorre nas dosagens mais elevadas e os efeitos menos intensos e mais duradouros nas dosagens menores. A utilização de doses subletais causa redução das populações a longo prazo e necessita de menores quantidades de produtos. As doses letais muitas vezes tornam sua utilização inviável pela grande quantidade necessária (ROEL, 2001).

No Brasil, nos últimos anos, com o crescimento da agricultura orgânica e agroecológica, muitas plantas com atividade inseticida vêm sendo utilizadas, no controle de insetos na lavoura e criação animal, em substituição aos inseticidas sintéticos. Entre as principais plantas com atividade inseticida destacam-se aquelas do gênero *Nicotiana* (Solanaceae), produtoras de nicotina e nornicotina; *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia* e *Mundulea* (Leguminosae), produtoras de rotenóides, *Chrysanthemum* (Asteraceae), produtoras de piretrinas e *Azadirachta* (Meliaceae), produtoras de azadiractina (VIEIRA & FERNANDES, 1999).

A nicotina é um alcalóide que foi isolado em 1828 e foi largamente utilizado no início do século passado. Junto com a nicotina 18 (principal alcalóide do tabaco), foram isolados ainda outros alcalóides com atividade inseticida, a nornicotina e anabasina (VIEIRA & FERNANDES, 1999). As nicotinas apresentam algumas desvantagens como alto custo de produção, odor desagradável, extrema toxicidade para os animais e o homem e limitada atividade inseticida (BALANDRIN, 1985).

Do grupo dos rotenóides, a rotenona 1 é a principal substância com atividade inseticida, ocorrendo principalmente em espécies do gênero *Derris* e *Lonchocarpus* (timbós), e *Tephrosia* e *Mundulea*. Na agricultura, um dos primeiros relatos da utilização dos rotenóides data de 1919, na Guiana Holandesa, no combate às formigas saúvas (*Dolichorus bidens*). Os rotenóides são obtidos a partir

da moagem das raízes secas de plantas com até três anos. Sua atuação pode ser tanto por contato, como por ingestão, interferindo nos mecanismos respiratórios e tendo ainda atividade fago-inibidora (VIEIRA & FERNANDES, 1999).

As piretrinas são inseticidas naturais produzidos a partir do extrato de flores do gênero *Chrysanthemum*, sendo a espécie mais comum o *Chrysanthemum cinerariifolium*, o piretro. É um dos mais antigos inseticidas conhecidos, sendo já utilizado na Mesopotâmia antes da era cristã (LARINI, 1997). Há referências do uso do piretro por volta do ano de 1800, sendo então conhecido como Pó da Pérsia. As flores concentram a maior quantidade do princípio ativo que é muito tóxico para os insetos em geral. Sua maior ação é por contato. O sistema nervoso do inseto é afetado e convulsões violentas aparecem antes da morte. As piretrinas são instáveis a luz solar, razão pela qual foram desenvolvidos seus similares sintéticos (piretróides) que possuem fotoestabilidade (BAIRD, 2002).

A azadiractina é um limonóide de ocorrência restrita a duas plantas, *A. indica*, conhecida na Índia como nim e *M. azedarach*, também de origem asiática, mas introduzida em vários países, inclusive o Brasil, onde é conhecida como cinamomo ou santa bárbara, além de várias outras denominações vulgares. A azadiractina tem grande potencial inseticida, sendo considerada como o mais recente inseticida natural (VIEIRA & FERNANDES, 1999).

Para BUENO (2005), o uso de produtos naturais deve ser incentivado, mas antes devem ser submetidos a todos os procedimentos de segurança, da mesma forma que os produtos sintéticos.

2.4.1 *Melia azedarach*

Segundo MARTINEZ, (2002), a família Meliaceae possui 51 gêneros e aproximadamente 550 espécies, quase todas lenhosas e nativas de regiões tropicais e subtropicais, dos dois hemisférios. As espécies meliaceas comuns no Brasil são o cinamomo ou santa-bárbara (*Melia azedarach* L), a cedro-canjerana (*Cabralea canjerana*), catuaba (*Trichilia catigua*), cedrilho (*Cedrela lillei*) e o mogno ou caoba (*Swietenia macrophylla*).

M. azedarach, é uma árvore originária da Índia, Pérsia e Sri Lanka (SILVA JÚNIOR, 1997). É conhecida popularmente como cinamomo, santa-bárbara, jasmin-de-caiena, lilás-da-china, árvore-santa, loureiro-grego, chá-de-soldado, lilás-

de-soldado, orgulho-da-índia (LORENZI et al, 2003), além de outras denominações. Cresce em regiões com altitude de até 2000m, com temperatura média anual de 18°C e precipitação anual de 600 a 2000mm. Embora a produtividade seja maior em solos férteis e profundos, é muito pouco exigente quanto ao tipo de solo, desde que não muito encharcados desenvolvendo-se bem solos ácidos e arenosos (SILVA JÚNIOR, 1997). No Brasil é amplamente cultivada, ou mesmo subspontânea na Região Sul e Sudeste, sendo muito utilizada como árvore de sombra. É uma árvore caducifólia, de 15-20m de altura, tendo o tronco pardo-acinzentado ou marrom-avermelhado, fissurado longitudinal e obliquamente. Seus frutos são vistosos, globosos e de cor amarelada. É uma planta facilmente diferenciada de outros membros da família Meliaceae pelo aspecto de suas folhas, pendulosas, e com ramos firmes. Uma de suas principais características é a alta produção de folhas e frutos (BURKS, 1997).



Figura 1: *Melia azedarach*

Além de sua utilização como árvore de sombra em propriedades rurais, parques, arborização de ruas, *M. azedarach* é valorizada também pela qualidade da sua madeira, de cor amarela-brancacenta ou rósea, às vezes avermelhada. A madeira é flexível, resistente à umidade e ao cupim, fácil de trabalhar e envernizar. É utilizada na fabricação de móveis, cabos de ferramentas, caixotaria, instrumentos

musicais, palitos de fósforo, carroceria e também como combustível (SILVA JÚNIOR, 1997).

Diversas propriedades terapêuticas têm sido atribuídas a *M. azedarach*. BARQUERO et al. (1997) relataram que extratos desta planta têm sido usados para várias finalidades médicas, incluindo o tratamento de infecções virais tais como herpes (HSV-1). Extratos do caule são utilizados como anti-helmíntico na ilha de Mauritius e na China. Além disso, na Argélia a planta é utilizada como tônico e antipirético, e no sul da África no tratamento da lepra, eczema e para alívio de ataques asmáticos (OELRICHS et al., 1983). CARPINELLA et al. (1999) avaliaram a atividade antifúngica desta planta e relataram que o extrato etanólico obtido de frutos maduros apresentou atividade fungistática e fungicida para diversos fungos patogênicos como *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* e *Microsporum canis*. Existem ainda outros empregos para os farmacógenos do cinamomo: na China são usados cascas, folhas e frutos como anti-helmínticos e tratamento de micoses, na África para tratar malária, e na Coreia a casca do caule é usada na forma de decocto para tratar vermes intestinais (MATIAS et al., 2002). KHAN et al. (2001) avaliaram a atividade antimicrobiana de *M. azedarach* sobre diversos tipos de bactérias, protozoários e fungos como *Bacillus coagulans*, *Enterobater aerogenes*, *Proteus mirabillis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, e *Trichomonas vaginalis*, obtendo resultados satisfatórios.

As propriedades toxicológicas dessa planta também merecem atenção. A planta contém compostos limonóides conhecidos como meliatoxinas, que são tóxicos para os mamíferos. OELRICHS et al. (1983) enfatizam a necessidade de se aprofundar as pesquisas relacionadas à sua toxicidade aos vertebrados antes de se recomendar sua utilização. Os frutos podem causar náuseas, dores abdominais, vômitos, hemodiarréias, ansiedade, sudorese, incoordenação, pulso fraco, respiração irregular, paralisia, convulsões e morte por parada respiratória que ocorre em 12 a 15 horas. Com relação à toxicidade dos frutos, existem divergências. Segundo WILLIAMS, citado por SILVA JÚNIOR (1997), os frutos maduros são mais tóxicos que os verdes, sendo que a dose letal é de 6g de fruto por kg de peso vivo. MUTTI (1992), afirma que os frutos verdes são mais tóxicos que os maduros, sendo a ingestão de dois a três frutos verdes, suficientes, no caso de uma criança, para causar sintomas de intoxicação. A decocção das folhas pode causar queimadura na boca, oligúria, hematêmese, letargia e ocasionalmente morte. MENDEZ et al (2002)

produziram intoxicação experimental em bovinos pela administração de folhas de *M. azedarach*. Folhas verdes de cinamomo foram administradas em dose única a 11 bovinos nas doses de cinco a 30 g/kg de peso vivo. Os sinais clínicos observados foram depressão, atonia ruminal, fezes duras com presença de sangue, incoordenação, tremores musculares, decúbito esternal, hipotermia e dores abdominais. Os sinais clínicos foram observados entre 8 e 24 horas após a ingestão e o curso clínico durou entre 2 e 72 horas. Três animais que receberam 30g/kg morreram, sendo que os achados macroscópicos na necropsia foram congestão dos intestinos, do cérebro e do fígado.

Para MARTINEZ (2002), as pesquisas com meliáceas em todo o mundo têm apresentado resultados bastante promissores e devem ser incentivadas, de modo a reduzir os aspectos negativos encontrados, utilizando, por exemplo, outras estruturas da plantas além do fruto, como as folhas e ramos, que têm demonstrado efeitos semelhantes, buscando reduzir os problemas de toxicidade.

2.5 *Melia azedarach* no controle de insetos

M. azedarach é uma planta que contém substâncias ativas já comprovadas contra insetos. Em 1946, a utilização de extratos de *M.azedarach* já era recomendada para a proteção de culturas contra ataque de gafanhotos no Brasil (LEPAGE et al., 1946). Os estudos com essa meliácea foram retomados a partir da década de 80 e têm se intensificado nos últimos anos, não apenas em relação à sua ação inseticida, mas também em relação à sua composição química. Muitos compostos já foram isolados tais como: azadirachtina melianona, melianol, meliantrol, meliatina, geduína, oquinólídeos, nimboldim, nimbolinim, 1-desacetilnimbolinim, meliatoxinas, derivados de vilasinina, meliacarpina, sendamina, nimbolina e quinólídeos e azedaracol (INIFAT, citado por MARTINEZ, 2002). Destes, o limonóide azadirachtina é considerado o mais potente (MARTINEZ, 2002) Segundo VIVAN, (2005) as sementes de cinamomo produzem 37,8% de óleo, que solidifica a 18°C, e corresponde a apenas 7% do peso total do fruto.

Diversos estudos relatam os efeitos de *M. azedarach* sobre insetos de importância na saúde pública e na agricultura. SALLES et al. (1999), avaliando extratos obtidos de frutos de *A. indica* e *M. azedarach* sobre a mosca-das-frutas (*Anastrepha fraterculus*), demonstraram a ação inseticida desenvolvida por eles.

Redução da postura e do desenvolvimento larval e pupal do inseto, bem como mortalidade, foram observados, sendo essa ação inseticida realizada sobre diferentes estágios do inseto. Avaliando o efeito de *M. azedarach* sobre larvas do mosquito *Aedes aegyptii*, MWANGI & REMBOLD, (1988) observaram que o extrato atuava principalmente sobre o desenvolvimento do inseto, além de causar mortalidade larval, superior a observada com a azadirachtina. A atividade acaricida da *M.azedarach* também foi estudada para o controle do ácaro rajado (*Tetranychus urticae*), considerado um dos ácaros de maior importância em todo o mundo. Extratos vegetais aquosos de *M. azedarach* demonstraram eficácia de 77,31% no controle do ácaro evidenciando um bom potencial acaricida (POTENZA, 1999).

