

**ENSAIOS IN VITRO PELOS CRITÉRIOS DE OBA (1972) E DE DRUMMOND (1973), DE CHLORPYRIFOS SOBRE LINHAGEM SUPOSTAMENTE RESISTENTE DE *BOOPHILUS MICROPLUS* (Canestrini, 1887) PROVENIENTE DE TAUBATÉ, SÃO PAULO**

Maria Shirley P. OBA \*  
Marcelo de Campos PEREIRA \*\*  
Marco Antonio C. de ALMEIDA \*\*\*

RFMV-A/32

OBA, M. S. P.; PEREIRA, M. DE C.; ALMEIDA, M. A. C. de *Ensaios in vitro pelos critérios de Oba (1972) e de Drummond (1973), de Chlorpyrifos sobre linhagem supostamente resistente de Boophilus microplus (Canestrini, 1887) proveniente de Taubaté, São Paulo. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 13(2) :409-20. 1976.*

**RESUMO:** Para a avaliação da eficiência carrapaticida de *Chlorpyrifos* frente à uma linhagem supostamente resistente de *Boophilus microplus* da região de Taubaté, Estado de São Paulo, os autores fizeram ensaios "in vitro", utilizando fêmeas engorgitadas e valendo-se tanto dos critérios de Oba (1972), como dos de Drummond (1973). Os resultados não confirmaram a alegada resistência carrapaticida da referida linhagem do carapato.

**UNITERMOS:** *Boophilus microplus\**; *Chlorpyrifos*"; *Drogas, resistência*\*\*.

**I N T R O D U Ç Ã O**

Muito se tem falado entre nós a respeito de linhagens resistentes de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887), no Estado de São Paulo, e de um modo geral, no Vale do Paraíba.

Tendo-nos chegado notícias de que em determinado rebanho do município de Taubaté o proprietário se queixava de ineficiência dos carrapaticidas por ele utilizado, dirigimo-nos àquela locali-

dade à fim de colhermos material para pôr à prova a suposta resistência.

Tal material foi transportado ao Departamento de Parasitologia do I. C. B. da U. S. P. e submetido as provas que abaixo se descreve.

**MATERIAIS E MÉTODOS**

Recebemos de Dow Química S. A. 6 frascos contendo substâncias carrapati-

\* Professor Assistente Doutor.

\*\* Auxiliar de Ensino.

Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

\*\*\* Médico Veterinário da Dow Química S. A.

cidas cujo princípio ativo é o chlorpyrifos com os seguintes códigos: LA-006, LA-015, LA-016, LA-018, TF-263, DURSBAN\* 24E para teste "in vitro" com fêmeas engorgitadas de *Boophilus microplus*.

As fêmeas engorgitadas foram colhidas em propriedade da região de Tauraté, Estado de São Paulo, de bovinos que não haviam recebido tratamento carrapaticida durante pelo menos 30 dias. Segundo informações de Médico Veterinário local, nessa região estava havendo problemas supostamente relacionados com resistência de carapatos a drogas fosforadas.

A diluição das emulsões foi procedida no dia em que se realizou a imersão das teleóginas. Para cada amostra utilizamos 3 concentrações, sendo para o 1.º teste de 1:800, 1:600 e 1:500 e para o 2.º teste de 1:750, 1:600 e 1:500.

As fêmeas engorgitadas foram pesadas individualmente e ordenadas por peso, a intervalos de 10 mg, variando de 140 mg a 380 mg; foram as teleóginas de cada categoria de peso distribuídas ao acaso a cada um de 21 grupos experimentais.

Cada grupo experimental continha 29 teleóginas para o primeiro experimento e 40 para o segundo. Desses números, 20 teleóginas foram colocadas em uma placa de Petri de 10 cm de diâmetro, sendo as demais (9 para o primeiro experimento e 20 para o segundo) colocadas em frascos individuais de 20 ml de capacidade, segundo técnica descrita por Oba em 1972. O critério para separação dessas teleóginas, tanto em frascos individuais como em placas, foi o da representação de cada categoria de peso existente no grupo.

Os carapatos ficaram por um minuto nas emulsões a que foram destinados, seguindo-se a retirada do excesso de líquido em papel de filtro e em seguida

reposto no frasco ou placa de origem devidamente rotulado.

Todas as fêmeas, tanto dos frascos como das placas, foram mantidas, por duas semanas, em estufa a 27.ºC e umidade relativa de cerca de 80%.

