

Sobrevivência *in vitro* de nematoides entomopatogênicos em formulação associada a extrato glicólico de eucalipto para uso no controle biológico do carrapato bovino

Letícia dos Santos Moreira⁽¹⁾, Diego Rodrigues Melo⁽²⁾, Melissa Carvalho Machado de Couto Chambarelli⁽³⁾, Ana Caroline Ferreira de Souza⁽⁴⁾, Alessandra Ésther de Mendonça⁽⁵⁾, Ralph Maturano Pinheiro⁽⁵⁾, Caio Márcio de Oliveira Monteiro⁽⁶⁾, Paola Eduarda de Almeida Souza⁽¹⁾, Wanessa Araújo Carvalho⁽⁷⁾, Márcia Cristina de Azevedo Prata⁽⁷⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Professor, Prefeitura de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Professora Adjunta, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. ⁽⁴⁾Bolsista (Capes), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Professor Adjunto, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽⁶⁾Professor Adjunto, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. ⁽⁷⁾Pesquisadoras, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: le.santos@estudante.uff.br

Resumo — O carrapato bovino é dos principais obstáculos ao desenvolvimento da pecuária. Nematoides entomopatogênicos (NEPs) são promissoras alternativas para seu controle. Para evitar ação deletéria de fatores abióticos sobre NEPs foi desenvolvida formulação protetora, demandando aprimoramento para efeito satisfatório. Uma possibilidade seria associação a extratos vegetais, desde que tais compostos possam exercer ação sem prejudicar sobrevivência de NEPs. Logo, o objetivo deste estudo foi avaliar compatibilidade de NEPs HP88 e LPP30 em formulação associados a extrato glicólico de eucalipto, a partir do monitoramento da sobrevivência. Cada estirpe de NEPs em formulação foi adicionada a extrato glicólico de eucalipto 5, 10 e 15%, avaliando-se a sobrevivência diariamente. A associação com extrato glicólico de eucalipto 5% possibilitou maior sobrevivência para HP88 e LPP30. NEPs LPP30 em formulação associados a extrato glicólico de eucalipto 5% apresentaram valores estatisticamente semelhantes de sobrevivência por maior tempo de exposição (576h) quando comparado a HP88 (408h), ambos estatisticamente equivalentes aos controles. Embora ambas as estirpes tenham demonstrado desempenho satisfatório, a associação LPP30 em formulação com extrato glicólico de eucalipto 5% se apresenta como alternativa mais promissora em pesquisas futuras para controle do carrapato, por proporcionar sobrevivência inalterada por mais tempo.

Termos para indexação: *Eucalyptus globulus*, *Heterorhabditis* spp, HP88, LPP30.

In vitro survival of entomopathogenic nematodes in formulation associated with glycolic extract of eucalyptus for use in the biological control of the cattle tick

Abstract — Cattle tick is one of the main obstacles in livestock farming. Entomopathogenic nematodes (EPNs) are promising control alternatives. To avoid the deleterious effects of abiotic factors on EPNs, a protective formulation was developed, requiring improvement for satisfactory results. One possibility would be the combination with plant extracts, provided that such compounds can act without harming the survival of EPNs. Therefore, the aim of this study was to evaluate the compatibility of the EPN strains HP88 and LPP30 in a formulation associated with a glycolic eucalyptus extract, based on survival monitoring. Each EPN strain in the formulation was added to eucalyptus at 5%, 10%, and 15%, and survival was assessed daily. The combination with 5% eucalyptus allowed better survival for HP88 and LPP30. LPP30 in the formulation associated with 5% eucalyptus showed statistically similar survival values for a longer exposure time (576h) compared to HP88 (408h), both statistically equivalent to the controls. Although both strains demonstrated satisfactory performance, the combination of LPP30 in the formulation with 5% eucalyptus

appears to be a more promising alternative for future research on tick control, as it provides unaltered survival for a longer period.

Index terms: *Eucalyptus globulus*, *Heterorhabditis* spp, HP88, LPP30.