O extrato aquoso dos frutos do cinamomo a 1% também ocasionou elevada mortalidade (97%) na traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*) (TORRES et al., 2001). O extrato aquoso das folhas do cinamomo a 0,1%, afeta a traça-do-tomateiro (*T.absoluta*), tendo-se obtido uma mortalidade de 30% das lagartas (BRUNHEROTTO & VENDRAMIM, 2001). CARVALHO & CASTRO (1987) testaram extratos de cinamomo no controle da vaquinha do feijoeiro, *Diabrotica speciosa*. Os extratos de folhas obtidos por prensagem e extrato aquoso da polpa de frutos (25 frutos/100ml água) causaram respectivamente, 89% e 97,5% de mortalidade; o extrato de folhas reduziu o consumo alimentar a 8% e o extrato de polpa suprimiu totalmente o consumo alimentar (CARVALHO & CASTRO, 1987).

No Rio de Janeiro, CABRAL et al. (1996) relataram que o extrato metanólico de sementes de *M. azedarach* constitui-se em uma ferramenta importante no controle de *Rhodnius prolixus*, vetor da doença de Chagas, sendo a atividade dessa planta sobre o processo de muda do inseto, desenvolvida por substâncias como os fitoesteróis, lignanas e triterpenos. VALLADARES et al. (1999), avaliando a ação de *M. azedarach* sobre *Triatoma Infestans*, demonstraram que os extratos obtidos dos frutos mostraram atividade repelente contra ninfas deste inseto. De acordo com DANTAS et al. (2000), o decocto de folhas de *M. azedarach* tem sido utilizado como carrapaticida, já estando comprovada a existência de princípio ativo presente nesta planta, sobre *B. microplus*.

SOUZA & VENDRAMIM (2001), ao estudarem a ação de extratos aquosos de diferentes partes de *M. azedarach* sobre ovos de *Bemisia tabaci* biótipo B, concluíram que frutos verdes a 3% causavam mortalidade de 58%, enquanto para as folhas esse índice foi de 47,3%. Sobre ninfas, o extrato aquoso de frutos verdes

alcançou 55,1% de mortalidade, e o de folhas, 35,3%. O extrato de frutos maduros não afetou a sobrevivência da mosca branca. MARTINEZ, (2002), pulverizando extratos de folhas de *M. azedarach* a 50% (peso/vivo) sobre feijoeiros, reduziu a oviposição da *B. tabaci* em 1/3, durante o período de oito dias.

2.6 *M. azedarach* no controle do *B. microplus*

Embora existam diversos estudos relatando a ação de *M. azedarach* sobre diferentes insetos, a existência de estudos sobre a ação da planta sobre carrapatos, especialmente *B. microplus*, são ainda escassos, sendo necessário o desenvolvimento de mais pesquisas.

Extratos obtidos do fruto maduro de *M. azedarach*, obtidos utilizando três solventes distintos, éter de petróleo, clorofórmio e etanol foram testados sobre fêmeas ingurgitadas e larvas de *B. microplus*. Todos os extratos testados causaram mortalidade de larvas de *B. microplus*, com maiores taxas de mortalidade nos extratos em clorofórmio (CHCl_3) (100%) e hexano (éter de petróleo) (98%) do que no etanólico (50%), 168 horas após o tratamento. A mortalidade foi dependente da concentração e tempo após o tratamento. Da mesma, os extratos hexânico e em CHCl_3 mostraram as mais altas eficácias (variando de 14 a 100%) contra fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*, do que o extrato etanólico (variando de 0 a 46%). Os extratos de *M. azedarach* não mataram as fêmeas, mas inibiram parcialmente ou totalmente a conversão em ovos e a embriogênese (BORGES et al., 2003).

SOUZA,. (2004) testaram o efeito de diversas plantas, entre elas a *M. azedarach*, no controle do carrapato bovino. Na preparação do extrato, foram utilizadas 60g de folhas, maceradas em uma solução contendo 500ml de álcool e 500ml de água. Foram testadas três diluições: 1:50; 1:25 e 1:12,5. Não se verificou eficácia significativa do extrato hidroalcoólico das folhas de *M. azedarach*, sobre teleóginas de *B. microplus*. Entretanto, sabe-se que na *A. indica* (Nim), a azadiractina concentra-se nos frutos, sendo que nas outras partes da planta quantidades muito baixas são encontradas. Existe uma grande variação no teor de azadiractina encontrada nas sementes de nim, dependendo da região de origem ou entre diferentes árvores (ERMEL et al, 1987).

Testes com bezerros estabelecidos para se avaliar a eficácia carrapaticida do extrato hexânico do fruto maduro de *M. azedarach* sobre animais infestados artificialmente e a toxicidade de extratos desta planta foram realizados. A eficácia, considerando o número de fêmeas e o seu índice de eficiência reprodutiva, de acordo com fórmula descrita por DAVEY et al. (2001) variou de -1,6% a 63,6%, com média de 27,3%, 21 dias após o tratamento. Embora com índices de eficácia não satisfatórios, estes resultados são promissores considerando que não foi utilizada uma formulação carrapaticida adequada. Os exames clínicos não evidenciaram nenhuma alteração nos bezerros tratados com a planta (BORGES et al., 2005).

SOUSA et al (in press), avaliando diferentes extratos hexânicos obtidos dos frutos de *M. azedarach*, constataram a melhor performance dos frutos verdes no controle de *B. microplus*.

O desenvolvimento de produtos que possam ser testados a campo e comercializados a preços competitivos se torna de fundamental importância no controle do *B. microplus* (CHAGAS, et al., 2002). Nas formulações comerciais, produzidas como soluções, emulsões ou suspensões, o ingrediente ativo é diluído em solventes especiais e formulado de modo que possibilite a posterior diluição do produto.

3 OBJETIVO GERAL

Avaliar o uso de um concentrado emulsionável fitoterápico oriundo de extratos do fruto verde de *M. azedarach* para o controle de *B.microplus*

3.1 Objetivos específicos

Realizar testes em laboratório com extrato hexânico obtido de frutos verdes de *M. azedarach* sobre larvas e fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*.

Formular concentrados emulsionáveis a partir do extrato hexânico obtido de frutos verdes de *M. azedarach*.

Realizar testes “in vitro” em os concentrados emulsionáveis sobre fêmeas ingurgitadas e com o concentrado escolhido sobre larvas de *B. microplus*.

Comparar a atividade biológica dos concentrados e extrato bruto, através da DL50 e potência relativa, estabilidade e solubilização.

Realizar testes “in vivo”, em fêmeas estabuladas e infestadas artificialmente com *B. microplus*, com o melhor concentrado emulsionável de *M. azedarach* obtido dos testes “in vitro”.

4 MATERIAS E MÉTODOS

4.1 Local dos experimentos e duração

Frutos verdes de *M. azedarach* foram colhidos de árvores situadas no Campus II da UFG em Goiânia-GO (latitude 16°41'S; longitude 49°15'W). O extrato bruto de *M. azedarach* foi produzido no Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás (UFG), sob a orientação do Professor Dr. Pedro Henrique Ferri e o concentrado emulsionável produzido na Faculdade de Farmácia da UFG, sob orientação da Professora Dr^a. Eliana Martins Lima. Os testes em laboratório foram realizados no Centro de Parasitologia Veterinária, situado nas dependências da Escola de Veterinária da UFG. Já os testes com animais estabelecidos foram conduzidos na Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora, Minas Gerais. O projeto foi desenvolvido de março de 2006 a fevereiro de 2008.

4.2 Avaliação do teor de umidade do fruto verde de *M. azedarach*

Para a avaliação do teor de umidade dos frutos verdes foi utilizado o método para determinação de umidade estabelecida pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 1976).

A amostra foi pesada e depois levada a uma estufa a 105°C, por 24 horas, posteriormente a amostra foi pesada novamente após a sua retirada da estufa. Para calcular a porcentagem de matéria seca utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Matéria seca} = \frac{\text{Peso pós-estufa} - \text{Peso do recipiente vazio}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$$

4.3 Preparação do extrato hexânico de frutos verde de *M. azedarach*

Frutos verdes foram colhidos no mês de fevereiro de 2006 e de 2007. Após serem secos em estufa na temperatura de 40°C, com circulação e renovação de ar, durante sete dias, foram triturados em moinhos de facas rotativas. Em seguida, submetidos à extração por percolação a frio ou a quente, em Soxhlet, utilizando-se como solvente o hexano. Em seguida, o solvente foi evaporado em um rotavapor, até a eliminação total do mesmo. Posteriormente, sob pressão reduzida,

e para maior eficiência do processo, o extrato passou por uma bomba de vácuo para retirar o máximo de resíduo de solvente. Os extratos foram armazenados em geladeira(4° C) até a produção dos concentrados emulsionáveis.

4.4 Preparação dos concentrados emulsionáveis de *M. azedarach*

Para a seleção do melhor e mais adequado concentrado emulsionável de *M. azedarach*, tanto na estabilidade e solubilização, quanto na manutenção da atividade biológica presentes no extrato bruto, foram avaliadas seis formulações, com proporções e constituição distintas.

Tabela 1. Constituintes e quantidades utilizadas nas diferentes formulações dos concentrados emulsionáveis de *Melia azedarach*.

Constituintes	Concentrado	Concentrado	Concentrado	Concentrado	Concentrado	Concentrado
	1	2	3	4	5	6
Extrato de <i>Melia azedarach</i>	1 g	1 g	1 g	0,5 g	0,5 g	0,5 g
Óleo de soja	9 g	9 g	9 g	-----	1 g	0,5 g
Álcool etílico	-----	-----	-----	5 ml	16 ml	10 ml
Eumulgin HRE 40®	-----	3 g	-----	0,5 g	1 g	1 g
Procetyl AWS®	-----	-----	3 g	-----	-----	-----
Triton X100®	3 g	-----	-----	-----	-----	-----
Água	-----	-----	-----	-----	4 ml	-----

Foram feitas análises em todas as formulações, avaliando características de estabilidade e solubilização. Características como: formação de glóbulos oleosos, dispersão do extrato na solução, existência ou não de corpo de fundo, separação de fases e coloração da solução foram avaliadas, sendo, portanto escolhido o concentrado 5. Testes pilotos com os placebos de todos os concentrados também foram analisados, a fim de se avaliar a ação dos componentes da formulação sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*.

Todos os concentrados foram produzidos através da adição do emulsificante ao extrato, seguido por intensa agitação até a formação de uma mistura homogênea, com posterior adição dos demais componentes de cada formulação. A concentração final utilizada para todos os concentrados foi de 0,25% do extrato bruto, sendo utilizada para as fórmulas 1, 2 e 3 diluições em 400 ml solução hidroalcoólica 50% e para as fórmulas 4, 5 e 6 diluições em 200 ml de água.

