

BIOPROSPECÇÃO DE EXTRATOS DE JABORANDI CONTRA *Ctenocephalides felis felis*, *Rhipicephalus sanguineus* E *Rhipicephalus microplus**

Lilian Cristina de Sousa Oliveira Batista¹, Cassio do Nascimento Florencio², Yara Peluso Cid³, Viviane de Sousa Magalhães⁴, Douglas Siqueira de Almeida Chaves⁵ e Katherina Coumendouros⁶⁺

ABSTRACT. Batista L.C.S.O., Florencio C.N., Cid Y.P., Magalhães V.S., Chaves D.S.A. & Coumendouros K. [Bioprospecting extracts jaborandi against *Ctenocephalides felis felis*, *Rhipicephalus sanguineus* and *Rhipicephalus microplus*.] Bioprospecção de extratos de jaborandi contra *Ctenocephalides felis felis*, *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus*. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(Supl.2):113-118, 2013. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Anexo 1, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus Seropédica, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: katherinac@gmail.com

The aim of this work was to evaluate the activity of *Pilocarpus pennatifolius* against *Ctenocephalides felis felis*, *Rhipicephalus sanguineus* and *Rhipicephalus microplus*. The *in vitro* assays proceeded according to the immersion test using engorged females (Drummond et al. 1973) opposite of *R. microplus* and *R. sanguineus*, and impregnation filter paper test for *C. f. felis*. The extract of *P. pennatifolius* was obtained by exhaustive maceration and their chemical composition was assessed by thin layer chromatography followed by colorimetric assays. Dilutions of the extract were prepared in the concentration range between 625 and 20,000 ppm. The results showed that the extract of jaborandi was activity *in vitro* in the range of concentration tested against ectoparasites reviews with efficacy values of 35% to *C. f. felis*, 31.82% to *R. microplus* and 59.06% to *R. sanguineus*.

KEYWORDS. *In vitro* test, ectoparasites, chromatography, *Pilocarpus*.

RESUMO. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade de *Pilocarpus pennatifolius* frente à *Ctenocephalides felis felis*, *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus*. A realização dos ensaios *in vitro* procedeu-se segundo o teste de imersão de teleóginas (Drummond et al. 1973) frente à *R. microplus* e *R. sanguineus* e teste de impregnação em

papel filtro frente à *C. f. felis*. O extrato das folhas de *P. pennatifolius* foi obtido por maceração exaustiva e sua composição química foi avaliada por cromatografia em camada delgada seguido de ensaios colorimétricos. Foram preparadas diluições do extrato na faixa de concentração entre 625 e 20.000 ppm. Os resultados demonstraram que o extrato de

*Recebido em 24 de outubro de 2013.

Aceito para publicação em 22 de novembro de 2013.

¹ Médica-veterinária, *MSc*, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), *Campus* Seropédica, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: liliancsoabatista@hotmail.com - bolsista CAPES.

² Médico-veterinário, *MSc*, Programa de Residência Multiprofissional e em Área Profissional de Saúde, Hospital Veterinário, IV, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: cassioflorencio@hotmail.com - bolsista MEC.

³ Farmacêutica Industrial, *DSc*, Departamento de Química (DEQUIM), Instituto de Ciências Exatas (ICE), UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: yaracid@ufrj.br

⁴ Farmacêutica Industrial, *MSc*, Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária (PPGCTIA), UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: vsmagalhães@gmail.com.br - bolsista CAPES.

⁵ Farmacêutico, *PhD*, DEQUIM, ICE, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. E-mail: chavesdsa@ufrj.br

⁶ Médica-veterinária, *DSc*, Departamento de Parasitologia Animal, IV, UFRRJ, *Campus* Seropédica, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970. *Autora para correspondência, E-mail: katherinac@gmail.com

jaborandi apresentou atividade *in vitro* na faixa de concentração testada frente aos ectoparasitos avaliados com valores de eficácia de 35% para *C. f. felis*, 31,82 % para *R. microplus* e 59,06% para *R. sanguineus*.

PALAVRAS-CHAVE. Teste *in vitro*, ectoparasitas, cromatografia, *Pilocarpus*.

INTRODUÇÃO

A flora brasileira apresenta uma das maiores biodiversidades do planeta, podendo ser considerada como uma inesgotável fonte de fármacos. Não só na região amazônica, onde a extensão geográfica já propicia uma ideia do seu poder de diversidade, mas também em outras regiões brasileiras (ABIFISA 2006).

