

SUSCEPTIBILIDADE "IN VITRO" DE AMOSTRAS DE *Boophilus microplus*
(Canestrini, 1887) DA BAIXADA FLUMINENSE, RIO DE JANEIRO,
BRASIL, A ALGUNS CARRAPATICIDAS ORGANOFOSFORADOS

TESE

Apresentada ao Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro para obtenção do
grau de Mestre em Ciências na Área de
Parasitologia Veterinária

TERESA CRISTINA GOULART DE OLIVEIRA
Rio de Janeiro
1983

BIOGRAFIA

TERESA CRISTINA GOULART DE OLIVEIRA, filha de José Valadares de Oliveira e Irma Branca Valadares, nascida em Patos de Minas, Minas Gerais aos 29 de maio de 1958.

Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Minas Gerais em dezembro de 1980. Ainda como acadêmica iniciou-se na Pesquisa sob a orientação do Professor Joaquim H. Patarroyo, estudando hemoparasitos de bovinos e seu controle.

Ingressou no Curso de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária dessa Universidade em 1981, procurando seguir a mesma linha de pesquisa, acrescentando o estudo do controle de ectoparasitos responsáveis pela transmissão de hemoparasitos.

Dedicatória

A meus pais, pelo exemplo de vida em busca de um bem maior.

A Felipe meu filho, minha maior esperança.

AGRADECIMENTOS

Aos professores JOAQUIN HERNAN PATARROYO SALCEDO, CARLOS LUIZ MASSARD e GONZALO E FRAÍN MOYA BORJA pela orientação e preparação do presente trabalho.

A todos os meus mestres, cujos ensinamentos foram os maiores responsáveis pelo êxito deste trabalho.

Aos meus colegas, companheiros que me incentivaram e que me assistiram em todas as dificuldades. Agradeço especialmente a ADEVAIR HENRIQUE DA FONSECA, MARIA JÚLIA SALIM, RUTH CONSENZA e WALTER FLAUSINO, pela grande colaboração na coleta das amostras.

Aos funcionários da Área de Parasitologia da UFRRJ, a mais sincera gratidão.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho.

Ao Dr. EDUARDO RIBEIRO DA SILVA, Gerente de Pesquisa e Desenvolvimento dos Laboratórios Wellcome S/A, que muito gentilmente cedeu-nos o material de laboratório necessário à execução dos experimentos.

Ao Dr. DALTON LUIZ FERREIRA, professor do Departamento de Farmacologia da UFMG, pela colaboração nos cálculos matemáticos.

A todas as pessoas, amigos cujos nomes não foram aqui incluídos, mas que de alguma forma tiveram participação na conclusão deste trabalho, o nosso profundo agradecimento.

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	3
III. MATERIAL E MÉTODOS	8
A. OBTENÇÃO DA AMOSTRA ESTUDADA	8
1. Descrição fisiográfica da área	8
2. Locais de colheita de amostras	9
3. Colheita das amostras	9
4. Identificação do material coletado	10
5. Manutenção das colônias em laboratório	10
B. ESTUDOS EXPERIMENTAIS	10
1. Carrapaticidas empregados	10
2. Preparo das diluições	12
3. Determinação da concentração que mata 50% das larvas (CL_{50})	12
4. Determinação do fator de resistência	13
IV. RESULTADOS	17
I. Sistemática	17
2. Sensibilidades das amostras ao Chlopyrifos	17
3. Sensibilidade das amostras ao Dicrotofos	18

4. Sensibilidade das amostras ao Fenthion	18
V. DISCUSSÃO	22
VI. CONCLUSÕES	34
VII. RESUMO	35
VIII. SUMMARY	37
IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
X. APÊNDICE	44

LISTA DAS FIGURAS

Figura 1. Localização da Área estudada	15
Figura 2. Localização dos municípios onde realizaram-se coletas	16
Figuras 3 a 10. Linhas de regressão probítica para <i>Chorpyriphos</i>	25
Figuras 11 a 18. Linhas de regressão probítica para o <i>Dicrotofos</i>	25
Figuras 19 a 26. Linhas de regressão probítica para o <i>Fenthion</i>	26

LISTA DAS TABELAS

TABELA 1. Valores de CL ₅₀ (% de concentração) de Chlorpyrifos em larvas de <i>Boophilus microplus</i> e seus respectivos Fatores de Resistência	20
TABELA 2. Valores de CL ₅₀ (% de concentração) de Dicrotofos em larvas de <i>Boophilus microplus</i> e seus respectivos Fatores de Resistência	21
TABELA 3. Valores de CL ₅₀ (% de concentração) de Fenthion em larvas de <i>Boophilus microplus</i> e seus respectivos Fatores de Resistência.	22
TABELA 4. Fatores de Resistência de larvas de <i>Boophilus microplus</i> de quatro municípios do Estado do Rio de Janeiro a três carapaticidas organofosforados.	23

I. INTRODUÇÃO

O *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887), conhecido como o "carrapato do boi", é um carrapato monoxeno, encontrado parasitando bovinos e equídeos, mas que também alimenta-se sobre outros mamíferos (SHAW, 1966).

É uma das espécies de ixodídeos de mais ampla distribuição, estendendo-se pela Ásia, Leste da Índia, Tanzânia, Madagascar, México, Américas do Sul e Central e Austrália. O limite meridional de sua distribuição é o paralelo 34, que passa ao Sul do Brasil. As regiões que se encontram abaixo deste limite não apresentam este ectoparasito, como é o caso de Santa Vitória dos Palmares, no Rio Grande do Sul (GONZALES, 1974).

A importância econômica do *B. microplus* é uma decorrência não só dos danos diretos do ectoparasitismo, pela espoliação sanguínea, mas também por ser ele vetor de importantes hemoparasitos como a *Babesia spp.* e o *Anaplasma marginale*. Por estes motivos representa série entrave à pecuária bovina, como é o caso do Norte da Austrália e grandes áreas da América do Sul e Central (WHARTON, 1974).

Estudos realizados na Austrália, indicam que 50 ou mais adultos de *B. microplus* engurgitados, causam uma perda anual em crescimento, equivalente a 0,65 Kg por carrapato; representando em um rebanho de 100 cabeças,

uma perda de aproximadamente 3,5 toneladas de carne (WELLCOME FOUNDATION, 1976).

No que se refere à América Latina, o parasitismo pelo *B. microplus* no México, causa uma perda de aproximadamente 200.000.000 litros de leite por ano, e morte de 150.000 cabeças por ano, devido a doenças transmitidas por este parasito (BELTRAN, 1975).

No Brasil não existem estudos sobre o valor das perdas ocasionadas pelo *B. microplus* além das estimativas de implicações econômicas, feitas por VIDOR (1975), no Rio Grande do Sul.

Apesar de existirem várias maneiras de combate ao *B. microplus*, o controle deste parasito é ainda muito dependente de produtos químicos no Sul da África, América do Sul e Austrália (WHARTON & ROULSTON, 1970), entretanto, o tratamento dos animais com estes produtos, com a intenção de evitar altas populações de carapatos levou ao aparecimento de resistência. Inicialmente, o tratamento permitiu a sobrevivência de poucos indivíduos naturalmente resistentes; cada tratamento subsequente funcionou como processo seletivo, concentrando os gens responsáveis pelo fenômeno. Como resultado temos que o produto torna-se tolerado pela maioria da população (CROW, 1957; SHAW, 1966).

Levando-se em consideração que o fenômeno da resistência traz como consequência um controle ineficiente e aumento do custo de controle, torna-se clara a vantagem de se prolongar a vida média dos carapaticidas atuais e futuros (SUTHERST & COMINS, 1979).

Baseados no anteriormente exposto e considerando a falta de informações sobre a resistência do *B. microplus* a Organofosforados no Estado do Rio de Janeiro, foi efetuado o presente trabalho, cujo principal objetivo é determinar o Fator de Resistência (FR) de amostras de *Boophilus microplus* provenientes da Baixada Fluminense, Rio de Janeiro, frente a três carapaticidas organofosforados: Dicrotofos, (Chlorpyrifos e Fenthion.

III. REVISÃO DE LITERATURA

Os primeiros êxitos conseguidos no combate químico ao carrapato, foram com o uso de soluções arsenicais, por MARK CHRISTIAN em St. Lawrence na Austrália, por volta do ano de 1895 (STEWART, 1907 in: NEWTON, 1967).

O uso dos compostos arsenicais foi exclusivo por cerca de 30-40 anos, até o aparecimento de resistência a este tipo de carrapaticida em *B. microplus* na Argentina e Austrália no ano de 1936 (WHARTON, 1976).

No Brasil, desde o início do século até o final da década de 40, usou-se somente soluções arsenicais como carrapaticidas (GONZALES, 1974).

Posterior ao aparecimento de resistência aos compostos arsenicais, empregaram-se os compostos organoclorados (DDT-BHC-Ciclodienos). A eficiência destes produtos entretanto foi curta, posto que 18 meses após sua introdução evidenciou-se resistência aos mesmos (GRILLO, 1976; WILSON, 1978). Em 1953 foi comprovada a resistência do *B. microplus* a compostos de DDT e ao grupo Toxaphene-BHC-Dieldrin na Argentina e Austrália (WHARTON, 1976).

O desenvolvimento de resistência do *B. microplus* a compostos arsenicais no Brasil foi documentado no município de Uruguaiana em 1950. Posteriormente no ano de 1952, no município de Alegrete, RS., foram reportados os primeiros casos de resistência a organoclorados (FREIRE, 1953 e 1956).

Não só os problemas de resistência, mas também a toxicidade e presença de resíduos na carne e leite fizeram com que os clorados fossem substituídos. Em 1956 iniciou-se o uso de carrapaticidas organofosforados, sendo que o primeiro produto organofosforado a ser utilizado foi o Diazinon (Dietil 2-isopropil-6 metil-4-pirimidinil fosforotionato), seguindo-se outros compostos, tais como o Dioxation (SS 1,4 dioxan-2,3 diil bis (0,0 dietil fosforotiolotionato)) a partir de 1958; Coumaphos (ester 0,0 fosforotionato de 3-cloro-4-metil-7-oxicumarina) a partir de 1959; Ethion (tetraetil S-S metileno bis (fosforotiolotionato) a partir de 1962 (WHARTON, 1974).

Apesar do aparecimento de resistência a estes compostos em vários países, alguns organofosforados continuam sendo usados e outros novos têm sido sintetizados.

Compostos carrapaticidas de diferentes estruturas químicas, posteriores aos organofosforados têm surgido: carbamatos, formamidinas, thioureas, iminopyrrolidinas, dithietane, thiazoline-xymiazole e pyretroides (ROULSTON et alii, 1977; STENDEL, 1980).

De um modo geral, o primeiro critério empregado para evidenciar resistência a qualquer composto químico usado no controle de insetos e ácaros, é a perda da eficiência desse composto em determinar a morte dos diferentes estádios parasitários (WHARTON & ROULSTON, 1970).

Segundo SHAW (1966), este conceito não é satisfatório pois em muitos casos a aparente perda da eficiência dos compostos usados como carrapaticidas no campo, pode ser devido a fatores como o manejo inadequado, subdoses, contato inadequado com o carrapaticida, elevado índice de poluição e exaustão do banho; por isso são muitos os relatos infundados de resistência.

Em 1957, o Comitê de Especialistas da OMS (in: STONE, 1972) define da seguinte maneira a resistência aos inseticidas: "o desenvolvimento da capacidade em uma cepa de insetos de tolerar doses de tóxicos as quais provaram ser letais para a maioria dos indivíduos em uma população normal da mesma espécie".

A confirmação de resistência a carrapaticidas tem como fundamen-

to a resposta a uma dosagem do composto químico pelos carrapatos, usando-se no teste estádios de vida livre do artrópode (WHARTON & ROULSTON, 1970). A forma de vida livre empregada é a larva não alimentada, que segundo as recomendações da FAO (1971), é o método mais satisfatório de se testar resistência em carrapatos.

O desenvolvimento de resistência em uma população de carrapatos depende primariamente da frequência inicial do gen na população, da intensidade de seleção, do grau de dominância do gen e da adaptação do genótipo (STONE, 1972).