4.5 Avaliações do extrato e dos concentrados emulsionáveis

O extrato hexânico do fruto verde de *M. azedarach* foi testado sobre fêmeas ingurgitadas e larvas antes da preparação das formulações dos concentrados emulsionáveis, visando garantir o uso de extrato com eficácia sobre *B. microplus* assim como demonstrado por SOUSA & BORGES (2005). Posteriormente, os concentrados emulsionáveis foram testados novamente sobre larvas e fêmeas ingurgitadas para escolha do melhor concentrado. Todos os testes foram feitos em triplicata utilizando 5 diluições decrescentes de 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,0312% e 0,0156%, mais testemunha. Os cálculos das doses letais a 50% e das potências relativas foram realizados sobre fêmeas ingurgitadas, através da utilização do programa de análise do probito (PRIPROBIT - SAKUMA, 1998).

O extrato bruto produzido em fevereiro de 2007 e utilizado para a avaliação no teste de estábulo, foi armazenado em geladeira até junho (2007), quando foi formulado o concentrado. Optou-se por armazenar o extrato bruto, ao contrário do concentrado, pois em estudos realizados (SOUSA et al., in press) observou-se que o extrato bruto armazenado em geladeira (4°C), por um período de 2 anos, não apresentava perda de eficácia sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* e como não se dispunha de informações a respeito do concentrado e de sua atividade em relação à armazenagem, preferiu-se armazenar o extrato. Testes com fêmeas foram feitos ao longo desse período para certificar da manutenção da atividade de *M. azedarach*.

Na semana estabelecida para o início do teste de estábulo, o concentrado foi produzido na quantidade necessária (8,6L) para o banho nos animais. Este concentrado foi testado sobre fêmeas ingurgitadas, mas a sua leitura ocorreu após o teste de estábulo já ter sido iniciado, devido ao cronograma pré-estabelecido.

4.5.1 Testes de imersão com fêmeas ingurgitadas

Fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* foram colhidas em bovinos naturalmente infestados e submetidas ao teste de imersão preconizado por DRUMMOND et al. (1973). Lotes homogêneos, formados de 10 fêmeas ingurgitadas, todas obtidas da mesma propriedade, situada em Morrinhos-Goiás, e

com pesos semelhantes foram compostos. Posteriormente, os lotes foram pesados e imersos nos extratos previamente diluídos, por 5 minutos.

Os lotes controle foram banhados apenas com água. Após a imersão, as fêmeas foram acondicionadas em placas de Petri devidamente identificadas com a data do teste, o peso do lote, a concentração testada, sendo posteriormente mantidas em estufa climatizada regulada com temperatura de 27°C e umidade relativa mínima de 80%.

As posturas de cada lote foram pesadas no 20^o dia (para o cálculo do índice de conversão em ovos), em balança com precisão de 0,01g, e acondicionadas em seringas plásticas, descartáveis, de 5 mL, com o tampo removido e previamente identificadas. Foram novamente acondicionados na estufa, nas condições anteriormente descritas, por um período de 25 dias. Após esse período, as seringas foram retiradas da estufa para observação da eclosão das larvas.

As eficácias do extrato e das formulações foram avaliadas utilizando-se as seguintes fórmulas (DRUMMOND et al., 1973):

$$\text{Índice de Eficiência Reprodutiva} = \frac{\text{Peso dos ovos (g)} \times \% \text{ de eclosão} \times 20.000}{\text{Peso do lote de fêmeas (g)}}$$

$$\text{Índice de Eficácia} = \frac{\text{ER (lote controle)} - \text{ER (lote tratado)} \times 100}{\text{ER (lote controle)}}$$

4.5.2 Teste do “sanduíche” (Teste de larvas)

Fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* foram colhidas de animais naturalmente infestados e incubadas. Para se testar a eficácia do extrato e do concentrado emulsionável escolhido, foram realizados testes com larvas de 15 dias de idade, oriundas destas fêmeas. A técnica utilizada foi a do “sanduíche”, preconizada por SHAW (1966). As larvas a serem testadas (aproximadamente 100) foram colocadas em uma folha de papel filtro de 9 cm de diâmetro, dentro de uma placa de Petri. Cinco mL do extrato ou do concentrado previamente diluído foram despejados sobre as larvas, que foram cobertas por outra folha de papel filtro de 9

cm de diâmetro, sendo despejados mais 5 mL do produto em teste. As larvas permaneceram imersas por 10 minutos e após esse período os papéis eram retirados da placa, abertos e colocados em outra folha de papel filtro para secarem. As larvas foram então transferidas, com o uso de um pincel, para papelotes feitos de papel filtro, devidamente identificados com a concentração utilizada, o número da repetição e o tempo de tratamento. Foram feitas leituras de larvas vivas e mortas, 24, 72 e 168 horas após os testes. Nos tratamentos onde a mortalidade do controle atingiu valores superiores a 5%, foi realizada a correção através da fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925).

4.6 Avaliação da eficácia de *M. azedarach* através de testes de estábulos

O melhor concentrado emulsionável de *M. azedarach* (concentrado 5) foi testado em bovinos de acordo com o teste de estábulo proposto pelo Ministério da Agricultura (Portaria 48), com algumas modificações. Quinze fêmeas mestiças holandês-zebu, com idade entre 24 e 30 meses foram selecionadas. Após 15 dias (período de adaptação) do dia -24 ao dia -1 (considerando o tratamento como o dia 0), cada animal foi infestado com 2.500 larvas de *B. microplus*, distribuídas ao longo da linha dorsal, três vezes por semana, totalizando 10 infestações.

Nos dias -3, -2 e -1 foram contadas todas as fêmeas, entre 4,5 e 8,0 mm de comprimento, fixadas no lado direito dos animais. Esses animais foram então classificados, do maior para o menor, de acordo com a carga de carrapatos. Foram então alocados em cada grupo, seguindo a seguinte distribuição: o animal de maior contagem foi alocado no grupo 1, o 2º no grupo 2 e o 3º no grupo 3, posteriormente o 4º animal de maior contagem foi colocado no grupo 3, o 5º no grupo 2 e o 6º no grupo 1. Procedendo desta forma foram compostos três grupos, cada um com cinco animais (Figura 2), para receber os tratamentos. Um grupo sorteado aleatoriamente recebeu o tratamento T1 com a concentração de 0,25% de *M.azedarach*, o outro grupo T2 foi tratado com a concentração de 0,5% de *M.azedarach* e o grupo T3 foi o testemunha (tratado apenas com água). Cada animal foi pulverizado com 5 L de solução (T1 e T2) e 5 L de água (T3) (Figura 3). A diluição do concentrado foi feita utilizando apenas água.



Figura 2. Animais do experimento.



Figura 3. Banho de aspersão, feito com bomba costal nos animais no dia do tratamento.

Do dia -3 ao dia +20 após o tratamento foram contadas, diariamente, as fêmeas (com comprimento entre 4,5 a 8,0 mm) fixadas do lado direito de cada bovino (Figura 4). Após cada contagem, 20 fêmeas eram coletadas, pesadas e incubadas em estufa climatizada (27°C; UR≥80%). Após 20 dias de incubação foi calculado o Índice de Conversão em Ovos (ICO) = $[(\text{peso dos ovos}/\text{peso das fêmeas}) \times 100]$.



Figura 4. Contagem dos carrapatos, realizada no lado direito de cada animal.

O índice de eficácia dos tratamentos foi calculado através da porcentagem diária de controle, baseando-se no índice de sobrevivência diária do carrapato de acordo com a seguinte fórmula (HOLDSWORTH et al., 2006):

Porcentagem diária de carrapatos sobreviventes (PDCS)

$$\text{PDCS} = \frac{\text{carrapatos contados no grupo tratado}}{\text{ADEQ}} \times 100$$

$$\text{*ADEQ} = \frac{\text{contagem total do grupo tratado antes do tratamento} \times \text{contagem diária controle}}{\text{contagem total do grupo controle antes do tratamento}}$$

$$\text{Porcentagem diária de controle} = 100 - \text{PDCS}$$

4.7 Análise estatística

Para os valores de mortalidade de larvas e contagem do número de carrapatos, primeiramente os dados foram transformados em $\log(x+1)$, e posteriormente submetidos a análise de variância (ANOVA). As médias de larvas e de fêmeas ingurgitadas foram comparadas através do teste de Tukey.

A comparação das médias dos índices de controle diário dos grupos tratados em relação ao grupo controle, foi feita através da análise de variância, seguida da utilização do teste T de Student. Foram utilizadas para todas as análises nível de significância de $P < 0,05$.

5 RESULTADOS

Foram produzidos 697,6 g de frutos secos e moídos no primeiro processamento realizado em Fevereiro de 2006, sendo produzido 49 g de extrato bruto oleoso (7,03%), com umidade média de 56,18%. Todos os testes laboratoriais foram realizados com amostras provenientes do extrato produzido em 2006. Já em 2007 um total de 3 kg de frutos secos e moídos foi obtido, originando 215 g de extrato bruto (7,16% de fração oleosa) e teor de umidade média dos frutos verdes de 56,22%, sendo toda essa amostra utilizada na avaliação do teste de estábulo realizado em Julho de 2007.

Nos testes “in vitro”, os percentuais de eficácia carrapaticida variaram de 27% a 100% no extrato bruto, de 20% a 96% no concentrado 1, de 17% a 96% no concentrado 2, de 29% a 94% no concentrado 3 e de 13% a 100% no concentrado 5. Tanto no extrato quanto nos concentrados 1, 2, 3 e 5 os maiores índices de eficácia foram observados nas maiores concentrações, com decréscimo de atividade em resposta a diminuição da concentração. Diferentemente, o concentrado 6 apresentou baixos índices de eficácia (variando de 8% a 37%), sendo significativamente similares em todas as concentrações (Tabela 2). O concentrado 4 apresentou 0% de eficácia em todas as concentrações testadas, com índice de eclodibilidade de 100%, sendo, portanto sua utilização e resultados não apresentados. Nenhum dos placebos avaliados causou redução na postura ou na eclodibilidade das fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*.

Tabela 2. Média \pm s dos percentuais de conversão em ovos (ICO), de eclosão (PECL) e percentual de eficácia (PEF) do extrato bruto e dos concentrados 1, 2, 3, 5 e 6 de *Melia azedarach* sobre fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*.

