

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CARACTERIZAÇÃO E EFICIÊNCIA DE UM NOVO PIRETRÓIDE
SINTÉTICO (FMC 65318) NO CONTROLE DO
Boophilus microplus (Canestrini, 1887)

ELVIO MACHADO DA ROCHA

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR:

LAERTE GRISI

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências em Medicina Veterinária, Área de concentração em Parasitologia Veterinária.

Itaguaí, Rio de Janeiro

Agosto, 1984

TÍTULO DA TESE

CARACTERIZAÇÃO E EFICIÊNCIA DE UM NOVO PIRETRÓIDE
SINTÉTICO (FMC 65318) NO CONTROLE DO
Boophilus microplus (Canestrini, 1887)

AUTOR

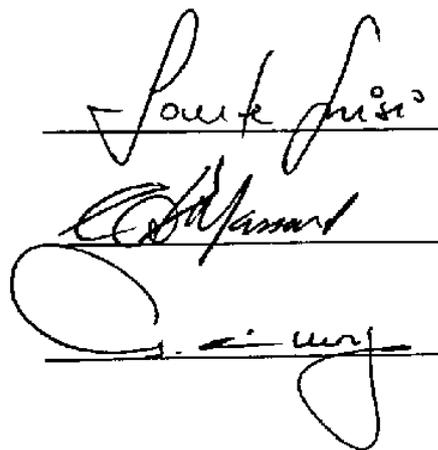
ELVIO MACHADO DA ROCHA

APROVADO POR:

LAERTE GRISI

CARLOS LUIZ MASSARD

GONZALO EFRAIN MOYA BORJA



The image shows three handwritten signatures, each written on a horizontal line. The top signature is 'Laerte Grisi', the middle one is 'Carlos Luiz Massard', and the bottom one is 'Gonzalo Efrain Moya Borja'. The signatures are written in black ink and are somewhat stylized.

AGRADECIMENTOS

À EMGOPA, UFRRJ, CNPq, EMBRAPA, CAPES, PESAGRO-RJ. e na expressão maior da minha gratidão, suplico a Deus, nosso Pai, que abençoe a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

À minha mãe, Ruth, pelo exemplo
de amor e dedicação.

À minha esposa, Myrian Nydes
e aos meus filhos, Suyene, Caio
e Marília, fontes de amor que
iluminam meu caminho.

BIOGRAFIA

ELVIO MACHADO DA ROCHA, filho de José Antônio da Rocha e Ruth Mendonça Machado da Rocha, é natural de Nova Friburgo, Estado do Rio de Janeiro, onde nasceu em 23/04/48.

Realizou o Curso Primário na Escola Pública nº5, iniciou o Curso Ginásial no Colégio Cêfel, indo concluí-lo no Colégio Anchieta, no ano de 1967, no município de Nova Friburgo, RJ.

Em 1968, ingressou no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, diplomando-se a 19 de dezembro de 1971, tendo sido bolsista na disciplina de Zoologia Médica e Parasitologia, quando publicou trabalho referente a Protozoologia.

Foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) na categoria de Iniciação Científica e Aperfeiçoamento, quando desenvolveu trabalhos com Tricomomose Bovina no Laboratório de Patologia da Reprodução do Antigo Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuária do Centro Sul (IPEACS).

No ano de 1973, passou a ser veterinário de campo da Agropecuária Lagoa da Serra, no Estado de Goiás, trabalhando na área de Reprodução Animal e Inseminação Artificial. Em 1978, trabalhou como veterinário de campo da Semem do Brasil (SEMBRA). Em 1979, foi funcionário da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal (EMATER-DF). De 1980 até a presente data, vem exercendo a função de Pesquisador da Empresa Goiana de Pesquisa Agropecuária (EMGOPA), lotado na Estação Experimental Olavo Sérvulo de Lima, no município de Jataí, Goiás.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Controle químico e problemas de resistência do <i>B. microplus</i>	3
2.1.1. Arsenicais	3
2.1.2. Organoclorados	4
2.1.3. Organofosforados	5
2.1.4. Amidinas	6
2.1.5. Piretróides	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1. Fase pré-experimental dos ensaios "in vitro" e "in vivo"	11
3.2. Fase experimental	12
3.2.1. Avaliação "in vitro" da eficiência do FMC 65318	13
3.2.1.a. Avaliação em fêmeas ingurgitadas de <i>B. microplus</i>	13
3.2.1.b. Avaliação em larvas não alimenta-	

	Pág.
das de <i>B. microplus</i>	15
3.2.2. Avaliação "in vivo" da eficiência do FMC 65318	16
3.2.2.a. Prova de estábulo	16
3.2.2.b. Provas a nível de campo	18
3.2.2.b. I. Ensaio n° 1	20
3.2.2.b. II. Ensaio n° 2	21
3.2.2.b. III. Ensaio n° 3	21
3.2.2.b. IV. Ensaio n° 4	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1. Avaliação em fêmeas ingurgitadas de <i>B. micro-</i> <i>plus</i>	23
4.2. Avaliação em larvas não alimentadas de <i>B. mi-</i> <i>croplus</i>	24
4.3. Prova de estábulo	24
4.4. Provas de campo	26
4.4.1. Ensaio n° 1	26
4.4.2. Ensaio n° 2	28
4.4.3. Ensaio n° 3	29
4.4.4. Ensaio n° 4	30
5. CONCLUSÃO	49
6. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA	50

ÍNDICE DAS TABELAS

	Pag,
Tabela 1 - Atividade "in vitro" do FMC 65318 em fêmeas ingurgitadas de <i>B. microplus</i>	33
Tabela 2 - Atividade "in vitro" do FMC 65318 em larvas não alimentadas de <i>B. microplus</i>	35
Tabela 3 - Prova de estábulo - Número de fêmeas ingurgitadas de <i>B. microplus</i> desprendidas antes e após os tratamentos com FMC 65318	37
Tabela 4 - Prova de estábulo - Percentagem de fêmeas de <i>B. microplus</i> que sobreviveram ao tratamento com FMC 65318	38
Tabela 5 - Ensaio de campo n° 1 - Total de fêmeas de <i>B. microplus</i> \geq 3,0mm antes e após pulverização com os piretróides FMC 65318 e Decametrina	39

Tabela 6 - Ensaio de campo n° 1 - Eficiência diária e acumulada dos piretróides FMC 65318 e Decametrina no controle de <i>B. microplus</i>	40
Tabela 7 - Ensaio de campo n° 2 - Total de fêmeas de <i>B. microplus</i> >= 3,0mm antes e após pulverização com os piretróides FMC 65318 e Decametrina	41
Tabela 8 - Ensaio de campo n° 2 - Eficiência diária e acumulada dos piretróides FMC 65318 e Decametrina no controle de <i>B. microplus</i>	42
Tabela 9 - Ensaio de campo n° 3 - Total de fêmeas de <i>B. microplus</i> >= 3,0mm antes e após pulverização com os piretróides FMC 65318 e Decametrina	43
Tabela 10- Ensaio de campo n° 3 - Eficiência diária e acumulada dos piretróides FMC 65318 e Decametrina no controle de <i>B. microplus</i>	44
Tabela 11- Ensaio de campo n° 4 - Total de fêmeas de <i>B. microplus</i> >= 3,0mm antes e após pulverização com os piretróides FMC 65318 e Decametrina	45
Tabela 12- Ensaio de campo n° 4 - Eficiência diária e acumulada dos piretróides FMC 65318 e Decametrina no controle de <i>B. microplus</i>	46

Tabela 13- Período de proteção de várias concentrações dos piretróides FMC 69318 e Decametrina, em bovinos pulverizados manualmente 47

Tabela 14- Comparação entre a eficácia obtida com o uso do FMC 65318 com a de outros piretróides, no controle de *B. microplus* 48

ÍNDICE DAS FIGURAS

	Pág.
Figura 1 - Distribuição geográfica de <i>B. microplus</i> , segundo WHARTON (1974)	32
Figura 2 - Linha de regressão-próbito da eficiência do FMC 65318 em testes de imersão com fêmeas ingurgitadas de <i>B. microplus</i>	34
Figura 3 - Linha de regressão-próbito da eficiência do FMC 65318 em testes de imersão com larvas não alimentadas de <i>B. microplus</i>	36

RESUMO

FMC 65318, um novo piretróide sintético, foi avaliado "in vitro" e "in vivo" em *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887), no Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Nos estudos "in vitro", realizados sobre fêmeas ingurgitadas, obteve-se uma CI_{50} de 2,6 ppm, demonstrando uma elevada atividade de inibição de postura, bem como de esterilização dos ovos. Larvas não alimentadas mostraram uma alta sensibilidade ao piretróide, tendo sido verificada uma CL_{50} de 0,052 ppm.

Na prova de estábulo (ensaio crítico), obteve-se um bom resultado com 40 ppm, havendo uma redução brusca na percentagem de fêmeas sobreviventes ao tratamento desde o 2º dia após o banho, atingindo uma redução de 100% a partir do 3º dia.

Foram realizados 4 ensaios de campo, com bovinos mestiços, infestados naturalmente por *B. microplus* e pulverizados manualmente com 5 litros de calda do piretróide, em varias concentrações.

Verificou-se que em ensaios controlados de campo é im-

portante o uso de concentrado emulsificável (CE) especialmente desenvolvido para cada concentração, mantendo-se constante a diluição, e variando somente a quantidade do princípio ativo no concentrado emulsificável.

Evidenciou-se a eficiência do FMC 65318 a 50 ppm, atingindo uma eficácia acumulada do 4° a 24° dia de 99,5%, com um período de proteção que variou de 7 a 11 dias.

Ficou ainda caracterizado que o FMC 65318 apresenta uma ótima atividade sobre todas formas evolutivas do *B. microplus*, em comparação aos piretróides mais potentes da atualidade como Decametrina, Flumetrina e Cialotrina.

O FMC 65318 possui um excelente potencial para uso no controle de *B. microplus*, sendo necessário, todavia, estenderem-se as observações em provas de campo, envolvendo maior número de animais e em diferentes regiões fisiográficas do Brasil.

SUMMARY

A novel synthetic pyrethroid FMC 65318 was tested "in vitro" and "in vivo" on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in Rio de Janeiro State, Brazil. In "in vitro" studies using engorged females a IC_{50} of 2,6 ppm was obtained demonstrating a high activity for the inhibition of egg-laying, as well as sterilization of the eggs. Unfed larvae showed a high sensibility to the pyrethroid, since a LC_{50} of 0,052 ppm was observed.

In stable experiments (critical trials) a good result was obtained with 40 ppm with a rapid decrease on the percentage of females surviving treatment from the second day post-treatment, reaching a reduction of 100% from the third day.

Four field tests were performed with mixed cattle, naturally infected with *B. microplus* and manually sprayed with 5 litres of pyrethroid liquid in various concentrations.

It was seen that, in controlled studies in the field, it is important to use an emulsifiable concentrate (EC) especially developed for each concentration, with a constant dilution, varying only the quantity of the active ingredient in

the emulsifiable concentrate.

The efficacy of FMC 65318 at 50 ppm reached accumulative value of 99,5% from the 4th to the 24th day; the protective period varied from 7 to 11 days.