Introdução

Dentre os principais obstáculos enfrentados pelos pecuaristas na criação de bovinos destaca-se o carrapato *Rhiphicephalus microplus*, com impacto negativo, em aspectos financeiros e de bem-estar animal, estimado em US\$ 3,24 bilhões de dólares/ano no Brasil (Grisi et al., 2014). A principal forma de controle consiste no método químico. Contudo, a utilização de produtos químicos de maneira indiscriminada favorece a seleção de carrapatos resistentes aos princípios ativos utilizados nas formulações, também podendo resultar em resíduos nos alimentos (carne e leite), o que leva a pressões da sociedade por alternativas mais sustentáveis. Dessa forma, é fundamental o desenvolvimento de métodos alternativos para o controle dos carrapatos. A partir dessa necessidade, a Embrapa Gado de Leite iniciou uma linha de pesquisa em que atua desde os anos 2000, utilizando nematoides entomopatogênicos (NEPs) como potenciais controladores biológicos, com inúmeros avanços *in vitro* (Monteiro et al., 2024). Entretanto, ao serem conduzidos experimentos *in vivo*, os resultados apresentados foram insatisfatórios, devido à ação de fatores abióticos, como dessecação, que prejudicaram a sobrevivência e a infectividade dos NEPs. A fim de solucionar o problema, Mendonça et al. (2019) elaboraram uma formulação para proteger os NEPs dos fatores abióticos. Ao ser testada *in vivo*, a formulação com NEPs apresentou resultados significativos, porém ainda não satisfatórios. Uma solução seria a agregação de outros tipos de agentes protetores, como extratos vegetais (Melo et al., 2024; Monteiro et al., 2024). É importante destacar, no entanto, que de nada adianta se o agente a ser associado, mesmo sendo eficiente no controle do carrapato, exerça algum tipo de ação prejudicial à sobrevivência dos NEPs em formulação. Desse modo, o presente estudo teve por objetivo avaliar a compatibilidade entre os NEPs *Heterorhabditis bacteriophora* isolado HP88 e *Heterorhabditis indica* LPP30 em formulação protetora e diferentes concentrações de extrato glicólico de eucalipto no tocante à sobrevivência dos NEPs.

As informações contidas nesse documento contribuem para o alcance dos seguintes Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas (ONU): ODS 2 - Erradicação da fome: Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 3 - Saúde de qualidade: Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades; ODS 6 - Água limpa e saneamento: Garantir disponibilidade e manejo sustentável da água e saneamento para todos; ODS 8 – Empregos dignos e crescimento econômico: Promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos.

Material e métodos

Os dois isolados de NEPs, *H. bacteriophora* HP88 e *H. indica* LPP30, cedidos pela UFRRJ, foram cultivados no Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite, usando os preceitos de Kaya e Stock (1997) (SISGEN AB410AB e SISBIO 46662). O extrato glicólico (EG) de *Eucalyptus globulus* Labill foi obtido no comércio (Bianquímica, lote 2542). A formulação protetora foi sintetizada conforme Mendonça et al. (2019). No laboratório foram desenvolvidas as diluições do EG para obtenção das três concentrações necessárias

(5%, 10% e 15%). A formulação protetora associada ao EG foi incorporada à solução de NEPs (2.000 NEPs/mL) na proporção 1:1, de modo que a solução final (NEPs em formulação protetora + extrato glicólico de eucalipto 5%, 10% ou 15%) possuía a concentração de 1.000 NEPs/mL (Melo et al., 2024), além de dois grupos controle (NEPs em água; NEPs apenas em formulação), acondicionados em câmara climatizada (16 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ de umidade relativa). Para cada avaliação foram retiradas dez alíquotas de 10 µL, transferidas para lâmina de microscopia, sendo contados NEPs vivos e mortos. Nos primeiros cinco dias as avaliações foram efetuadas a cada 24h, no período seguinte as avaliações ocorreram em intervalos de três dias e subsequentemente o procedimento foi repetido a cada sete dias até a morte de todos os NEPs ou quando houvesse três avaliações com sobrevivências iguais. A taxa de sobrevivência foi calculada pela divisão do número de NEPs vivos pelo seu total e posterior multiplicação por 100. Foi realizado o mesmo procedimento para os NEPs HP88 e LPP30. Os resultados, expressos em porcentagem, foram transformados em $\sqrt{\text{arcseno } x}$. Após conversão dos dados, estes foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-wilk, seguido de ANOVA e Tukey ($p < 0,05$) para amostragens de distribuição normal. Em caso de distribuição não normal, foi realizada a transformação de dados (recíproca ou log). Persistindo tal condição, por meio do software BioEstat 5.0, foram aplicados os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$), para avaliar a ação de cada associação de NEPs em formulação protetora com EG eucalipto sobre a sobrevivência.

