

EFEITO *IN VITRO* DO EXTRATO DE NIM (*Azadirachta indica*) E ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO (*Syzygium aromaticum*) SOBRE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus**

Aracele Vieira Santos¹, Rosilene Aparecida de Oliveira² e George Rêgo Albuquerque³⁺

ABSTRACT. Santos A.V., de Oliveira, R.A. & Albuquerque G.R. [The *in vitro* effect of neem extract (*Azadirachta indica*) and clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) in the *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*]. Efeito *in vitro* do extrato de nim (*Azadirachta indica*) e óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(2):111-115, 2012. Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual de Santa Cruz, BA 415 KM 16, Salobrinho, Ilhéus, BA 45662-000, Brasil. E-mail: gralbu@uesc.br.

This study aimed to evaluate the *in vitro* effect of neem extract (*Azadirachta indica*) and clove essential oil (*Syzygium aromaticum*) on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Extracts from the fresh leaves of the neem plant were obtained using water and ethanol solvents, while clove essential oil was obtained from the fruits of the Clove tree by hydrodistillation. The concentrations of aqueous and ethanolic neem extracts used were 10% and 50%, while of clove essential oil was used as 2.5% and 5%. These experiments were carried out on engorged females tick with *in vitro* immersion test. The average effectiveness of the extracts of neem was 15.04% until 74.39% depending de concentration and the solvent. The average effectiveness of the 2.5% and 5% clove essential oil was 97.15 and 99.4%, respectively.

KEYWORDS. Tick, resistance, phytotherapy, extracts, essential oil.

RESUMO. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* do extrato de nim (*Azadirachta indica*) e do óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Extratos das folhas frescas do nim foram obtidos utilizando água e etanol como solventes, enquanto o óleo essencial de cravo foi obtido a partir de frutos por hidrodestilação. As concentrações de extratos aquosos de nim e etanólico utilizados foram 10% e 50% e a do óleo essencial de cravo foi 2,5% e 5%. Para realização do experimento foi utilizado o teste de imersão *in vitro* em fêmeas ingurgitadas. A eficácia média dos extratos de nim variou de 15,04% a 74,39%, dependendo da concentração e do solvente utilizado. A eficácia média do óleo essencial de cravo foi de 97,15 e 99,4%, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE. Carrapato, resistência, fitoterapia, extratos, óleo essencial.

INTRODUÇÃO

Rhipicephalus (Boophilus) microplus é o principal parasito hematófago de bovino e provoca sérios prejuízos econômicos à pecuária, evidenciados pela redução da produtividade, debilidade, anemia, perda de peso, lesões que afetam a qualidade do couro e predispõem a infecções ou infestações secundárias, agravando-se ainda pela transmissão de agentes patogênicos, como *Anaplasma* e *Babesia*, podendo levar a morte (Jomsson 2006, Ribeiro et al. 2007).

Dentre os diversos métodos para o controle desse ectoparasita, destaca-se o uso de produtos químicos, principalmente pela disponibilidade e efeito

*Recebido em 21 de setembro de 2011.

Aceito para publicação em...

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Rodovia Ilhéus-Itabuna km 16, Ilhéus, BA 45662-900, Brasil. Bolsistas FAPESB.

² Química, Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas, UESC, Ilhéus, BA.

³ Médico-veterinário, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, UESC, Rodovia Ilhéus-Itabuna km 16, Ilhéus BA, 45662-900.

+Autor para correspondência. E-mail: gralbu@uesc.br

imediatos (Rocha et al. 2006). No entanto, uma série de aspectos com relação ao uso indiscriminado destes produtos tem sido questionada, especialmente pelo desenvolvimento da resistência aos grupos químicos através da seleção dos indivíduos naturalmente resistentes; os riscos à saúde pública, pelo acúmulo de resíduos no leite, carne e derivados e, pela contaminação do meio ambiente (De Castro 1997, Caldas & Souza 2000).