Conc	Extrato bruto			Concentrado 1			Concentrado 2			Concentrado 3			Concentrado 5			Concentrado 6		
	ICO	PECL	PEF	ICO	PECL	PEF	ICO	PECL	PEF	ICO	PECL	PEF	ICO	PECL	PEF	ICO	PECL	PEF
0,25	7 \pm 5	0 \pm 0	100 \pm 0	18 \pm 6	8 \pm 10	96 \pm 4	20 \pm 9	7 \pm 5	96 \pm 3	16 \pm 7	14 \pm 10	94 \pm 4	6 \pm 2	0 \pm 0	100 \pm 0	40 \pm 7	73 \pm 2	33 \pm 31
			aA			aA			aA			aA			aA			aB
0,125	23 \pm 8	28 \pm 3	86 \pm 7	27 \pm 1	37 \pm 3	86 \pm 10	32 \pm 10	49 \pm 42	62 \pm 35	27 \pm 0	17 \pm 11	74 \pm 6	29 \pm 3	18 \pm 5	91 \pm 4	41 \pm 6	97 \pm 2	19 \pm 10
			abA			aA			abA			abA			aA			aB
0,0625	30 \pm 9	42 \pm 10	73 \pm 14	40 \pm 5	66 \pm 15	44 \pm 19	30 \pm 11	54 \pm 40	65 \pm 34	31 \pm 9	48 \pm 37	80 \pm 21	36 \pm 7	72 \pm 1	46 \pm 16	43 \pm 2	96 \pm 2	14 \pm 4
			abA			bAB			aA			aA			bAB			aB
0,0312	37 \pm 3	57 \pm 14	56 \pm 14	48 \pm 3	97 \pm 2	4 \pm 8	46 \pm 2	87 \pm 3	17 \pm 5	36 \pm 8	87 \pm 8	36 \pm 16	44 \pm 4	97 \pm 2	13 \pm 8	46 \pm 2	98 \pm 0	8 \pm 4
			bcA			cB			cAB			bcAB			bB			aB
0,0156	43 \pm 8	78 \pm 24	27 \pm 34	40 \pm 10	98 \pm 3	20 \pm 19	40 \pm 3	91 \pm 10	26 \pm 14	38 \pm 12	88 \pm 8	29 \pm 27	34 \pm 3	92 \pm 2	36 \pm 5	33 \pm 7	94 \pm 8	37 \pm 17
			cA			bcA			bcA			cA			bA			aB
Cont.	49 \pm 3	98 \pm 2		48 \pm 5	99 \pm 1		48 \pm 5	99 \pm 1		48 \pm 5	99 \pm 1		48 \pm 5	99 \pm 1		48 \pm 5	99 \pm 1	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Quando foram comparadas as doses letais a 50% do extrato bruto de frutos verde de *M. azedarach* com os 5 concentrados emulsionáveis, observou-se uma superioridade dos concentrados emulsionáveis. Com exceção do concentrado 1 e o concentrado 6, que demonstraram doses letais superiores ao extrato bruto, todos os demais concentrados (concentrados 2, 3 e 5), apresentaram a necessidade de doses menores, para inibir parcialmente ou totalmente a conversão em ovos e a embriogênese (Tabela 3). Novamente, quando foram avaliadas as potências relativas dos concentrados emulsionáveis, notou-se que houve potencialização, em relação ao extrato bruto de frutos verdes, evidenciando a superioridade dos concentrados (2, 3 e 5), frente à utilização do extrato bruto (Tabela 3). Os concentrados 1 e 6, não potencializaram o efeito do extrato. Apesar de mais de um concentrado apresentar índices satisfatórios para a utilização nos testes sobre larvas e o teste de estábulo, o concentrado emulsionável escolhido foi o representado pelo concentrado 5. Além da sua eficácia ter sido potencializada em relação ao extrato bruto, este concentrado apresentou-se de forma estável, com solubilização e boa dispersão em água, além de não necessitar de álcool para sua diluição a campo, como observado com as formulações 2 e 3.

Tabela 3. Valores de dose letal (DL50%), limite fiducial (95%) e potência relativa para o extrato bruto de fruto verde *Melia azedarach* e dos concentrados emulsionáveis obtidos a partir deste extrato sobre fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*.

Tratamento	DL 50% (limite fiducial)	Potência Relativa
Extrato bruto	0,0656 (0,0379 a 0,1138)	1,0
Concentrado 1	0,0734 (0,0426 a 0,1282)	0,09
Concentrado 2	0,0533 (0,0305 a 0,0919)	1,2
Concentrado 3	0,0367 (0,0204 a 0,0635)	1,8
Concentrado 5	0,0440 (0,0249 a 0,0757)	1,5
Concentrado 6	0,1927 (0,1073 a 0,3801)	0,3

Nos testes realizados sobre larvas de *B. microplus*, tanto o extrato bruto, quanto o concentrado emulsionável 5, causaram altos índices de mortalidade (variando de 5% a 100% para ambos). A mortalidade foi dependente da concentração, sendo o maior índice geralmente observado nas concentrações de 0,25% e 0,125% (100%). O tempo de tratamento também demonstrou forte influência sobre a mortalidade, pois os maiores índices foram observados

principalmente após 168 hs de tratamento. Diferença estatística é observada entre as horas, dentro do mesmo tipo de tratamento, porém essa diferença não ocorre, quando são comparados os dois tratamentos (extrato bruto ou concentrado) no mesmo período de tempo (24, 72 ou 168 hs) (Tabela 4).

Tabela 4. Média \pm s da mortalidade de larvas de *Boophilus microplus* tratadas com extrato e concentrado emulsionável 5 de *Melia azedarach*, 24, 72 e 168 horas após o tratamento.

Horas após tratamento	Tratamento/ concentração	Mortalidade (%)					
		0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0156	Controle
24	Extrato	23 \pm 6 ^{CB}	52,4 \pm 5 ^{CA}	13 \pm 1 ^{CB} ^{CD}	19 \pm 4 ^{CB} ^C	5 \pm 5 ^{BCD}	0,5 \pm 1 ^{CD}
	Concentrado	28 \pm 1 ^{CA}	16,5 \pm 1 ^{CC}	20 \pm 1 ^{CB}	26 \pm 1 ^{CA}	24 \pm 1 ^{bAB}	7 \pm 1 ^{CD}
72	Extrato	50 \pm 2 ^{bA}	45 \pm 10 ^{bA}	50 \pm 19 ^{bA}	36 \pm 13 ^{bA}	14 \pm 5 ^{CB}	1 \pm 1 ^{BB}
	Concentrado	46 \pm 1 ^{bA}	52,1 \pm 1 ^{bA}	49 \pm 1 ^{bA}	54 \pm 2 ^{bA}	5 \pm 1 ^{CC}	9 \pm 1 ^{BB}
168	Extrato	100 \pm 0 ^{aA}	100 \pm 0 ^{aA}	100 \pm 0 ^{aA}	91 \pm 5 ^{aA}	95 \pm 4 ^{aA}	31 \pm 8 ^{aB}
	Concentrado	100 \pm 0 ^{aA}	100 \pm 0 ^{aA}	97 \pm 1 ^{aA}	82 \pm 1 ^{aBC}	79 \pm 1 ^{aBC}	12 \pm 1 ^{aD}

Médias seguidas da mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na avaliação do concentrado emulsionável de *M. azedarach* através do teste de estábulo observou-se que o percentual de controle diário variou de -46,7% a 82,6% no grupo tratado com a concentração de 0,25%, e de -16,6% a 89,0% no grupo tratado com a concentração de 0,5% de *M. azedarach* nos diferentes dias após o tratamento.

No grupo tratado com a concentração de 0,25% de *M. azedarach* foi observada baixa taxa de controle diário nas contagens de fêmeas ingurgitadas do dia 1 ao dia 9, sendo esta resposta observada apenas a partir do 10º dia. Tal resultado permite inferir que o concentrado emulsionável não atuou na redução de estádios como teleóginas, partenóginas e metaninfas. As maiores taxas de controle foram observadas no intervalo do 14º ao 20º dias, com uma taxa média de 33,1% de controle diário neste período (Tabela 5), revelando uma maior ação sobre metalarvas e larvas. Não houve diferença significativa entre o tratamento com a concentração 0,25% e o grupo controle em nenhum intervalo de dias analisado quanto ao número de fêmeas ingurgitadas contado (Tabela 6).

Tabela 5. Peso das fêmeas, percentuais de conversão em ovos (ICO), de eclodibilidade e de controle diário de carrapatos (PCD) *Boophilus microplus* em bezerros tratados com um concentrado emulsionável de *Melia azedarach* a 0,5% e 0,25%, comparados com o controle sem tratamento.

Dias	Peso das fêmeas(g)			ICO			Eclodibilidade			PCD	
	0,5	0,25	Cont.	0,5	0,25	Cont.	0,5	0,25	Cont.	0,5	0,25%
1	4,8	9,2	10,0	45,17	27,93	30,39	100	100	100	33,5	-0,57
2	5,0	8,2	8,9	49,87	30,89	42,55	100	100	100	33,9	8,57
3	4,9	8,0	9,9	50,80	34,76	35,91	100	100	100	33,0	-0,02
4	9,5	9,0	10,0	38,04	35,30	36,49	100	100	100	38,6	4,57
5	9,7	8,7	8,4	38,28	38,72	43,72	100	100	100	22,0	-0,77
6	8,1	8,9	9,0	45,58	38,31	45,13	100	100	100	31,3	-7,85
Media	7,0^b	8,6^{ab}	9,4^a	44,6^a	34,3^b	39,0^{ab}	100^a	100^a	100^a	32,1^a	0,6^b
7	8,1	7,0	9,8	45,46	51,27	33,35	100	100	100	-15,5	-29,21
8	8,1	7,2	8,1	52,20	49,93	42,64	100	100	100	-16,6	-46,68
9	9,7	8,9	8,3	35,43	35,47	37,79	100	100	100	29,6	-6,08
10	9,7	7,9	8,9	40,70	41,16	39,43	100	100	100	15,5	16,01
11	9,9	8,4	8,2	35,53	39,43	41,49	100	100	100	1,5	32,03
12	9,2	8,1	8,4	32,61	45,26	41,00	100	100	100	28,9	53,33
13	9,3	8,4	8,1	33,85	40,39	35,67	100	100	100	25,9	54,10
Media	9,1^a	8,0^b	8,5^{ab}	39,4^a	43,3^a	38,8^a	100^a	100^a	100^a	9,9^a	10,5^a
14	9,2	8,8	8,8	32,10	37,71	35,50	100	100	100	50,7	37,69
15	8,9	8,5	8,2	40,35	43,13	40,45	100	100	100	43,0	34,77
16	9,7	8,4	8,4	34,52	35,86	38,22	100	100	100	45,1	35,00
17	10,0	8,9	8,3	33,48	43,14	34,71	100	100	100	18,2	9,55
18	4,3	8,9	8,9	54,42	45,58	28,92	100	100	100	36,6	-30,80
19	9,9	8,2	8,1	12,64	39,79	38,94	100	100	100	87,6	62,87
20	1,1	1,7	10,0	51,81	46,06	32,32	100	100	100	89,0	82,56
Media	7,6^a	7,6^a	8,7^a	41,3^a	41,6^a	35,6^a	100^a	100^a	100^a	52,8^a	33,1^a
Média Geral	8,0 ^a	8,1 ^a	8,8 ^a	41,7 ^a	40,0 ^a	37,8 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	31,6 ^a	14,6 ^a

Médias seguidas da mesma letra, na mesma linha não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

-Fórmula para o calculo PDC, proposta por HOLDSWORTH et al, (2006)

Controle diário de carrapatos (PCD)= 100 - PDCS

Porcentagem diária de carrapatos sobreviventes (PDCS)

PDCS= carrapatos contados no grupo tratado X 100

ADEQ

ADEQ = $\frac{\text{contagem total do grupo tratado antes do tratamento} - \text{contagem total do grupo controle antes do tratamento}}{\text{contagem total do grupo controle antes do tratamento}}$ X controle diário controle

No grupo tratado com a concentração de 0,5% de *M. azedarach*, observa-se uma média de 32,1% de controle diário nos seis primeiros dias, 9,9% do 7º ao 13º dia e uma média de 52,8% do 14º ao 20º dia, demonstrando uma maior ação também sobre adultos e larvas do que ninfas. Para esta concentração, diferença significativa foi observada na contagem de fêmeas ingurgitadas em relação ao controle na maioria dos intervalos de dias avaliados (Tabela 6).

Tabela-6. Média de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* colhidas de animais tratados com um concentrado emulsionável de *Melia azedarach* nas concentrações 0,25% e 0,5% e animais controle, em diferentes intervalos de dias após o tratamento.

Intervalo (dias)	Controle	0.250%	0.5%
1º - 6º	309 ^a	294 ^a	190 ^b
7º - 13º	255 ^a	216 ^a	206 ^a
14º - 20º	147 ^a	97 ^{ab}	67 ^b
1º - 20º	233 ^a	198 ^{ab}	153 ^b

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de *T* de Student ($p < 0,05$).