Segundo WHARTON (1976), os carrapatos são grupados por resistência aos seguintes ixodicidas:

- a) Compostos arsenicais
- b) DDT
- e) Toxophene-BHC-dieldrin
- d) Organofosforados-carbamatos; estes tipos não são relacionados bioquimicamente mas os carrapatos resistentes a um grupo, podem subseqüentemente desenvolver resistência a um ou mais outros grupos.

Historicamente, a resistência do *B. microplus* a organofosforados foi documentada pela primeira vez na Austrália, em 1963 (SHAW & MALCOM, 1964); sendo que o mesmo fato foi posteriormente comprovado em outros países (WHARTON, 1976).

Atualmente segundo as características de comportamento bem definido diante dos organofosforados reconhecem-se as seguintes cepas fósforo-resistentes de *Boophilus microplus*, mencionadas em ordem cronológica de reconhecimento:

- 1963 - RIDGELANDS - resistente ao dioxation; sensível ao Coumaphos, Ethion e Chlorpyriphos.
- 1966 - BIARRA - resistente ao Dioxation e Coumaphos; sensível ao Chlorpyriphos, Chlorfenviphos e Promacil.
- 1968 - MACKAY - resistente ao Dioxation, Coumaphos e Chlorfenviphos; sensível ao Chlorpyriphos, Ethion e Bromophos etil.

- 1970 - MONTE ALFORD - resistente ao Dioxation, Coumaphos e Chlorpyriphos; sensível ao Chlorfenviphos e Promacil.
- 1971 - GRACEMERE - resistente ao Dioxation e Chlorpyriphos; sensível ao Ethion e Promacil.
- 1971 - TULLY - resistente ao Coumaphos; sensível ao Chlorpyriphos e Diazinon.
- 1972 - BAJOOL - resistente ao Dioxation e Chlorpyriphos; sensível ao Coumaphos.
- 1972 - INGHAM - resistente ao Coumaphos e Chlorpyriphos e sensível ao Diazinon (NEWTON, 1967; WHARTON & ROULSTON, 1970; WHARTON, 1974 e 1976; ROULSTON et alii, 1977 e 1981). As amostras assim caracterizadas diferem entre si tendo como base a resposta dose-mortalidade, níveis de atividade acetilcolinesterásica e taxa de metabolização dos acaricidas (ROULSTON et alii, 1977).

O fenômeno da resistência tem alta incidência no gênero *Boophilus* provavelmente devido à grande fração de sua população estar sob pressão química, ter ciclo vital curto e especificidade parasitária alta quando comparado a carapatos de dois ou três hospedeiros (WHARTON & ROULSTON, 1970).

A resistência aos organofosforados é um caráter genético, conferido por um gen autossômico de dominância incompleta ou intermediária; sendo que este caráter apresenta uma irreversibilidade de até 65% após a criação em laboratório de cinco gerações sem estarem submetidas à pressão de carapaticidas organofosforados (STONE, 1968 e 1972).

Segundo WHARTON (1976), este é um fenômeno pré-existente, que pela seleção do carapaticida favorece a sobrevivência de mutantes resistentes.

O mecanismo básico de ação tóxica dos compostos organofosforados é a inibição colinesterásica (WHARTON & ROULSTON, 1970; GRILLO, 1976); entretanto existem amostras de *B. microplus* resistentes a organofosforados que apresentam pelo menos dois mecanismos de escape à ação tóxica destes compostos:

- colinesterases que são relativamente insensíveis à inibição e

- sistemas de destoxificação que metabolizam os compostos organofosforados a metabólitos não tóxicos (LEE & BATHAN, 1966; STONE, 1972; WHARTON, 1976).

No que compete ao Brasil, a resistência a organofosforados foi inicialmente descrita por SHAW et alii (1968), sendo que os problemas da resistência continuaram a ser notificados em propriedades do Rio Grande do Sul (GONZALES & SILVA, 1972; GONZALES et alii, 1973) e em Minas Gerais (AMARAL et alii, 1974; PATARROYO & COSTA, 1980).

III. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Área de Parasitologia, Depto. de Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, RJ, para onde foram transportadas as amostras de *B. microplus* obtidas.

A - OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS ESTUDADAS

1. Descrição Fisiográfica da Área

A área escolhida para os nossos estudos compreende quatro municípios localizados em duas microregiões homogêneas do Estado do Rio de Janeiro; uma a denominada Fluminense do Grande Rio onde estão localizados os municípios de Itaguaí, Nova Iguaçu e Paracambi e outra a denominada Rio de Janeiro onde se localiza o município do mesmo nome.

Nestas áreas a época de chuva concentra-se no verão, sendo que a média de precipitação anual é de 1183,1 mm e suas médias de temperatura e umidade são de 22°C e 81% respectivamente. A incidência de massas frias originárias do Sul do Continente ocasionam chuvas e quedas bruscas de temperatura, determinando a grande instabilidade climática que caracteriza esta região (FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA, 1981).

Cartograficamente os municípios encontram-se entre 43°-42'-00'' e 43°-51'-00'' de longitude oeste, e entre 22°-50'-00'' e 23°-00'00'' de latitude sul (FIGURAS 1 e 2).

2. Locais de Colheita de Amostras

Tomando-se como centro da área estudada a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, todas as propriedades distribuem-se num raio máximo de 32 Km.

Foram escolhidas 8 propriedades assim distribuídas: três no município de Rio de Janeiro, duas no município de Itaguaí, duas no município de Nova Iguaçu e uma no município de Paracambi. O critério de escolha baseou-se no número de animais da propriedade e no nível de tecnificação das mesmas, pois nestas propriedades o uso de carrapaticidas é mais constante, podendo apresentar problemas de controle com maior frequência.

Nos últimos dois anos os carrapaticidas usados nas propriedades estudadas foram: Butox, Dipofen, Durban 24E, Ektafos 50, Ektafos 100, Neguvon/Assuntol, Tiguvon 50 E.C. e Triatox.

Para efeitos de denominação das amostras utilizou-se a inicial do município de procedência e um número que foi atribuído de acordo com a distância da propriedade, em ordem crescente, a um ponto de referência que foi a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Desta forma temos as seguintes amostras:

- I/101: proveniente do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, Itaguaí.
- I/102: proveniente da Fazenda D'Abadia, Itaguaí.
- N/101: proveniente da Fazenda Cabuçu, Nova Iguaçu.
- N/102: proveniente da Fazenda Jaguatirão, Nova Iguaçu.
- P/101: proveniente da Fazenda Rio Novo, Paracambi.
- R/101: proveniente da Fazenda Indiana, Rio de Janeiro.
- R/102: proveniente da Fazenda Arpoador, Rio de Janeiro.
- R/f03: proveniente da Fazenda Morro da Tenda, Rio de Janeiro.

3- Colheita das Amostras

Foram colhidas teleóginas de bovinos naturalmente parasitados, que não houvessem recebido tratamento carrapaticida pelo menos 15 dias an-

tes. As teleóginas eram colocadas em recipientes identificados e transportadas imediatamente para o laboratório. As coletas foram efetuadas no período de abril a outubro de 1982.

4- Identificação do Material Colheitado

A classificação taxonômica das teleóginas foi feita baseada e segundo as chaves de ARAGÃO & FONSECA (1961).

5. Manutenção das Colônias em Laboratório

Após a identificação do material colheitado, foram escolhidas para a criação somente as teleóginas que tivessem peso compreendido entre 160 a 300 mg, por ser este o melhor peso para a postura de ovos no *B. microplus* (BENNETT, 1974).

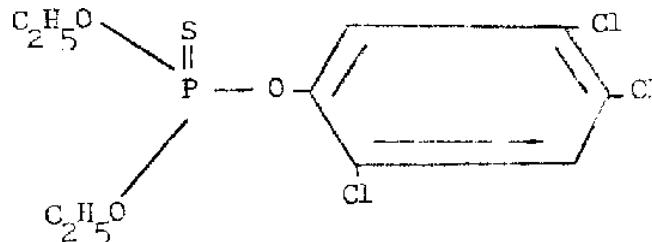
Em placas de petri estéreis foram colocadas 5 teleóginas por placa e após identificação das amostras levadas à estufa BOD a 26,5°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) com umidade relativa em média superior a 70%. A oviposição era feita por cerca de 15 dias. Após este período os ovos eram colocados em tubos de ensaio (180 mm x 180 mm) previamente esterilizados, identificados, tampados com tecido de algodão e novamente colocados em estufa nas mesmas condições de temperatura e umidade, até a obtenção das larvas; estas permaneciam aí até o momento de uso. Desta forma, as larvas obtidas eram provenientes de um "pool" de ovos.

B - ESTUDOS EXPERIMENTAIS

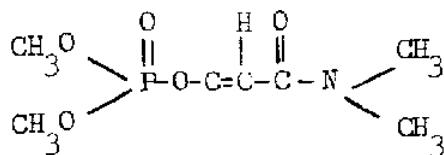
1. Carrapaticidas Empregados

Foram empregados 3 carrapaticidas organofosforados, quimicamente pertencentes a três dos quatro grupos de diferentes estruturas químicas em que estão divididos os carrapaticidas organofosforados:

DURSBAN 24E*: Tiofosfato de 0,0 dietil 0,3,5,6 tricloro 2-piridila (Chlorpyriphos); pertencente ao grupo dos fosforotioatos. Encontrado no comércio em solução na concentração de 25% do princípio ativo.



- EKTAFOS 100**: Cis-(2 dimetil carbamoil-1-metilvinil) dimetil fosfato (Dicrotofos); pertencente ao grupo dos fosfatos. Encontrado no comércio sob a forma líquida, na concentração de 100% de princípio ativo.



- TIGUVON 50% EC***: Éster do ácido 0,0 dimetil-0-(3-metil-4-metiltiofenil)-tionifosfonico (Fenthion): pertencente ao grupo dos fosforotionatos. Encontrado no mercado sob a forma de solução na concentração de 50% do princípio ativo.



* Dow Química S.A. - São Paulo

** Ciba Geigy - São Paulo

*** Laboratório Bayer do Brasil S.A. - São Paulo

2. Preparo das Diluições

As soluções diluídas de carrapaticidas, foram preparadas a partir do produto comercial, diluindo-se este em uma solução de Tween 80* a 1% em água descolorada. Usou-se o Tween 80 como umectante, para obter um bom contato das larvas com o carrapaticida. O emprego da água descolorada é devido à possível interferência do cloro na viabilidade das larvas de carapatos (GRILLO & GUTIERREZ, 1969).

Os carrapaticidas foram empregados em diversos diluições, partindo-se da dosagem indicada pelos laboratórios fabricantes:

CHLORPYRIPHOS - (Dursban 24E) - 1:1.000 (0,025% de princípio ativo)

DICROTOFOS (Ektafos 100) - 1,5:2.000 (0,075% de princípio ativo)

FENTHION (Tiguvon 50% EC) - 1:250 (0,2% de princípio ativo)

3- Determinação da Concentração que Mata 50% das Larvas (CL₅₀)

Para a determinação da concentração que mata 50% das larvas, utilizou-se a técnica descrita por GRILLO & GUTIERREZ (1969), com algumas modificações introduzidas por PATARROYO (1978).

a - Utilizaram-se larvas F₁, obtidas em laboratório de acordo com a técnica anteriormente descrita, e com idade entre 2-3 semanas.

b - As larvas eram transferidas dos tubos de ensaio para tubos de hemólise, na quantidade de 100 a 300 por tubo aproximadamente. Os tubos eram tampados com rolhas de borracha e colocados em estantes. Feito isto; inverteiam-se os tubos a fim de que as larvas fossem para o fundo;

e - Em cada tubo eram adicionados aproximadamente 4 ml de solução diluída de carrapaticida, e colocava-se os tubos em posição normal, procurando fazer com que a totalidade das larvas ficasse no fundo dos tubos. O tempo de imersão foi de 15 minutos;

* Difco Laboratories - Detroit - Michigan, USA.

d - Transcorrido o tempo de imersão, a solução era desprezada e as larvas depositadas sobre um papel de filtro com tecido de algodão em cima e contidos em uma placa de petri;

e - Envelopes de papel Buffon previamente quadriculados eram utilizados para colocar o tecido com as larvas, e depois dobrados convenientemente. Feito isto, eram colocados em estantes de madeira e levados à estufa a 26,5°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) e umidade relativa em média superior a 70%;

f - Transcorridas 24 horas do tratamento eram feitas as leituras com o auxílio de uma lente de mão. Uma fonte luminosa era utilizada para estimular o movimento das larvas, devido a emissão de calor. Contava-se a totalidade das larvas iniciando-se pelas imóveis; aspergia-se então, água sobre o papel para paralisar as que se moviam, e contava-se todas. Por diferença calculava-se o número de vivas. As larvas incapazes de locomoverem-se eram consideradas mortas.