Plantas com atividade inseticida têm sido utilizadas pelo homem desde os tempos mais remotos (Chagas 2004). Atualmente, pesquisas têm sido realizadas em vários países avaliando substâncias de origem vegetal e tem encontrado importante atividade no controle dos carrapatos (Alvarez et al. 2008, Chungsamarnyart & Jiwajinda 1992, Magadum & Ghosh 2009, Ndumu et al. 1999, Srivastava et al. 2008). No Brasil, diversos estudos têm sido realizados a partir dos compostos extraídos de folhas, frutos, sementes e raízes, por meio de bioensaios utilizando diferentes solventes, ao qual se permite direcionar o uso como possíveis carrapaticidas ou alternativas que envolvam o uso de métodos sustentáveis ou integrados ao manejo estratégico (Agnolin et al. 2010, Broglio-Micheletti et al. 2010, Martins 2006, Olivo et al. 2008, Ribeiro et al. 2007, Silva et al. 2007, Valente et al. 2007).

O emprego de substâncias extraídas de plantas tem inúmeras vantagens quando comparado ao emprego de produtos sintéticos, já que os inseticidas naturais são obtidos de recursos renováveis e são rapidamente degradáveis, menor custo, disponibilidade e acesso fácil e desenvolvimento mais lento da resistência (Chungsamarnyart et al. 1991, Roel 2001).

O nim (*Azadirachta indica*), pertence à família da Meliaceae, que tem como princípio ativo a azadirachtina, corresponde a espécie botânica mais pesquisada e classificada como um pesticida de alta eficiência e baixo efeito residual (Aguiar-Menezes 2005). Sua eficácia como carrapaticida foi testada para *R. (B.) microplus* (Srivastava et al. 2008), *R. sanguineus* (Fernandes et al. 2011a) e *Amblyomma cajennense* (Fernandes et al. 2011b).

O craveiro-da-índia (*Syzygium aromaticum*) pertence à família Mirtaceae e tem como componente majoritário no óleo essencial, o eugenol, um composto volátil de amplo uso nas indústrias farmacêuticas (Mazzafera 2003), com comprovada ação inseticida (El-Hag et al. 1999). Alvarez et al. (2008) demonstraram excelente ação desta planta contra *R. (B.) microplus*.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* do óleo essencial de Craveiro-da-Índia (*Syzygium aromaticum*) e do extrato aquoso e etanólico do nim (*Azadirachta indica*) sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), localizado no município de Ilhéus, BA. Para tanto, foram utilizadas folhas de nim e o óleo essencial de cravo da Índia.

Extrato aquoso e etanólico do Nim

Folhas de *A. indica* foram coletadas no município de Itapetinga - BA. Em seguida, foram lavadas, selecionadas e pesadas cerca de 3600g de matéria verde total e, levadas a estufa com circulação de ar a 40-45°C por 4 horas. Em seguida, fez-se a trituração em moinho de facas com peneira de 5mm. Foram preparadas soluções de 300mL contendo extrato de nim nas concentrações a 10 e 50%, tendo-se como solventes o etanol absoluto e a água. O grupo controle foi formado somente por estas substâncias. Para que houvesse uma extração máxima do princípio ativo, a solução aquosa foi mantida em repouso em local fresco e escuro durante 24 horas e a solução etanólica, por cinco dias. Após esse período, a solução foi filtrada.

Para determinação da concentração, pesou-se três bequeres de 50ml. Em seguida, colocou-se 1mL, do filtrado de cada solução de extrato de nim, onde este foi levado à estufa sob temperatura de 100°C, para secagem completa. Em seguida, retirou-se bequeres da estufa e após estes esfriarem, pesou-se novamente. A concentração do filtrado em mg/mL foi obtida calculando-se a diferença entre os valores obtidos pela média aritmética.