It was also determined that FMC 65318 shows excellent activity against all the stages of *B. microplus* when compared with pyrethroids presently considered as the most powerful: Decamethrin, Flumethrin and Cyalothrin.

The pyrethroid FMC 65318 possesses an excellent potential for use in the control of *B. microplus* although it is necessary to extend the observations made in field trials to include a larger number of animals and indifferent regions of Brazil.

INTRODUÇÃO

Existem várias espécies de carrapatos, parasitas de bovinos nas diversas regiões geográficas do mundo. A espécie de maior significado e frequência no Brasil é o *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887), a qual é passível de infestar outras espécies domésticas e silvestres. Os cervídeos foram provavelmente hospedeiros primitivos desta espécie, que se adaptou posteriormente aos ruminantes domésticos (ARAGÃO, 1936).

A origem do *B. microplus*, está relacionada ao continente Asiático, encontrando-se hoje amplamente difundida nas áreas de pastagens localizadas entre os paralelos 32° N e 32° S, correspondendo a extensas áreas da América Central, América do Sul, parte da América do Norte, Ilhas do Caribe e Antilhas, regiões Sul e Ocidental da África, região Norte da Austrália, Índia, China, Coréia, Bornéu, Sumatra, Filipinas, Japão, Nova Guiné, Ilha de Guam e Madagascar. (Figura 1).

Já no final do século passado os estudiosos voltavam sua atenção para os danos reais causados aos bovinos por esta espécie de carrapato e, graças aos trabalhos conduzidos por SMITH & KILBORNE (1893), ficava comprovada, ainda, a importân-

cia do *B. microplus* como veiculador de parasitas sangüíneos do gênero *Babesia Starcovici*, 1893. Outros estudos realizados elucidaram seu efeito espoliativo, bem como seu efeito mecânico sobre a pele dos hospedeiros, abrindo portas para penetração de vários tipos de microorganismos, como também a instalação de miíases primárias e secundárias. Todos esses fatores determinam reflexos altamente negativos no desenvolvimento ponderal, na produção de carne e leite, na indústria de couro e na saúde animal.

Atualmente, o combate a este parasita é feito de forma eficaz, utilizando-se produtos químicos muito embora tenham sido pesquisados outros métodos de controle, como o biológico, e o desenvolvimento de raças mais resistentes, através do cruzamento de raças mais sensíveis com o gado zebu.

O controle sistemático do *B. microplus* em bovinos, *Bos taurus* e seus mestiços, é fundamental, na maioria dos países de clima tropical, para o estabelecimento de criações economicamente rentáveis. Este emprego sistemático de drogas no controle ao carrapato, aliado à capacidade de desenvolvimento, por parte do parasita, de mecanismos genéticos de resistência aos ixodicidas, tem gerado uma crescente demanda de pesquisa de novos compostos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de um novo piretróide sintético, frente a amostras de *B. microplus*, em suas diferentes fases evolutivas. Na oportunidade procurou-se caracterizar o efeito carrapaticida, em aplicações sistemáticas através de pulverizações manuais, visando estabelecer as concentrações mais eficazes e econômicas a serem adotadas no controle desta importante ectoparasitose do gado bovino.

REVISÃO DA LITERATURA

Em muitas áreas do mundo, pode-se considerar virtualmente impossível criar animais de forma econômica sem adoção de métodos para controlar os carrapatos. Assim, o uso de substâncias químicas tem se tornado um dos meios de controle essencial para a criação de animais domésticos (DRUMMOND et alii, 1974). No entanto, o uso contínuo de acaricidas tem acarretado problemas sérios de desenvolvimento de resistência dos carrapatos a esses compostos.

2.1. Controle químico e problemas de resistência do *B. microplus*.

2.1.1. Arsenicais

No ano de 1895, na Austrália, iniciou-se a luta química contra os carrapatos, mais especificamente contra o *B. microplus*, que é, segundo SHAW (1966), uma das espécies da mais ampla distribuição geográfica. O medicamento utilizado naquela época pertencia ao grupo dos Arsenicais, tendo sua eficácia verificada por cerca de 40 anos, quando, então, no ano

de 1937, na Austrália, observaram-se os primeiros casos de resistência a este medicamento (NOLAN, 1979), embora HITCHCOCK & MACKERRAS (1947) a tenham citado como surgida em 1942.

No Brasil, os primeiros casos de resistência aos carapaticidas arsenicais surgiram nos anos de 1950 e 1952, no Estado do Rio Grande do Sul (FREIRE, 1953). Já NOLAN & ROULSTON (1979) citam que o aparecimento de cepas resistentes na Austrália e Argentina se deu por volta de 1936; no Brasil, Colômbia e Jamaica, em 1948, ficando assim demonstrada uma certa variação em torno da data mais precisa de seu aparecimento.

2.1.2. Organoclorados

Antes mesmo de serem equacionados os problemas de resistência aos Arsenicais, surgiu um novo grupo químico de carapaticida: os Organoclorados, que tanto quanto os Arsenicais, mantinham a mesma limitação - deixar resíduos tóxicos nos produtos de origem animal. Inicialmente lançou-se, no ano de 1944, o DDT e já em 1955 ficava demonstrada em algumas áreas a sua ineficácia no controle do *B. microplus* (STONE, 1957). Posteriormente, surgiram o BHC (benzeno hexaclorado), o Toxafeno e outros que, após poucos anos de uso, levaram ao aparecimento de cepas resistentes (WHARTON & NORRIS, 1980). Segundo HITCHCOCK (1953), a resistência do BHC surgiu em 1952, e, de acordo com NORRIS & STONE (1956), a resistência ao Toxafeno iniciou-se em 1954.

Em importantes trabalhos de experimentação em fazendas do Rio Grande do Sul, FREIRE (1953) verificou que os carapaticidas à base de BHC não apresentavam a eficiência espe-

rada, controlando apenas 30 a 40% das infestações de *B. microplus* nos animais.

A resistência aos Organoclorados surgiu simultaneamente na Austrália, Argentina e Brasil, no ano de 1953, de acordo com o trabalho de NOLAN & ROULSTON (1979).

2.1.3. Organofosforados e Carbamatos

O homem, na luta constante pelo controle deste ectoparasito, descobre, mais uma vez, outros compostos químicos que vieram substituir satisfatoriamente os Arsenicais e os Organoclorados, que já demonstravam a sua ineficácia. Esses compostos denominaram-se Organofosforados e Carbamatos, e segundo WHARTON (1976), começaram a ser utilizados no ano de 1955. Esses compostos atuam inibindo uma enzima vital do sistema nervoso dos carrapatos, a acetilcolinesterase (ROULSTON & NOLAN, 1974).

No grupo dos Organofosforados, o primeiro composto a ser utilizado foi o Diazinon e, após esse, vários outros. Em 1963, observou-se, pela primeira vez, na Austrália, uma cepa de carrapato resistente a esses compostos, denominada Ridgeland (SHAW & MALCOLM, 1964). À cepa Ridgeland seguiram-se outras 7 cepas resistentes a Organofosforados:

1966 - Biarra, ROULSTON & WHARTON (1967)

1969 - Mackay, ROULSTON et alii (1969)

1970 - Gracemere e Mt. Alford, O'SULLIVAN & GREEN
(1971)

1972 - Bajool e Tully, ROULSTON et alii (1977)

1973 - Inghan, ROULSTON et alii (1977)

Essas cepas descritas na Austrália apresentam características toxicológicas e bioquímicas próprias (ROULSTON & NOLAN, 1975).

No Brasil, a resistência do *B. microplus* a Organofosforados foi primeiramente assinalada no Estado do Rio Grande do Sul e, posteriormente, em outras regiões (GONZALES & SILVA, 1972; AMARAL et alii, 1974; WHARTON & ROULSTON, 1975), caracterizadas como do tipo "Ridgелands" e "Minas Gerais", conforme a afirmação de WHARTON (1976).

GOULART (1982) em teste com larvas de *B. microplus* da Baixada Fluminense indica a possibilidade de existência de resistência a Organofosforados nessa região.

2.1.4. Amidinas

O grupo químico surgido no ano de 1970, denominado Amidina, teve como primeiro representante o Clordimeform. Em 1973, apareceu o Cloromethiuron e, em 1975, o Amitraz. Mesmo em relação às cepas resistentes a Organofosforados, a resistência a esses compostos era de baixo nível, porém em 1980 surgiu na Austrália uma séria resistência ao Amitraz, Cimiazole e Cloromethiuron. O modo de ação desse grupo químico é pouco conhecido (NOLAN, 1981). Hoje se conhece a cepa Ulam que é resistente às Amidinas (HOPKINS & WOODLEY, 1982).

No Brasil, o Amitraz continua sendo bastante utilizado, não tendo ainda sido reportado casos de resistência a nível de campo.

A maioria desses carrapaticidas, embora eficazes, quando utilizados em larga escala, podem apresentar alguns inconvenientes.

nientes, como elevado risco de toxidez e resíduos, tanto para os animais como para o homem, além de difícil degradação no meio ambiente e, ainda, a indução ao aparecimento de cepas resistentes. Tais fatores influenciaram decisivamente na busca de novos compostos isentos de tais obstáculos.

2.1.5. Piretróides

Por volta de 1949, SCHECHTER et alii, tomaram como ponto de partida piretrinas naturais, extraídas do crisântemo *Crisanthemum cinerariaefolium*, já utilizadas por POTTER (1935) que desenvolveu a Aletrina, um dos primeiros compostos sintético, denominados genericamente de piretróides. Em seguida surgiram a Resmetrina, a bio-Resmetrina e a bio-Aletrina (ELLIOTT et alii, 1967). Esses compostos, assim como as piretrinas naturais, embora altamente eficientes contra insetos apresentam baixa toxidez para os animais e para o homem, são facilmente degradáveis no meio ambiente, apresentando, no entanto, o inconveniente de serem fotoinstáveis. A evidência espectroscópica dava indicação que o anel furano no ester 5-benzil-3-furilmetil álcool era o provável sítio fotossensível para a decomposição oxidativa. Partindo desse princípio, ELLIOTT et alii, (1973) obtiveram a Permetrina considerado o primeiro piretróide sintético fotoestável.

Por substituição do átomo de cloro da bio-Resmetrina pelo bromo e introdução do grupo ciano, ELLIOTT et alii (1974) obtiveram um outro composto fotoestável, de alta atividade biológica, denominado Deltametrina ou Decametrina.

Além da Permetrina e da Deltametrina foram descober-

tos outros piretróides sintéticos, denominados Cipermetrina, Flumetrina, Cialotrina e Fenvalerato. Todos esses compostos sintéticos apresentaram grande potencial para emprego no controle do *B. microplus* e outras espécies de carrapato.

Em importantes trabalhos de campo, NOLAN et alii (1979), utilizando bovinos infestados naturalmente com carrapatos da cepa Biarra, resistente a Organofosforados, demonstraram uma eficiência de 99% quando empregaram a Permetrina a 330 ppm (parte por milhão), a Decametrina a 70 ppm e a Cipermetrina a 250 ppm.

Os resultados encontrados no trabalho de STUBBS et alii (1982) mostraram uma eficiência de 99% em relação às cepas Biarra, Mackay e Mt. Alford, utilizando a Cialotrina a 70 ppm e alcançando um período de proteção de sete dias contra reinfestações.