Inicialmente usou-se um mínimo de sete diluições para cada carrapaticida. Se os dados obtidos fossem insuficientes para os cálculos posteriores, outras diluições eram intercaladas. Todos os experimentos foram feitos com seis replicações para cada diluição. Cada experimento tinha um grupo de larvas controle, este era imerso em solução de Tween 80 a 1% e submetido às mesmas condições daqueles tratados com carrapaticida; quando mais de 3% das larvas controle morriam, o experimento era invalidado e repetido.

O cálculo matemático das CL_{50} e dos limites de confiança foram feitos pelo método de análise do probito segundo FINNEY (1964-1971) - Cada CL_{50} é expressada em concentração por cento do princípio ativo do carrapaticida na diluição empregada.

4. Determinação do Fator de Resistência

O fator de resistência é o quociente entre a CL_{50} da amostra desconhecida sobre a CL_{50} de uma amostra de susceptibilidade reconhecida ao carrapaticida que se está estudando (SHAW & MALCOM; 1964; GRILLO, 1976).

No presente trabalho os dados a respeito da amostra sensível foram retirados dos trabalhos de PATARROYO (1978) e PATARROYO & COSTA (1980).

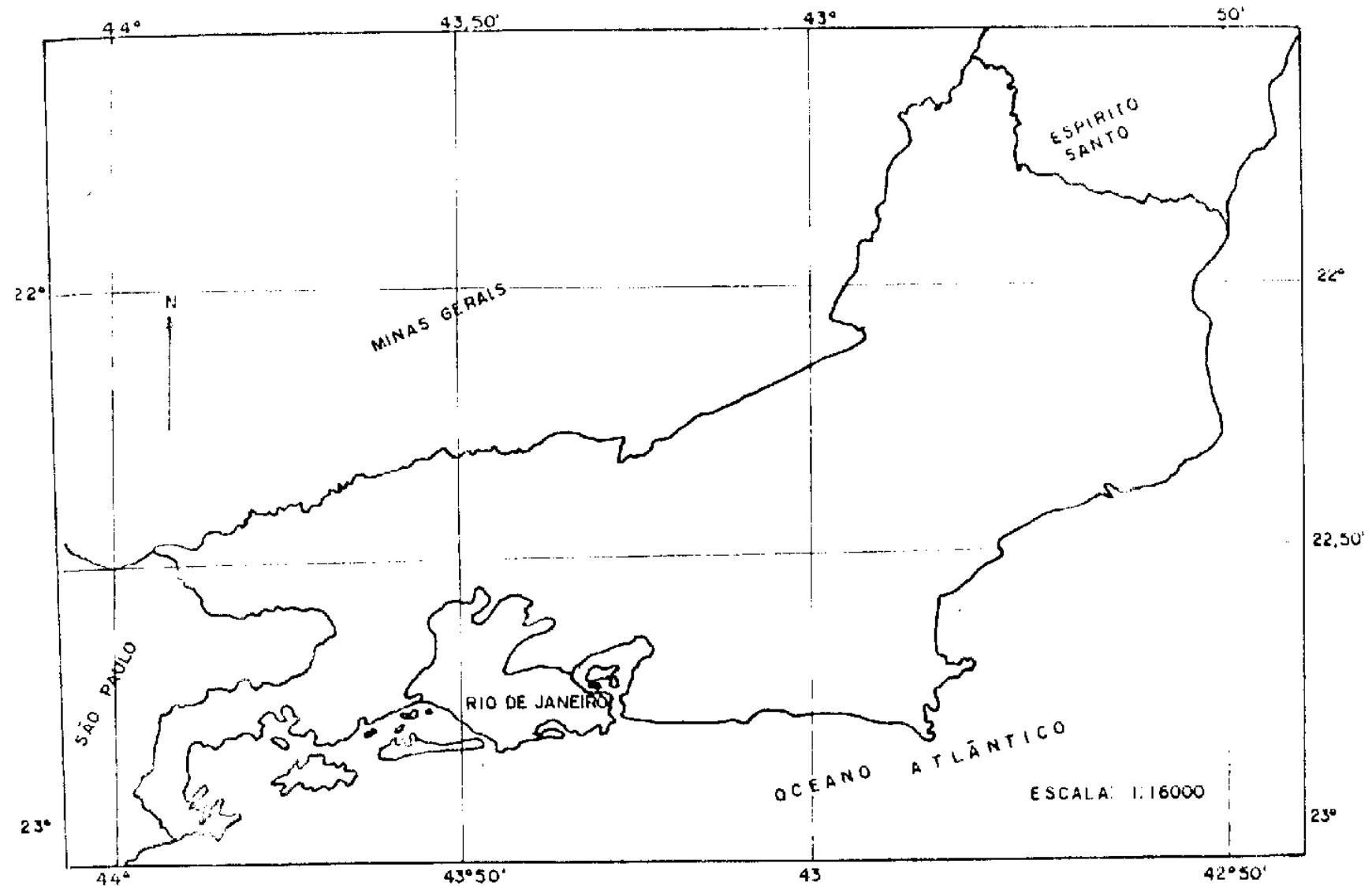


FIG. 1- LOCALIZAÇÃO DA ÁREA ESTUDADA



FIG. 2 - LOCALIZAÇÃO DOS MUNICÍPIOS ONDE REALIZARAM-SE COLETAS

IV. RESULTADOS

1. SISTEMÁTICA

A totalidade das amostras colhidas foram classificadas por nós como sendo *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) segundo a chave de ARAGÃO & FONSECA (1961), sendo as principais características da espécie, as seguintes:

Coxa I com espinhos internos e externos curtos, de tamanho igual, separados por uma depressão em forma de "V" invertido;

Coxas II e III com espinho externo;

A ausência de protuberância portadora de perda na face ventral interna do artí culo palpal I;

Dentição hipostomal 4/4.

2. SENSIBILIDADE DAS AMOSTRAS AO CHLORPYRIPHOS

Todas as amostras colhidas apresentaram Fator de Resistência FR ao Chlorpyriphos, quando comparadas com a amostra sensível de *B. microplus*. Os FR se apresentam em vários níveis, variando entre 8,94 até 46,71 (Tabela 1).

O maior valor de FR encontrado neste trabalho foi precisamente para o Chorpyriphos e corresponde à amostra I/101 (Tabelas 1 e 4).

Os limites de confiança da CL_{50} foram calculados no nível de 95% e junto com o valor da equação de regressão se apresentam na Tabela 1.

Nas Figuras 3 a 10 mostram-se as linhas de regressão probítica para cada amostra em relação ao Chlorpyriphos.

3- SENSIBILIDADE DAS AMOSTRAS AO DICROTOFOS

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados referentes à sensibilidade das oito amostras estudadas frente ao Dicrotofos. Igualmente podem ser observadas as CL_{50} com seus respectivos limites de confiança ao nível de 95% e as equações de regressão.

Nota-se que todas as amostras apresentaram resistência a este composto quando comparadas com a cepa sensível.

Os valores de FR variaram para o Dicrotofos entre 3,71 (amostra P/101) e 8,20 (amostra I/101), sendo que o menor valor de FR encontrado neste trabalho foi precisamente para a amostra P/101 frente ao Dicrotofos (Tabelas 2 e 4).

Nas Figuras 11 a 18 apresentaram-se as linhas de regressão probítica e as respectivas equações de regressão para caem amostra frente ao Dicrotofos.

4. SENSIBILIDADE DAS AMOSTRAS AO FENTHION

Comparando-se as CL_{50} das nossas amostras com a CL_{50} da cepa sensível de *B. microplus* frente ao Fenthion, podemos notar que as primeiras foram sempre maiores, por conseguinte todas as amostras apresentam Fator de Resistência, sendo que os valores variaram entre 8,41 e 30,59 correspondendo às amostras R/101 e I/101 respectivamente (Tabelas 3 e 4).

Na Tabela 3 mostram-se além das CL_{50} e valores de FR, os limi-

tes de confiança calculados ao nível de 95%, assim como as equações de regressão.

As Figuras 19 a 26 mostram as linhas de regressão probítica para cada amostra com sua respectiva equação de regressão.

De maneira geral e após a observação de nossa Tabela 4, os resultados nos apresentam que a amostra I/101 teve os maiores valores de FR para todos os carrapaticidas testados, enquanto a amostra P/101 apresentou os menores FR, exceto para o Fenthion.

TABELA 1. Valores de CL₅₀ (% de concentração) de Chlorpyrifos em larvas de *Boophilus microplus* e seus respectivos Fatores de Resistência.

Amostra	CL ₅₀	Limites de Confiança (95%)	Equação de Regressão	Fator de Resistência
S/IS ¹	0,000098	0,000098 - 0,000104	$\hat{Y} = 12,13 + 1,78x$	-
I/101	0,004578	0,004253 - 0,004929	$\hat{Y} = 7,74 + 1,17x$	46,71
I/102	0,002591	0,002507 - 0,002656	$\hat{Y} = 10,78 + 2,23x$	26,43
N/101	0,002797	0,002596 - 0,002997	$\hat{Y} = 7,44 + 0,95x$	28,54
N/102	0,004396	0,004074 - 0,004668	$\hat{Y} = 7,43 + 1,03x$	44,85
P/101	0,000877	0,000843 - 0,000911	$\hat{Y} = 11,96 + 2,27x$	8,94
R/101	0,003009	0,002777 - 0,003237	$\hat{Y} = 10,05 + 2,00x$	30,70
R/102	0,001122	0,001071 - 0,001145	$\hat{Y} = 10,94 + 2,01x$	11,44
R/103	0,003763	0,003233 - 0,004373	$\hat{Y} = 9,37 + 1,80x$	38,39

1 - Amostra classificável

TABELA 2. Valores de CL50 (% de concentração) de Dicrotofos em larvas de *Boophilus microplus* e seus respectivos Fatores de Resistência.

Amostra	CL ₅₀	Limites de Confiança (95%)	Equação de Regressão	Fator de Resistência
S (1S) ¹	0,004751	0,004593 - 0,004957	Y = 12,62 + 3,82x	-
T/101	0,039005	0,038109 - 0,039865	Y = 9,82 + 3,42x	8,20
T/102	0,028649	0,027949 - 0,029318	Y = 8,86 + 2,50x	6,03
A/101	0,031884	0,030653 - 0,033085	Y = 7,92 + 1,95x	6,74
N/102	0,029617	0,028855 - 0,030344	Y = 9,75 + 3,11x	6,23
P/101	0,017637	0,017085 - 0,018246	Y = 9,67 + 2,66x	3,71
P/101	0,022718	0,021777 - 0,023293	Y = 8,72 + 2,26x	4,78
R/102	0,020155	0,019649 - 0,020585	Y = 10,25 + 3,09x	4,24
Q/103	0,028988	0,027264 - 0,030072	Y = 7,22 + 1,44x	6,10

1 - Amostra sensível

TABELA 3. Valores de CL₅₀ (% de concentração) de Fenthion em larvas de *Boophilus microplus* e seus respectivos Fatores de Resistência.

Amostra	CL ₅₀	Limites de Confiança (95%)	Equação de Regressão	Fator de Resistência
S/18 ¹	0,000392	0,000375 - 0,000408	Y = 14,30 + 2,73x	-
I/101	0,011992	0,011767 - 0,012208	Y = 12,71 + 4,01x	30,59
I/102	0,009091	0,008933 - 0,009240	Y = 12,70 + 3,77x	23,19
N/101	0,005800	0,005631 - 0,005950	Y = 11,62 + 2,96x	14,79
N/102	0,007043	0,007032 - 0,007054	Y = 15,54 + 4,90x	17,95
P/101	0,006062	0,005912 - 0,006126	Y = 17,21 + 5,50x	15,46
R/101	0,003297	0,003239 - 0,003354	Y = 15,24 + 4,12x	8,41
R/102	0,009436	0,009344 - 0,009628	Y = 15,43 + 5,15x	24,19
R/103	0,011116	0,010840 - 0,011374	Y = 10,86 + 3,00x	28,35

1 - Amostra sensível

TABELA 4. Fatores de Resistência de larvas de *Boophilus microplus* de quatro municípios do Estado do Rio de Janeiro a três carrapaticidas organofosforados.