Após este período de incubação, procedeu-se da seguinte maneira:

a) FÊMEAS EM FRASCOS:

Após 2 semanas as fêmeas que não efetuaram oviposição foram descartadas e as que efetuaram foram mantidas na estufa por 1 mês. A porcentagem de eclosão foi calculada contando-se em microscópio estereoscópico as larvas e os ovos larvados e os inférteis de cada carapato. A atividade carrapaticida foi calculada pelos seguintes critérios de Oba (1972):

1.º critério: Percentagem de fêmeas que morreram sem ovipor.

2.º critério: Percentagem de fêmeas que tendo posto ovos nenhum eclodiu.

3.º critério: Percentagem de larvas livres nas posturas em que houve eclosão

b) FÊMEAS EM PLACAS:

Os ovos das 20 fêmeas de ambos os experimentos foram pesados e transferidos para frascos de 100 ml de capacidade, com tampa de plástico e mantidos em estufa durante 1 mês, na mesma temperatura e umidade acima citadas. Determinou-se então a porcentagem de eclosão contando-se em microscópio estereoscópico, separando-se nas contagens, de um lado as larvas livres e de outro os ovos inférteis e os larvados.

A eficiência do tratamento foi calculada segundo Drummond (1973):

$$\begin{aligned} \text{Peso ovos (g)} \\ \text{ER} = \frac{\text{Peso das fêmeas (g)}}{\text{percentagem de eclosão} \times 20.000} \\ \\ \text{Percentagem de controle} \\ \text{ER (controle) — ER (tratado)} \\ = \frac{\text{ER (controle)}}{\text{ER (controle)}} \times 100 \end{aligned}$$

Na fórmula, 20.000 é uma constante e corresponde ao número estimado de ovos existentes em uma grama.

### 1º EXPERIMENTO:

**QUADRO 1** — Peso individual em mg das fêmeas engorgitadas, seus respectivos grupos experimentais e concentrações das drogas.

Droga Diluição	LA 006	LA 015	LA 016	LA 018	TF 263	DURSBAN® 24E	CONTROLE
1:500	147 mg	143 mg	155 mg	140 mg	144 mg	149 mg	
	146	144	155	142	153	147	
	155	183	157	182	163	177	
	187	159	148	166	166	202	
	203	196	195	201	203	192	
	206	200	204	204	203	218	
	207	203	215	218	218	220	
	226	221	224	223	226	222	
	236	242	262	238	239	227	
1:600	140	146	165	144	140	148	145
	142	149	166	145	142	145	180
	160	171	145	162	153	168	191
	177	178	170	172	160	167	197
	182	216	158	174	194	181	195
	195	185	224	187	217	196	205
	227	226	209	228	220	230	236
	297	275	261	229	240	232	270
	324	320	317	337	330	273	341
1:800	143	145	149	142	141	140	
	144	153	141	151	143	145	
	169	155	158	159	171	165	
	186	181	196	178	183	180	
	205	202	188	201	199	213	
	219	230	237	235	226	242	
	255	260	238	239	238	236	
	277	293	253	251	258	280	
	312	343	349	341	369	348	

\* Chlorpyrifos.

\* ER = Estimativa de produção.

Nos QUADROS 1 e 3 registraram-se na primeira coluna as concentrações utilizadas e nas 7 colunas seguintes os pesos individuais das teleóginas colocadas em frasco e as respectivas substâncias carrapaticidas a que foram submetidas.

Nos QUADROS 2 e 4, na primeira coluna as concentrações e nas 7 colunas seguintes o peso conjunto das teleóginas dispostas em placa de Petri, sendo esses registros, naturalmente, relacionados com o grupo experimental correspondente.

I.º EXPERIMENTO:

QUADRO 2 — Peso inicial em gramas dos grupos de 20 fêmeas engorgitadas nos diferentes grupos experimentais, para cada concentração dos carapaticidas.

Droga Diluição	LA 006	LA 015	LA 016	LA 018	TF 263	DURSBAN* E24	CONTROLE
1:500	5.00 g	4.98 g	5.09 g	5.21 g	5.03 g	4.88 g	5.00 g
1:600	4.98 g	4.87 g	4.97 g	4.99 g	5.07 g	5.23 g	4.94 g
1:800	5.00 g	5.12 g	4.88 g	4.87 g	4.95 g	4.99 g	5.19 g

\* Clorpyrifos.

2.º EXPERIMENTO:

QUADROS 3 — Peso individual em mg das fêmeas engorgitadas e seus respectivos destinos experimentais.