A busca por alternativas aos produtos químicos no controle de artrópodes agrícolas e veterinários têm se intensificado nos últimos anos. O uso de extratos vegetais nativos e seus produtos estão entre os temas emergentes de artigos publicados em todo o mundo e oferecem uma promessa de desenvolvimento de novas estruturas moleculares de constituintes naturais.

A resistência de insetos a inseticidas organossintéticos, ressurgência e erupção de pragas, e os problemas advindos do uso indiscriminado desses inseticidas sobre inimigos naturais, meio ambiente e homem e, sobretudo o desenvolvimento da agricultura orgânica, houve um aumento no interesse, no mundo inteiro, pelos inseticidas botânicos (Guerra 1985).

Dentre as espécies medicinais produtoras de princípios ativos de grande interesse mundial destacam-se as plantas conhecidas pela denominação jaborandi, que incluem várias espécies nativas e cultivadas no Brasil (Santos & Moreno 2004) e conta com inúmeras espécies de importância econômica e médica, dentre as quais encontram-se *Pilocarpus jaborandi* Holmes, *Pilocarpus trachyllophus* Holmes, *Pilocarpus microphyllus* Stapf, ex Holmes e *Pilocarpus pennatifolius* Lem. (Corrêa 1969), a partir da qual são extraídos os sais de pilocarpina (Pinheiro 1997).

No Brasil, os carrapatos de maior importância econômica são *Rhipicephalus microplus*, o carrapato do boi, e *Rhipicephalus sanguineus*, o carrapato do cão. Além do impacto econômico para o controle desses ectoparasitos, o prejuízo ainda incide na transmissão elevada capacidade vetorial para animais e ainda aos humanos (Dantas-Torres 2008).

Quando em altas infestações, *R. sanguineus*, pode causar anemia e anorexia (Marra et al. 1999).

A ação espoliativa causada por carrapato *R. microplus* e as doenças por ele transmitidas, são de grande importância econômica e na saúde pública e coletiva. Trata-se de uma importante fonte de morbidade para o gado bovino em toda América (Grisi et al. 2002).

Conhecida vulgarmente como pulga do gato, *Ctenocephalides felis felis*, parasita também os cães, sendo a única subespécie encontrada no continente americano (Dryden 1993) é considerada o ectoparasita mais importante de cães e gatos em muitas partes do mundo (Carlotti & Jacobs 2000). Em altas infestações o sangue consumido pelas pulgas pode levar a anemia por deficiência de ferro e até mesmo a morte (Blagburn & Dryden 2009). Além da possibilidade de transmissão de patógenos, picadas de pulgas adultas levam a reação de hipersensibilidade e irritação da pele em decorrência da inoculação de material antigênico proveniente das glândulas salivares do parasito (Dryden & Rust 1994, Mehlhorn et al. 1999).

Da família Rutaceae, *P. pennatifolius* possui atividade repelente, acaricida e inseticida (Guerra 1985). Pilocarpina tem sido utilizado na medicina veterinária como estimulante das secreções digestivas e dos movimentos do aparelho gastrointestinal, principalmente o rúmen (Lorenzi & Matos 2008).

O objetivo do estudo foi avaliar a atividade *in vitro* do extrato de jaborandi, *P. pennatifolius*, sobre a pulga *C. f. felis* e os carrapatos *R. sanguineus* e *R. microplus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do material vegetal e obtenção do extrato seco

O material vegetal seco (folhas) foi adquirido de ervanário localizado no município de Volta Redonda, RJ, Brasil. O preparo do extrato etanólico (PJ) foi realizado pelo processo de maceração estática, no qual o material vegetal foi submetido a exaustão por nove dias e troca de solvente a cada três dias.

Fitoquímica

A análise fitoquímica qualitativa foi realizada pelo processo de cromatografia em camada delgada utilizando os eluentes: butanol/ácido acético/água (BAW 8:1:1 - análise dos flavonoides), acetato de etila/acetona/água na proporção (25:5:1 - análise de terpenos), e *n*-hexano/clorofórmio (7:3 - análise de alcaloides). Em seguida foi realizada a análise colorimétrica com reveladores químicos como: difenilborato de aminoetanol e solução etanólica com 5% de polietilenoglicol (NP-PEG - revelação de flavonoides), anisaldeído sulfúrico - revelação de terpenos, e Dragendorff - identificação da presença de alcaloides.