Em estudos experimentais, STENDEL & FUCHS (1982) demonstraram a eficácia da Flumetrina, sobre cepas sensíveis e resistentes a Organofosforados de *B. microplus*.

Em ensaios com animais infestados artificialmente com cepas de carrapatos sensíveis e resistentes a Organofosforados, banhados por imersão, HOPKINS & WOODLEY, (1982) observaram que a Flumetrina, em concentrações a partir de 30 ppm, foi muito eficiente.

Em ensaios de campo no Brasil, HAMEL et alii (1982) mostraram a eficiência da Flumetrina a 30 ppm, no controle a *B. microplus*, em bovinos infestados naturalmente.

Em teste de laboratório, MASSARD et alii (1982) demonstraram a alta eficiência da Decametrina no controle do

B. microplus, apresentando um bom efeito de inibição sobre te-
leóginas e efeito larvicida a nível de 5 ppm, tendo ainda, em
ensaios de campo, demonstrado uma eficiência a partir de 16
ppm.

O modo de ação desses produtos não é bem conhecido.
Quando utilizados sobre artrópodes, sabe-se que, por suas ca-
racterísticas lipofílicas, penetram rapidamente pela cutícula
dos insetos (rico em lipídeos) e atingem o sistema nervoso
central (ELLIOTT et alii, 1978). Segundo ainda EL-BEIT (1983),
causam ao inseto excitação, convulsão, desprendimento, para-
lisia e morte num pequeno espaço de tempo. O efeito sobre o
desprendimento (knockdown) também é conhecido como morte apa-
rente: até esta fase o artrópode ainda pode se recuperar.

Quanto à resistência em *B. microplus*, NOLAN et alii
(1977) e NOLAN (1981) verificaram a possibilidade da manifesta-
ção de resistência cruzada de piretróide com cepas resistentes
ao DDT. Este aspecto pode ser de grande significância em paí-
ses ou regiões onde o DDT foi empregado por longos períodos de
tempo no controle do *B. microplus*.

No Brasil, seu emprego foi muito limitado, não tendo
sido, até o momento, demonstrada esta possibilidade de resis-
tência cruzada em cepas de campo, o que poderia comprometer
a utilização destes compostos.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os testes experimentais, "in vitro" e estábulo, foram realizados nos laboratórios de parasitologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Os experimentos de campo foram conduzidos em áreas de pastagem do Setor "Bovinos de Leite" da Estação Experimental de Itaguaí - PESAGRO - RJ. Ambas estão localizadas na microrregião homogênea da Baixada Fluminense, no município de Itaguaí, entre os paralelos 22°49' e 22°45' de latitude Sul e os meridianos 43°38' e 43°42' de longitude Oeste de Greenwich e com uma altitude de 33 metros.

Uma colônia de carrapatos *B. microplus* foi estabelecida em laboratório, mantendo-se os ovos e larvas em incubadora para B. O. D. a 25°C, com umidade relativa acima de 80%. Para manutenção da colônia e obtenção de fêmeas adultas ingurgitadas (Teleóginas) para os testes, infestavam-se bezerros, 3 vezes por semana, com 2.500 larvas com mais de 15 dias de idade. Os bovinos eram mantidos em estábulo com baias especiais tendo piso de cimento liso, sobre o qual era colocado um estrado para proteção das teleóginas que, ao desprenderem-se do

animal, acumulavam-se sobre o piso, sendo recolhidas através de lavagem do piso com água a baixa pressão. Esta colônia de *B. microplus*, utilizada nos experimentos, foi originada de bovinos pertencentes ao plantel de bovinos de leite das fazendas experimentais do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e da PESAGRO-RJ, não tendo sido previamente testados para avaliação de possível grau de resistência a nenhum acaricida.

Durante os experimentos, os bovinos usados na alimentação dos carrapatos não foram submetidos a nenhum tipo de droga carrapaticida, sendo alimentados com capim-elefante *Penisetum purpureum*, ração balanceada para bezerros e água.

3.1. Fase pré-experimental dos ensaios "in vitro" e "in vivo"

Nesta fase, procedeu-se ao preparo das soluções-estoque de acordo com GRAHAM & DRUMMOND (1964) e NEAL (1974), tomando como base o peso do princípio ativo por volume de diluentes, com as diluições seriadas subseqüentes, preparadas momentos antes da realização dos testes e diluídas na relação volume por volume.

As soluções-estoque foram colocadas em frascos volumétricos de 200ml, de cor âmbar, com tampa rosqueada e mantidas em refrigerador a cerca de 8°C. Essas soluções eram retiradas do refrigerador e mantidas por uma hora em temperatura ambiente do laboratório antes de serem usadas nas diluições, segundo McILVEEN, citado por BECK (1982).

A solução-estoque ou concentrado emulsificável (CE) 25%, utilizada no teste em teleóginas, prova de estábulo, e no

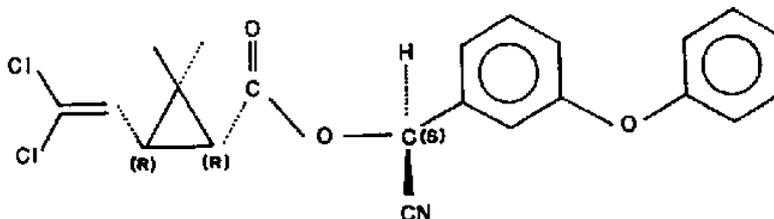
primeiro teste de campo, foi assim formulada:

25 partes do ingrediente ativo (FMC 65318)
 65 partes do Xilol P.A. Hoechst do Brasil (solvente)
 10 partes de Triton X 100 for scintillation - Riedel
 de Haëneg (emulsificante)

Concentrados emulsificáveis a 4%, 5% e 7%, utilizados nos demais testes, foram formulados, empregando-se solventes e emulsificantes mais comumente empregados na formulação de CE comerciais, tais como Solvesso 150, Fenilsulfonato de Cálcio, Emulsogen CED e Emulsogen RX.

Característica do Piretróide estudado.

Codificação:	FMC 65318
Nome químico	(S) alfa-ciano-3-fenoxibenzil-(1R,3r)-3(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato.
Grau de pureza	92,6% ingrediente ativo
Fórmula estrutural:	



Cuidados especiais foram mantidos durante a utilização do material laboratorial, sendo lavado após o uso com acetona comercial e colocado em imersão, por 72 horas em solução detergente neutra (TEEPOL/SHELL), para posterior lavagem em água corrente e secagem em autoclave a 120°C, por uma hora.

3.2. Fase experimental

3.2.1. Avaliação "in vitro" da eficiência do FMC 65318

3.2.1.a. Avaliação em fêmeas ingurgitadas (teleóginas) de *B. microplus*.

Esses trabalhos foram baseados nos trabalhos de DRUMMOND et alii (1971a) e (1971b) e OBA et alii (1976).

As fêmeas ingurgitadas, desprendidas naturalmente de bezerros experimentalmente infestados, eram coletadas pela manhã, por volta das 9 horas. O piso dos estábulos era lavado com água, a baixa pressão, e o material coletado em uma peneira, ao sair pelo escoadouro situado na parte mais baixa da baía.

No laboratório, as teleóginas eram separadas, lavadas em água corrente e imediatamente secadas em papel de filtro, escolhendo-se as maiores e mais ágeis. Em seguida eram pesadas em balança analítica (marca Sartorius 1213P.), em grupos de 10, dentro de placas de Petri (100mmø x 20mm alt.). Posteriormente, os grupos de teleóginas eram transferidos para um Becker de capacidade de 250ml, contendo 50ml do acaricida na concentração a ser testada, mantendo-se o líquido em constante agitação, durante 1 (um) minuto. Para cada concentração testada foram efetuadas quatro repetições. Após o banho de imersão retirava-se o excesso do acaricida das teleóginas com auxílio de papel de filtro (ø 15cm).

A seguir, as fêmeas ingurgitadas eram colocadas em placas de Petri e mantidas em incubadora B.O.D. a 25°C, com umidade relativa maior que 80%, por quinze dias. Após o período de oviposição, as massas de ovos eram pesadas, transferidas pa-

ra tubos de ensaio (capacidade 20ml \varnothing 15mm x 15cm alt.) e mantidas na incubadora, sendo as fêmeas, então descartadas. Um mês mais tarde, a percentagem de eclosão dos ovos das teleóginas imersas nas diferentes concentrações do piretróide era estimada por exame em microscópio estereoscópico, tomando como referência a eclodibilidade observada no grupo não-tratado.

Foram utilizados grupos-controle de fêmeas imersas apenas em água, assim como em diluições dos componentes da solução-estoque, excetuando-se o princípio ativo.

A partir da solução-estoque a 25%, foram efetuadas 8 diluições subseqüentes, de modo a obter-se uma inibição de postura que decrescesse de 100% até um mínimo que permitisse calcular a CI_{50} e CI_{90} (concentração de inibição 50% e 90% da postura viável).

A seqüência de uso foi feita sempre a partir da menor para a maior concentração do princípio ativo.

Para evitar qualquer tipo de contaminação processavam-se, em primeiro lugar, os grupos-testemunha, que eram mantidos em estufas separadas.

Finalmente a eficiência reprodutiva (ER) foi calculada com base na seguinte equação:

$$ER = \frac{\text{peso dos ovos (g)}}{\text{peso das fêmeas (g)}} \times \% \text{ eclosão} \times 20.000$$

(A constante 20.000 corresponde ao nº de larvas que teoricamente eclodem de 1g de ovos).

A percentagem de controle foi calculada, levando-se em conta a média das repetições de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ controle} = \frac{\text{ER}(\text{controle}) - \text{ER}(\text{tratado})}{\text{ER}(\text{controle})} \times 100$$

Juntamente com as percentagens, foi efetuada a análise de próbito e os cálculos da CI_{50} e CI_{90} , segundo FINNEY (1964,1971) e LITCHFIELD & WILCOXON (1949).

3.2.1.b. Avaliação em larvas não-alimentadas de *B. microplus*

A metodologia da avaliação do efeito larvicida do FMC 65318 foi baseada em trabalhos de GRILLO TORRADO & GUTIERREZ (1969), modificada por PATARROYO (1978).

Diferentes diluições eram preparadas a partir do CE a 5% em água destilada desclorada. Foram feitas 8 diluições do medicamento de maneira a obter-se uma mortalidade que decrescesse de 100% para próximo de 0%.

Cerca de 100 a 200 larvas com idade de 15 a 20 dias eram colocadas, com auxílio de pincéis, em tubos de hemólise tampados com rolha de borracha. Os tubos eram dispostos invertidos em estantes de arame, de modo que as larvas se acumulassem na parte superior do tubo. Em seguida, colocava-se, dentro do tubo, 4ml da diluição a ser testada e agitava-se por alguns segundos, deixando em imersão por 10 minutos. Para cada diluição foram efetuadas 6 repetições. Em seguida, drenava-se o líquido, sendo as larvas dispostas sobre um tecido de algodão de 1cm^2 , colocado sobre papel de filtro. Esse tecido, contendo as larvas, era depositado em pacotes de papel Buffon de 8,5cm x 5cm, dobrados e presos por clips nº1. Os pacotes eram identificados e armazenados em estufa B.O.D. a 25°C e umidade relativa maior que 80%. Vinte e quatro horas após o banho proce-

dia-se a leitura, sendo a mortalidade expressa em percentual após correção, levando-se em conta a taxa de mortalidade do grupo-controle, conforme ABBOTT (1925). Quando a mortalidade do grupo-controle ultrapassava 5%, todo teste era repetido. Através da análise de próbito, calculava-se a CL_{50} e a CL_{90} (concentração letal que mata 50% e 90% das larvas) (FINNEY, 1964, 1971 e LITCHFIELD & WILCOXON, 1949).