Droga Diluição	LA 006	LA 015	LA 016	LA 018	TF 263	DURSBAN* E24	CONTROLE
1:500	140 230	146 225	148 230	148 229	150 229	153 223	165 240
	157 235	154 238	157 232	170 235	167 244	171 229	170 211
	179 247	179 233	185 236	179 246	174 247	173 235	172 214
	181 254	183 247	184 261	190 254	190 257	190 247	193 225
	195 255	188 260	198 255	200 254	192 263	192 253	203 245
	186 270	193 258	196 256	210 280	210 272	201 265	215 252
	201 273	232 276	212 268	204 275	210 280	205 265	230 269
	204	206 273	201 276	213 302	212 302	214 271	226 260
	212 287	213 297	218 286	212 325	217 332	217 288	226 297
	215 308	213 308	216 313	218	229	218 300	240 300
1:600	230						
	140 229	147 230	148 227	145 222	143 225	260 223	
	164 228	160 239	153 230	167 238	169 236	177 229	
	176 234	172 236	173 241	180 240	171 243	174 233	
	186 243	187 242	193 252	184 243	190 241	190 243	
	183 255	191 225	195 251	194 256	198 253	194 258	
	198 252	195 254	204 258	209 266	202 264	207 260	
	202 267	205 264	207 279	208 275	208 274	206 280	
	210 273	203 277	205 279	212 290	219 286	220 283	
	220 295	215 296	212 293	216 302	212 308	213 300	
1:750	214 307	219 302	218 305	218 358	222 344	213	
	230						
	144 225	151 221	150 220	140 223	160 221	163 221	
	152 232	160 231	161 227	162 240	165 246	168 230	
	174 242	177 239	175 250	177 250	175 242	168 223	
	181 255	250 246	197 252	192 247	196 257	172 235	
	189 256	190 258	194 252	191 256	194 269	190 249	
	200 270	195 259	206 255	208 260	210 279	192 260	
	210 278	202 264	204 282	204 285	205 284	201 271	
	210 293	207 280	207 280	214 287	212 305	203 278	
227	211 284	210 294	213 306	217 351	213 285		
	227	216 301	216 317	216 332	222	220 292	

\* Clorpyrifos.

## 2.º EXPERIMENTO:

QUADRO 4 — Peso inicial em g dos grupos de 20 fêmeas engorgitadas nos diferentes grupos experimentais, para cada concentração dos carrapaticidas.

Droga Diluição	LA 006	LA 015	LA 016	LA 018	TF 263	DURSBAN® E24	CONTROLE
1:500	4.85 g	4.84 g	4.67 g	4.84 g	4.94 g	4.09 g	4.98 g
1:600	4.91 g	4.91 g	4.80 g	4.84 g	4.94 g	5.23 g	4.85 g
1:750	4.97 g	4.97 g	4.91 g	5.00 g	5.03 g	4.88 g	4.77 g

\* Clorpyrifos.

## R E S U L T A D O S

O resultado do estudo individual da atividade do chlorpyrifos sobre *B. microplus* consta dos quadros:

N.º 5 e N.º 5A para o 1.º experimento e N.º 6 e N.º 6A para o 2.º experimento

A simples observação das tabelas evidencia a alta eficiência carrapaticida e ovariotática. A análise das porcentagens médias de eclosão obtidas do estudo individual tabulados nos quadros 5A e 6A mostra tratar-se de linhagem altamente sensível. As substâncias LA 016, do individual tabuladas nos quadros 5A LA 018 e TF 263 apresentaram uma percentagem de eclosão inferior às demais.

Os resultados obtidos com as teleóginas em placas do 1.º experimento são apresentados no Quadro n.º 7 e para o 2.º experimento são apresentados no Quadro n.º 8.

As análises dos Quadros 7 e 8 mostram para todas as substâncias e nas três concentrações, alta redução, quer para quantidade de ovos expressa em peso, quer para percentagem de eclosão,

quando comparadas com os dados vindos do grupo controle, LA 016 e TF 263 foram os que a menor percentagem de eclosão conduziram seguindo-se LA 08.

A simples observação dos Quadros 7 e 8 permite-nos a afirmar termos utilizado para o teste carrapatos provenientes de linhagem muito sensível.

A percentagem de eficiência estimada variou de 100% a 97,5% pelo critério de Drummond (1973).