Ensaio biológico

Para a realização de teste *in vitro* com adultos não alimentados de *C. f. felis* foi realizado o teste de impregnação em papel filtro e utilizado o extrato das folhas de *P. pennatifolius*. Foi utilizada uma solução-mãe a 200 mg/mL e em sequência seis diluições seriadas 1:2 iniciando na concentração de 20.000 ppm. Estes foram diluídos em acetona, um solvente inócuo capaz de solubilizar o extrato, o qual foi utilizado como controle negativo.

Para cada concentração, foram realizadas duas repetições cada uma composta por uma tira de papel filtro com 10 cm² (1 cm de largura e 10 cm de comprimento), totalizando 12 tiras e mais duas repetições referentes ao controle. Cada tira foi impregnada com 0,2 mL da respectiva diluição. Após o tratamento a mesma permaneceu no ambiente para secar por um período de 30 minutos. Em cada desafio, as tiras foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 adultos não alimentados de *C. f. felis*, cinco machos e cinco fêmeas. As pulgas utilizadas foram obtidas de uma colônia mantida desde 1998, nas mesmas dependências onde foram realizados os testes. Os tubos foram vedados com tecido não tecido (TNT) e elástico, devidamente identificados com o grupo e mantidos em câmara climatizada com temperatura de 28±1°C e umidade relativa de 75±10%. O material de cada desafio foi avaliado nos tempos de 10 e 30 minutos, uma, duas, 24 e 48 horas com auxílio de um microscópio estereoscópico e no fim realizada a média de pulgas vivas para cada concentração. O critério de avaliação utilizado foi a motilidade, ou seja, qualquer inseto que apresentasse um mínimo de movimento era considerado vivo.

A avaliação da eficácia *in vitro* do produto para *C. f. felis* de cada concentração do extrato foi realizada com a seguinte fórmula desenvolvida por Abbott (1987): (número médio de pulgas vivas do grupo controle - número médio de pulgas vivas do grupo tratado) / (número médio de pulgas vivas do grupo controle) x 100.

Para avaliação da atividade *in vitro* do extrato de jaborandi contra *R. microplus* e *R. sanguineus* procedeu-se segundo o teste de imersão de teleóginas (Drummond et al. 1973), com imersão de teleóginas em diferentes concentrações do extrato e avaliação dos parâmetros reprodutivos como, peso das teleóginas, peso das posturas, percentual de eclosão dos ovos sempre em comparação com o grupo controle.

A partir da solução-mãe do extrato a 200 mg/mL foram realizadas seis diluições seriadas 1:2 iniciando na concentração de 20.000 ppm, em diluição em água. O controle negativo foi feito somente com água. Foram utilizados exemplares de *R. microplus* e *R. sanguineus* mantidos em colônia laboratorial em bezerros e coelhos respectivamente. Cada grupo de teleóginas (n=6) foi submetido à imersão em 10 mL do extrato diluído na concentração a ser testada durante cinco minutos. O teste foi realizado em duas repetições para cada concentração testada. Os grupos controles de teleóginas foram imersos em água destilada. Após a imersão o excesso do extrato diluído foi retirado com o auxílio de papel toalha. As teleóginas foram acondicionadas em placa de petri descartável, devidamente identificadas com data, dia experimental, grupo, peso e número de repetições e fixadas em fita dupla face. O material foi então incubado em câmara climatizada com demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D.), a 27 ± 0,5°C de temperatura, umidade relativa do ar de 75 ± 10% por 21 dias. Após este período as pos-

turas das teleóginas de cada placa foram pesadas e transferidas para seringas fechadas com algodão. As seringas devidamente identificadas retornaram à estufa, nas mesmas condições de umidade e temperatura anteriores até a eclosão das larvas. A eclodibilidade das larvas foi avaliada por estimativa de porcentagem em relação àquelas que não eclodiram.

A avaliação da postura foi feita 21 dias após o tratamento e a eclodibilidade foi aferida após 42 dias. A eficácia do extrato foi avaliada através da comparação do índice de eficiência reprodutiva IER= peso dos ovos/peso das fêmeas x 20000 x % eclodibilidade e a Eficácia EC = (IER controle - IER tratamento)/IER controle x 100.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise fitoquímica preliminar utilizando cromatografia em camada delgada seguida de revelação química com reagentes específicos apresentou resultado positivo para terpenos e alcaloides, e negativo para a presença de flavonoides.

Os resultados para análise cromatográfica e as condições do experimento estão contidos na Tabela 1. Ao realizar a análise dos terpenos observamos a presença de mistura destes componentes que revelaram coloração roxas no ultravioleta-visível. A revelação com reagente de Dragendorff apresentou coloração castanho-acinzentado. Foi identificado somente um alcaloide que provavelmente trata-se da pilocarpina, uma vez que esta é amplamente isolada na espécie vegetal e encontra-se em altas concentrações.