Em relação aos resultados dos parâmetros reprodutivos obtidos no teste a campo, o peso das fêmeas variou de 1,1 g a 10,0 g, com média de 8,0 g na concentração de 0,5%, de 1,7 g a 9,2 g, com média de 8,1 g na concentração 0,25% e de 8,1 g a 10,0 g, com média de 8,8 g no grupo controle. Diferença significativa foi observada entre a concentração 0,5% e o controle no intervalo do 1º ao 6º dia, sendo que nos demais intervalos não houve diferença. Já o índice de conversão em ovos, demonstrou valores variando de 12,64% a 54,42%, com média de 40,1% na concentração de 0,5%, de 27,93% a 51,27%, com média de 40,0% na concentração 0,25% e de 30,39% a 45,13%, com média de 37,8% para o grupo controle. Nenhum dos tratamentos apresentou diferença significativa em relação ao controle. A eclodibilidade foi de 100% para todos os grupos (Tabela 5).

Diferentemente de todos os testes realizados, o concentrado produzido e testado no laboratório na semana do experimento, não demonstrou os resultados esperados, não inibindo a postura e nem a eclodibilidade das fêmeas. Sem tempo hábil para a produção de um novo concentrado, o teste foi realizado com aquela amostra. Outros três testes realizados no laboratório confirmaram a perda da atividade antes obtida (Tabela 7).

Tabela 7. Média \pm s dos percentuais de conversão em ovos (ICO), de eclosão (PECL) e percentual de eficácia (PEF) do concentrado de *Melia azedarach* formulado para o teste de estábulo, sobre fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*.

Concentração (%)	Concentrado emulsionável		
	ICO	PECL	PEF
0,25	51 \pm 2	99,3 \pm 1	12,6 \pm 0,5
0,125	52 \pm 1	99,6 \pm 0,5	11,3 \pm 1
0,0625	53 \pm 3	100 \pm 0	10,2 \pm 0
0,0312	53 \pm 1	100 \pm 0	10 \pm 0,5
0,0156	54 \pm 1	100 \pm 0	9,9 \pm 0
Controle	56 \pm 1	100 \pm 0	-----

6 DISCUSSÃO

As quantidades extraídas de óleo dos frutos verdes de *M. azedarach* no presente experimento são semelhantes às obtidas por VIVAN (2005), que descreve em seu trabalho, que a quantidade de óleo existente em *M. azedarach* corresponde a 7% do peso total do fruto. MOREIRA et al. (2007), ao avaliarem o extrato hexânico dos frutos de *Xylopiya emarginata*, obtiveram, após a extração, um rendimento médio de 5,7% de fração oleosa. Baixo rendimento de compostos biologicamente ativos também é relatado para extratos de *A. indica*, sendo demonstrado por SCHMUTTERER (1990) citado por HOWATTS, (1994) a existência de 0,09% de compostos pesticidas numa safra produzida por uma árvore de nim, com produção média de frutos de 20,5 kg. Essa baixa proporção de extratos vegetais e por consequência, de princípio ativo é justificada pela própria fisiologia da planta. Isso por que os metabólitos secundários, responsáveis pela produção são geralmente armazenados pelas plantas em quantidades menores que os metabólitos primários e tendem a ser sintetizados em células especializadas e em estágios de desenvolvimento distintos (BALANDRIN, 1985).

O uso de frutos *M. azedarach* no controle de pragas afeta menos a planta que o emprego de ramos, troncos e raízes, racionalizando e facilitando a preservação das áreas com a referida planta (BRUNHEROTTO & VENDRAMIM, 2001), contudo a produção fica limitada, visto que os frutos compõem apenas 25% da biomassa das plantas (SAXENA 1999). O baixo rendimento torna-se fator limitante ao desenvolvimento de produtos naturais. Porém, estudos bioquímicos das várias fases de desenvolvimento da planta evidenciam que, à medida que se conhece mais o comportamento da espécie, com relação às suas características de adaptação ao ambiente, como melhor local de desenvolvimento, características de solo, horário de colheita, secagem e outros, melhor será a sua produtividade, e consequentemente poderá haver incremento na quantidade de substâncias ativas (OLIVEIRA & AKISUE, 1997).

Quanto aos valores de umidade obtidos nos frutos verdes de *M. azedarach*, não foram encontrados na literatura dados de referência para esta planta ou plantas da família Meliaceae, sendo, portanto os resultados encontrados, adotados como referência para frutos verdes *M. azedarach*, obtidos da mesma região avaliada.

Altos índices de eficácia em testes laboratoriais já era esperado, visto que essa atividade também já foi relatada por diversos autores, utilizando frutos de *M. azedarach* no combate de diferentes pragas (VALLADARES et al, 1999, JUAN et al, 2000, SOUZA & VENDRAMIN 2000, BRUNHEROTO & VENDRAMIN 2001, BORGES et al, 2003, BORGES et. al, 2005, SOUSA & BORGES, 2005). Em especial, a utilização de frutos verdes, que tem sido reportada com eficácia superior aos frutos maduros (VALLADARES et al, 1999, SOUZA E VENDRAMIN 2000, BRUNHEROTO & VENDRAMIN 2001 e SOUSA & BORGES 2005). É importante ressaltar que os frutos empregados na produção dos extratos para este experimento foram obtidos das mesmas plantas utilizadas por BORGES et al (2003) e atuaram sobre o carrapato *B. microplus* de forma semelhante, o que sugere que as plantas mantiveram as substâncias ativas estáveis. VIVAN (2005) avaliando a eficácia de extratos hexânicos e aquosos de folhas e frutos de *M. azedarach* sobre o *B. microplus*, observou a melhor eficácia sobre fêmeas com extratos aquosos de frutos, na concentração de 0,10%, atingindo 47,54%. Com extratos hexânicos foi obtida a eficácia máxima de 31,89%, na concentração de 0,10%. Estes resultados são inferiores aos encontrados por BORGES et al (2003) e aos relatados neste trabalho. Esta diferença pode ocorrer devido a influências biogeográficas sofridas pelas plantas utilizadas. De acordo com ERMEL et al (1987), *A. indica* apresenta grande variação individual no teor de azadiractina encontrada na semente. Este teor varia também dependendo da região de origem da planta. Exemplos de uma mesma espécie, colhidos em épocas diferentes, ou de locais diferentes, não têm necessariamente a mesma atividade biológica. Tais indícios foram observados para *M. azedarach* por alguns autores que identificaram diferentes compostos em frutos de plantas provenientes de diferentes regiões do mundo (MORGAN & THORNTON, 1973; ARIAS & HIRSCHMAN, 1988; CABRAL et al, 1996). Ainda que orientada pelas

características genéticas da planta, a síntese química das substâncias é controlada por fatores do ecossistema, iluminação, calor, constituição do solo, umidade, etc (LAPA, 1999).

A mortalidade observada em larvas de *B. microplus*, em relação ao extrato e o concentrado, demonstraram 100% de eficácia, destacando o efeito larvicida de *M. azedarach*. BORGES et. al (2003), avaliando a eficácia de extratos brutos de frutos maduros de *M. azedarach*, extraídos com diferentes solventes, sobre larvas e fêmeas de *B. microplus*, verificaram elevada taxa de mortalidade de larvas e alta eficácia sobre fêmeas ingurgitadas, sendo que o extrato não matou as fêmeas adultas, mas inibiu total ou parcialmente a conversão em ovos e a embriogênese.

O aumento na atividade acaricida ocorrido na transformação do extrato bruto em concentrado emulsionável concorda aos resultados obtidos por CHAGAS et al., (2002). Ao trabalharem com óleos essenciais de diferentes espécies de *Eucalyptus*, estes autores também demonstraram potencialização dos mesmos quando transformados em concentrados emulsionáveis, justificando esse efeito pela capacidade do concentrado em ser lipolítico e hidrofílico, agindo mais ativamente sobre a cutícula do *B. microplus*.

Outro fator diretamente relacionado ao aumento na atividade dos concentrados em relação ao extrato bruto de *M. azedarach*, também pode estar associado à utilização do óleo de soja como veículo nas formulações, visto que os melhores resultados foram obtidos nos concentrados onde houve a utilização do óleo de soja. Nos concentrados onde não houve a adição do óleo de soja (concentrado 4), ou onde houve em menor quantidade (concentrado 6), foram observados os menores índices de eficácia. Esses resultados são coerentes, visto que o uso do óleo de soja, também chamados de espalhantes, tem como objetivo proporcionar uma eficiente cobertura uniforme das partes tratadas. Devido ao baixo custo e à disponibilidade, o óleo de soja é muito utilizado em formulações comerciais como adjuvante, pois age dissolvendo as gorduras componentes da cutícula e membranas celulares, eliminando as barreiras que diminuem a absorção dos produtos e provocando o extravasamento do conteúdo da célula. A adição do óleo permite reduzir a dose

herbicida, em alguns casos, em mais de 50%, comparativamente aquela utilizada sem sua adição (EMBRAPA, 2006).

A análise dos dados demonstrou eficiência do produto em atuar em fêmeas ingurgitadas e larvas na concentração de 0,5%, sendo insignificante sua atuação sobre ninfas (7^o ao 13^o dia). Essa maior sensibilidade de fêmeas ingurgitadas e dos instares imaturo (larvas) do *B. microplus* ao concentrado emulsionável é verificada, sendo demonstrada pela redução ocorrida na contagem total de carrapatos, nos três primeiros dias após o tratamento, e nos períodos onde larvas e metalarvas comporiam a população de adultos no ciclo (14^o ao 20^o dia). Em relação há menor atuação sobre ninfas, pode-se sugerir que, essa diferença encontrada decorra pelas diferentes espessuras da cutícula entre os instares. De acordo com BALASHOV (1972), a cutícula dos carrapatos é formada pela camada externa, epicutícula (composta externamente por ceras e internamente por proteínas) e também pela camada interna, procutícula (quitina e proteína). A existência, entretanto dessa camada de ceras ou de lipídeos é vista em *B. microplus* somente a partir da ecdise na ninfa e, em maior quantidade, adulto (ODHIAMBO, 1982). De acordo com esse mesmo autor, no início do processo de alimentação a espessura da cutícula aumenta, mas depois ela é esticada e se torna de espessura igual ou parecida à da larva. Durante a alimentação nos ixodídeos, a síntese cuticular aumenta bastante, mas quando a cutícula está esticada ao final deste processo, ela volta praticamente à sua espessura original (GEROLT, 1970). Sendo assim larvas e fêmeas ingurgitadas teriam espessuras semelhantes de cutícula, respondendo ao uso do concentrado de forma semelhante, já as ninfas por possuir essa camada de ceras e proteínas e durante a alimentação não sofrer o estiramento da pele, semelhante a que ocorre nas fêmeas ingurgitadas, seriam, portanto naturalmente mais resistentes ao concentrado emulsionável.