Óleo essencial de cravo

Os frutos de Craveiro da Índia, popularmente conhecida como cravo-da-índia foram adquiridos na forma seca no município de Ilhéus, BA e foram submetidos ao processo de extração de óleos essenciais pela técnica de hidroestilação usando um adaptador "Clevenger" por um período de quatro horas. As extrações foram realizadas em triplicatas, utilizando 40g de material. O óleo essencial foi separado do hidrolato através de extração por participação líquido-líquido com éter etílico. A fase orgânica foi separada, seca com sulfato de sódio anidro e con-

centrada. O teor de óleo essencial foi determinado em percentagem, massa/volume (mL de óleo por 100g de material vegetal). Utilizou-se no estudo as diluições de 2,5 e 5%.

Para formulação da solução carrapaticida com o óleo essencial de cravo no momento do teste, o óleo foi diluído em uma solução contendo 40% de acetona e 60% de água destilada. O grupo controle utilizou-se esta solução, sem o óleo de cravo.

Obtenção das teleóginas

Foram selecionadas teleóginas de cinco rebanhos de aptidão leiteiras de origem mestiça e europeia, da microrregião de Itapetinga, BA, que se encontravam a pelo menos 45 dias sem tratamento parasiticida. Foram utilizadas para os testes, apenas teleóginas coletadas nas últimas 48 horas, em perfeito estado físico, sem alterações morfológicas ou restos de tegumento no aparelho bucal.

Aproximadamente 200 fêmeas ingurgitadas foram coletadas por propriedade. Os carrapatos foram acondicionados em frasco de vidro com perfuração na tampa para oxigenação, e remetidos no mesmo dia ao Laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade Estadual de Santa Cruz, para realização dos testes *in vitro*.

Biocarrapatocigrama

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com nove tratamentos e cinco repetições, considerando-se 10 fêmeas ingurgitadas para cada repetição. Os tratamentos foram compostos pelo extrato etanólico de nim a 10 e 50%; extrato aquoso de nim a 10 e 50%; óleo essencial de cravo a 2,5 e 5%. Os grupos controles foram representados por fêmeas imersas em água destilada, etanol absoluto e uma solução de água (60%) e acetona (40%).

A realização dos testes de sensibilidade foi segundo a técnica de Drummond et al. (1973), modificada no que se refere ao tempo de imersão, alterado de 3 para 5 minutos. No laboratório as teleóginas foram lavadas com uso de peneira em água corrente, secas com papel absorvente e pesadas em balança analítica para formação de grupos homogêneos de 10 espécimes.

Em seguida, os grupos foram imersos durante 5 minutos em recipientes plásticos identificados, contendo os diferentes tratamentos. Após este período, foram secas em papel absorvente e acondicionadas em placas de Petri devidamente identificadas e levadas à estufa tipo BOD, a temperatura de 27°C ±

1°C e umidade relativa do ar de 85% ± 5%. Após a postura, a massa de ovos foi pesada, transferida para uma seringa cortada na extremidade e lacrada com algodão e levada novamente à Estufa BOD para posterior avaliação da eclodibilidade.

As principais variáveis da pesquisa foram registradas em formulário próprio contendo a taxa de mortalidade após 24 horas do início do teste até o terceiro dia, peso das posturas (15º dia de postura), percentual de eclodibilidade (25º dia após a pesagem das massas de ovos) e eficiência do produto (EP). Os valores foram observados para cada grupo testado, além dos grupos controles. A avaliação das variáveis foi realizada segundo as equações prescritas por Drummond et al. (1973).

Análise estatística

Para análise dos resultados utilizou-se o programa GraphPad InStat 3.06 Demo, pelo teste de Kruskal-Wallis, para a comparação de médias das eficiências dos produtos testados, com uma significância de 5% ($P > 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos dos testes realizados para a avaliação do efeito dos extratos vegetais e suas diferentes concentrações sobre teleóginas de *R. (B.) microplus* podem ser observados na Tabela 1.

Os resultados dos testes realizados para a avaliação do efeito do extrato de nim sobre *R. (B.) microplus*, revelaram que o extrato etanólico a 50% mostrou-se mais eficaz em relação aos demais, proporcionando uma eficácia média de 74,39% sobre fêmeas ingurgitadas (Tabela 1).