Apesar de ser relatado, para o gênero *Pilocarpus*, flavonoides e polifenóis na literatura (Sawaya

Tabela 1. Condições cromatográficas de análise dos metabólitos secundários de *Pilocarpus pennatifolius* Lem. por cromatografia em camada delgada.

Metabólito Secundário avaliado	Eluentes	Resultado colorimétrico
Terpenos	acetato de etila:acetona:água (25:5:1)	Roxo
Flavonoides	<i>n</i> -butanol:ácido acético:água (8:1:1)	Não revelou
Alcaloides	<i>n</i> -hexano:clorofórmio (7:3)	Castanho-acinzentado

Tabela 2. Atividade *in vitro* de *Pilocarpus pennatifolius* testado em diversas concentrações (625 - 20000 ppm) sobre adultos não alimentados de *Ctenocephalides felis felis*.

Concentrações (ppm)	Média de pulgas vivas nas repetições 1 e 2						Eficácia com 48h (%)
	10 min	30min	1h	2h	24h	48h	
20.000	10	10	10	10	10	9,5	5
10.000	10	10	10	10	10	9,5	5
5.000	10	10	10	10	10	8,5	15
2.500	10	10	10	10	10	8,5	15
1.250	10	10	10	10	10	6,5	35
625	10	10	10	10	10	10	0
Controle	10	10	10	10	10	10	

et al. 2011), neste trabalho foi não identificado esta classe de metabólitos. Isto pode estar relacionado ao tipo de extração realizado que está direcionado ao isolamento de constituintes de média a baixa polaridade como os terpenos.

Os resultados obtidos a partir do teste *in vitro* com *P. pennatifolius* em diversas concentrações para *C. f. felis* estão contidos na Tabela 2. Pode-se observar que o extrato de jaborandi não apresentou eficácia pulguicida na faixa de concentração testada em 24 horas. Em 48 horas observou-se eficácia a partir da concentração de 1250 ppm, variando entre 5 e 35 %, porém a resposta não se apresentou linear com o aumento da concentração.

A Tabela 3 representa os valores de peso médio das teleóginas, peso médio das posturas, percentual médio de eclosão, eficiência reprodutiva e eficácia obtidos em cada concentração testada do extrato de jaborandi sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*. A média do peso das teleóginas variou de 0,214 a 0,237 g. A análise destes valores nos permite inferir que a média do peso das teleóginas se apresentou de forma constante para todos os grupos testados. Analisando o peso das posturas podemos observar uma redução nos valores médios de peso

nos grupos tratados em relação ao grupo controle na faixa de concentração entre 625 e 10.000 ppm. Essa redução se mostrou diretamente proporcional à concentração, ou seja, quanto maior a concentração, maior a redução e conseqüentemente menor o peso médio das posturas nesta faixa de concentração. A média das eclosões e a eficiência reprodutiva apresentaram valores inferiores quando comparados com o grupo controle em toda a faixa de concentração testada, porém não pode ser estabelecida uma relação diretamente proporcional à concentração. Os valores de eficácia variaram entre 15,91 a 31,82% demonstrando atividade do extrato de jaborandi em todas as concentrações testadas, sendo os maiores valores de eficácia encontrados (31,82 %) para a concentração de 20.000 ppm.

A Tabela 4 representa os valores de peso médio das teleóginas, peso médio das posturas, percentual médio de eclosão, eficiência reprodutiva e eficácia obtidos em cada concentração testada do extrato de jaborandi sobre fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*. A média do peso das teleóginas variou de 0,173 a 0,322 g. A análise destes valores nos permite inferir que a média do peso das teleóginas se apresentou de forma constante para todos os grupos

Tabela 3. Atividade *in vitro* de *Pilocarpus pennatifolius* testado em diversas concentrações (625 - 20000 ppm) sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*.

Concentração (ppm)	Peso médio das teleóginas (g)	Peso médio da postura por teleóquina ²	Percentual médio de eclosão (%)	Eficiência reprodutiva	Eficácia (%)
20.000	0,237	0,123	67,5	700,82	31,82
10.000	0,247	0,091	97,5	717,21	30,22
5.000	0,228	0,104	93,5	853,92	16,92
2.500	0,247	0,111	96,0	864,29	15,91
1.250	0,230	0,100	84,0	732,79	28,71
625	0,214	0,106	77,5	767,46	25,34
Controle	0,237	0,126	96,5	1027,88	

¹Média aritmética do peso das 12 teleóginas; ² Média aritmética das posturas oriundas das 12 teleóginas.