Resultados e discussão

Verificando-se a Tabela 1, percebe-se que a associação do EG de eucalipto nas concentrações 5, 10 e 15% à formulação protetora com NEPs não foi deletéria a HP88 em formulação nas primeiras 240h (10 dias) de contato, com taxa de sobrevivência acima de 90% nas três concentrações do EG, estatisticamente semelhantes aos controles, com percentuais a partir de 92% ($p > 0,05$). Analisando separadamente os tratamentos com concentrações diferentes de EG ao longo do tempo, verificam-se valores estatisticamente semelhantes até 408h (17 dias) nas associações com EG eucalipto 5 e 10%, e até 240h (10 dias) na associação a 15%, todos também estatisticamente semelhantes aos controles, relacionados às respectivas faixas de tempo ($p > 0,05$). Tendo em vista a utilização das informações do presente estudo para a realização de pesquisas futuras, assim como demonstrado em Melo et al. (2024) no estudo utilizando NEPs em formulação associados ao óleo essencial de alecrim, a combinação utilizando o EG eucalipto a 5% seria a mais viável economicamente, uma vez que proporciona a maior porcentagem de sobrevivência por tempo de exposição, utilizando a menor quantidade do produto, consequentemente contribuindo para custo reduzido, menor impacto ambiental e pressão de seleção reduzida. Os dados da Tabela 2 demonstram que o acréscimo do EG de eucalipto a 5, 10 e 15% à formulação protetora com *H. indica* LPP30 não alterou significativamente a sobrevivência dos NEPs em até 48h (2 dias), apresentando taxa acima de 90% nas três concentrações do EG, estatisticamente equivalentes aos controles, que se expressaram a partir de 99,5% ($p > 0,05$).

Tabela 1. Taxa de sobrevivência (%) de *Heterorhabditis bacteriophora* HP88 após diferentes tempos de incorporação nas formulações contendo agente gelificante carboximetilcelulose sódica 0,23% (CMC) e extrato glicólico de eucalipto a 16 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ de umidade relativa. Média $\pm$ desvio padrão.

Tempo de exposição (horas)	Tratamentos				
	Controle água destilada	Controle FP	FP + EGE 5%	FP + EGE 10%	FP + EGE 15%
24	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
48	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	94,1 ^{Aa} $\pm$ 20,5	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	95,5 ^{Aa} $\pm$ 29,6	90,6 ^{Aa} $\pm$ 22,6
72	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	93,6 ^{Aa} $\pm$ 21,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	99,4 ^{Aa} $\pm$ 24,3	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
96	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	92,0 ^{Aa} $\pm$ 17,9	98,1 ^{Aa} $\pm$ 22,2	94,8 ^{Aa} $\pm$ 26,6	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
120	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	96,5 ^{Aa} $\pm$ 13,3	98,3 ^{Aa} $\pm$ 26,5	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
192	92,0 ^{Aa} $\pm$ 23,4	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
240	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
408	93,5 ^{Aa} $\pm$ 14,8	100,0 ^{Aac} $\pm$ 0,0	87,1 ^{Aa} $\pm$ 18,2	91,7 ^{Aa} $\pm$ 31,5	43,3 ^{Bb} $\pm$ 19,2
576	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aac} $\pm$ 0,0	37,4 ^{Bbc} $\pm$ 15,0	42,7 ^{Bb} $\pm$ 8,9	12,1 ^{Cb} $\pm$ 7,5
744	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aac} $\pm$ 0,0	31,8 ^{Bbc} $\pm$ 12,4	39,6 ^{Bb} $\pm$ 20,8	0,0 ^{Cb} $\pm$ 0,0
912	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	20,6 ^{Bc} $\pm$ 11,4	9,5 ^{Bb} $\pm$ 9,6	
1080	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aac} $\pm$ 0,0	4,8 ^{Bc} $\pm$ 7,3	0,0 ^{Bb} $\pm$ 0,0	
1248	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	0,0 ^{Bc} $\pm$ 0,0		

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias em uma determinada linha, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias em cada coluna.

Tabela 2. Taxa de sobrevivência (%) de *Heterorhabditis bacteriophora* isolado LPP30 após diferentes tempos de incorporação nas formulações contendo agente gelificante carboximetilcelulose sódica 0,25% (CMC) e extrato glicólico de eucalipto a 16 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ de umidade relativa. Média $\pm$ desvio padrão.