O extrato etanólico apresentou maior eficiência comparado ao extrato aquoso. Isso sugere que o etanol foi mais eficiente que a água na extração do

Tabela 1. Eficácia do extrato aquoso e etanólico do Nim (*Azadirachta indica*) e do óleo essencial de cravo (*S. aromaticum*) em diferentes concentrações (%) sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pela técnica biocarrapatocigrama (Drummond et al. 1973).

Produto	Diluição (Concentração)	Eficácia		Eficácia média (%)	Desv. Pad (%)
		Mínima	Máxima		
Óleo de Cravo	5,0%	97,08	100	99,42 ^a	1,30
	2,5%	92,19	100	97,15 ^a	3,34
Nim etanólico	50% (5,0 mg/mL)	64,56	90,15	74,39 ^b	13,28
	10% (1,8 mg/mL)	36,79	68,74	52,94 ^{bc}	14,94
Nim aquoso	50% (0,8 mg/mL)	6,51	37,09	20,05 ^c	14,80
	10% (0,5mg/mL)	1,69	24,92	15,04 ^c	8,49

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ($p < 0,05$).

princípio ativo, a azadirachtina. No presente estudo, não houve nenhuma influência do álcool etílico na mortalidade das teleóginas quando comparado com o grupo controle, o que foi constatado no trabalho de Chagas et al. (2003).

Resultados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2007) e Srivastava et al. (2008), que obtiveram uma eficácia máxima de 80% de mortalidade de teleóginas em altas concentrações. Porém, Chungsamarnyart et al. (1991), Ndumu et al. (1999) e Valente et al. (2007), encontraram resultados superiores utilizando diferentes partes do nim. Broglio-Micheletti et al. (2010) também observaram resultados discrepantes utilizando diferentes solventes em sementes de nim, com o hexano funcionando melhor que o etanol.

Essas diferenças podem estar relacionadas ao fato da azadirachtina concentrar-se de maneira irregular na planta, bem como as condições climáticas e as características da região de origem da planta poder influenciar na quantidade dos princípios ativos presentes (Morgan 2009). O mesmo autor relata que a azadirachtina pode não matar imediatamente os insetos, mas tem ação inseticida, reduzindo a alimentação, retardando o desenvolvimento das larvas e ninfas, provocando má formação em adultos, reduzindo a fecundidade e liberação de ovos estéreis.

O óleo essencial de cravo-da-Índia apresentou excelentes resultados, acima de 97% de eficiência, para o controle do de teleóginas de *R. (B.) microplus*, em ambas as concentrações testadas (Tabela 1). Os solventes utilizados, não influenciaram nos resultados, pois houve grande produção de ovos e boa eclodibilidade no grupo controle. A taxa de mortalidade das teleóginas com o óleo de cravo foi bem melhor que do nim que basicamente não matou os carrapatos (Tabela 2).

O rendimento do óleo extraído de frutos de Craveiro-da-Índia foi de 15,0% v/m. Segundo Tainter & Grenis (1993), essa especiaria é considerada de

boa qualidade quando produz rendimento de 15% de óleo, o que evidencia a qualidade do material.

A ação *in vitro* do óleo de cravo, sobre teleóginas de *R. (B.) microplus*, no presente estudo, foi semelhante aos resultados reportados por Alvarez et al. (2008), onde ambos expressaram uma eficiência máxima de 100%. Isso demonstra a ação potencial do cravo sobre este parasito, o que pode ser explicado pela presença do eugenol em 70 a 95% da sua composição (Ferrão 1993, Mazzafera 2003). Esta substância é reconhecida pela sua ação inseticida (El-Hag et al. 1999), bactericida (Dorman & Deans 2000) e nematicida (Tsao & Yu 2000), bem como o efeito repelente sobre o mosquito *Aedes aegypti* (Trongtokit et al. 2005).