## C O N C L U S Ã O

Combinando-se os dados obtidos pelos critérios de Oba (1972) e de Drummond (1973) foi possível verificar, para todas as substâncias em estudo:

- a — Alta eficiência carrapaticida
- b — Retardamento do início da postura
- c — Ação ovariotática
- d — Ação antiembriogênica

Por outro lado os resultados destes experimentos desautorizam a classificação da linhagem de carrapatos da região de Taubaté como particularmente resistente às drogas a que foram submetidas.

1º EXPERIMENTO:

QUADRO 5 — Estudo individual da atividade carrapaticida do Chlorpyrifos sobre grupos de 9 fêmeas engorgitadas de *B microplus* do Vale do Paraíba (Taubaté)

Droga	Diluição	N.º de fêmeas que efetuaram postura		N.º de fêmeas que não efetuaram postura	Percentagem de fêmeas que morreram sem efetuar postura
		sem eclosão	com eclosão		
Controle		9	0	0	0
LA 006	1:500	1	0	8	88,88
	1:600	1	1	7	77,77
	1:800	0	0	9	100,00
LA 015	1:500	1	0	8	89,88
	1:600	1	0	8	89,88
	1:800	0	1	8	88,88
LA 016	1:500	0	0	9	100,00
	1:600	1	0	8	88,88
	1:800	1	0	8	88,88
LA 018	1:500	3	0	6	66,66
	1:600	3	0	6	66,66
	1:800	1	0	8	88,88
TF 263	1:500	1	0	8	88,88
	1:600	0	1	8	88,88
	1:800	0	0	9	100,00
DURSBAN * 24E	1:500	0	0	9	100,00
	1:600	5	0	4	44,44
	1:800	2	0	7	77,77

1º EXPERIMENTO:

QUADRO 5A — Percentagem média de eclosão por grupo experimental de 9 fêmeas engorgitadas, método de cultura individual.

	Droga Diluição	LA 006	LA 015	LA 016	LA 018	TF 263	DURSBAN * 24E	CONTROLE
	1:500	0,78	2,09	—	4,46	3,63	—	97,00
% média		0,08	0,23	0	0,49	0,40	0	57,71 95,73
	1:600	6,20	—	1,47	2,96	—	34,28	82,59
					1,87		0,76	87,38
					4,83		98,78	52,48
							0,18	81,90
% média		0,68	0	0,16	1,08	0	14,88	91,02 77,08
	1:800	—	—	5,40	0,31	—	35,55	
							4,47	
% média		0	0	0,60	0,03	0	4,44	80,32

2.º EXPERIMENTO:

QUADRO 6 — Estudo individual da atividade carrapaticida do Chlorpyrifos sobre grupos de 20 fêmeas engorgitadas de *B. microplus* do Vale do Paraíba (Taubaté).

Droga	Diluição	N.º de fêmeas que efetuaram postura		N.º de fêmeas que que não efetuaram postura	Percentagem de fêmeas que morreram sem efetuar postura
		com eclosão	sem eclosão		
Controle		20	0	0	0
LA 006	1:500	1	5	14	70,00
	1:600	2	1	17	85,00
	1:750	2	1	17	85,00
LA 015	1:500	3	4	13	65,00
	1:600	2	3	15	75,00
	1:750	0	0	20	100,00
LA 016	1:500	0	1	19	95,00
	1:600	0	1	19	95,00
	1:750	0	0	20	100,00
LA 018	1:500	0	6	14	70,00
	1:600	0	7	13	65,00
	1:750	0	3	17	85,00
TF 263	1:500	4	5	11	55,00
	1:600	1	3	16	80,00
	1:750	1	4	15	75,00
DURSBAN * 24E	1:500	1	1	18	90,00
	1:600	0	1	19	95,00
	1:750	1	1	18	90,00

2.º EXPERIMENTO:

QUADRO 6A — Porcentagem média de eclosão por grupo experimental de 20 fêmeas engorgitadas, método de cultura individual.

Droga Diluição	LA 006	LA 015	LA 016	LA 018	TF 263	DURSBAN 24E	CONTROLE
1:500	54,54 5,10 82,89	3,22	—	—	2,41 0,60 19,34	23,10	36,61 83,35 85,73 75,61
média		2,72	4,56	0	0	1,11	1,15 99,44 20,21
1:600	71,00 96,00	12,75 11,79	—	—	—	—	87,27 98,66 94,65 95,10 88,30
média		8,35	1,22	0	0	0	0 97,55 97,48
1:750	91,96 56,89	—	—	—	2,54	1,49	99,19 95,71 91,32 98,54 84,15 98,70 97,75
média		7,44	0	0	0	0,12	0,07 86,26