A comparação entre os índices de controle diário obtidos no presente trabalho e o de BORGES et al (2005) não pôde ser realizada porque as fórmulas para avaliação da eficácia foram diferentes, no entanto é possível se comparar o percentual de fêmeas contado nos grupos tratados em relação ao controle, ao final das contagens. BORGES et al (2005) observaram 76% (188 em 247) e no presente

trabalho este percentual foi de 84 (198 em 233) no grupo tratado com 0,25% e 65 (153 em 233) no grupo tratado com 0,5%. Embora tenha se observado diferença significativa entre o grupo tratado (0,5%) e o controle em relação ao peso das fêmeas no intervalo do 1^o ao 6^o dia, não foi observada entretanto, nenhuma diferença na conversão em ovos e na eclodibilidade das larvas assim como observado por BORGES et al (2005). Assim, nos dois trabalhos somente foi observada interferência da planta no desenvolvimento do carrapato, mas não na sua reprodução. Como já discutido, entre as diferentes formas de ação de *M. azedarach*, a capacidade de causar alta mortalidade em larvas de *B. microplus* poderia estar associada a esse efeito no desenvolvimento. Desta forma, aparentemente a melhor eficácia obtida no presente trabalho na mais alta concentração está associada com o aumento da concentração do extrato e não com a formulação do concentrado.

Esses resultados não correspondem ao conjecturado, visto que ao se utilizar o concentrado emulsionável se esperava obter algum efeito sobre a reprodução do carrapato o que não foi observado com o uso do extrato bruto “in vivo” (BORGES et al., 2005), bem como possibilitar a utilização de *M. azedarach* para o controle de *B. microplus* em animais a campo. MULLA & SU (1999) em seu trabalho, salientam para o limitado espectro de persistência dos produtos naturais, quando avaliados sob condições de campo, decorrentes principalmente pelos efeitos da luz, da temperatura, do pH e da degradação microbiana.

Buscando identificar possíveis motivos capazes de causar essa inatividade do concentrado produzido para os testes de estábulo, foi observado que o mesmo não possuía estabilidade na formulação observada no concentrado produzido em um volume menor (20 ml), pois havia a formação de um corpo de fundo, que não dispersava no restante da solução.

Instabilidade pode ser definida como uma situação de ocorrência imediata ou de longo prazo que altera significativamente a forma de utilização, a durabilidade, a eficácia e a segurança do produto. A perda dessa atividade pode ocorrer pela degradação de princípios ativos fotoinstáveis incorporados numa preparação que não contenha fotoprotetores. Portanto, é importante para os formuladores conhecer e identificar as incompatibilidades que aparecem inicialmente ou tardiamente, após

semanas de testes acelerados de envelhecimento em estufa, exposição à luz solar ou ainda submetida a baixas temperaturas (ZAGUE et al., 2005). Ao contrário do que observado com os medicamentos sintéticos, o controle de qualidade, a padronização e a estabilização dos medicamentos fitoterápicos, constituem tarefa bastante complexa (CALIXTO, 2001).

Segundo EVANS (1996), é difícil controlar quimicamente um extrato vegetal, em virtude do grande número de substâncias normalmente presentes. Entretanto, se a complexidade de componentes e múltiplos modos de ação representa um obstáculo para utilização da planta como inseticida, pois dificultam a identificação e síntese dos princípios ativos, também por outro lado, retarda o desenvolvimento de resistência (MULLA & SU, 1999).

Em estudo semelhante PEREIRA & FAMADAS (2004, 2006), avaliando a eficiência do extrato de raízes da planta *Dahlstedtia pentaphylla* (Taub.) Burk., (Leguminosae, Papilionoideae, Millettiae) sobre amostras de *B. microplus*, em testes in vitro e in vivo, obtiveram 100% eficácia nos testes laboratoriais com inibição total da postura e da eclodibilidade, porém ao avaliar em animais infestados, os resultados demonstrados foram bem abaixo dos encontrados anteriormente, sem qualquer atuação nos aspectos reprodutivos. LEITE et al (2002) realizaram estudos para comparar a eficácia de uma determinada base carrapaticida a campo e no laboratório. Eles observaram que, ainda que submetidas ao mesmo tratamento, as teleóginas apresentaram diferenças na eficiência reprodutiva, sendo encontrados índices de postura maior nos teste a campo, o que evidenciou a incapacidade dos testes laboratoriais em representar as condições adversas que ocorrem no campo as quais podem diminuir significativamente a eficiência do produto carrapaticida. Para PEREIRA & FAMADAS (2006), os resultados obtidos no teste a campo não devem desanimar o uso destes extratos, visto que sua eficiência é superior a muitos sintéticos utilizados, sendo necessário, no entanto a adoção de esquemas específicos para o banho.

Para CHAGAS (2004), a validação da eficiência ocorre realmente nos experimentos a campo, onde os fatores ambientais, como temperatura, umidade,

pluviosidade, além de fatores inerentes ao hospedeiro, irão influenciar diretamente nos resultados, provocando uma série de testes para se chegar ao ajuste final da fórmula. Desta forma, diante dos resultados obtidos neste trabalho, levanta-se a necessidade de mais estudos, principalmente avaliando outras formulações e sua estabilidade em teste a campo, bem como a realização de mais testes “in vitro”, especialmente sobre instares (metaninfa e ninfas), onde os resultados foram menos promissores.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados desse trabalho conclui-se que:

O extrato bruto obtido frutos verdes de *M. azedarach* e os concentrados emulsionáveis possuem ação “*in vitro*” sobre larvas e fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*, sendo que a transformação do extrato bruto em concentrado potencializou a sua ação.

No teste a campo observou-se uma melhor atuação do concentrado emulsionável na concentração de 0,5% sobre larvas e sobre adultos, sendo as ninfas o estágio menos responsivo ao concentrado.

Apesar de promissores, o teste a campo não demonstrou os mesmos efeitos sobre a conversão em ovos e a embriogênese conforme observado em laboratório.

REFERÊNCIAS

1. ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.18, p.265-266, 1925.
2. ALVES-BRANCO, F. P. J., PINHEIRO, A. C., MACEDO, J. B. R. R. Prevalência estacional do *Boophilus microplus* em bovinos das raças Hereford e Ibagé. In: **COLETÂNEA DAS PESQUISAS: MEDICINA VETERINÁRIA E PARASITOLOGIA**, Bagé: EMBRAPA/CNPq, 1987. p.223-228. 1987
3. ARANTES, G. J.; MARQUES, A. D.; HOMER, M. R. O carrapato bovino, *Boophilus microplus*, no município de Uberlândia, MG. Análise da sua resistência contra carrapaticidas comerciais. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro, v.4, n.2, p. 89-93, 1995.
4. ARIAS, A. R.; HIRSHMANN, C. S. The effects of *Melia azedarach* on *Triatoma infestans* bugs. **Fitoterapia**, Milano v.59, n. 2, p. 148-149, 1988.
5. ARTECHE, C. C. P. Contribuição ao estudo do combate ao *Boophilus microplus* (Canestrini-1888) no Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisa. Desidério Finamor**, Rio Grande do Sul, p. 74-80, 1972.
6. ASSIS, L. M. **Atividade anti-helmíntica in vitro de extratos de *Spigelia anthelmia* sobre *Haemonchus contortus***. 44f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza. 2000.
7. BAIRD, C. **Química Ambiental**. Porto Alegre: Bookman, p.316-345, 2002.
8. BALANDRIN, M. F. Natural Plant Chemical: Sources of Industrial and Medicinal Materials. **Science**, New York, v.228, p.1154-60, 1985.
9. BALASHOV, Y. S. A translation of bloodsucking ticks (Ixodoidea) – Vectors of iseases of man and animals. **Miscellaneous Publications Entomological Society America**, Baltimore, v.8, n.5, p.159-376, 1972
10. BARQUERO, A. A.; ALCHE, L. E.; COTO, C. E. Antiviral activity of meliacine on the replication of a thymidine kinase-deficient mutant of Herpes simplex virus type 1 alone and in combination with acyclovir. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Washington, DC v.9, n.1, p.49-55, 1997.
11. BENAVIDES, O. R. *Boophilus microplus* tick resistance to acaricides in Colômbia. A summary of the present situation. In: C. Rodriguez, D. Sergio & H. Fragoso, eds. 3rd **INTERNATIONAL SEMINARY ON ANIMAL PARASITOLOGY**, Acapulco, Guerrero, Mexico, 1995.

12. BENAVIDES, E.; ROMERO, A. Preliminary Results of a Larval Resistance Test to Ivermectins Using *Boophilus microplus* Reference Strains. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, vol 916, p.610-612, 2000.
13. BITTENCOURT, V. R. E. P. et al. Avaliação dos efeitos do contato de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin com ovos e larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v.5, n.2, p.81-84, 1996.
14. BITTENCOURT, V. R. E. P.; SOUZA, E. J.; PERALVA, S. L. F. S. E REIS, R. C. S. Eficácia do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 em teste de campo com bovinos infestados por carrapato *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE). **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 21, p. 78-82. 1999.
15. BITTENCOURT, V.R.E.P.; BAHIENSE, T.C.; FERNANDES, E.K.K.; SOUZA, E.J. Avaliação da ação in vivo de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 aplicado sobre *Brachiaria decumbens* infestada com larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v.12, p.38-42, 2003.
16. BORDIN, E. L. Carrapatos – Uma abordagem diferenciada. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, Ano 18, nº 103, maio/junho ,p.23-28, 1998.
17. BORGES, L. M. F.; FERRI, P.H.; SILVA, W. J.; SILVA, W. C. In vitro efficacy of extracts of *Melia azedarach* against the tick *Boophilus microplus*. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 17, p. 228-231, 2003.
18. BORGES, L. M. F.; FERRI, P. H.; SILVA, W. C.; SILVA, W. J. Ação do Extrato Hexânico de Frutos Maduros de *Melia azedarach* (Meliaceae) sobre *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em bezerros infestados artificialmente. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 34, p.53-59, 2005.
19. BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 188p. 1976.
20. BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J. D. Biotividade de Extrato Aquosos de *Melia azedarach* L. Sobre o Desenvolvimento de *tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em Tomateiro. **Neotropical Entomology**, Londrina vol. 30, n.3. 2001.
21. BUENO, O. C. **Plantas inseticidas no controle de formigas cortadeiras**. Revista. Agroecologia Hoje, Botucatu, Ano IV, n. 28, p.20-22, jan.; 2005.