Tabela 4. Atividade *in vitro* de *Pilocarpus pennatifolius* testado em diversas concentrações (625 - 20000 ppm) sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*.

Concentração (ppm)	Peso médio das teleóginas (g) ¹	Peso médio da postura por teleóquina (g) ²	Percentual médio de eclosão (%)	Eficiência reprodutiva	Eficácia (%)
20.000	0,259	0,069	90,0	477,84	30,33
10.000	0,322	0,051	89,0	280,83	59,06
5.000	0,242	0,055	84,5	381,68	44,35
2.500	0,248	0,061	86,0	423,99	38,18
1.250	0,311	0,050	94,0	302,81	55,85
625	0,244	0,062	90,5	455,90	33,53
Controle	0,173	0,062	96,0	685,83	

¹Média aritmética do peso das 12 teleóginas; ² Média aritmética das posturas oriundas das 12 teleóginas.

testados. Analisando o peso das posturas podemos observar uma redução nos valores médios de peso nos grupos tratados em relação ao grupo controle na faixa de concentração entre 1.250 e 10.000 ppm. Essa redução se mostrou diretamente proporcional à concentração, ou seja, quanto maior a concentração, maior a redução e conseqüentemente menor o peso médio das posturas nesta faixa de concentração. A média das eclosões e a eficiência reprodutiva apresentaram valores inferiores quando comparados com o grupo controle em toda a faixa de concentração testada, porém não pode ser estabelecida uma relação diretamente proporcional à concentração. Os valores de eficácia variaram entre 30,933 a 59,06% demonstrando atividade do extrato de jaborandi em todas as concentrações testadas, sendo os maiores valores (59,06 %) para a concentração de 10.000 ppm.

A Figura 1 mostra os resultados de eficácia do extrato de jaborandi frente as três espécies avaliadas. Pode-se observar que o extrato apresentou eficácia carrapaticida na faixa de concentração de 625 a 20.000 ppm e eficácia pulguicida na faixa de concentração de 1.250 a 20.000 ppm. A eficácia carrapaticida apresentou maiores valores de eficácia comparada a eficácia pulguicida em todas as concentrações testadas. A atividade frente ao carrapato *R. sanguineus* apresentou melhor resultados quando comparada com atividade frente ao carrapato *R. microplus* pois apresentou resposta linear com o aumento da concentração.

Os trabalhos com espécies de jaborandi são escassos na literatura. De acordo com o levantamento bibliográfico não existem trabalhos que mostram a atividade do gênero *Pilocarpus* frente aos modelos biológicos testados neste trabalho. Entretanto, alguns trabalhos relacionam a química da família Rutaceae, e do gênero, com atividade inseticida e

acaricida (Terezan et al. 2010, Sá & Elisabetsky 2012). A substância 2-tridecanona, isolado de espécies como *Pilocarpus microhyllus* e *Lycopersicon* spp constituem efetiva resistência à ácaros e insetos, determinando diminuição na alimentação e oviposição (Labory et al. 1999). Os alcaloides furoquinolínicos, 2-arilquinolin-4-ona e os limonoides (isolados da família Rutaceae) mostraram atividade inseticida frente a espécie *Atta sexdens rubropilosa* (Terezan et al. 2010).

CONCLUSÃO

O extrato de jaborandi apresentou atividade *in vitro* frente a *C. f. felis*, *R. microplus* e *R. sanguineus*.

Na literatura científica não existe relato da atividade carrapaticida e pulguicida, para o gênero *Pilocarpus*, e nem para a espécie *P. pennatifolius*, sendo este trabalho o primeiro relato destas atividades frente aos modelos biológicos testados. A análise fitoquímica e os resultados encontrados indicam que o extrato de Jaborandi possui em sua composição constituintes com potencial ação pulguicida e carrapaticida. Sendo assim, torna-se imprescindível o estudo da composição química desta espécie vegetal visando o isolamento dos constituintes majoritários que podem estar relacionados a atividade biológica encontrada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 3:302-303, 1987.
- ABIFISA (Associação Brasileira das Empresas do Setor Fito-terápico). *Uma legislação justa para os produtos de origem natural*, 2006. Disponível em: <<http://www.abifisa.org.br/introducao.asp>>. Acesso em: 25 Mai. 2014.
- Blagburn B.L. & Dryden M.W. Biology, treatment and control of flea and tick infestations. *Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.*, 39:1173-1200, 2009.
- Carlotti D.N. & Jacobs D.E. Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. *Vet. Dermatol.*, 11:83-98, 2000.
- Corrêa M.P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil*, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, 4:360-369, 1969.
- Dantas-Torres F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Vet. Parasitol.*, 152:173-85, 2008.
- Drummond R.O., Ernst S.E., Trevino J.L., Gladney W.J. & Graham O.H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory tests of insecticides. *J. Econ. Entomol.*, 66:130-133, 1973.
- Dryden M.W. Biology of fleas of dogs and cats. *Comp. Cont. Educ. Pract.*, 15:569-579, 1993.