A Citronela (*Cymbopogon nardus*), outra planta que apresenta em sua composição o monoterpeno eugenol, como um dos princípios ativos, também já apresentou resultados positivos no controle do *R. (B.) microplus*. Estudos feitos com destilados de folhas de citronela demonstraram elevada ação carrapaticida, tanto em larvas quanto em fêmeas adultas, sendo usados, no entanto, óleo puro e níveis considerados altos de óleo em etanol, de 1:4 (Chungsamarnyart & Jiwajinda 1992). Martins (2006), usando concentrações de 4,1 e 6,1%, verificou um controle próximo a 50% para larvas e teleóginas. Em avaliações *in vitro* com 3% de óleo de citronela verificaram-se eficácias bem superiores. (Olivo et al. 2008). Uma solução contendo 4% de óleo de citronela e 0,5% de detergente neutro foi aplicada por meio de pulverização, em intervalo de sete dias, promoveu o controle da infestação de carrapatos (Agnolin et al. 2010).

Diante dos resultados obtidos conclui-se que o óleo essencial de cravo foi mais eficiente no controle de teleóginas de em relação aos diferentes extratos de nim. Contudo, novas pesquisas deverão ser realizadas sob a perspectiva de testar o óleo essencial de cravo “*in vivo*”, visando o desenvolvimento de produtos que possam ser comercializados a preços competitivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agnolin C.A., Olivo C.J., Leal M.L.R., Beck R.C.R., Meinerz G.R., Parra C.L.C., Machado P.R., Foletto V., Bem C.M. & Nicolodi P.R.S.J. Eficácia do óleo de citronela [*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle] no controle de ectoparasitas de bovinos. *Rev. Bras. Plantas Med.*, 12:482-487, 2010.
- Aguiar-Menezes E.L. *Inseticidas Botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola*. Embrapa Agrobiologia, Seropédica, 2005. 58p. (Capturado em: <http://www.cnpab.embrapa.br/publicacoes/download/doc205.pdf>)

Tabela 2. Taxa de mortalidade das teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* submetidas ao extrato aquoso e etanólico do Nim (*Azadirachta indica*) e do óleo essencial de cravo (*S. aromaticum*) em diferentes concentrações.

Produto	Diluição (Concentração)	Taxa de Mortalidade (%)	
		24h	72h
Óleo de Cravo	5,0%	24	84
	2,5%	38	94
Nim etanólico	50% (5,0 mg/mL)	0	6
	10% (1,8 mg/mL)	0	10
Nim aquoso	50% (0,8 mg/mL)	0	0
	10% (0,5mg/mL)	0	0