Amostras	FR Dicrotos	FR Chorpyriphos	FR Fenthion
I/101	8,20	46,71	30,59
I/102	6,03	26,43	23,19
N/101	6,71	28,54	14,79
N/102	6,23	44,85	17,96
P/101	3,71	8,94	15,46
R/101	4,78	30,70	8,41
R/102	4,24	11,44	24,19
R/103	6,10	38,39	28,35

Figuras 3 a 10 - Linhas de regressão probítica para o Chorpyriphos.

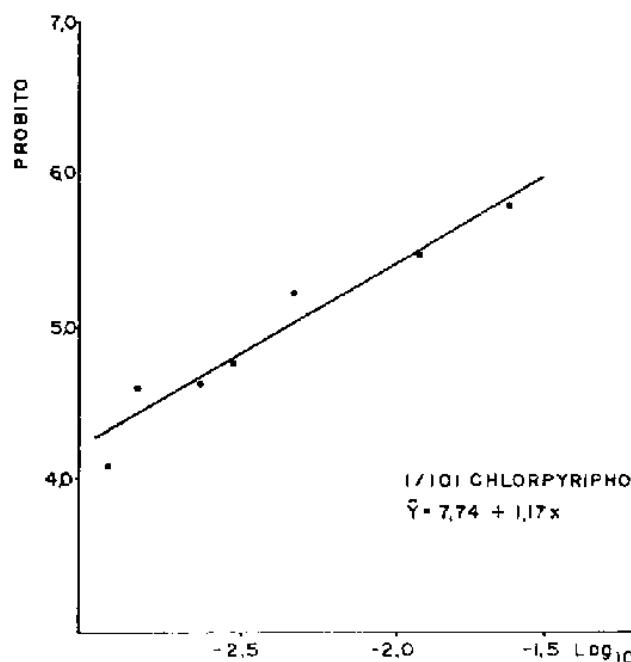


FIG. 3

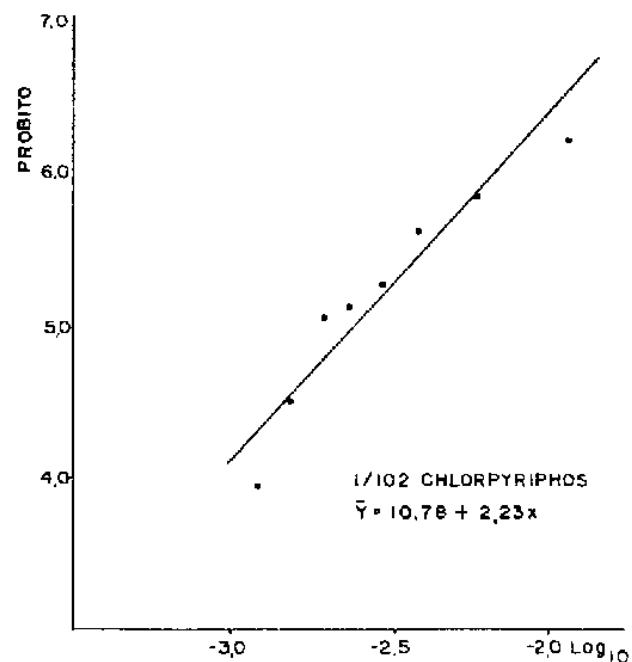


FIG. 4

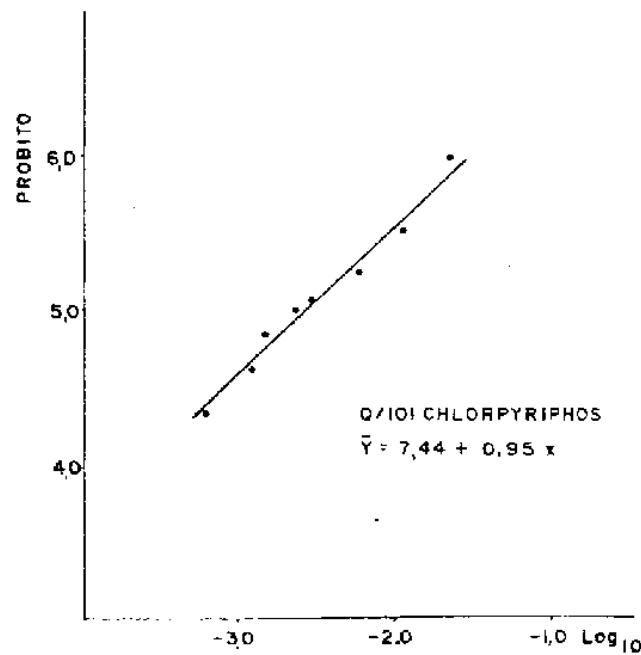


FIG. 5

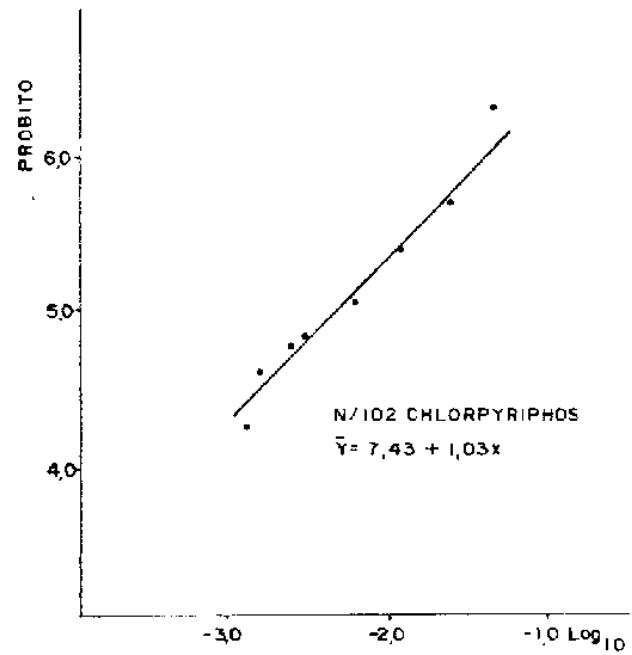


FIG. 6

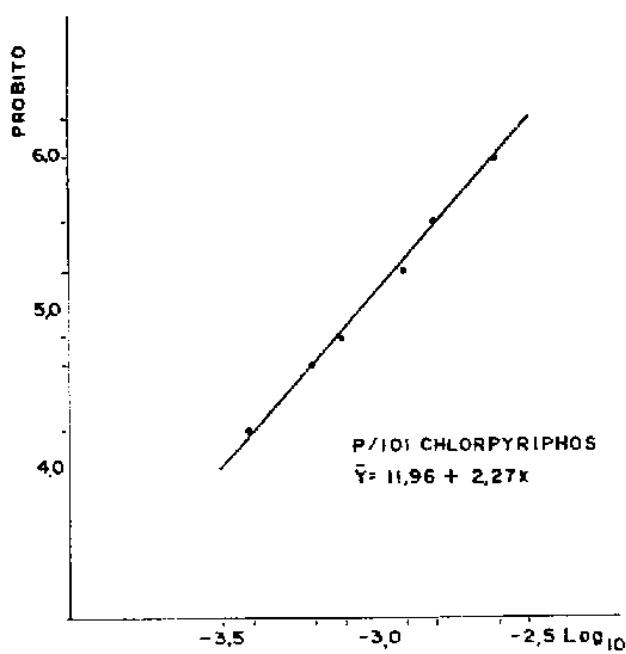


FIG. 7

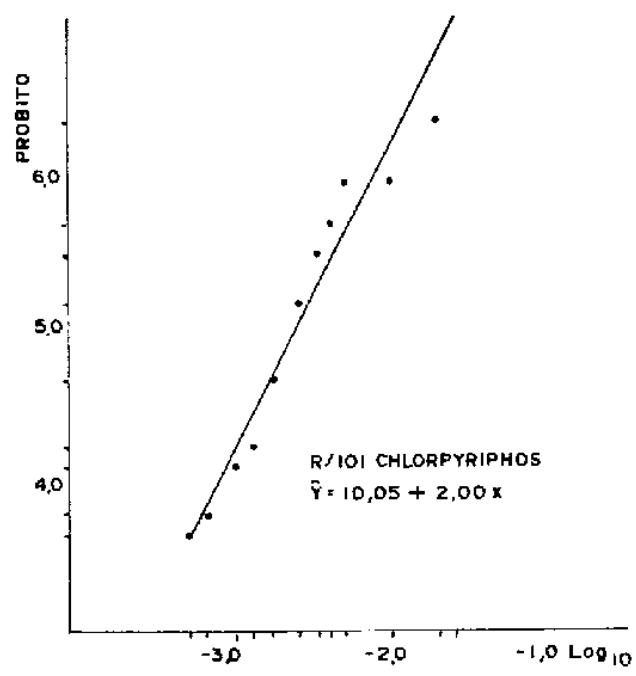


FIG. 8

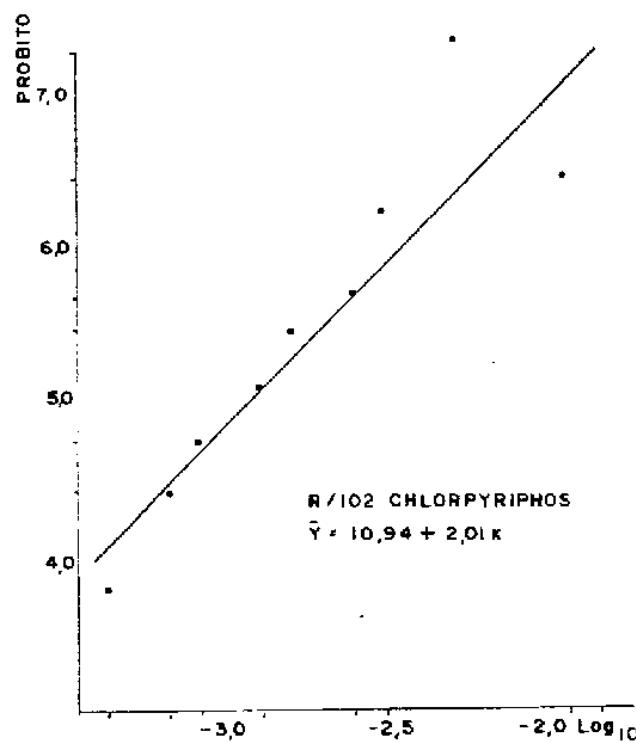


FIG. 9

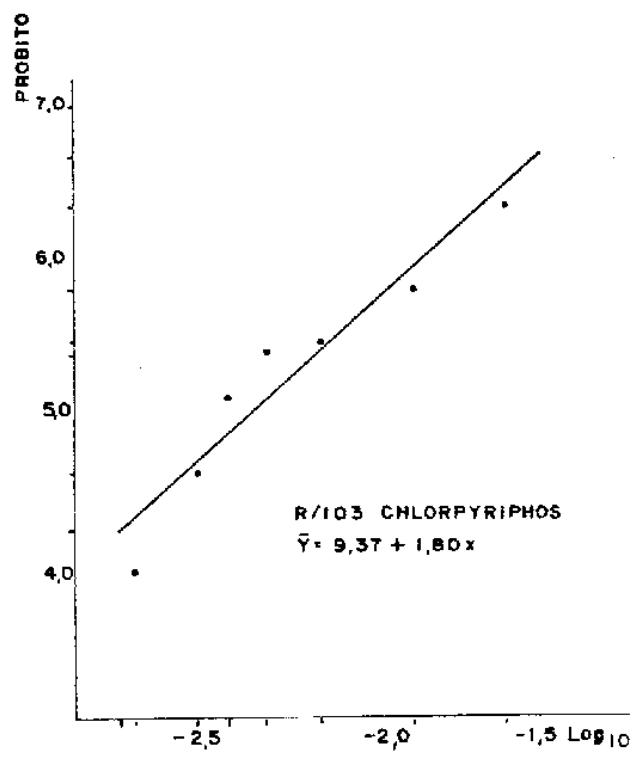


FIG. 10

Fíguras 11 a 18 - Linhas de regressão probítica para o Dicrotofos.