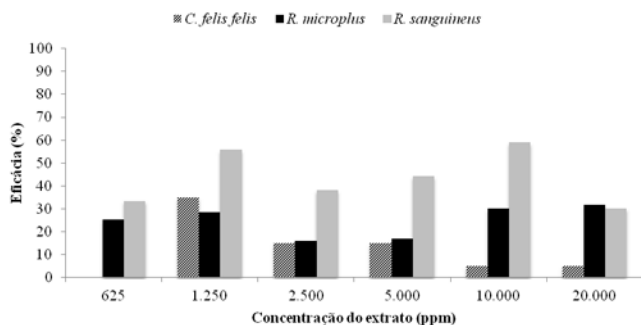


Figura 1. Eficácia *in vitro* do extrato de *Pilocarpus pennatifolius* na faixa de concentração de 625 a 20000 ppm frente a *Ctenocephalides felis felis*, *Rhipicephalus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus*.

- Dryden M.W. & Rust M.K. The cat flea: biology, ecology and control. *Vet. Parasitol.*, 52:1-19, 1994.
- Grisi L., Massard C.L., Moya Borja G.E. & Pereira J.B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *Hora Vet.*, 21:8-10, 2002.
- Guerra M.S. *Receituário caseiro: alternativas para o controle de pragas e doenças de plantas cultivadas e seus produtos*. EMBRATER, Brasília, 1985, 166p.
- Labory C.R.G., Santa-Cecília L.V.C., Maluf W.R., Cardoso M.G., Bearzotti E. & Souza J.C. Seleção indireta para teor de 2-tridecanona em tomateiros segregantes e sua relação com a resistência à traça-do-tomateiro. *Pesq. Agropec. Bras.*, 34:733-740, 1999.
- Lorenzi H. & Matos F.J. *Plantas medicinais no Brasil, nativas e exóticas*. 2ª ed., Instituto Plantarum, Nova Odessa, SP, 2008.
- Marra A.O.M., Silva C.R., Moura E.S. & Alves C.J.T. Determinação da eficácia carrapaticida da cipermetrina + triclorfon no tratamento de bovinos naturalmente infestados pelo carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Hora Vet.*, 19:32-34, 1999.
- Mehlhorn H., Mencke N. & Hansen O. Effects of imidacloprid on adult and larval stages of the flea *Ctenocephalides felis* after in vivo and in vitro application: a light- and electron-microscopy study. *Parasitol. Res.*, 85:625-637, 1999.
- Pinheiro C.U.B. Jaborandi (*Pilocarpus* sp., Rutaceae): A wild species and its rapid transformation into a crop. *Econ. Bot.*, 51:49-58, 1997.
- Sá I.M. & Elisabetsky E. Medical knowledge exchanges between Brazil and Portugal: An ethnopharmacological perspective. *J. Ethnopharmacol.*, 142:762-768, 2012.
- Santos A.P. & Moreno P.R.H. *Pilocarpus* spp.: A survey of its chemical constituents and biological activities. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 40:115-137, 2004.
- Sawaya A.C.H.F., Mazzafera B.G.V.P. & Eberlin M.N. Screening species of *Pilocarpus* (Rutaceae) as sources of pilocarpine and other imidazole alkaloids. *Genet. Resour. Crop. Evol.*, 58:471-480, 2011.
- Terezan A.P., Rossi R.A., Almeida R.N.A., Freitas T.G., Fernandes J.B., da Silva M.F.G.F., Vieira P.G., Bueno O.C., Pagnocca F.C. & Pirani J.R. Activities of Extracts and Compounds from *Spiranthera odoratissima* St. Hil. (Rutaceae) in Leaf-cutting Ants and their Symbiotic Fungus. *J. Braz. Chem. Soc.*, 21:882-886, 2010.