3.2.2. Avaliação "in vivo" da eficiência do FMC 65318

3.2.2.a. Prova de estábulo (Ensaio Crítico)

Esta prova foi realizada tomando como base os trabalhos de LEGG (1956), DRUMMOND et alii (1967, 1968) e ROULSTON et alii (1968).

Foram utilizados 4 bovinos mestiços, machos, inteiros, com idade aproximada de 12 meses, com peso médio de 100kg, em bom estado clínico, não tendo recebido qualquer tratamento carrapaticida há pelo menos 30 dias antes dos testes. Os animais permaneceram estabulados durante toda a prova, recebendo, como alimento, capim-elefante *P. purpureum* ração balanceada para bezerros e água à vontade. Utilizou-se apenas um animal por concentração, sendo mantidos em baias individuais e infestados artificialmente com 2.500 larvas colocadas sobre o animal 3 vezes por semana, durante 25 dias, com o objetivo de serem obtidos todos os estádios de evolução do carrapato. Ao atingir esse ponto, os animais eram pulverizados, utilizando-se um pulverizador costal, marca "Jacto", sendo empregados 5 litros de solução carrapaticida em teste, preparada no momento da aplicação. Foram preparadas emulsões a 30 ppm, 35 ppm e 40 ppm a par-

tir do CE a 25%. Manteve-se como controle um animal não-medicado.

As teleóginas desprendidas dos animais foram coletadas e contadas diariamente, nos três dias anteriores ao tratamento e durante 22 dias após o banho. Teleóginas desprendidas nas 12 horas subseqüentes ao tratamento foram colocadas em placas de Petri e mantidas em incubadora a 25°C e 80% de umidade relativa, para avaliação de oviposição e determinação da viabilidade dos ovos.

O resultado foi expresso com a percentagem de carrapatos que sobreviveram ao tratamento (%CST), calculado da seguinte maneira:

$$\% \text{ CST} = \frac{ad}{bc} \times 100$$

- a - média do número de carrapatos do grupo-controle, recolhidos nos últimos três dias precedentes ao tratamento.
- b - média do número de carrapatos no grupo-controle, recolhidos num dia determinado depois do tratamento.
- c - média do número de carrapatos recolhidos nos três últimos dias precedentes ao tratamento num dos grupos tratados.
- d - média do número de carrapatos recolhidos em um dos grupos tratados, num dia determinado, depois do tratamento.

Durante o período das infestações, os animais foram

presos em canzil o máximo de tempo possível, para evitar que se lambessem (SNOWBALL, 1956), bem como imobilizou-se-lhes a cauda, prendendo-a a um dos membros posteriores.

3.2.2.b. Provas a nível de campo. (Ensaios controlados).

Esses ensaios foram baseados nos trabalhos de WHARTON et alii (1970), ROULSTON et alii (1968) e no Manual sobre Fases do Desenvolvimento de um Ixodícida, preparado pelos Serviços Técnicos da Cooper-Brasil.

Os testes foram realizados em bovinos mestiços, com aproximadamente 18 meses de idade e peso vivo variável entre 170kg a 200kg. Os animais foram mantidos em regime de pasto, com suplementação de sal mineral, ocorrendo naturalmente a infestação por *B. microplus*.

O dia pré-tratamento, também chamado dia menos um, correspondeu ao dia anterior à aplicação do carrapaticida, em que se calculou o grau de infestação pela presença de larvas, ninfas e adultos em cada animal. Para tal, considerou-se o seguinte critério:

- + infestação leve
- ++ infestação moderada
- +++ infestação alta
- ++++ infestação muito alta

Simultaneamente a essas observações, efetuavam-se contagens do número total de carrapatos fêmeas adultas, igual ou maior do que 3,0mm, por animal, registrando-se esses valores em tabelas próprias. Com base nesses dados, selecionavam-se os

grupos de animais, procurando manter sempre a homogeneidade das infestações entre os grupos. Em todos os ensaios, foi mantido um grupo-controle não-medicado e um grupo denominado controle-positivo, medicado com Decametrina (BUTOX P*) ((s)-alfa - ciano - 3 - fenoxibenzil cis - (IR,3) - 2, 2 - dimetil - 3 - (2,2 - dibromovinil) ciclopropanocarboxilato) na concentração de 25 ppm, como é preconizado pelo fabricante. Os grupos em teste foram então medicados com este novo piretróide sintético (FMC 65318), em diversas concentrações e com diferentes formulações.

No dia do tratamento, também chamado dia zero, os bovinos, excetuando-se os controles negativos, foram imobilizados e pulverizados com 5 litros de calda de carrapaticida por animal. Para evitar possíveis falhas na operação, todos os animais foram pulverizados pelo mesmo operador, procurando-se molhar totalmente o animal. Utilizou-se bomba manual, mantendo-se uma pressão de aproximadamente 100 libras.

A seqüência de aplicações foi sempre a da concentração mais baixa para a mais elevada. Entre as aplicações, lava-se a bomba com acetona comercial e, depois, com água comum.

Após o tratamento, 24 horas, 48 horas e 72 horas, contavam-se todos os carrapatos-fêmeas maiores de 3,0mm e faziam-se registros individuais por animal e por grupo.

No grupo-controle negativo, além da contagem, as fêmeas foram removidas manualmente.

A partir do terceiro dia, considerado dia-limite da

*BUTOX P^R-Quimio Roussel

atividade inicial do ixodicida, as fêmeas adultas maiores de 3,0mm encontradas em todos os animais foram também removidas, sendo os animais examinados em dias intercalados até o aparecimento, nos animais tratados, de um número de carrapatos similar ao do grupo-controle.

Finalmente, calculou-se a eficiência diária e acumulada das diversas concentrações, usando-se a seguinte fórmula:

$$\text{Eficácia (\%)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de fêmeas grupo controle} - \text{n}^\circ \text{ de fêmeas grupo tratado}}{\text{n}^\circ \text{ de fêmeas grupo controle}} \times 100$$

A eficiência das diferentes concentrações empregadas do FMC 65318 foi comparada em cada ensaio com os dados obtidos com o controle positivo, no caso a Decametrina, para melhor avaliação dos resultados e do potencial deste novo piretróide.

O cálculo do poder residual das várias concentrações utilizadas também foi estimado, tomando por base o período correspondente à duração média do ciclo evolutivo, igual a 21 dias, subtraído do número de dias correspondente ao aparecimento de fêmeas semi-ingurgitadas (3,0mm).

3.2.2.b.I, Ensaio n° 1

Data de início: 27/06/1983

Data de término: 01/08/1983

Foram utilizados 27 bovinos mestiço holandês, divididos em 7 grupos de 4 animais, com exceção do grupo tratado com Decametrina que teve apenas 3 animais. Utilizaram-se, portanto, os seguintes tratamentos: Decametrina 25 ppm e FMC 65318 nas

seguintes concentrações: 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm e 100 ppm. O grupo-controle não recebeu tratamento acaricida.

3.2.2.b.II. Ensaio n° 2

Data de início: 16/08/1983

Data de término: 29/09/1983

Foram utilizados 28 bovinos mestiço holandês, divididos em 7 grupos de 4 animais. Empregaram-se os seguintes tratamentos: Decametrina 25ppm, FMC 65318 nas seguintes concentrações: 25ppm, 40ppm, 50ppm, 70ppm e 80ppm. O grupo-controle não recebeu tratamento acaricida.

3.2.2.b. III. Ensaio n° 3

Data de início : 18/10/1983

Data de término: 14/11/1983

Foram utilizados 27 bovinos mestiço holandês divididos em 9 grupos de 3 animais. Empregaram-se os seguintes tratamentos: Decametrina 25ppm, 6 grupos foram medicados com FMC 65318 a 70ppm, provenientes de 6 formulações distintas, aperfeiçoadas no sentido de melhor poder de emulsificação e possivelmente com maior capacidade de penetração e molhagem. O outro grupo também foi medicado com FMC 65318, porém na concentração de 100 ppm.

3.2.2.b. IV. Ensaio n° 4

Data de início: 08/02/1984

Data de término: 08/03/1984

Foram utilizados 24 animais mestiço holandês, divididos em 4 grupos de 6 animais. Empregaram-se os seguintes tratamentos: 40 ppm, 50 ppm com formulações aperfeiçoadas para cada concentração, adequadas de forma a manter constantes os emulsificantes em presença do princípio ativo nas concentrações. Outro grupo, medicado com Decametrina a 25 ppm e um grupo não-tratado foram avaliados de forma semelhante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação em fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*

Os estudos realizados "in vitro", com fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*, mostraram que o produto FMC 65318 possui uma elevada atividade de inibição de oviposição, bem como de esterilização dos ovos (Tabela 1).

Neste ensaio, a concentração de inibição CI_{50} encontrada foi de 2,6 ppm e a CI_{90} ao nível de 7,0 ppm (figura 2). STENDELL & FUCHS (1982) demonstraram ser a Flumetrina, eficiente mesmo sobre cepas resistentes ao DDT, apresentando uma CI_{50} de 1,5 ppm. Na cepa Porto Alegre, sensível a organofosforados, estes autores encontraram uma CI_{50} de 0,02 ppm.

MASSARD et alii (1982) avaliaram o efeito da Decametrina sobre teleóginas de *B. microplus*, demonstrando sua elevada eficiência na inibição de postura e viabilidade dos ovos.

Os trabalhos existentes na literatura sobre a eficiência de diversos piretróides no controle de *B. microplus* restringem-se a provas de campo ou de estábulo. Publicações relacionadas à avaliação "in vitro" em teleóginas de *B. microplus* são muito

limitadas; em verdade apenas os trabalhos de STENDELL & FUCHS (1982) e MASSARD et alii (1982), fazem menção ao fato.

4.2. Avaliação em larvas não alimentadas de *B. microplus*

Testes de avaliação de atividades de compostos acaricidas em larvas são mais comumente empregados no sentido de detectar a existência de resistência a nível de campo. A inclusão de ensaios com este novo piretróide teve por finalidade verificar o grau de sensibilidade das larvas de *B. microplus* das colônias estabelecidas, provenientes de animais da área da UFRRJ e da Estação Experimental de Itaguaí.

As larvas de *B. microplus* mostraram uma sensibilidade muito mais elevada do que as teleóginas, tendo sido verificada uma CL_{50} de 0,052 ppm e uma CL_{90} de 0,185 ppm (Tabela 2 e Figura 3). A CL_{95} , estabelecida por STENDELL & FUCHS (1982) para a Flumetrina em várias cepas de *B. microplus* variou entre 0,05 ppm a 1,2 ppm, e a CL_{50} , entre 0,01 ppm a 0,18 ppm. Portanto, o novo composto em estudo (FMC 65318) mostrou uma atividade mais baixa do que a Flumetrina nos ensaios "in vitro". Em avaliações de caráter experimental MASSARD et alii (1982) verificaram também que a Decametrina possui elevada eficiência em larvas não-alimentadas de *B. microplus* em até 5 ppm.