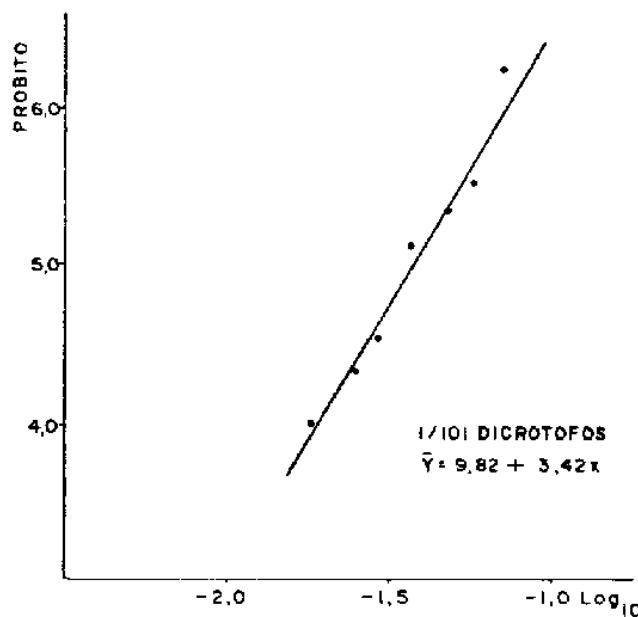


FIG. 11

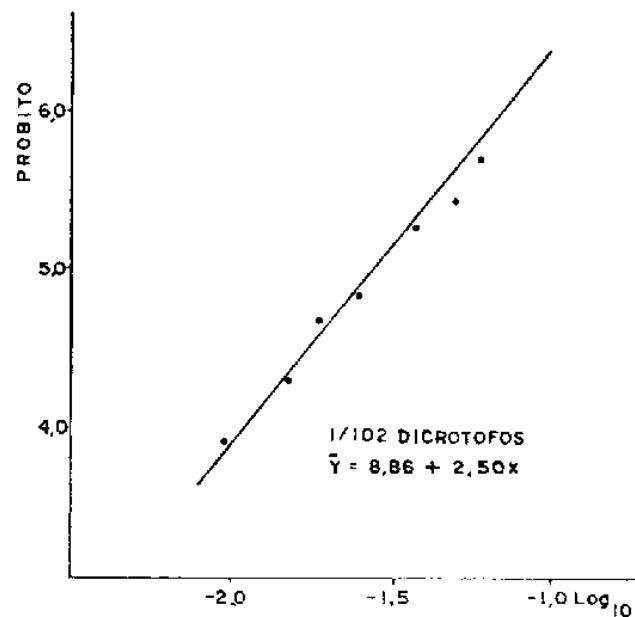


FIG. 12

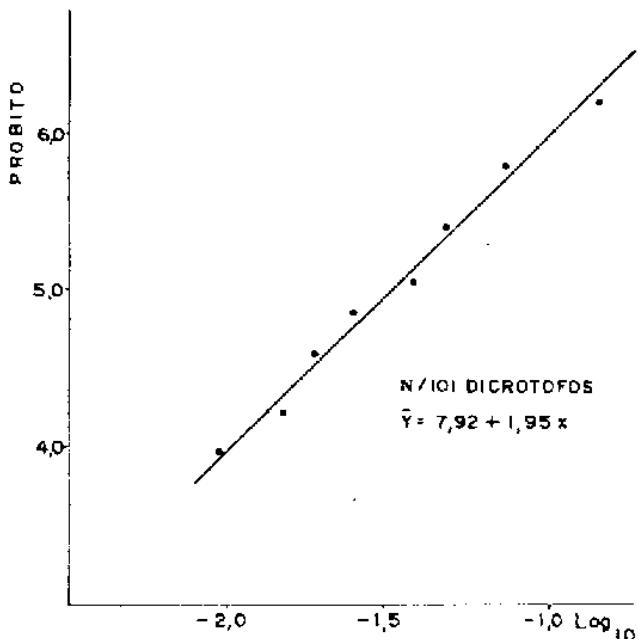


FIG. 13

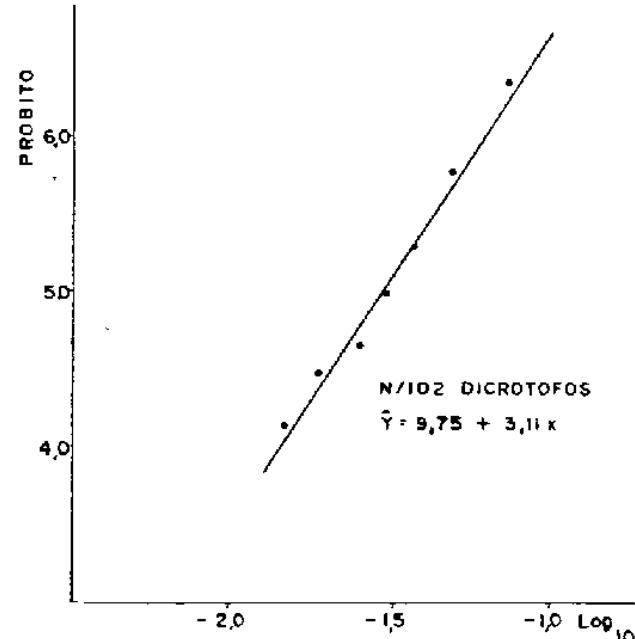


FIG. 14

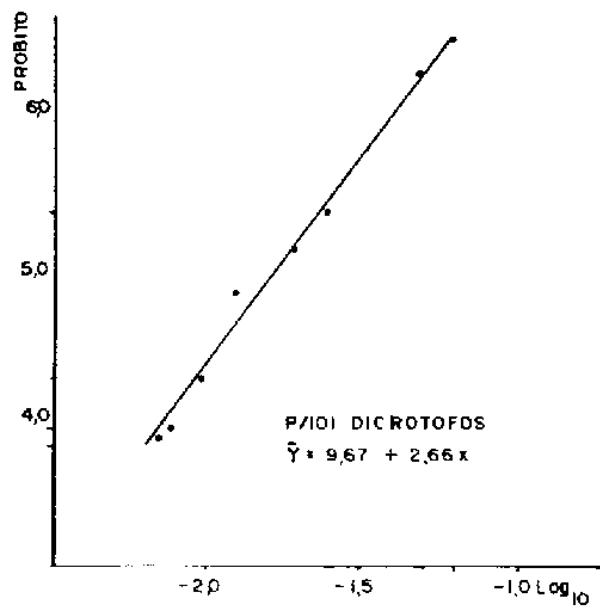


FIG. 15

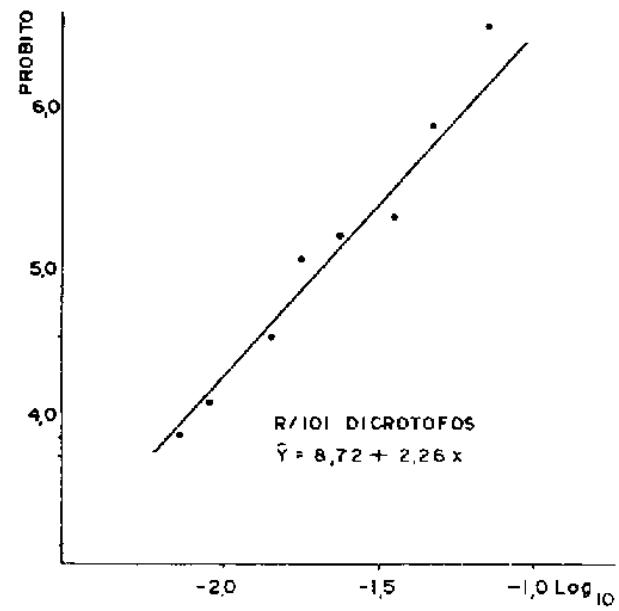


FIG. 16

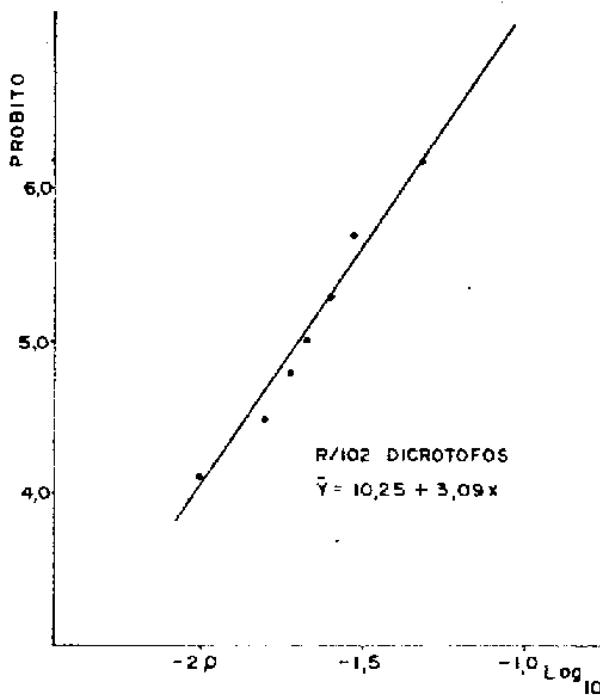


FIG. 17

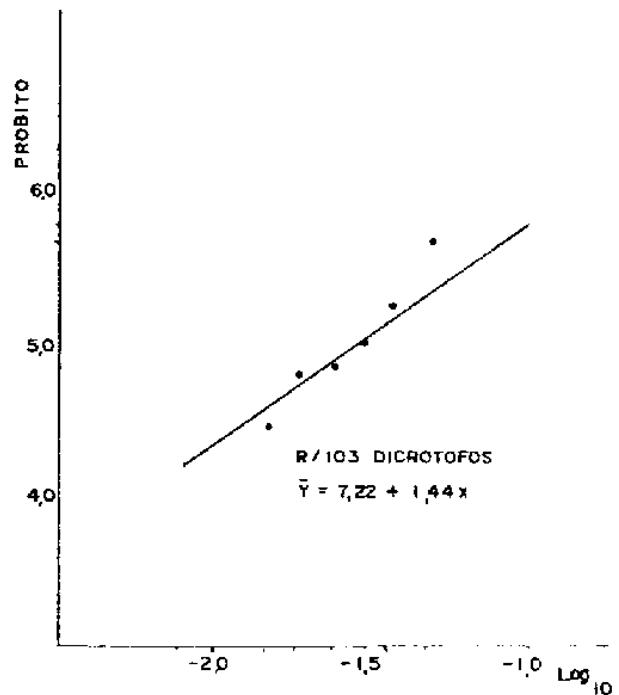


FIG. 18

Figuras 19 a 26 - Linhas de regressão probítica para o Fenthion.