Tempo de exposição (horas)	Tratamentos				
	Controle água destilada	Controle FP	FP + EGE 5%	FP + EGE 10%	FP + EGE 15%
24	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	99,4 ^{Aa} $\pm$ 14,4	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	90,5 ^{Aab} $\pm$ 13,1
48	99,5 ^{Aabc} $\pm$ 8,9	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	96,3 ^{Aab} $\pm$ 13,3	92,1 ^{Aab} $\pm$ 11,2	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
72	97,7 ^{ABa} $\pm$ 6,5	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	88,3 ^{Cab} $\pm$ 15,2	93,0 ^{BCab} $\pm$ 12,3	94,8 ^{BCab} $\pm$ 8,1
96	95,2 ^{ABabc} $\pm$ 7,9	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	87,7 ^{Cab} $\pm$ 11,3	89,5 ^{BCab} $\pm$ 13,1	97,7 ^{ACa} $\pm$ 11,7
120	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	96,3 ^{ABa} $\pm$ 11,3	95,3 ^{ABab} $\pm$ 7,3	89,7 ^{BCab} $\pm$ 14,4	71,5 ^{Ccd} $\pm$ 13,0
192	92,6 ^{ABabcd} $\pm$ 18,1	98,2 ^{Aab} $\pm$ 17,3	99,5 ^{Aa} $\pm$ 11,9	94,7 ^{ABab} $\pm$ 11,6	76,8 ^{Bbd} $\pm$ 12,2
240	85,0 ^{ABcfgh} $\pm$ 9,7	95,9 ^{Aab} $\pm$ 14,8	89,5 ^{Aab} $\pm$ 14,6	85,8 ^{ABab} $\pm$ 11,8	69,6 ^{Bd} $\pm$ 13,1
408	90,5 ^{ABbfh} $\pm$ 10,5	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	89,6 ^{ABab} $\pm$ 15,7	78,9 ^{Bbc} $\pm$ 9,3	53,6 ^{Cde} $\pm$ 10,1
576	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	97,2 ^{ABab} $\pm$ 9,4	77,9 ^{Bbc} $\pm$ 14,2	33,9 ^{Ce} $\pm$ 10,5
744	95,0 ^{Aaf} $\pm$ 11,3	98,3 ^{Aab} $\pm$ 16,0	79,1 ^{Abc} $\pm$ 9,8	22,4 ^{Bcd} $\pm$ 8,5	0,0 ^{Be} $\pm$ 0,0
912	96,2 ^{Aaf} $\pm$ 8,9	97,4 ^{Aab} $\pm$ 14,3	61,4 ^{Bcd} $\pm$ 15,6	13,4 ^{Cd} $\pm$ 6,6	
1080	89,6 ^{Acfn} $\pm$ 12,7	84,4 ^{Abc} $\pm$ 13,4	57,2 ^{Bcde} $\pm$ 18,2	3,8 ^{Cd} $\pm$ 5,3	

Continua...

Continuação.

Tempo de exposição (horas)	Tratamentos				
	Controle água destilada	Controle FP	FP + EGE 5%	FP + EGE 10%	FP + EGE 15%
1248	69,7 ^{Aeg} ± 12,2	72,8 ^{Ac} ± 19,4	47,5 ^{Bde} ± 9,6	0,0 ^{Cd} ± 0,0	
1416	81,3 ^{Adfgi} ± 14,3	68,2 ^{ABcd} ± 19,5	55,2 ^{Bce} ± 18,0		
1584	58,2 ^{Aei} ± 15,7	51,2 ^{ABcd} ± 18,0	35,6 ^{Bde} ± 13,8		
1752	45,3 ^{Ae} ± 17,7	29,8 ^{Bd} ± 11,5	29,7 ^{Be} ± 7,7		
1920	76,8 ^{Aehi} ± 12,1	57,1 ^{Bcd} ± 13,0	35,8 ^{Cde} ± 9,6		
2088	58,5 ± 16,3	25,2 ± 12,5	17,2 ± 9,7		
2256	56,3 ± 16,3	55,1 ± 10,5	38,7 ± 11,6		
2424	55,3 ± 18,0	22,1 ± 12,7	25,7 ± 10,1		
2592	44,8 ± 15,9	15,4 ± 11,9	17,2 ± 10,2		
2760	66,4 ± 22,5	31,1 ± 18,9	8,9 ± 7,7		

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias em uma determinada linha, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias em cada coluna.