4.3. Prova de estábulo

Segundo DRUMMOND et alii (1973), a efetividade de um acaricida, para o controle do *B. microplus*, no campo guarda uma certa relação com a atividade do mesmo medicamento no laborató-

rio.

Para ensaios "in vivo", recomendam-se concentrações mais elevadas do que as concentrações mínimas efetivas determinadas em teleóginas no laboratório. A prova de estábulo foi delineada com o propósito de poder obter dados iniciais para posterior utilização em ensaios de campo.

Utilizou-se apenas um animal por grupo e obteve-se uma redução acima de 90% no número de fêmeas a partir do 3° dia do tratamento nas concentrações de 35 ppm e 40 ppm, sendo que, para 30 ppm, o resultado não pode ser considerado satisfatório, como mostra a Tabela 3 e 4, onde podemos observar variadas taxas de sobrevivência de carrapatos *B. microplus*, durante todo o período da prova. A partir do primeiro dia, após a aplicação do medicamento houve uma redução brusca na percentagem de fêmeas sobreviventes ao tratamento, principalmente nas concentrações de 35 ppm e 40 ppm. Após o 3° dia foi atingida uma redução de 100% na concentração de 40 ppm e, na concentração de 35 ppm, a partir do 7° dia do tratamento.

Demonstrou-se também, no teste de estábulo, uma inibição total da postura nas fêmeas desprendidas dos animais nas 12 horas após a aplicação do medicamento, para as 3 concentrações utilizadas.

A atividade do FMC 65318, manifestou-se sobre todas as fases evolutivas do *B. microplus* (larvas, metalarvas, ninfas, metaninfas e adultos). Nenhum sinal clínico adverso foi observado nos animais tratados.

Assim como os demais piretróides, este composto não apresentou um desprendimento muito marcante como acontece, de

um modo geral, com as Amidinas.

Estes dados são semelhantes aos observados por MASSARD et alii (1982) em relação ao efeito da Decametrina.

4.4. Provas de campo

Tendo como base as indicações iniciais obtidas da prova de estábulo, foram a seguir realizados 4 ensaios de campo, utilizando-se várias concentrações, bem como diferentes formulações.

4.4.1. Ensaio n° 1

Foram avaliadas neste teste as seguintes concentrações do FMC 65318: 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm e 100 ppm, aplicados com o auxílio de uma bomba de pulverização manual, utilizando-se 5 litros de calda por animal.

Na concentração de 10 ppm e 15 ppm, o piretróide mostrou uma eficiência de 82,8% e 89,3% respectivamente, do 4° ao 24° dia após o tratamento. Ao nível de 20 ppm e 25 ppm, foi obtido um controle razoável com índice de 96,3% e 96,5%, respectivamente, sendo a concentração de 100 ppm aquela que apresentou a maior eficiência, ou seja, 99,8% e uma eficácia diária acima de 99,0% até o 24° dia, atingindo todas as fases evolutivas do *B. microplus*.

Os resultados obtidos no tratamento com o FMC 65318 ao nível de 100 ppm foi similar ao verificado para a Decametrina, empregada ao nível de 25 ppm (99,6%). Portanto, as demais concentrações empregadas do novo piretróide foram consideradas

não-satisfatórias.

Somente a partir do 29º dia após a pulverização, é que foram encontradas fêmeas semi-ingurgitadas em número apreciável (Tabela 5), evidenciando um poder residual, com um período de proteção de aproximadamente 8 dias, como pode ser, observado na Tabela 13.

O baixo poder de desprendimento (knockdown) dificulta, muitas vezes o trabalho de contagem dos carrapatos nos 3 primeiros dias após o tratamento, muito embora a atividade apresentada neste período tenha sido constatada mesmo na concentração mais baixa de 10 ppm, com uma percentagem de controle de 42,0%, 68,8% e 84,9% após o 1º, 2º e 3º dias do tratamento, respectivamente (Tabela 6). Estes dados se assemelham às observações de MASSARD et alii (1982) em relação à Decametrina. Estes autores observaram que raramente sobreviveram larvas, metaninfas e teleóginas à ação inicial da Decametrina a 25 ppm.

Os dados sobre as contagens de fêmeas de *B. microplus* com tamanho maior ou igual a 3,0mm, nos diferentes dias em que foram efetuadas as observações, são apresentados na Tabela 5, podendo ainda serem observados esses dados convertidos em percentagens de eficiência diária e acumulada na Tabela 6.

Nesse ensaio, empregou-se um concentrado emulsificável a 25%, tendo-se como emulsificante o Triton X 100 (65%) e como solvente Xilol a 10% sendo essa uma formulação "standard" para estudos "in vitro". Mesmo não sendo empregada uma formulação mais apropriada para uso no campo, foi obtida uma eficiência acumulada acima de 99% na concentração de 100 ppm. Estes resultados iniciais demonstraram que este novo piretróide

de (FMC 65318) exibiu uma atividade para uso no controle de *B. microplus*, provavelmente acima da de outros piretróides como a Permetrina, Cipermetrina e Fenvalerato.

4.4.2. Ensaio nº 2

Neste ensaio foram avaliadas concentrações intermediárias às empregadas no primeiro ensaio, ou seja, 25 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 70 ppm e 80 ppm.

Os resultados da eficiência acumulada no controle do *B. microplus* situaram-se dentro de uma faixa percentual entre 89,4% a 99,2%, mantendo um período de proteção de 11 dias (ação residual), como mostra a Tabela 13. Um bom efeito inicial pode ser observado em todas as concentrações nas pulverizações, como mostra a Tabela 8.

A concentração de 70 ppm apresentou eficácia acumulada de 99,2%, atuando sobre todos os estádios evolutivos do *B. microplus*, sendo comparável à Decametrina (25 ppm) que, no mesmo ensaio, teve uma eficácia de 99,1%.

Na Tabela 7, são apresentados os dados individuais a respeito do número de fêmeas de *B. microplus* presentes durante o experimento e, na Tabela 8, as eficácias diárias e acumuladas nas diferentes concentrações utilizadas.

Nesse ensaio, ficou caracterizado que a concentração de 70 ppm foi eficiente acima de 99% quando se utilizou um CE 7%, caindo o nível de eficiência tanto da concentração de 50 ppm como também a de 80 ppm quando se utilizava o mesmo CE a 7%. A importância da formulação do concentrado emulsificável está, portanto, relacionada também com a diluição a ser empregada. A realização de testes comparativos de diferentes concen-

trações de calda de um carrapaticida, partindo-se de apenas um único concentrado emulsificável, pode levar a conclusões enganosas. Para cada concentração a ser testada, seria importante ter um CE especialmente formulado, ou seja, manter-se a diluição como uma constante (1:1000) e variar somente a quantidade do princípio ativo no concentrado emulsificável.

4.4.3. Ensaio n° 3

Após verificar-se que a concentração de 70 ppm apresentava resultados satisfatórios para o controle do *B. microplus*, procurou-se avaliar a influência da formulação na eficiência do composto.

Foram utilizadas 6 formulações a 70 ppm, sendo que 5 dessas formulações mantiveram uma eficácia acumulada acima de 99,0%, estando, assim, o FMC 65318 na mesma faixa de eficiência de quando se empregou 100 ppm e a Decametrina a 25 ppm. O poder residual foi de 7 dias, como mostra a Tabela 13.

Na Tabela 9, são apresentadas as contagens das fêmeas adultas e, na Tabela 10, a eficiência diária e acumulada do 4° ao 24° dias após o tratamento e o efeito inicial nas primeiras 72 horas pós-tratamento.

A partir deste ensaio, quando passaram a ser utilizadas formulações especialmente desenvolvidas para cada concentração a ser testada e com maior capacidade emulsificante, observou-se que, desses 6 tratamentos a nível de 70 ppm, 5 mantiveram a eficiência acima de 99,0%. Portanto, a importância da formulação na eficiência do carrapaticida a nível de campo ficou bem evidenciada.

4.4.4. Ensaio n° 4

Neste ensaio, utilizou-se uma formulação do FMC 65318 a 4% para 40 ppm e uma a 5% para 50 ppm, ou seja, 1 ml do concentrado emulsificável para cada 1000 ml de água. As formulações apresentaram uma percentagem de controle de 98,6% e 99,5%, respectivamente, resultados estes similares ao da Decametrina a 25 ppm, também neste ensaio, que foi de 99,2% (Tabela 12).

É importante salientar que a melhora da eficiência se verificou em função da mudança da formulação.

O período de proteção contra reinfestações foi de 8 dias, como mostra a Tabela 13.

Na Tabela 11, são apresentados os dados das contagens de fêmeas adultas de *B. microplus*, nos diferentes dias do experimento, e, na Tabela 12, a eficiência diária e acumulada dos tratamentos.

Nesse último ensaio, com formulações próprias para cada tratamento, ou seja, CE 4% para 40 ppm e CE 5% para 50 ppm, obteve-se um controle de 98,6% e 99,5% respectivamente. Fica assim caracterizado que o FMC 65318 apresenta uma atividade próxima dos piretróides mais eficientes da atualidade, que são a Decametrina, Cialotrina e Flumetrina, de acordo com os trabalhos de NOLAN et alii (1977 e 1979); STUBBS et alii (1982); HOPKINS & WOODLEY (1982); STENDEL & FUCHS (1982) e HAMEL et alii (1982) e com as concentrações preconizadas pelos fabricantes para uso no Brasil (Tabela 14).

Com relação aos períodos de proteção contra reinfestações nas diferentes concentrações utilizadas, podemos conclu-

ir que estão situados também dentro das faixas observadas com a Decametrina (Tabela 13) e com as observações de STUBBS et alii (1982) para a Cialotrina que variou de 7 a 9 dias.