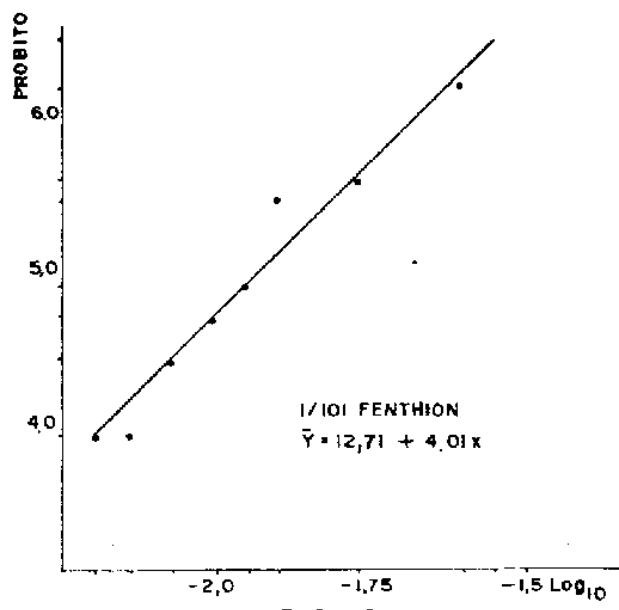


FIG. 19

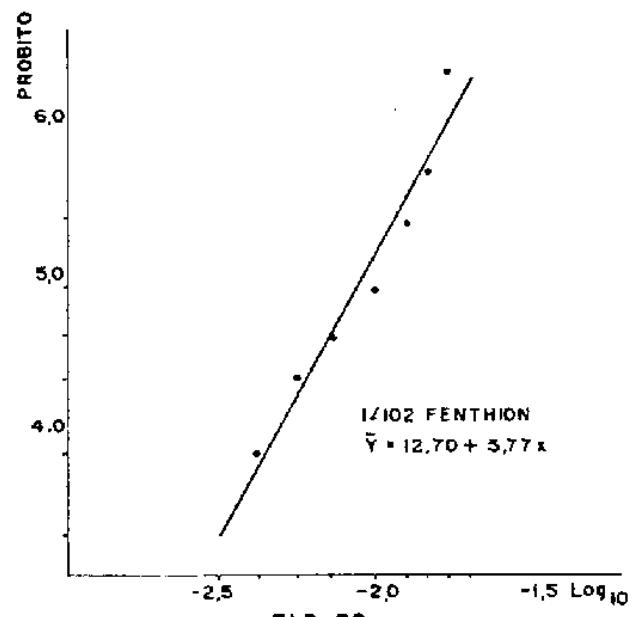


FIG. 20

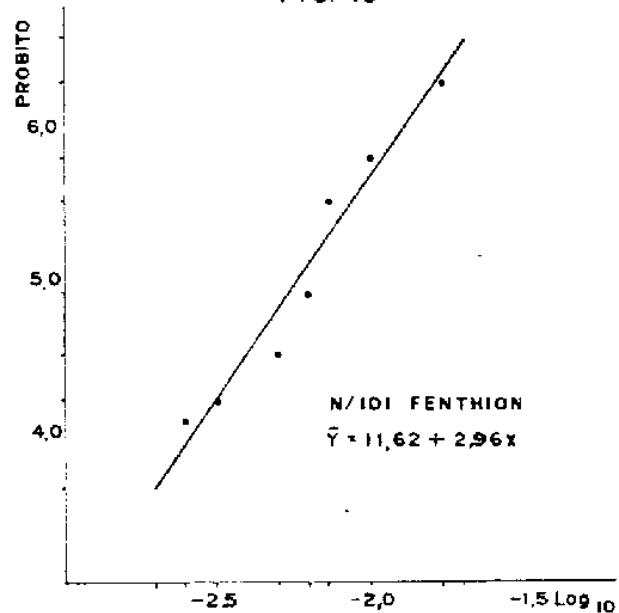


FIG. 21

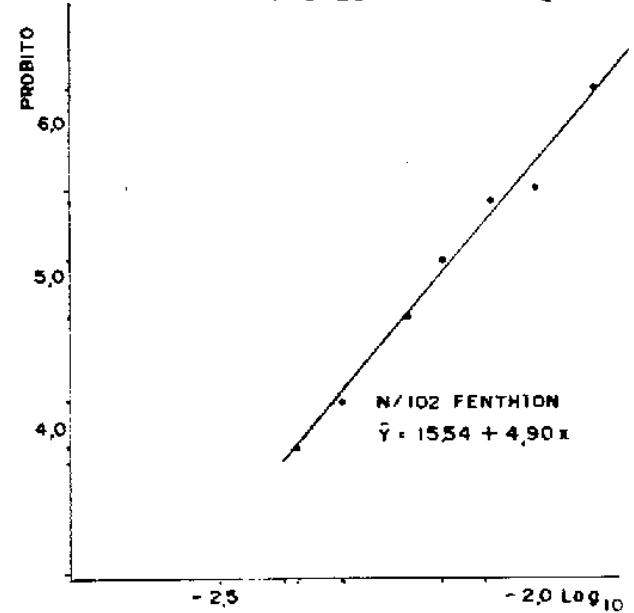


FIG. 22

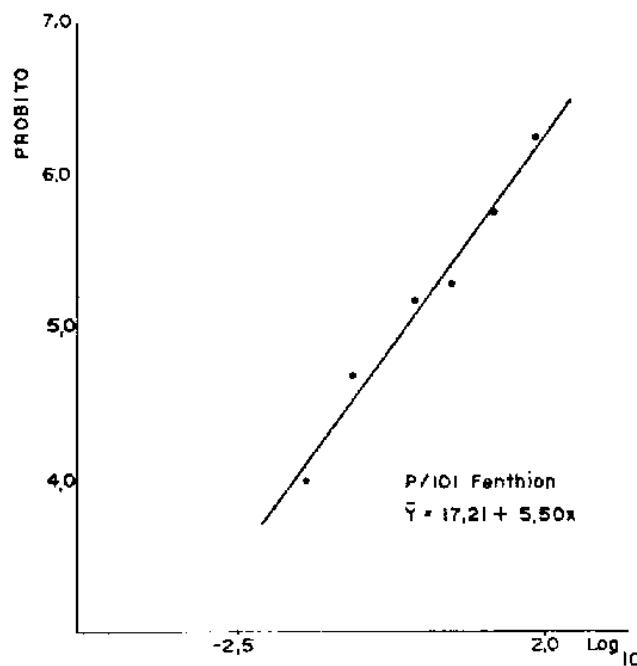


FIG. 23

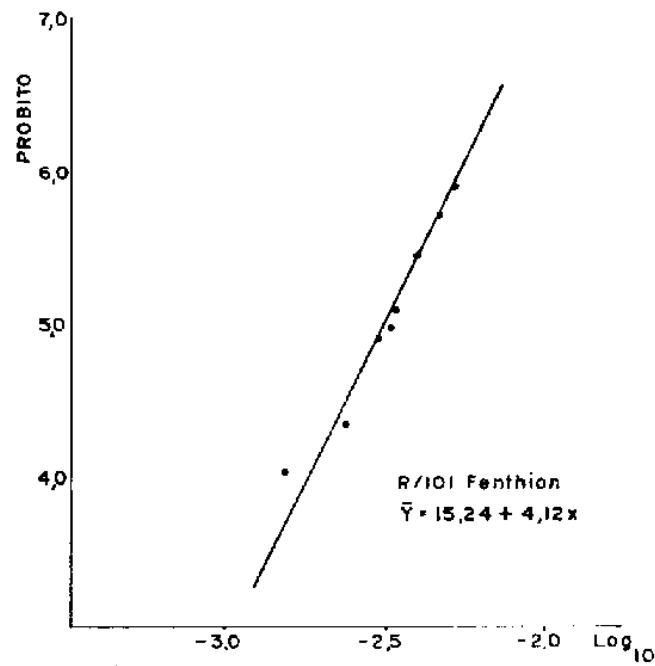


FIG. 24

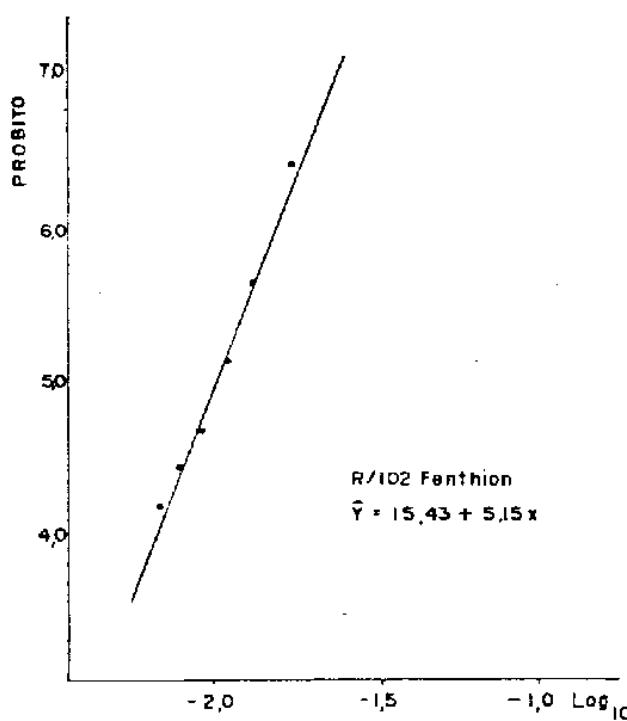


FIG. 25

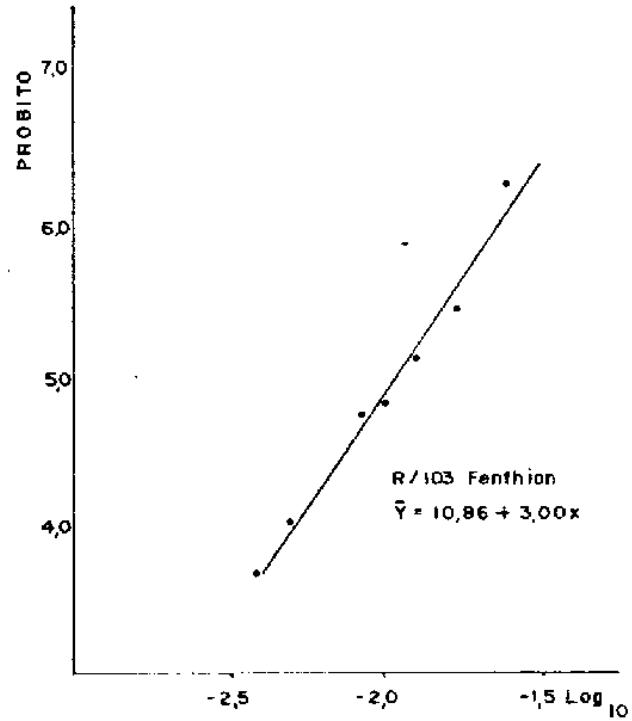


FIG. 26

V. DISCUSSÃO

A confirmação da existência de resistência em uma população de carapatos baseia-se em testes, onde medem-se respostas a determinadas dosagens de carrapaticidas, usando-se estádios não parasitários dos carapatos (WHARTON & ROULSTON, 1970).

Os métodos empregados na avaliação de resistência, incluem: imersão, injeção e exposição em papéis impregnados.

Os estádios de carapatos mais comumente empregados nos testes são fêmeas ingurgitadas e larvas não alimentadas (WHARTON, 1976). Em testes de rotina, o uso de larvas não alimentadas é preferível por serem estas mais passíveis de homogeneização em amostras, além da facilidade de sua obtenção em número suficiente para amostragem (WHARTON & ROULSTON, 1970). Dois métodos são extensivamente empregados tendo como base o uso de larvas não alimentadas:

- "SANDWICH LARVAE TEST", no qual as larvas são imersas em diluições da fórmulação comercial do produto em água, por 10 minutos (SHAW, 1966).
- "PACKET LARVAE TEST", no qual as larvas são colocadas em envelopes de papel de filtro impregnados com solução oleosa do princípio ativo do carra-

paticida (STONE & HAYDOCK, 1962).

Este último método é recomendado pela FAO (1971), para detectar resistência a acaricidas.

Segundo WHARTON & ROULSTON (1970), existe concordância entre os métodos acima citados, sendo que os valores de FR obtidos em testes de imersão, são maiores que aqueles obtidos por exposição em envelopes impregnados.

O método por nós empregado é o de GRILLO & GUTIERREZ (1969), que segundo PATARROYO (1978) é praticamente uma variante do método de SHAW (1966); ainda de acordo com GONZALES (1974), é o método que mais se adapta às nossas condições de pesquisa, devido principalmente à dificuldade de obtenção de produtos químicos puros, base dos carrapaticidas comerciais.

Os valores de FR para o Chlorpyriphos, de uma maneira geral, foram altos, exceto para a mostra P/101 (8,94) (Tabelas 1 e 4). Comparando os resultados obtidos com os valores de FR para as diferentes cepas até o momento caracterizadas na Austrália (ROULSTON et alii, 1977), notamos que as amostras I/101 e N/102 apresentam valores de FR comparáveis à cepa GRACEMERE; e possivelmente quando purificadas como amostras puras seu comportamento frente a organofosforados seja idêntico à cepa Australiana.

SHAW et alii (1968), encontraram para uma amostra denominada L, um FR de 5,0 para o Chlorpyriphos, diferindo dos FR por nós encontrados, mas cuja diferença poderia ser explicada por tratar-se de amostras com características comportamentais bem sejam bioquímicas ou genéticas diferentes frente aos organofosforados.