- Alvarez V., Loaiza J., Bonilla R. & Barrios M. Control *in vitro* de garrapatas (*Boophilus microplus*; Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales. *Rev. Biol. Trop.*, 56:291-302, 2008.
- Broglio-Micheletti S.M.F., Dias N.S., Valente E.C.N., Souza L.A., Lopes D.O.P. & Santos J.M. Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 19:46-50, 2010.
- Caldas E.D. & Souza L.C.K.R. Avaliação de risco crônico de ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. *Rev. Saúde Públ.*, 34:529-537, 2000.
- Chagas A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 13:156-160, 2004.
- Chagas A.C.S., Leite R.C., Furlong J., Prates H.T. & Passos W.M. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. *Ciênc. Rural*, 33:109-114, 2003.
- Chungsamarnyart N., Jiwajinda S. & Jansawan W. Acaricidal effect of plant crude-extracts on the cattle tick (*Boophilus microplus*). *Kasetsart J.*, 25:90-100, 1991.
- Chungsamarnyart N. & Jiwajinda S. Acaricidal activity of volatile oil from lemon and citronella grasses on tropical cattle ticks. *Kasetsart J.*, 26:46-51, 1992.
- De Castro J.J. Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. *Vet. Parasitol.*, 71:77-97, 1997.
- Dorman H.J.D. & Deans S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial active of plant volatile oils. *J. Applied Microbiol.*, 88:308-316, 2000.
- Drummond R.O., Ernst S.E., Trevino J.L., Gladney W.J. & Graham O.H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. *J. Econ. Entomol.*, 66:130-133, 1973.
- El-Hag E.A., El-Nadi A.H. & Zaitoon A.A. Toxic and growth retarding effects of three plant extracts on *Celex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *Phytother. Res.*, 13:388-392, 1999.
- Fernandes J.I., Correia T.R., Ribeiro F.A., Cid Y.P., Tavares P.V. & Scott F.B. Eficácia *in vitro* do nim (*Azadirachta indica*) no controle de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Med. Vet.*, 32: 64-68, 2010.
- Fernandes J.I., Correia T.R., Ribeiro F.A., Cid Y.P. & Scott F.B. Eficácia do nim (*Azadirachta indica*) no controle de larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Med. Vet.*, 32:50-54, 2010.
- Ferrão J.E.M. *Especiarias - Culturas, Tecnologia, Comércio*. Instituto de Investigação Tropical: Lisboa, 1993. 431p.
- Jonsson N.N. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Vet. Parasitol.*, 137:1-10, 2006.
- Magadam S., Mondal D.B. & Ghosh S. Comparative efficacy of *Annona squamosa* and *Azadirachta indica* extracts against *Boophilus microplus* Izatnagar isolate. *Parasitol Res.* 105:1085-1091, 2009.
- Martins R.M. Estudo *in vitro* da ação acaricida do óleo essencial da gramínea Citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) no carrapato *Boophilus microplus*. *Rev. Bras. de Plantas Med.*, 8:71-78, 2006.
- Mazzafera P. Efeito alelopático do cravo-da-índia e do eugenol. *Rev. Bras. Bot.*, 26:231-238, 2003.
- Morgan E.D. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorg. Med. Chem.*, 17:4096-4105, 2009.
- Ndumu P.A., George J.B.D. & Choudhury M.K. Toxicity of Neem Seed Oil (*Azadirachta indica*) against the larvae of *Amblyomma variegatum* a Three-host tick in Cattle. *Phytother. Res.*, 13:532-534, 1999.
- Olivo C.J., Carvalho N.M. de, Silva J.H.S. da, Vogel F.F., Massariol P., Meinerz G., Agnolin C., Morel A.F. & Viau L.V. Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. *Ciênc. Rural*, 38:406-410, 2008.
- Ribeiro V.L.S. Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle tick *Boophilus microplus*. *Vet. Parasitol.*, 147:199-203, 2007.
- Roel A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. *Interações (Campo Grande)*, 1:43-50, 2001.
- Rocha C.M.B.M., Oliveira P.R., Leite R.C., Cardoso D.L., Calic S.B. & Furlong J. Percepção dos produtores de leite do município de Passos, MG, sobre o carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae), 2001. *Ciênc. Rural*, 36:1235-1242, 2006.
- Silva W.W., Athayde A.C.R., Rodrigues O.G., Araújo G.M.B., Santos V.D., Neto A.B.S., Coelho M.C.O.C. & Marinho M.L. Efeitos do neem (*Azadirachta indica* A. Juss) e do capim santo [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf] sobre os parâmetros reprodutivos de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Plantas Med.*, 9:1-5, 2007.
- Srivastava R., Ghosh S., Mandal D.B., Azhahianambi P., Singhal P.S., Pandey N.N. & Swarup D. Efficacy of *Azadirachta indica* extracts against *Boophilus microplus*. *Parasitol. Res.*, 104:149-153, 2008.
- Tainter D.P. & Grenis A.T. *Especies y aromatizantes alimentarios*. Acribia S.A., Zaragoza. 1993. 251p.
- Trogtokit Y., Rongsriyam Y., Komalamisra N. & Apiwathnason C. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytother. Res.*, 19:303-309, 2005.
- Tsao R. & Yu Q. Nematicidal activity of monoterpenoid compounds against economically important nematodes in agriculture. *J. Essential Oil Res.*, 12:350-354, 2000.
- Valente M., Barroco A. & Vilaroel A.B.S. Eficácia do extrato aquoso de *Azadirachta indica* no controle de *Boophilus microplus* em bovino. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 59:1341-1343, 2007.