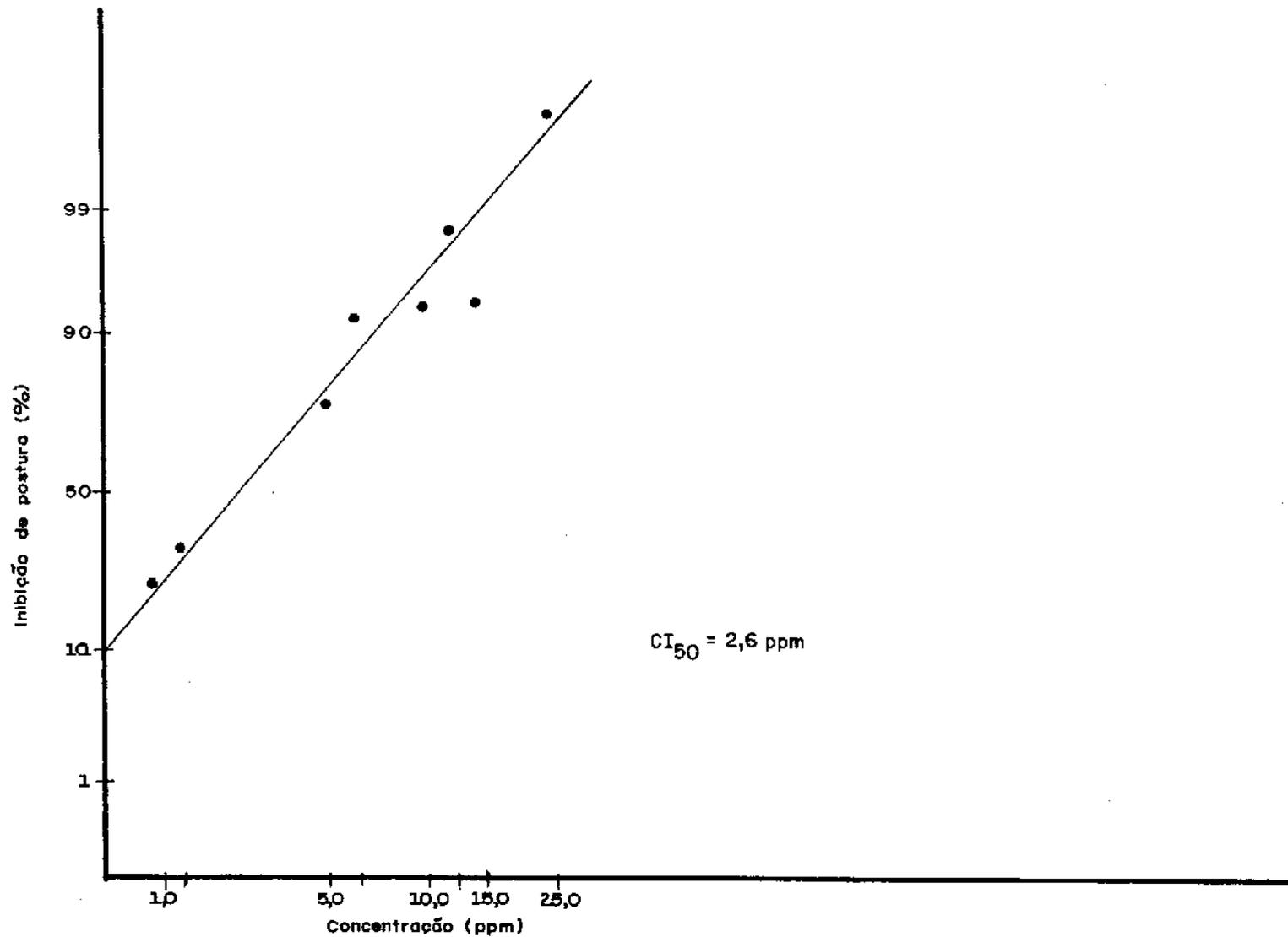
Verifica-se, portanto, que o piretróide estudado, o FMC 65318, apresenta um excelente potencial para uso no controle de *B. microplus*, necessitando-se, todavia, estenderem-se as observações em provas de campo, envolvendo maior número de animais e em diferentes regiões fisiográficas do Brasil.



Figuro 1 - Distribuição geográfica do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887), segundo WHARTON (1974).

Tabela 1 - Atividade "in vitro" do FMC 65318 em fêmeas ingurgitadas do *Boophilus microplus*.

Concentração (ppm)	Eficácia (%)	Inibição post (%)	% Eclosão (%)
1,0	24,0	0	87
1,5	33,9	0	90
5,0	78,6	67	71
6,25	93,0	83	34
10,0	94,1	93	58
12,5	98,5	88	22
15,0	94,6	75	45
25,0	100,0	98	0



Figuro2 - Linha de regressão-próbito da eficiência do FMC 65318 em testes de imersão com fêmeas Ingurgitadas de *Boophilus microplus*.

Tabela 2 - Atividade "in vitro" do FMC 65318 em larvas não alimentadas de *Boophilus microplus*.

Concentração (ppm)	% de mortalidade (%)
0,004	4,6
0,008	12,5
0,016	20,0
0,031	35,0
0,062	51,5
0,135	78,0
0,250	95,0
0,500	99,2

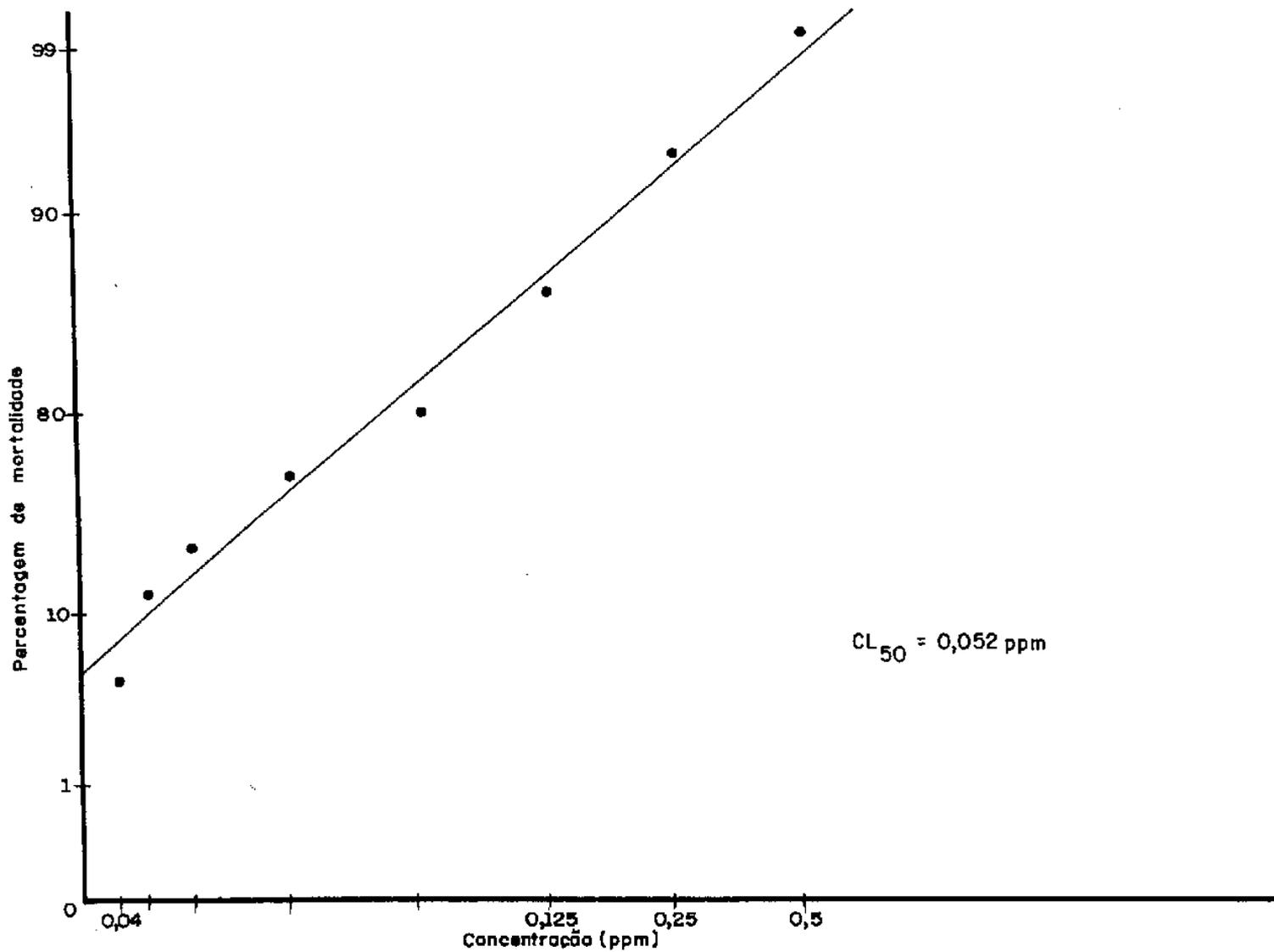


Figura 3- Linha de regressão-próbita da eficiência do FMC 65318 em testes de imersão com larvas não alimentadas de *Boophilus microplus*.

Tabela 3 - Prova de estábulo - Número de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* desprendidas antes e após o tratamento.

Dia	Controle	FMC 65318		
		30 ppm	35 ppm	40 ppm
-3				
-2	128*	144*	138*	139*
-1				
0	Aplicação do tratamento			
2	166	24	20	21
3	171	32	15	11
4	180	46	4	3
5	165	20	6	0
6	150	18	2	0
7	150	18	2	0
8	77	19	0	0
9	94	17	0	0
10	66	8	0	0
14	185	13	0	0
15	22	8	0	0
16	117	2	0	0
17	113	3	2	0
18	112	1	0	0
19	56	1	0	0
20	2	2	0	0
21	2	2	0	0

(*) Média de ♀ produzidas nos 3 dias antes do banho.

Tabela 4 - Prova de estábulo - Percentagem de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* sobreviventes ao tratamento.

Dia	FMC 65318		
	30	Concentrações (ppm) 35	40
0 Aplicação dos tratamentos			
2	12,8	11,2	11,6
3	16,6	8,1	5,9
4	22,7	2,0	1,5
5	10,8	3,4	0
-6	10,6	1,2	0
7	10,6	1,2	0
8	21,9	0	0
9	16,0	0	0
10	10,8	0	0
14	6,2	0	0
15	32,3	0	0
16	1,5	0	0
17	2,3	0	0
18	0,8	0	0
19	1,6	0	0
20	100	0	0
21	88,9	0	0

Tabela 5 - Ensaio de campo nº 1. Total de fêmeas de *Boophilus microplus* \geq 3,0mm antes e após pulverização com os piretróides FMC 65318 e Decametrina.

Grupos *	Total de fêmeas observadas antes e após pulverização														
	DIAS -1	+1	+2	+3	+4	+7	+9	+11	+13	+15	+17	+22	+24	+27	+29
Controle	782	493	767	1283	831	637	1015	1263	851	670	703	193	237	240	101
Decametrina ** 25 ppm	322	19	7	1	2	0	3	6	6	2	3	1	1	0	1
FMC 65318 10 ppm	866	286	239	194	156	47	109	162	282	135	122	48	38	61	47
16 ppm	914	157	106	99	75	12	75	138	115	116	95	40	20	42	46
20 ppm	658	93	80	31	44	2	27	50	85	43	10	11	4	11	32
25 ppm	1084	182	26	51	44	9	2	28	67	39	9	22	6	15	51
280 ppm	574	52	5	0	0	0	1	1	1	2	0	2	2	3	1

* 4 Bovinos por grupo ** 3 Bovinos

Tabela 6 - Ensaio de campo n° 1 - Eficiência diária e acumulada dos Piretróides FMC 65318 e Decametrina no controle de *Boophilus microplus*.

Dias após tratamento	Eficiência diária (%)					
	FMC 65318 (ppm)					Decametrina (ppm)
	10	15	20	25	100	25
+1	42,0	68,1	81,1	62,5	89,4	96,1
+2	68,8	86,2	89,6	97,0	99,3	99,1
+3	84,9	92,2	97,5	96,0	100	99,9
+4	81,2	91,0	94,7	94,7	100	99,7
+7	92,6	98,1	99,6	98,6	100	100
+9	89,2	92,6	97,3	99,8	99,9	99,7
+11	87,2	89,1	96,0	97,8	99,9	99,5
+13	81,0	86,5	90,0	92,1	99,9	99,3
+15	79,8	82,3	93,6	94,2	99,7	99,7
+17	82,6	86,5	98,6	98,7	100	99,6
+22	75,1	79,3	94,3	88,6	99,0	99,5
+24	84,0	91,6	98,3	97,5	99,1	99,6
+27	74,6	82,5	95,4	93,7	98,7	100
+29	57,4	54,4	68,3	49,5	99,0	99,0
+4/24*	82,8	89,3	96,3	96,5	99,8	99,6

* Eficiência Acumulada (%)

Tabela 7 - Ensaio de campo nº 2: Total de fêmeas de *Boophilus microplus* \geq 3,0mm antes e após pulverização com os piretróides FMC 65518 e Decametrina.