Na Argentina, GRILLO & GUTIERREZ (1970), trabalhando com Chlorpyriphos, encontraram para a sua amostra um FR de 2,6, diferindo portanto dos nossos resultados. Além da probabilidade de tratar-se de amostras de comportamentos diferentes, é provável que parte da diferença seja devida ao emprego de modelos matemáticos diferentes para o cálculo das CL₅₀.

STONE et alii (1976), estudando a genética da resistência aos organofosforados, encontraram um FR de 8,3 para o Chlorpyriphos, na F₁ re-

sultante do cruzamento de duas cepas (Mx B). Este dado pode ser comparável ao obtido por nós com a amostra P/101 (8,94), uma vez que segundo WHARTON & ROULSTON (1970), os valores de FR obtidos por imersão de larvas são ligeiramente superiores aos obtidos por exposição em papéis impregnados.

Dos três carrapaticidas por nós empregados, somente o *Chlorpyriphos* foi também testado por GONZALES & SILVA (1972), em *B. microplus* no Rio Grande do Sul. Usando a mesma metodologia por nós empregada, com a exceção do cálculo da CL_{50} , estes autores encontraram um FR de 5,07. Os valores por nós encontrados para o mesmo carrapaticida, são superiores, indicando provavelmente uma maior resistência em nossas amostras, visto que o cálculo da CL_{50} é mais exato pelo método do probito.

PATARROYO & COSTA (1980), trabalhando no Sul de Minas Gerais e usando igual metodologia à nossa, encontraram valores de FR para o *Chlorpyriphos* que variaram de 1,42 a 132,90. Os valores por nós encontrados não são comparáveis aos dos referidos autores; parece-nos, entretanto, que quanto ao *Chlorpyriphos* a população de carapatos que estudamos apresenta-se mais uniforme em relação aos valores de FR, uma vez que estes variaram entre 8,94 e 46,71. Este fato leva-nos a pensar que a resistência ao *Chlorpyriphos* nas propriedades estudadas poderia ter origem a partir de uma mesma população, dado também à proximidade dos locais de coleta; outra alternativa seria que a pressão do carrapaticida nestas propriedades tenha sido de intensidade semelhante.

Quanto ao comportamento das amostras frente aos carrapaticidas, podemos notar nas Tabelas 2 e 4, que os diversos valores de FR para o *Dicrotofos* são baixos, sem que excedam de 8,5. Estes dados concordam parcialmente com os obtidos por PATARROYO & COSTA (1980), e sugerem que a resistência dos carapatos testados a este produto também seja baixa. Além do referido trabalho, não foi possível encontrar nenhuma outra referência sobre valores de FR para *Dicrotofos* em *Boophilus microplus*.

Quando examinamos as Tabelas 3 e 4 observamos que para o Fen-

thion, o menor valor de FR por nós encontrado foi de 8,41 (Amostra R/101) e o maior, de 30,59 (Amostra I/101). Comparando estes valores com os obtidos por STONE et alii (1976), notamos que o nosso valor inferior é maior do que os valores inferiores por eles obtidos com as amostras R (5,9) e M (2,12); entretanto, nosso FR de 30,59 é muito menor do que o FR por eles obtido com a cepa R (290); este valor é também menor que os FR de F_1 resultantes dos cruzamentos Rx B e Bx M. Tais diferenças poderiam ser explicadas pelo fato destes autores terem trabalhado com amostras purificadas, enquanto nós trabalhamos com amostras heterogêneas. Além disso a F_1 dos cruzamentos citados são apreciavelmente mais resistentes ao Fenthion que a geração paterna, fato que acentua tais diferenças.

Carapatos pertencentes a cepas de características Ridgelands foram testados com Fenthion, por ROULSTON (1967), que encontrou um FR de 2,5; este dado difere dos nossos, provavelmente pelo fato de tratar-se de amostras com características diferentes. O mesmo ocorre com os valores de FR obtidos por PATARROYO & COSTA (1980), que são inferiores aos valores de FR de nossas amostras.

O anteriormente exposto poderia ser explicado adotando-se o conceito de STONE (1972), de que a resistência em uma população depende da frequência inicial do gen na população, da intensidade de seleção, do grau de dominância e da adaptação do genótipo; estas diferenças sugerem que tenha havido maior intensidade de seleção com o Fenthion em nossas amostras, pois nestas os valores de FR são significativamente maiores.

Na observação das linhas de regressão probítica e suas equações de regressão para os três compostos organofosforados por nós empregados Figuras (3 a 26), vemos que as populações F_1 de carapatos obtidos em laboratório e usados no presente trabalho são em sua grande maioria heterogêneos, sendo que possivelmente o comportamento mais homogêneo foi frente ao Chlorpyriphos. Concordando com WHARTON (1976), não seria possível uma caracterização exata da amostra para ser considerada como cepa. Esta afirmação en-

tretanto não invalida nossos resultados, uma vez que as larvas F_1 provenientes de teleóginas coletadas no campo são usadas para a determinação dos FR, para posteriormente serem purificadas e caracterizadas (GRILLO & GUTIERREZ, 1969; GONZALES & SILVA, 1972; NUNES et alii, 1972; PATARROYO & COSTA, 1980).

Observando-se ainda as mesmas figuras vemos que o aumento da CL_{50} indica a presença de resistência. Geralmente este fato é acompanhado de uma diminuição no valor da pendente na equação; este achado concorda com o exposto por SHAW & MALCOM (1964).

De idêntica maneira vemos que os resultados por nós obtidos sugerem que não só o valor da pendente deve ser levado em conta, mas também a interseção da reta parece ter um valor importante nas manifestações matemáticas da resistência.

O tipo de resistência a Organofosforados até o momento caracterizada para o Brasil, é do tipo Ridgelands (SHAW, 1966; WHARTON, 1976). PATARROYO & COSTA (1980), mencionam a possibilidade de existência no Sul de Minas Gerais, de outros tipos de resistência, como Super Ridgelands e Monte Alford.

Comparando os nossos resultados com a tabela de classificação de ROULSTON et alii (1977), notamos que o único carrapaticida por nós empregado que consta na lista de classificação é Chlorpyriphos. Desta forma, não há evidência clara para dar possibilidade de caracterização como cepa, quando estas amostras viesssem a ser purificadas. Entretanto, podemos notar que para o Chlorpyriphos as amostras 1/101 (FR = 46,71) e N/102 (FR=44,85) apresentam valores de FR comparáveis ao valor de FR apresentando para a cepa GRACEMERE (FR= 44,0).

Apesar de não ser fácil a interpretação e quantificação da resistência (WHARTON, 1976), STONE et alii (1976), consideram a seguinte escala para a interpretação da resistência.

- FR até 5X: baixa;

- FR até 25X: moderada;

- FR até 125X: alta;
- FR até 625X: muito alta;
- FR maior que 625X: extremamente alta.

Considerando esta escala, temos que os valores de FR para o Dicrotofos são moderados para as amostras: I/101 (8,20), N/101 (6,71), N/102 (6,23), R/103 (6,10) e I/102 (6,03); baixos para as amostras: R/101 (4,78), R/102 (4,24) e P/101 (3,71)

Para o Chlorpyriphos encontramos valores altos para as amostras: I/101 (46,71), N/102 (44,85) R/103 (38,39, R/101 (30,70), N/101 (28,54) e I/102 (26,43); valores moderados para as amostras: R/102 (11,44) e P/101 (8,94).

Da mesma forma temos para o Fenthion, valores de FR altos para as amostras: I/101 (30,59) e R/103 (28,35); valores moderados para as amostras: R/102 (24,19), I/102 (23,19), N/102 (17,96), P/101 (15,46), N/101 (14,79) e R/101 (8,41).

Sob o mesmo aspecto de interpretação de resistência, GRILLO et alii (1972), observam que um FR obtido em larvas de carapato, pode corresponder a uma resistência proporcional ou maior nas teleóginas e possivelmente em outros estádios evolutivos do parasita.

WHARTON, em comunicação pessoal a PATARROYO (1978), diz que quando os carapatos apresentam valores de FR a organofosforados menores que 3, não existem grandes dificuldades para o controle, entretanto, valores de FR maiores que 10, indicam que o carapaticida não faria um controle efetivo destas populações.

Baseados na informação anterior, a interpretação prática dos resultados obtidos neste trabalho seria feita da seguinte maneira: no controle da amostra I/101, o Dicrotofos poderia ser empregado com alguma reserva, enquanto o Fenthion e o Chlorpyriphos provavelmente seriam ineficazes, o mesmo ocorrendo com as amostras I/102, R/103, N/101 e N/102.

Para o controle da amostra P/101, poderia ser usado o Dicroto-

fos, o Chlorpyriphos com alguma reserva e o Fenthion poderia apresentar problemas, necessitando talvez de uma manejo diferente do comum.

O Chlorpyriphos seria ineficaz contra a amostra R/101, sendo mais eficiente o Dicrotofos ou o Fenthion, com alguma modificação no manejo.

A amostra R/102 poderia ser controlada pelo Dicrotofos, sendo que o Fenthion seria ineficiente e o Chlorpyriphos poderia oferecer problemas.

VI. CONCLUSÕES

Da maneira como foi planejada e executado este trabalho e com base nos resultados, podem fazer-se as seguintes conclusões:

1. Feito o estudo sistemático das diferentes amostras, a única espécie de *Boophilus* por nós encontrada foi *B. microplus*;

2. Todas as amostras por nós testadas frente aos carrapaticidas organofosforados empregados no trabalho, apresentaram fatores de resistência em grau variável;

3. Dos compostos usados o que apresentou menores níveis de resistência nas populações de *B. microplus* foi o Dicrotofos;

4. As F_1 por nós estudadas apresentaram graus variáveis de heterogenicidade;

5. Os dados obtidos das diferentes populações indicam a possibilidade de existência de resistência a organofosforados de características distintas de "Ridgelands", dentro da área estudada.

VII. RESUMO

Fêmeas adultas de *B. microplus*, colhidas em oito fazendas pertencentes a quatro diferentes municípios da denominada Baixada Fluminense, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, foram empregadas para obtenção em laboratório de larvas F_1 , as quais foram usadas para medir os Fatores de Resistência (FR) frente a três carrapaticidas organofosforados.

A metodologia empregada foi a de imersão de larvas em diluições das soluções comerciais dos carrapaticidas e calculando-se a CL_{50} pela análise de Probito.

A totalidade das amostras apresentaram FR, em variados níveis frente aos compostos empregados. Os mais baixos valores de resistência encontrados foram frente ao Dicrotofos.

Apresentaram evidência que sugerem a existência de amostras com característica de resistência diferentes das já comprovadas e

sugeridas para o Brasil que são a "Ridgelands", "Monte Alford" e "Super Ridgelands". O tipo de resistência pode ser de característica "Gracemere".

VIII. SUMMARY

Engorged females of *Boophilus microplus* were collected on eight farms in four different municipalities of the State of Rio de Janeiro, in order to establish F_1 laboratory cultures, used to measure the resistance factors (RF) to organophosphorus acaricides.

The method used was the "larval immersion test" in commercial dilutions of acaricides, the LC_{50} being calculated by probit analysis.

All the different samples apresented RF to varying degrees with regard to the compounds used, the lowest values for resistance being noted to Dicrotophos.

Evidence was noted suggesting the existance of samples with resistance characteristics different to those already known or suggested in Brazil, namely "Ridgelands" and "Monte Alford" e "Super Ridgelands". This type of resistance could perhaps be of the "Gracemere" type.

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, N.K.; MONMANY, L.F.S. & CARVALHO, L.A.F., 1974. Acaricide AC84633: first trials for control of *Boophilus microplus*. *J. Econ. Entomol.* 67(3):387-389.
- ARAGÃO, H. & FONSECA, F., 1961. Notas de Ixodologia. VII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica Brasileira. *Mem. Inst. O. Cruz* 59(2):115-129.
- BELTRAN, I.G., 1975. Campana Nacional contra la garrapata. Proc. of the seminar about ectoparasites Cali, Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- BENNETT, G.F., 1974. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae): I. Influence of tick size on egg production. *Acarologia* 16(1):52-61.
- CROW, J.F., 1957. Genetics of insect resistance to chemicals. *Ann. Rev. Ent.* 2:227-246.