22. BURKS, K. C. *Melia azedarach*. Fact sheet prepared by the Bureau of **Journal Aquatic Plant Management**, Department of Environmental Protection, State of Florida, Tallahassee, Florida, 1997.
23. CABRAL, M. M. O.; HEINZ REMBOLD, E. S. G.; SIMONE, S. G. D.; KALECOM, A. Anti-moulting activity in Brazilian *Melia azedarach*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, p. 117-118, 1996.
24. CALIXTO, J. B. Medicamentos fitoterápicos. Pp. 297-315. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó, Ed.Argos, 2001.
25. CARPINELLA, M. C.; HERRERO, G. G.; ALONSO, R. A.; PALACIOS, S. M. Antifungal activity of *Melia azedarach* fruti extract. **Fitoterapia**, Milano, v. 70, p. 296-298, 1999.
26. CARVALHO, S. M., CASTRO, B. R. R. **Efeito de plantas tóxicas no controle da vaquinha *Diabrotica speciosa* Germar em laboratório**. In: II Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão, p. 49. Goiânia, maio, 1987.
27. CHAGAS, A. C. S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; FURLONG, J.; LEITE, R. C. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, vol 39, n 5. 2002.
28. CHAGAS, A. C. S. **Controle de parasitas utilizando extratos vegetais**. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 13, suplemento 1, p.156-160, 2004.
29. COBON, G.; HUNGERFORD, WOODROW, M.; SMITH, D.; WILLADSEN, P. Vaccination against *Boophilus microplus*: the Australian field experience. Recombinant Vaccines for the control of cattle tick. **Elpos Scientiae**, Habana p. 280, 1995.
30. CONWAY, G. R.; COMINS, H. N. Resistance to pesticides. 2. Lessons in strategy from mathematical models. **Span**, v. 22.; n.2, p. 53-55, 1979.
31. CUISANCE, D., BARRE, N., DEKEN, R. Ectoparasites of animals: methods of ecological, biological, genetic and mechanical control. **Science Technology**, Washington, v.13: p.1305-1356, 1994.
32. DANTAS, D. A.; MAGANHA, M.; BERETTA, T. E.; NOZU, P.; PEREIRA, G. S.; MATIAS, R.; SOLON, S.; RESENDE, U.; KOLLER, W. W.; GOMES, A. Estudo fitoquímico dos frutos de *Melia azedarach* L. (Cinamomo, Meliaceae). In ENCONTRO DE PESQUISA E INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIDERP, 2.;

- Campo Grande, 2000. **Anais**, Campo Grande: UNIDERP, Resumo expandido, p. 119-120, 2000.
33. DAVEY, R.B.; GEORGE, J.E. In vitro and in vivo evaluations of a strain of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) selected for resistance to permethrin. **Journal Medical Entomology**, Lawrence, vol. 35, p 1013-1019, 1998.
34. DAVEY, J. E.; GEORGE, J. E.; SNYDER, D.E. Efficacy of a single whole-body spray treatment of spinosad, against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle, **Veterinary Parasitology**, Amsterdam,; p 41-52 . 2001
35. DRUMMOND, R. O.; ERNST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADENY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests for insecticides. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, vol 66, p 130- 133.1973.
36. EMBRAPA, 2000 (GADO DE CORTE-CNPGC). **Carrapato-de-Boi: prejuízos e controle** - Campo Grande, MS, dez. 2000 n0 42 [on line], 2000. Disponível em: [http:// www.cnpgc.embrapa.br/publicações/divulga/GCD42.html](http://www.cnpgc.embrapa.br/publicações/divulga/GCD42.html). Acesso em: 05 de Maio. 2006.
37. EMBRAPA, 2006.(TRIGO-CNPT). **Conceitos e aplicações dos adjuvantes**. Passo Fundo, RS, Agosto.2006 [on line], 2006. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_56pdf. Acesso em: 05 de Dezembro. 2007.
38. ERMEL, K.; PAHLICH, E.; SHUMUTTERER, H. Azadirachtin content of neem kernels from different geographical locations, and its dependence on temperature, relative humidity, and light. In: SCHUMETTERER, H.; ASCHER, K. R. S. Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants. Proceedings of the III **International Neem Conference**. Nairobi, Kenya, GTZ, Eschborn, p.171-184, 1987.
39. EVANS, W. C. The plant and animal kingdoms as sources of drugs. In: **Trease and evans pharmacognosy**. London: W. B. Saunders, p.15-17, 1996.
40. FARIAS N. A. R.; GONZALES, J. C. e SAIBRO, J. C. Antibiose e antixenose entre forrageiras e larvas de carrapatos de boi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.21, n.12, p.1313-1320, dez.1986.
41. FERNANDEZ-RUVALCABA, M.; CRUZ-VAZQUEZ, C.; SOLANO-VERGARA, J. GARCIA-VAZQUEZ, Z. Anti-tick effects of *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata* on plots experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae in Morelos, Mexico. **Experimental Applied Acarology**, Amsterdam, n.23 p.171-175. 1999.

42. FRAGOSO, S. H.; MARTINEZ, I. F.; ORTIZ, N. A. 2004. **Situación actual de la resistencia a los ixodídeos en México.** p.1-8. Disponível em <http://web.andinet.com/redectopar> 2004. Acesso em 5 de outubro de 2006.
43. FRAZZON, A.P.G.; VAZ, I.S.; MASUDA, A.; VAINSTEIN, M.H. *In vitro* assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.94, p.117-125. 2000.
44. FRISCH, J. E. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. **International Journal Parasitology**, Washington, n.29, p.57-71. 1999.
45. FURLONG, J.; EVANS, D. Epidemiologia do carrapato *Boophilus microplus* no Brasil: Necessidade de uma abordagem compreensível para seu estudo realístico. In: **SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**, VLL. SIMPÓSIO SOBRE MOSCAS DO CHIFRE *Haematobia irritans*, II.; São Paulo. Anais. São Paulo, p.48-50 EMBRAPA. 1991
46. FURLONG, J. **Controle do carrapato dos bovinos na região Sudeste do Brasil.** Caderno Técnico da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, n. 8, p. 49-61, 1993.
47. FURLONG, J. Controle estratégico de endo e ectoparasitos em bovinos de leite na região do Brasil-Central. In: Bressan, M.; Martins, C.E.; Vilela, D. (eds.). **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil**, Juiz de Fora, Embrapa Gado de leite, Minas Gerais, p.165-174. 2000.
48. GARCIA, J. F. E OZAKI, L. S. Perspectivas de controle imunológico de carrapatos parasitos de rebanhos bovinos. **A Hora da Veterinária**, Porto Alegre, n.71, p. 9-12, 1993.
49. GEROLT, P. The mode of entry of contact insecticides. **Pesticide Science**, Oxford, v.1, p.209-212, 1970.
50. GEORGE, J. E.; POUND, J. M.; DAVEY, R. B. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of the parasites to acaricides. **Parasitology**, London, vol. 129, p 353-366, 2004.
51. GONZALES, J. C. **O controle dos carrapatos dos bovinos.** Porto Alegre, Ed Sulina, p 104, 1975.
52. GONZÁLES, J. C. **O controle do carrapato do boi.** Porto Alegre, Ed. Autor, p. 79, 1995.

53. GONZALES, J. C.; SERRA-FREIRE, N. M. O couro dos bovinos no Rio Grande do Sul: riqueza há muito maltratada. **A Hora Veterinária**; Porto Alegre, v.12, n.69, p.6-14, 1992.
54. GRISI, L.; MASSARD, C. L.; BORJA, G. E. M.; PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora da Veterinária**, Porto Alegre, n.21 p.125, 2002.
55. GRONVOLD, J., HENRIKSEN, S. A., LARSEN, M., NANSEN, P., WOLSTRUP, J. Biological control. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, n.64, p. 47-64. 1996.
56. HOGSETTE, J. A. Management of ectoparasites with biological control organisms. **International Journal Parasitology**, Washington, n, 29, p.147-151. 1999.
57. HOLDSWORTH, P. A.; KEMP, D.; GREEN, P.; PETER, R. J.; DE BRUIN, C.; JONSSON, N. N.; LETONJA, N. N.; REHBEIN, S.; VERCRUYSSSE, J. World Association for the advancement of veterinary parasitology (W.A.A.V.P) guidelines for evaluating the efficacy of acaricides against ticks (Ixodidae) on ruminants. **Veterinary parasitology**, Amsterdam, vol 136, 29-43, 2006.
58. HORN, S. C. **Prováveis prejuízos causados pelos carrapatos**. Boletim Defesa Sanitária Animal, 2 ed, Brasília: Ministério da Agricultura.; 1983.
59. HOWATTS, K. **Azadirachta indica: one tree's arsenal Against Pests**. Colorado State University, Fort Collins, Colorado, 1994.
60. JUAN, A.; SANS, A.; RIBA, M. Antifeedant Activity of Fruit and Seed Extracts of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on Larvae of *Sesamia nonagrioides*. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.28, n. 4, p. 1-9, 2000.
61. KHAN, M. R.; KIHARA, M.; OMOLOSO, A. D. Antimicrobial activity of *Horsfieldia helwiigi* and *Melia azedarach*. **Fitoterapia**, Milano, v. 72, p.423-427, 2001.
62. KAUFMAN, W. R. Tick-host interaction: a synthesis of current concepts. **Parasitology Today**, Amsterdam, v.5, p.47-56, 1989.
63. KESSLER, R. H.; SCHENK, M. A. M. **Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos**. Campo Grande: EMBRAPA - CNPGC, 157 p, 1998.

64. KUNZ, S. E., KEMP, D. H. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. **Science Technology**, Washington, v.13, p.1249-1286, 1994.
65. LARINI, L. **Toxicologia**. São Paulo: Editora Manole, p.152-153, 1997.
66. LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; GODINHO, R.O.; LIMA T. C. M. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 1.ed. Porto Alegre: UFRGS, p. 181-196, 1999.
67. LEITE, R. C. *Boophilus microplus* (Canestrini,1887): **Susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiográficas da baixada do Grande Rio e Rio de Janeiro: Uma abordagem epidemiológica**. 1988. 122p. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1988.
68. LEITE, R. C.; CARDOSO, F. S.; OLIVEIRA, P. R.; BARBOSA, V. M.; BASTIANETTO, E.; FREITAS, C. M. V. Avaliação de diferentes técnicas para determinação da resistência de *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae) a carrapaticidas comerciais. In: XI Semana de Iniciação Científica da UFMG, Belo Horizonte. **Anais da XI Semana de Iniciação Científica da UFMG**. Belo Horizonte: Grafica Universitaria, p. 1-1, 2002.
69. LEPAGE, H. S.; GIANOTTI, O.; ORLAND, A. **Proteção das culturas contra os gafanhotos por meio de extratos de *Melia azedarach***. O Biológico, vol.12, p.265-271, 1946.
70. LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas do Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p.234-368, 2003.
71. MADALENA, F. E.; TEODORO, R. H.; LEMOS, A. M.; OLIVEIRA, G. P. Causes of variation of field burdens of cattle ticks (*B. microplus*). **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.VIII, n.2, p.361-75, 1985.
72. MAGALHÃES, F. E. P., LIMA, J. D. Controle estratégico do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae) em bovinos da região de Pedro Leopoldo, Minas Gerais. In: SEMINÁRIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, vol. 5; p.19, Belo Horizonte. **Anais. Belo Horizonte**, 1987.
73. **MANUAL MERCK DE VETERINÁRIA**. 7.ed. São Paulo, Ed Roca. 1999.

74. MARTINEZ, S. S. O NIM - natureza, usos múltiplos, produção. **IAPAR**, Londrina. p 142, 2002.
75. MARTINS, J. R.; CORREA, B. L.; CERESER, V. H.; ARTECHE, C. C. P. A situation report on resistance to acaricides by the cattle tick *Boophilus microplus* in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. In: Rodriguez, C. D.; Sérgio, D. ; Fragoso, S.H. (ed.) **INTERNATIONAL SEMINARY ON ANIMAL PARASITOLOGY**, 3.; Acapulco, Guerrero, México, 1995.
76. MARTINS, J. R., FURLONG, J. Avermectin resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. **Veterinary Record**, London v.149, n. 92, p. 64, 2001.
77. MATIAS, R.; SOLON, S.; RESENDE, U. M.; GOMES, A.; KOLLER, W. W. *Melia azedarach*, uso popular x estudos químicos e farmacológicos: breve revisão. **Ensaio e Ciência**: ed. UNIDERP, Campo Grande, v.6, n.1, p. 91-121, 2002.
78. MENDES, M. C.; VERÍSSIMO, C. J.; KANETO, C. N.; PEREIRA, J. R. Bioassay for measuring the acaricides susceptibility of cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in São Paulo State, Brazil. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n.2, p. 23-27, 2001.
79. MENDEZ, M. C.; ARAGÃO, M.; ELIAS, F.; RIET-CORREA, F.; GIMENO.; E. J. Experimental intoxication by leaves of *Melia azedarach* (Meliaceae) in cattle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro 22 (1): p.19-24, jan./mar. 2002.
80. MONTEIRO, A C., FIORIN, A C., CORREIA, A C. B. Pathogenicity of isolates of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin towards the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.) (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. **Journal Microbiology**, São Paulo v 29, p. 109-112, 1998.
81. MORAES, F. R., COSTA, A. J., WOELZ, C. R. Ecologia de carrapato. XV: Suscetibilidade natural comparativa entre taurinos e zebuinos a *B. microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae). **Arquivos Veterinária**, Jaboticabal, v.2, n.1, p.45-53, 1986.
82. MOREIRA, I. C.; ROQUE, N. F.; CONTINI, K.; LAGO, J. H. G. Sesquiterpenos e hidrocarbonetos dos frutos de *Xylopiá emarginata* (Annonaceae). **Revista Brasileira de Farcognosia**, João Pessoa, vol.17, nº 1 . Janeiro/Março, 2007.
83. MORENO, E. C. **Incidência de ixodídeos em bovinos de leite e prevalência em animais domésticos da Região metalúrgica de Minas Gerais**: 105p. [Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte]. 1984.