Ao avaliar isoladamente os tratamentos ao longo do tempo, as associações com EG eucalipto a 5 e 10% proporcionaram índices estatisticamente semelhantes de sobrevivência de NEPs até 576h (24 dias) e 240h (10 dias), respectivamente, enquanto a solução a 15%, até 96h (4 dias), todos estatisticamente equivalentes aos controles em seus respectivos tempos ($p > 0,05$). Por meio dos dados do presente estudo, conclui-se que, à semelhança do ocorrido com HP88, a associação dos NEPs LPP30 em formulação protetora com EG eucalipto 5% seria a escolha mais adequada. Analisando os dados das Tabelas 1 e 2 para comparação entre estirpes, no tratamento com EG eucalipto 5%, percebe-se que LPP30 sofreu redução significativa na sobrevivência somente a partir de 744h, enquanto HP88 teve sobrevivência reduzida a partir de 576h. Uma vez que são necessárias 48 a 72h de exposição para ação eficaz de NEPs *Heterorhabditis* sp. sobre o carrapato bovino *in vitro* (Monteiro et al., 2012), considera-se que ambas as estirpes em associação com EG eucalipto 5% demonstraram desempenho satisfatório. Contudo, ao se considerar a influência deletéria dos fatores abióticos a campo, a ação protetora das associações sobre os NEPs torna-se ainda mais importante. Portanto, a associação LPP30 em formulação com EG eucalipto 5% apresenta-se como a alternativa mais promissora a ser avaliada em pesquisas futuras para o controle de *R. microplus*, por proporcionar sobrevivência inalterada de NEPs por maior tempo.

Conclusões

As associações de NEPs HP88 e LPP30 em formulação protetora com extrato glicólico de eucalipto a 5% não exercem efeito deletério na sobrevivência de NEPs por períodos prolongados.

A associação LPP30 em formulação protetora com EG de eucalipto 5% constitui a alternativa mais promissora em pesquisas futuras para controle do carrapato bovino, por proporcionar sobrevivência inalterada de NEPs por maior tempo.

Referências

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. de S.; BARROS, A. T. M. de; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEON, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612014042>.

KAYA, H. K.; STOCK, P. S. Techniques in insect nematology. In: LACEY, L. A. (ed.). **Manual of techniques in insect pathology**. London: Academic Press, 1997. p. 281-324. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-432555-5.X5000-3>.

MENDONÇA, A. E. de; MOREIRA, R. G.; AMARAL, M. da P. H. do; MONTEIRO, C. M. de O.; MELLO, V. de; VILELA, F. M. P.; HOMEM, F. C. M.; FURLONG, J.; DOLINSKI, C.; PRATA, M. C. de A.; CHAGAS, E. F. das. Entomopathogenic nematodes in pharmaceutical formulations for *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) control: in vitro evaluation of compatibility, thermotolerance, and efficiency. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 4, p. 781-786, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.03.012>.

MELO, D. R.; MENDONÇA, A. E. de; JAEGER, L. H.; MOREIRA, L. dos S.; PINHEIRO, R. M.; CHAMBARELLI, M. C. M. do C.; SOUZA, A. C. F. de; MONTEIRO, C. M. de O.; PRATA, M. C. de A. Formulação contendo nematoides entomopatogênicos (NEPs) associados a óleo essencial de alecrim para controle do carrapato dos bovinos. In: CONGRESSO NACIONAL DE AGRONOMIA ON-LINE, 1., 2024. **Resumos**. Teresina: Wissen, 2024. p. 205.

MONTEIRO, C. M. de O.; PRATA, M. C. de A.; FAZA, A.; BATISTA, E. S. de P.; DOLINSKI, C.; FURLONG, J. Heterorhabditis bacteriophora (*Rhabditida: Heterorhabditidae*) HP88 for biological control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae): the effect of different exposure times of engorged females to the nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 185, n. 2/4, p. 364-367, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.10.007>.

MONTEIRO, C.; FERNANDES, E. K. K.; GOLO, P. S.; PERINOTTO, W. M. de S.; PRATA, M. C. de A.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Controle biológico de carrapatos com ênfase na utilização de fungos e nematoides entomopatogênicos. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. **Ectoparasitofauna brasileira de importância veterinária: acarofauna de importância veterinária: parasitiformes - Ixodida, parte II**. Jaboticabal: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2024. v. 3, p. 351-402.