FINNEY, D.J., 1964. Statistical method in biological assay. 2th, London, Charles Griffin. 668 p.

FINNEY, D.J., 1971. Probit analysis. 3th. Cambridge, University Press. 333 p.

FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION, 1971. Recomendad methods for the detection and measurement of resistance of agriculture pests to pesticides: tentative method for larvae of cattle tick, *Boophilus spp.* FAO Plant Protection Bull. 19(1):15-18.

FREIRE, J.J., 1953. Arsênio e cloro, resistência e emprego do tiofosfato na dietilparamitiofelina (parathion) na luta anti-carrapato *Boophilus microplus*. Bol. Dir. Prod. Anim. RS. 9(17):3-31.

FREIRE, J.J., 1956. Carrapato resistente as balneações carrapaticidas no Rio Grande do Sul. Bol. Dir. Prod. Anim. RS. 13(25):62-80.

FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 1981. Sinópse preliminar do censo demográfico. 1(17):51 p.

GONZALES, J.C., 1974. O Carrapato do boi. São Paulo, Mestre Jou. 104p.

GONZALES, J.C. & SILVA, N.R., 1972. Fósforo-resistência do *B. microplus*, no Rio Grande do Sul, Brasil. IIº Congresso Estadual da Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul.

GONZALES, J.C.; MORAN, C. & SILVA, N.R., 1973. Ação de misturas de carrapaticidas sobre carrapatos resistentes. Arq. Fac. Vet. UFRGS. I(I): 11-17.

GRILLO, J.M., 1976. El problema de la resistencia a los acaricidas en

los programas de control de la garrapata. Bol. Ofic. Sanit. Panam. 21(3): 246-250.

GRILLO, J.M. & GUTIERREZ, R.O., 1969. Método para medir la actividad de los acaricidas sobre larvas de garrapata. Evaluación de sensibilidad. Rev. Inv. Agrop. Serie 4 Patol. Anim. 6(14):135-158.

GRILLO, J.M. & GUTIERREZ, R.O., 1970. Fósforo resistencia de una cepa Argentina de garrapata *Boophilus microplus*. Su medición. Rev. Med. Vet. 51(2):113-125.

GRILLO, J.M.; GUTIERREZ, R.O. & PEREZ, A.A., 1972. El factor de resistencia en larvas de la garrapata *Boophilus microplus* (Can.) a los compuestos organofosforados: su significación en la eficacia de los garrapaticidas. Rev. Inv. Agrop. Serie 4 Patol. Anim. 9(1):25-35.

LEE, R.M. & BATHAM, P., 1966. The activity and organophosphate inhibition of cholinesterase from susceptible and resistant ticks (Acari). Ent. Exp. & Appl. 9:13-24.

NEWTON, L.G., 1967. Acaricide resistance and cattle tick control. Aust. Vet. J. 43(9):389-394.

NUNEZ, J.L.; PUGLIESE, M.E. & SHAW, R.D., 1972. *Boophilus microplus* Can. Pruebas de susceptibilidad "in vitro" con veinte cepas Argentinas. Rev. Med. Vet. 53(1):37-45.

PATARROYO, J.H., 1978. Susceptibilidad "in vitro" de amostras de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) do Sul de Minas Gerais, Brasil, a alguns carrapaticidas organofosforados. Belo Horizonte, Brasil; Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

PATARROYO, J.H. & COSTA, J.O., 1980. Susceptibility of Brasilian Samples of *Boophilus microplus* to organophosphorus acaricides. *Trop. Anim. Health Prod.* 12(1):6-10.

ROULSTON, W.J., 1967. Acaricide resistance in the cattle tick *B. microplus*, in Australia. In: Proc. 2nd. Int. Congress of Acarology: 515-521.

ROULSTON, W.J.; SCHUNTNER, C.A.; SCHNITZERLING, H.J.; WILSON, J.T. & WHARTON, H.R., 1977. Characterization of three strains of organophosphorus resistant ticks *Boophilus microplus*. *Aust. J. Agric. Res.* 28(2):345-354.

ROULSTON, W.J.; WHARTON, R.H.; NOLAN, J.; KERR, J.D.; WILSON, J.T.; THOMPSON, P.G. & SCHOTZ, MARTINA, 1981. A survey for resistance in cattle ticks to acaricides. *Aust. Vet. J.* 57(8):362-371.

SHAW, R.D., 1966. Culture of an organophosphorus resistant strain of *B. microplus* (Can.) and an assesment of its resistance spectrum. *Bull-Entomol. Res.* 56(3):389-404.

SHAW, R.D. & MALCOM, H.A., 1964. Resistance of *Boophilus microplus* to organophosphorus insecticides. *Vet. Rec.* 76:210-211.

SHAW, R.D.; COOCK, M. & CARSON, R.E., 1968. Developments in the resistance status of the sourthern cattle tick to organophosphorus and carbamate insecticides. *J. Econ. Entomol.* 61:1590-1594.

STENDEL, W., 1980. The relevance of different test methods for the evaluation of tick controlling substances. *J. South African Vet. Assoc.* 51(3):147-152.

STONE, B.F., 1968. Inheritance to resistance to organophosphorus acaricides in the cattle tick *B. microplus*. *Aust. J. Biol. Sci.* 21:309-319.

STONE, B.F., 1972. The genetics of resistance by ticks to acaricides. *Aust. Vet. J.* 48:345-350.

STONE, B.F. & HAYDOCK, K.P., 1962. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). *Bull. Entomol. Res.* 53:563-578.

STONE, B.F.; WILSON, J.T. & YOULTON, N.J., 1976. Linkage and dominance characteristics of genes for resistance to organophosphorus acaricides and allelic inheritance of inheritance of decreased brain cholinesterase activity in three strains of cattle tick *Boophilus microplus*. *Aust. J. Biol. Sci.* 29:251-263.

SUTHERST, R.W. & COMINS, H.N., 1979. The management of acaricide resistance in the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae), in Australia. *Bull. Ent. Res.* 69:519-540.

VIDOR, T., 1975. Documento sobre programação de pesquisa em carapato, preparado para o Diretor-EMBRAPA. Brasília, 16 p.

WELLCOME RESEARCH ORGANIZATION, 1976. Cattle Tick Control. Clembury Cattrell Press, Berkhansted, 2th Ed. 65 p.

WHARTON, R.H., 1974. The current status and prospects for the control of ixodid ticks with special emphasis on *Boophilus microplus*. *Bull. Off. Int. Epizoot.* 81(1-2):65-85.

WHARTON, R.H., 1976. Tick-borne livestock diseases and their vectors:
5. Acaricide resistance and alternative methods of tick control.
Wld. Anim. Rev. 20:8-15.

WHARTON, R.H. & ROULSTON, W.J., 1970. Resistance of ticks to Chemicals.
Ann. Rev. Entomol. 15:381-404.

WILSON, R.G., 1978. Biochemical mechanisms causing tick resistance. J.
South African Vet. Ass. 49(1):49-51.

X. APENDICE

MODELO DO CÁLCULO DA CL₅₀ E DOS LIMITES DE CONFIANÇA

(Amostra R/103 - Fenthion)

DOSE % v/v	LOG 2 X	ni	mi	Pi $\frac{ni}{ni} \times 100$	yi	Yi Prob. Esp.
0,025	-1,6020	1331	1179	88,6	6,21	6,07
0,0166	-1,7798	999	665	66,6	5,43	5,53
0,0125	-1,9030	985	523	53,1	5,08	5,16
0,01	-2,0	853	355	41,6	4,79	4,86
0,00833	-2,0793	1160	445	38,44,71	4,71	4,62
0,00625	-2,2041	895	203	22,7	4,25	4,24
0,005	-2,3010	1248	198	15,9	4,00	3,95

Bi Coef. Pond.	Wi Peso Est.	y'i Prob. ajust.	WiXi	Wiy'i	WiXi y'i	WiXi ²
0,43863	583,81	6,18	-	-	-	-
0,58099	580,40	5,42	-	-	-	-
0,63431	624,79	5,07	-	-	-	-
0,62741	535,18	4,78	-	-	-	-
0,60052	696,60	4,70	-	-	-	-
0,50260	449,82	4,25	-	-	-	-
0,40474	505,11	4,00	-	-	-	-
	= 3975,71		= -7829,71	19709,55	-38240,41	15611,33

Continuação:

W_iy'_i²

= 99464,67

$$y'i = (Y - P/Z) + Pi (1/Z)$$

$$2,5230 + 0,886 \cdot 4,1327$$

$$3,5360 + 0,666 \cdot 2,8404$$

$$3,7401 + 0,531 \cdot 2,5992$$

$$3,7241 + 0,416 \cdot 2,5573$$

$$3,6643 + 0,384 \cdot 2,7154$$

$$3,4687 + 0,227 \cdot 3,4519$$

$$3,2773 + 0,159 \cdot 4,5903$$

$$S(XX)_W = 191,61$$

$$b = \frac{S(XY)_W}{S(XX)_W}$$

$$b = 3,0025$$

$$S(XY)_W = 575,31$$

$$XX \quad \bar{y}'i_W = \frac{\sum Wi y'i}{\sum Wi} = \bar{y}'i_W = 4,957$$

$$\bar{x}_W = \frac{\sum Wi x_i}{\sum Wi} \quad \bar{x}_W = -1,969$$

$$y = \bar{y}'i_W + b(x_1 - \bar{x}_W)$$

$$5 = 4,957 + 3,0025(x_1 - (-1,969))$$

$$5 - 4,957 - 5,91 = 3,0025x_1$$

$$x_1 = \frac{-5,867}{3,0025} \quad x_1 = -1,954038 \quad \text{Antilog} = 0,011116 \text{ CL}_{50}$$

$$FR = \frac{0,011116}{0,000392} \quad FR = 28,35$$

$$a = \bar{y}'i_W - b(\bar{x}_W)$$

$$a = 4,957 - 3,0025(-1,969)$$

$$a = 4,957 + 5,911$$

$$a = 10,86$$

$$Y = a + bx$$

$$Y = 10,86 + 3,00x$$

$$S(YY)_W = \sum Wi y'i^2 - \frac{(\sum Wi y'i)^2}{\sum Wi} \quad S(YY)_W = 1754,74$$

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Fonte de variação	SQ	GL	
	$\frac{S(YY)_W^2}{S(XX)_W}$	1	x^2
Regressão			

Desv. linearidade $S(YY)_W = \frac{S(YY)_W^2}{S(XX)_W}$ $7-2 = 5$ $\chi^2 (n-2)$

Total $S(YY) = \frac{\bar{x}^2}{n-1g1}$

Regressão $= \frac{(575,31)^2}{191,61} = 1727,37$

Desv. linearidade $= 1754,74 - 1727,37 = 27,37$

$h = \frac{\bar{x}^2}{n-2} = \frac{27,27}{5} = 5,474$

$g = \frac{\chi^2 \text{ crítico}}{\chi^2 \text{ regressão}} \cdot h = \frac{3,841}{1727,37} \cdot 5,474 = 0,012172$

$m = \frac{5 - y!i_W}{b} = \frac{5 - 4,957}{3,0025} = 0,01432$

$x_{1/ZS} = \frac{\bar{x}_W + m \pm z/b \sqrt{1 - g / \frac{w_i + m^2 / S(XX)_W}{1 - g}}}{1 - g}$

$x_{1/ZI} = \frac{-1,969 + 0,01432 \pm 0,65278 \sqrt{0,00024846 + 0,0000010702}}{0,987828}$

$= -1,969 + \frac{0,01432 \pm 0,65278 \cdot 0,0157965}{0,987828}$

$x_{1/ZS} = -1,969 + \frac{0,01432 + 0,0103116}{0,987828}$

$x_{1/ZS} = -1,969 + 0,024935 = -1,944065 \text{ antilog} = 0,0113745 \text{ (Sup.)}$

$x_{1/ZI} = -1,969 + \frac{0,01432 - 0,0103116}{0,987828}$

$x_{1/ZI} = -1,969 + 0,00405779 = -1,964942 \text{ antilog} = 0,0108407 \text{ (inf.)}$