Grupos *	Total de fêmeas observadas antes e após pulverização													
	DIAS -1	+1	+2	+3	+4	+7	+10	+13	+15	+17	+20	+24	+27	+31
Controle	669	935	824	565	709	683	868	1740	1559	1012	786	260	571	790
Decametrina 25 ppm	355	86	19	10	6	1	6	8	10	9	17	9	1	283
FMC 65518 25 ppm	371	72	51	12	14	5	13	11	21	4	4	8	4	295
40 ppm	648	219	58	34	39	26	49	136	202	90	43	32	32	329
50 ppm	558	175	89	27	39	27	52	127	67	39	33	10	13	278
70 ppm	402	69	24	3	11	0	1	7	12	12	4	12	1	233
80 ppm	630	144	59	9	8	6	11	10	14	30	15	19	12	378

* 4 bovinos por grupo

Tabela 8 - Ensaio de campo nº 2 - Eficiência diária e acumulada dos Piretróides FMC 65318 e Decametrina no controle de *Boophilus microplus*.

Dias. após tratamento	Eficiência diária (%)					Decametrina (ppm)
	FMC 65318 (ppm)					
	25	40	50	70	80	
+1	91,2	76,5	81,2	92,6	84,4	90,8
+2	93,7	92,9	89,1	95,8	92,7	97,6
+3	97,9	94,0	95,2	99,5	98,4	98,2
+4	98,3	95,2	94,5	98,4	98,9	99,1
+7	99,2	96,1	96,0	100,	99,1	99,8
+10	98,5	94,3	94,0	99,9	98,7	99,3
+13	99,4	92,1	92,8	99,6	99,4	99,5
+15	96,8	97,0	94,1	99,2	99,1	99,3
+17	99,6	91,1	96,1	98,8	97,0	99,1
+20	99,5	94,5	95,8	98,5	98,1	97,8
+24	96,9	83,8	96,1	95,3	92,7	96,5
+27	99,3	94,4	97,7	99,8	97,9	99,8
+4/24*	98,9	91,7	89,4	99,2	98,5	99,1

* Eficiência acumulada

Tabela 9 - Ensaio de campo n° 3. Total de fêmeas de *Boophilus microplus* >= 3,0mm antes e após pulverização com os peritróides FMC 65318 e Decametrina.

Grupos *	Total de fêmeas observadas antes e após pulverização												
	DIAS -1	+1	+2	+3	+4	+8	+13	+17	+20	+22	+24	+27	+29
Controle	958	909	855	850	430	400	295	320	320	243	330	190	209
Decametrina 25 ppm	1153	141	31	5	2	3	0	3	2	5	5	35	119
FMC 65318** 70 ppm	1293	186	31	2	0	1	0	2	1	0	0	52	188
A													
B	790	89	15	0	0	0	0	4	6	5	0	26	163
C	1195	135	15	1	0	0	0	7	5	2	9	77	204
D	956	163	19	5	0	4	0	4	4	2	1	28	88
E	1397	159	27	3	0	0	0	2	4	1	5	42	130
F	1478	132	19	6	0	0	0	16	18	8	2	25	163
FMC 65318 100 ppm	1676	135	24	4	0	0	0	4	7	8	4	91	202

* 3 bovinos por grupo

** A, B, C, D, E, F - Formulações

Tabela 10 - Ensaio de campo nº 5. Eficiência diária e acumulada dos piretróides FMC 65318 e Decametrina no controle de *Boophilus microplus*.

Dias após tratamento	Eficiência diária (%)							
	FMC 65318 (ppm)						Decametrina (ppm)	
	70 A	70 B	70 C	70 D	70 E	70 F	100	25
+1	79,5	90,2	85,1	82,0	82,5	85,5	85,1	84,4
+2	98,2	98,2	98,2	97,7	96,8	99,7	98,6	96,3
+3	99,8	100	99,9	99,4	99,7	99,4	99,6	99,4
+4	100	100	100	100	100	100	100	99,5
+8	100	100	100	99,9	100	100	100	99,2
+13	100	100	100	100	100	100	100	100
+17	99,4	98,7	97,8	98,7	99,4	95,0	98,7	99,1
+20	99,7	98,1	96,9	98,7	98,7	94,4	97,8	99,4
+22	100	97,9	99,8	99,8	99,6	96,7	96,7	97,9
+24	100	100	97,3	99,7	98,5	99,4	96,7	98,5
+27	72,6	86,3	59,5	85,3	77,9	86,8	51,8	81,6
+29	10,0	22,0	2,4	57,9	37,8	17,1	3,3	43,1
+4/24*	99,8	99,3	99,0	99,3	99,5	98,1	99,0	99,1

* Eficiência Acumulada
A, B, C, D, E, F - Formulações

Tabela 11 - Ensaio de campo n ° 4 - Total de fêmeas de *Boophilus microplus* \geq 3,0 mm antes e após pulverização com os piretróides FMC 65318 e Decametrina.

Grupos *	Total de fêmeas observadas antes e após pulverização											
	DIAS -1	+1	+2	+3	+4	+6	+9	+12	+15	+18	+24	+28
Controle	2088	1946	1827	1648	600	1069	851	946	726	762	781	2920
Decametrina: 25 ppm	1117	97	46	12	0	1	20	8	5	5	7	893
FMC 65318 40ppm	1967	104	103	44	0	4	13	15	19	8	21	2170
50 ppm	2046	87	36	18	0	0	8	9	1	7	5	1480

* 6 bovinos par grupo

Tabela 12 - Ensaio de campo nº 4 - Eficiência diária acumulada dos Piretróides FMC 65318 e Decametrina no controle de *Boophilus microplus*.

Dias após tratamento	Eficiência diária (%)		
	FMC 65318 (ppm)		Decametrina (ppm)
	40	50	25
+ 1	94,6	95,5	95,0
+ 2	94,4	98,0	97,5
+ 3	97,3	98,9	99,3
+ 4	100	100	100
+ 6	99,6	100	99,9
+ 9	98,5	99,0	97,6
+ 12	98,4	99,0	99,1
+ 15	97,4	99,9	99,3
+ 18	98,9	99,1	99,3
+ 24	97,3	99,3	99,1
+ 28	25,7	49,3	59,4
+4/24*	98,6	99,5	99,2

* Eficiência Acumulada (%)

Tabela 15 - Período de proteção de várias concentrações dos piretróides FMC 65318 e Decametrina em bovinos pulverizados manualmente.

Concentração (ppm)	Nº animais	Período de proteção (dias)
FMC 65318		
25	8	9 ——— 11
40	10	8 ——— 11
50	10	8 ——— 11
70	24	7 ——— 11
80	4	11
100	8	7 ——— 9
Decametrina		
25	18	7 ——— 9

Tabela 14 - Comparação entre a eficácia obtida com o uso do FMC 65318 e outros Piretróides, no controle de *Boophilus microplus*.

Piretróides	Concentração	Controle <i>Boophilus microplus</i> (%)		Autores
		Cepa Sensível	Cepa OF resistente	
Permetrina	250	98,1	-	Nolan <i>et alii</i> (1977)
Permetrina	330	-	99,0	Nolan <i>et alii</i> (1979)
Cipermetrina	250 (100)	98,1	-	Nolan <i>et alii</i> (1977)
Fenvalerato	250 (250)	96,4	-	Nolan <i>et alii</i> (1977)
Decametrina	50 (25)	99,4	-	Nolan <i>et alii</i> (1977)
Cialotrina	70	-	> 99,0	Stubbs <i>et alii</i> (1982)
Flumetrina	30 (30)	-	> 99,0	Hopkins & Woodley (1982)
				Stendel & Fuchs (1982)
				Hamel <i>et alii</i> (1982)
FMC 65318	100	> 99,0	-	Rocha (1984)
FMC 65318	50	99,5	-	Rocha (1984)

() Doses preconizadas para uso no Brasil por indicação do fabricante

CONCLUSÕES

Com base nos estudos realizados "in vitro" sobre teleóginas e larvas não-alimentadas de *B. microplus*, bem como em provas de estábulo e em ensaios de campo, conclui-se que o piretróide sintético estudado, codificado como FMC 65318, apresenta um excelente potencial para seu desenvolvimento e emprego no controle de carrapatos *B. microplus*, em bovinos, no Brasil.

A formulação do concentrado emulsificável (CE) é de grande importância, influenciando significativamente nos resultados das provas de campo.

A menor concentração do produto FMC 65318 que manteve níveis de eficiência acumulada acima de 99% foi a de 50 ppm, mantendo também um período de proteção, ou período residual, entre 7 a 11 dias. Sua atividade foi evidenciada sobre todas as fases evolutivas do *B. microplus*.

A atividade deste novo piretróide está mais próxima da Decametrina, Flumetrina e da Cialotrina, sendo mais potente do que a Permetrina, Cipermetrina e Fenvalerato, quando se comparamos resultados obtidos com as observações de outros autores.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of insecticides. J. Econ. Entomol., 18:265-7, 1925.
- AMARAL, N.K.; MONMANY, L.F.S. & CARVALHO, L.A.F. *Acaricide* 84,633: first trials for control of *Boophilus microplus*. J. Econ. Entomol., 67 (3):387-9, 1974.
- ARAGÃO, H. de B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrophes. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 31 (4):759-844, 1936.
- BECK, A.A. Toxicidade de dez inseticidas sobre *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: *Calliphoridae*). Tese de "Master Science". Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, 1982.
- DRUMMOND, R.O.; GRAHAM, O.H.; ERNST, S.E. & TREVINO, J.L. Evaluation of insecticides for the control of *Boophilus annulatus* (Say) and *Boophilus microplus* (Canestrini) (acarina: *Ixodidae*) on cattle. In: INTER. CONGR. ACAROL., 1967. Proceedings. p. 493-8.

- DRUMMOND, R.O.; ERNST, S.E.; TREVINO, J.L. & GRAHAM, O.H. - Insecticides for control of the cattle tick and the southern cattle tick on cattle. *J. Econ. Entomol.*, 61:467-70, 1968.
- DRUMMOND, R.O.; GLADNEY, W.J.; WHETSTONE, T.M. & ERNST, S.E. Laboratory testing of insecticides for control of the winter tick. *J. Econ. Entomol.*, 64:686-8, 1971a.
- DRUMMOND, R.O.; GLADNEY, W.J.; WHETSTONE, T.M. & ERNST, S.E. Testing of insecticides against the tropical horse tick in the laboratory. *J. Econ. Entomol.*, 60:1735-38, 1971b.
- DRUMMOND, R.O.; ERNST, S.E.; TREVINO, J.L.; GLADNEY, W.T. & GRAHAM, O.H. *Boophilus annulatus* (Say) and *Boophilus microplus*: laboratory test of insecticides. *J. Econ. Entomol.*, 66 (1):130-3, 1973.
- DRUMMOND, R.O.; GLADNEY, W.J. & GRAHAM, O.H. Recent advances in the use of ixodicides to control ticks affecting livestock. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 81 (1-2):47-63, 1974.
- EL-BEIT, I.O.D. Characteristics of synthetic pirethroids, the novel category of insecticides - A literature survey in: 10th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CONTROLLED RELEASE OF BIOACTIVE MATERIALS, San Francisco, CA, 1983. *Proceedings*.
- ELLIOTT, M.; FARNHAM, A.W.; JANES, N.F.; NEEDHAM, P.H. & PEARSON, B.C. 5-Benzil-3-furylmethyl chrysanthemate: a new potent insecticide. *Nature*, 213:493-4, 1967.