84. MORGAN, E. D.; THORNTON, M. D. Azadirachtin in the fruit of *Melia azedarach*. **Phytochemistry**, New York, v. 12, p. 391-392, 1973.
85. MULLA, M. S.; SU, T. Activity and biological effects of neem products against arthropod of medical and veterinary importance. **Journal of American Mosquito Control Association**, New York, v. 15, p. 133-152, 1999.
86. MURREL, A.; BARKER, S. C. Synonymy of *Boophilus* *Crutice*, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, Dordrecht, Holanda v. 56, p. 169-172, 2003.
87. MUTTI, O. Toxicología vegetal. In: **Intoxicaciones más frecuentes en pediatría**. Edic. Macchi. Buenos Aires, 1992.
88. MWANGI, R.W.; REMBOLD, H. Growth inhibiting and larvicidal effects of *Melia volkensii* extracts on *Aedes aegypti* larvae. **Entomologia Experimentalis Applicata**, Boston, v. 46, p.103–108.1988.
89. NOLAN, J. Current developments in resistance to amidine and pyrethroid tickicides in Australia. In: WHITEHEAD, G.B.; GIBSON, J. D. **Tick biology and control**, Rhodes University: Grahamstown, South Africa, p.109-114, 1981.
90. NOLAN, J. Mechanisms of resistance to chemicals in arthropod parasites of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, vol 18, p 155-166. 1985.
91. NUÑES, J. L.; MUÑOZ, C. M. E.; MOLTEDO, H. L.; ***Boophilus microplus*, la garrapata comun del ganado vacuno**. 1 ed.; Buenos Aires, Ed Hemisfério Sul. 1982.
92. ODHIAMBO, T. R. **Current themes in tropical science: physiology of ticks**. Oxford : Ed.Pergamon, v.1, p. 508. 1982.
93. OELRICHS P. B.; HILL, M. W.; VALLELY, P. J.; MACLEOD J. K.; MOLINSKY, T. F. Toxicity tetranortriterpenes of the fruit of *Melia azedarach*. **Phytochemistry**, New York, v. 22, p.531 - 534, 1983.
94. OLIVEIRA, G. P.; ALENCAR, M. M. Resistência de bovinos de seis graus de sangue Holandês-Guzerá ao carrapato (*Boophilus microplu*) e ao berne (*D. hominis*). **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v.42, n.2, p.127-35, 1990.
95. OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Fitoterapia. In: **Fundamentos da Farmacobotânica**. 2ª ed. São Paulo, p. 157-163. Editora Atheneu,. 1997.

96. OLIVEIRA, A. A. Resistência do carrapato *Boophilus microplus* a carrapaticidas em bovinos de leite na região dos Tabuleiros Costeiros de Sergipe. **Revista Científica Rural**, Bagé, v.7, nº 2 p 64-71, 2002.
97. ORTIZ, E. M.; SANTAMARIA, V. M.; ORTIZ, N. A.; SOBERANES, C. N.; OSORIO, M. J.; FRANCO, B. R.; MARTINEZ, I. F.; QUEZADA, D. R.; FRAGOZO, S. H. Caracterización de la resistencia de *B. microplus* em Mexico. In: Rodriguez, C.; Sérgio, D.; Fragozo, S.H. (ed.) **Anais, INTERNATIONAL SEMINARY ON ANIMAL PARASITOLOGY**, 3.; 1995,. P. 58-70. Acapulco, Guerrero, México: 1995.
98. PATARROYO, J.; LOMBANA, C.G. Resposta Imune a Vacinas Sintéticas Anti-*Boophilus microplus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Rio de Janeiro, v.13, p.129-134, 2004.
99. PEREIRA, M. C. ***Boophilus microplus* - Revisão taxionômica e morfológica**. Rio de Janeiro: Químio Divisão Veterinária, p.7-45, 105p, 1982.
100. PEREIRA, J.R.; FAMADAS, K.M. Avaliação “in vitro” do extrato da raiz do timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) (leguminosae, Papilionoidae, Millettiedae) sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) na região do Vale do Paraíba, São Paulo, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.71, n.4, p.443-50, 2004.
101. PEREIRA, J. R.; FAMADAS, K. M. The efficiency of extracts of *Dahlstedtia pentaphylla* (Leguminosae, Papilionoidae, Millettiedae) on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in artificially infested bovines. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 142, p. 192-195, 2006.
102. POTENZA, M. R. **Efeito acaricida de alguns extratos vegetais sobre *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (ACARI: TETRANYCHIDAE) em laboratório**. *Arquivo Instituto Biológico*, São Paulo, v.66, n.1, p.31-37, jan./jun.; 1999.
103. REVISTA BIOTECNOLOGIA CIÊNCIA e DESENVOLVIMENTO. **Biotecnologia aplicada ao controle biológico- O entomopatógeno *Metarhizium anisopliae***, nº 21, Julho/agosto- 2001 (on line). disponível em: www.biotecnologia.com.br/revista. Acesso em: 16 de setembro 2006
104. ROCHA, U. F. **Boletim Técnico Faculdade Ciência Agrárias Veterinária**. Jaboticabal, v3, p.1-32,1984.
105. ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Interações: Revista Internacional de Desenvolvimento local**, Campo Grande, vol. 1, n.1, p.43-50, Março. 2001.

106. ROMERO, A.; BENAVIDES, E.; HERRERA, C.; PARRA, M. H. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a acaricidas organofosforados y piretróides sintéticos en el departamento Del Huila. **Revista Colombiana Entomología**, Colômbia, v. 23, n.1/2, p. 9-17, 1997.
107. SABATINI, G. A.; KEMP, D. H.; HUGHES, S.; NARI, A.; HANSEN, J. Tests to determine LC50 and discriminating doses for macrocyclic lactones against the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**. Amsterdam, 95: 53-62., 2001.
108. SAKUMA, M. Probit analysis of preference data. **Applied Entomology Zoology**, Tokyo, v 3, p. 339-347, 1998.
109. SALLES, L. A.; RECH, N. L. Efeito de extratos de nim (*Azadirachta indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (WIED) (DIPTERA: TEPHRITIDAE). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas v. 5, n 3, p 225-227, 1999.
110. SAMISH, M., REHACEK, J. Pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. **Annual Review Entomology**, Palo alto Califórnia, n 44, p. 159-182. 1999.
111. SAXENA, R. C. The neem tree: its geographical distribution, plantation characteristics, growth and yeld and associated pests and diseases. In **Training Workshop on "How to Grow and Use Neem"**, ICIPE, Mbita, Kenya, p.14-23 nov. 1999.
112. SHAW, R. D. Culture of an organophosphorus resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.). **Bulletin Entomological Research**, Cambridge, v. 56, p. 389-404, 1966.
113. SHAW, R. D. Tick control on domestic animals. II. The effect of modern methods of treatment. **Tropical Science**, London, vol 12, p, 29-40.1970.
114. SILVA JÚNIOR, A. A. **Plantas Mediciniais**. Florianópolis: EPAGRI, CD-ROM. 1997.
115. SOUSA. L. A. D.; BORGES. L. M. F. Testes de eficácia sobre fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* com extrato hexânico de *Melia azedarach* e de um concentrado emulsionável obtido a partir destes extratos. In: **CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG - CONPEEX, 2.**; 2005, Goiânia. Anais eletrônicos do XIII Seminário de Iniciação Científica [CD-ROM], Goiânia: UFG, 2005.

116. SOUSA, L. A. D.; SOARES, S. F., PIRES JÚNIOR, H.B.; FERRI, P. H.; BORGES, L.M.F. **Avaliação da eficácia de extratos oleosos obtidos de frutos verdes e maduros de *Melia azedarach* sobre o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae)**. Revista Brasileira de Parasitologia, Rio de Janeiro, (IN PRESS).
117. SOUZA, C. A.; GURGEL, A. C.; PINTO, L. S.; BERNE, M. E.; FARIAS, N.A. Características do controle químico do na Região sul do Rio Grande do Sul e relação com a resistência a carrapaticidas. In: **X SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, I SEMINÁRIO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA DOS PAÍSES DO MERCOSUL**, Itapema/SC, p.129, 1997.
118. SOUZA, A. P. Avaliação “*in vitro*” da eficácia de fitoterápicos em teleóginas de *Boophilus microplus*. **Anais do XI CICLO DE ATUALIZAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**, Lages: CAV/UEDESC, p.127, 2004.
119. SOUZA, A. P.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de Extratos aquosos de Meliáceas Sobre *Bemisia Tabaci* Biótipo B Em Tomateiro. **Bragantia**, Campinas, vol. 59, n 2. 2000.
120. SOUZA, A. P.; VENDRAMIM, J. D. Atividade inseticida de extratos aquosos de meliáceas sobre a mosca-branca *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 133- 137, Março. 2001.
121. TORRES, A. L.; BARROS, R.; OLIVEIRA, J. V. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n.1, p.151-156, Mar. 2001.
122. VALLADARES, G. R.; FERREYRA, D.; DEFAGO, M. T.; CARPINELLA, M. C.; PALACIOS, S. Effects of *Melia azedarach* on *Triatoma infestans*. **Fitoterapia**, Milano, v.70, p.421-424, 1999
123. VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. Plantas Inseticidas. In: SIMÕES, C. M. O.; coord. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. Da UFSC, p.739-754, 821p, 1999.
124. . VIVAN, M. P. **Uso do cinamomo (*Melia azedarach*) como alternativa aos agroquímicos no controle do carrapato bovino (*Boophilus microplus*)**. Florianópolis, 2005. 72p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2005.

125. ZAGUE, V.; SILVA, D. A.; BABY, A. R.; VELASCO, M. V. R. Arcillas: Naturaleza en las máscaras faciales. **Global Cosmetic Industry Latinoamerica**, América Latina, v. 4, n. 3, p. 36-39, 2005.
126. WILLADSEN, P.; BIRD, P. E.; COBON, G. S.; HUNGERFORD, J. Commercialization of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. **Parasitology**.; Cambridge, v.110, p.S43-S50, 1995.
127. WILLADSEN P. Novel vaccines for ectoparasites. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v 71, p.209-222, 1997.
128. WHARTON, R. H.; ROULSTON, W. J. Acaricide resistance in *Boophilus microplus* in Australia. Workshop on Hemoparasites (Anaplasmosis and Babesiosis), **Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT**, Cali. 1977

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)