- ELLIOTT, M.; FARNHAM, A.W.; JANES, N.F.; NEEDHAM, P.H. PULMAN, D.A. & STEVENSON, J.H. A photostable pyrethroid. *Nature*, 246: 169-70, 1973.
- ELLIOTT, M.; FARNHAM, A.W.; JANES, N.F.; NEEDHAM, P.H. & PULMAN, D.A. Synthetic insecticide with a new order of activity. *Nature*, 248 (1):710, 1974.
- ELLIOTT, M.; JANES, N.F. & POTTER, C. The future of pyrethroids in insect control. *Ann. Rev. Entomol.*, 23:443-69, 1978.
- FINNEY, D.J. *Statistical method in biological assay*. 2th, London, Charles Griffin. 668 p., 1964.
- FINNEY, D.J. *Probit analysis*. 3th. Cambridge, University Press. 333 p., 1971.
- FREIRE, J.J. Arseno e cloro-resistência e emprego do tiofosfato dietil-paranitrofenila (parathion) na luta anticarrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). *B. Dir. Prod. Anim., R.G.S.*, 9:3-31, 1953.
- GONZALES, J.C. & SILVA, N.R.S. da. Fósforo resistência do *Boophilus microplus* no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO ESTADUAL DA SOCIEDADE DE VETERINÁRIA DO RIO GRANDE DO SUL, 2., 1972. Anais.
- GOULART, T.C.O. de. Susceptibilidade "in vitro" de amostras de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) da Baixada Fluminense, R.J., Brasil, a alguns carrapaticidas organofosfora-

- dos. Tese "Master Science". Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, 1982.
- GRAHAM, O.H. & DRUMMOND, R.O. Laboratory screening of insecticides for the prevention of the reproduction of *Boophilus microplus* ticks. J. Econ. Entomol., 57:355-59, 1964.
- GRILLO TORRADO, J.M. & GUTIERREZ, R.O. Método para medir la actividad de los acaricidas sobre larvas de garrapata. Evolucion de sensibilidad. Rev Invest. Agropec. Pat. Animal, 6: 135-58, 1969.
- HAMEL; H.D.; ESTEVES, W.; HEES, B.; PULGA, M. & ROESSGER, M. Ensayos de campo com Bayticol contra *Boophilus microplus* en el Brazil. Not. Méd. Vet. n° 2, 140-146, 1982.
- HITCHCOCK, L.F. Resistance of the cattle ticks *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). to benzene hexachloride Aust. J. Agr. Res., 4:360-4, 1953.
- HITCHCOCK, L.F. & MACKERRAS, I.M. The use of D.D.T. in dips to control cattle tick. J. Counc. Sci. Ind. Res. Aust., 20: (1):43-55, 1947.
- HOPKINS, T.J. & WOODLEY, I.R. Actividad de flumetrina (Bayticol) sobre cepas de la garrapata bovina *Boophilus microplus*, sensibles y resistentes a organofosforados, em Austrália. Not. Méd. Vet. n°2, 130-39, 1982.

- LEGG, J. A test of two organic phosphorus compounds, Diazinon and Malathion, in the control of cattle tick in Queensland. Aust. Vet. J., 32 (3):55-9. 1956.
- LITCHFIELD, J.T. Jr. & WILCOXON, F. Simple method of fitting dose-effect curve. J. Pharm. Exp. Ther., 95:99-113, 1949.
- MASSARD, C.L.; MOYA, G.E.B. & MASSARD, C.A. Efeito da Decame-trina sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) em teste de campo, estábulo e "in vitro". In: CONGRESSO DA SOCIEDADE DE PARASITOLOGIA, 7, Porto Alegre, 1982. Anais.
- NEAL, J.W. Jr. A manual for determining small dosage calculation of pesticides and conversion table. The Entomol Soc. Amer., 1^a Ed., 72p., 1974.
- NOLAN, J. Chemical control of the cattle tick and the acaricide resistance problem. In: 56th ANNUAL CONFERENCE OF THE AUSTRALIAN VETERINARY ASSOCIATION, Townsville, 14-18 may, 1979. proceedings.
- NOLAN, J. Current developments in resistance to amidine and pyrethroids tickicides in Australia. In: INTERNATIONAL CONFERENCE held from 27-9 jan., Rhodes University, Grahamstown, R.S.A. 1981. Proceedings.
- NOLAN, J.; ROULSTON, W.J. & WHARTON, R.H. Resistance to synthetic pyrethroids in a DDT-resistant strain of *Boophilus microplus*. Pestic Sci., 8:484-86, 1977.

- NOLAN, J. & ROULSTON, W.J. Acaricide resistance as a factor in the management of acari of medical and veterinary importance. In Recent Advances in Acarology, vol 2, Ed. J. G. Rodriguez Academic Press, New York, p.3, 1979.
- NOLAN, J.; ROULSTON. W.J. & SCHNITZERLING, H.J. The potential of some synthetic pyrethroids for control of the cattle tick *Boophilus microplus*. Aust. Vet. J., 55: 463-66, 1979.
- NORRIS, K.R. & STONE, B. F. Toxaphene-resistant cattle ticks *Boophilus microplus* (Canestrini) occurring in Queensland. Aust. J. Agr. Res., 7: 211-26, 1956.
- OBA, M.S.P.; PEREIRA, M. de C. & ALMEIDA, M.A.C. Ensaio "in vitro" pelos critérios de OBA (1972) e de DRUMMOND (1973) de chlorpyrifos sobre linhagem supostamente resistente de *Boophilus microplus* proveniente de Taubaté, São Paulo. R. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. São Paulo, 13 (2): 409-20, 1976.
- O'SULLIVAN, P.J. & GREEN, P.E. New Types of organophosphorus resistant cattle ticks *Boophilus microplus*. Aust. Vet. J., 47 (2): 71, 1971.
- PATARROYO, J.H. Susceptibilidade "in vitro" de amostras de *B. microplus* (Canestrini, 1887) do sul de Minas Gerais, Brasil a alguns carrapaticidas organofosforados, Belo Horizonte, Brasil; Depart. de Paras., Inst. de Ciências Biol. da Univ. Fed. de Minas Gerais. 64p. (tese), 1978.

- POTTER, C. An account of the constitution and use of an atomi-
se white oil-pyrethrum fluid-to control *Plodia interpuctel*
la H.b. and *Ephestia elutella* H. b. in Warehouses Ann.
Appl. Biol. 22 (4): 769-805, 1935.
- ROULSTON, W.J, & WHARTON, R.H. Acaricide tests on the Biarra
strain of organophosphorus resistant cattle tick *Boophilus*
microplus from southern Queensland. Aust, Vet. J.,43:129-34,
1967.
- ROULSTON, W.J.; STONE, B.F.; WILSON, J.T. & WHITE, L.I. Chemi-
cal control of an *organophosphorus* and carbamate resistant
strain of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) from Quees-
land. Bull. Ent. Res., 58 (2): 379-91, 1968.
- ROULSTON, W.J.; SCHUNTNER, C.A.; SCHNITZERLING, H.J. & WILSON,
J.T. Detoxification as a mechanism of resistance in a
strain of the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini,
1887) resistant to *organophosphorus* and Carbamate compoun-
ds. Aust. J. Biol. Sci., 22: 1585-9, 1969.
- ROULSTON, W.J. & NOLAN, J. Resistance in *Boophilus microplus* to
cholinesterase inhibition and alterations in the site of
action. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PESTICIDE CHEMISTRY,
3., Helsinki, Finlandia, 1974.p. 416-20.
- ROULSTON, W.J. & NOLAN, J. Resistance in *Boophilus microplus*
to cholinesterase inhibition and alterations in the site of
action. Envir. Qual. Saf. Suppl. 3: 416-20, 1975.

- ROULSTON, W.J.; SCHUNTNER, C.A.; SCHNITZERLING, H.J.; WILSON, J.T. & WHARTON, R.H. Characterization of three strains of organophosphorus-resistant cattle tick *Boophilus microplus* from Bajool, Tully and Ingham. Aust. J. Agric. Res., 28: (2): 345-54, 1977.
- SCHECHTER, M.S.; GREEN, N. & LA FORGE, F.B. Constituents of pyrethrum flowers, XXIII. Cinerolone and the synthesis of related cyclopentenolones¹. J. Am. Chem. Soc., 71: 3165-73, 1949.
- SERVIÇOS TÉCNICOS COOPER-BRASIL Fases do desenvolvimento de um ixodicida.
- SHAW, R.D. Culture of an organophosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) and an assessment of its resistance spectrum. Bull. Entomol Res., 56: 389-405, 1966.
- SHAW, R.D. & MALCOLM, H.A. Resistance of *Boophilus microplus* to organophosphorus insecticides. Vet. Rec. 76:210-1, 1964.
- SMITH, T. & KILBORNE, K.L. Investigations into the nature causation and prevention of Texas on southern cattle fever. Bur. Bur. Anim. Med. U. S. Dep. Agric. (1): 1-103, 1893.
- SNOWBALL, G.J. The effect of self-licking by cattle on infestations of cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). Aust. J. Agric. Res., 7: 227-32, 1956.
- STENDEL, W. & FUCHS, R. Estudios experimentales con flumetrina,

nuevo piretróide sintético para combatir las garrapatas de uno y varios huéspedes. Not. Med. Vet. n° 2, 115-29, 1982.

STONE, B.F. Resistance to DDT in the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). Aust. J. Agric. Res., 8: 424-31, 1957.

STUBBS, V.K.; WILSHIRE, C. & WEBBER, L.G. Cyhalothrin novel acaricidal and insecticidal synthetic pyrethroid for the control of the cattle tick *Boophilus microplus* and the buffalo fly (*Haematobia irritans exigua*). Aust. Vet. J., 59:1982.

WHARTON, R.H. 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, 1974.

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

WHARTON, R.H.; ROULSTON, W.J.; UTECH, K.B.W. & KERR, J.D. Assessment of the efficiency of acaricides and their mode of application against the cattle tick *Boophilus microplus*. Aust. J. Agric. Res. 21: 985-1006, 1970.

WHARTON, R.H. & ROULSTON, W.J. Acaricide resistance in *Boophilus microplus* in Austrália. In: THE HEMOPARASITES WORKSHOP Centro Internacional de Agricultura, Cali Colombia, 1975, Proceedings.

WHARTON, R.H. & NORRIS, K.R. Control of parasitic arthropods
Vet.Parasitol., 6: 135-64: 1980.