I.<sup>a</sup> EXPERIMENTO

QUADRO 7 — Atividade carrapaticida de 6 formulações de chlорpyrifos sobre 20 fêmeas engorgitadas de *Boophilus microplus*, do Vale do Paraíba (Tatuape), método de cultura em placas

Código da substância	Diluição	Período de pré-oviposição	Peso em G de 20 fêmeas engorgitadas	Peso em G de ovos	Nº de ovos + Nº de larvas	Nº de ovos	Nº de larvas	% eclosão	ER*	% Eficiência
LA 006	1:500	6	5.00	0.044	11145	31	2.70	475.2	99.9	
	1:600	6	4.98	0.088	1955	755	38.61	12404.774	98.40	
	1:800	11	5.00	0.006	86	—	Zero	240	99.9	
LA 015	1:500	6	5.12	0.008	302	2	0.66	206.25	99.9	
	1:600	4	4.87	0.095	3599	2	0.05	19.506	99.9	
	1:800	4	4.98	0.308	7701	3620	47.0	5813.646	99.2	
LA 016	1:500	—	4.88	—	—	—	—	—	Zero	100
	1:600	6	4.97	0.115	1572	17	1.08	499.798	99.9	
	1:800	4	5.09	0.027	753	—	Zero	106.09	99.9	
LA 018	1:500	6	4.87	0.164	—	—	—	—	—	—
	1:600	4	4.99	0.170	4350	5	0.11	76.796	99.9	
	1:800	6	5.21	0.016	4634	—	Zero	657.314	99.9	
TF 263	1:500	—	4.95	—	—	—	—	—	Zero	100
	1:600	7	5.07	0.020	733	37	5.04	397.624	99.9	
	1:800	6	5.03	0.063	2069	5	0.24	60.118	99.9	
DURSBAN * 24 E	1:500	—	4.99	—	—	—	—	—	—	—
	1:600	6	5.23	0.130	2347	895	38.13	18955.566	97.5	
	1:800	11	4.88	0.004	97	—	Zero	16.392	99.9	
CONTROLE	4	5.19	2.26	—	39007	38427	98.51	857928	100	
	4	5.00	2.31	—	47512	39939	84.0	776160	97.5	
	4	4.94	2.28	—	49136	43115	87.74	809906	99.9	

\* ER = Estimativa de reprodução.

2.<sup>o</sup> EXPERIMENTO:

QUADRO 8 — Estudo conjunto da atividade carrapaticida de 6 formulações de chlorpyrifos sobre 20 fêmeas engorgitadas de *Boophilus microplus* do Vale do Paraíba (Tatuapé), método de cultura em placas.

Código da substância	Diluição	Período de pré-oviposição	Peso em G de 20 fêmeas engorgitadas	Peso em G de ovos	Nº de ovos + Nº de larvas	Nº de larvas	$\%_{\text{eclosão}}$	ER*	$\%_{\text{eficiência}}$
LA 006	1:500	4	4.85	0.040	2124	1	0.04	6.596	99.99
	1:600	4	4.91	0.010	570	—	Zero	40.732	99.99
	1:750	4	4.97	0.118	4713	3	0.06	28.49	99.99
LA 015	1:500	3	4.84	0.245	9094	1027	11.2	11338.835	97.93
	1:600	3	4.91	0.147	4865	576	11.8	7065.5804	98.71
	1:750	4	4.97	0.137	5342	286	5.3	2921.9218	99.46
LA 016	1:500	4	4.67	0.001	14	—	Zero	4.282	99.99
	1:600	7	4.80	0.005	52	1	1.92	39.997	99.99
	1:750	4	4.91	0.070	2565	—	Zero	285.132	99.94
LA 018	1:500	4	4.84	0.004	394	—	Zero	16.528	99.99
	1:600	7	4.84	0.040	2168	—	Zero	165.288	99.96
	1:750	4	5.00	0.045	2357	—	Zero	180	99.96
TF 263	1:500	4	4.94	0.123	5494	—	Zero	497.974	99.90
	1:600	4	4.94	0.085	3334	—	Zero	344.128	99.93
	1:750	4	5.09	0.002	234	—	Zero	7.858	99.99
DURSBAN® 24 E	1:500	6	4.09	0.070	1628	—	Zero	342.298	99.93
	1:600	6	5.23	0.130	2347	895	38.13	18955.566	99.5
	1:750	6	3.90	0.614	689	3	0.43	30.87142	99.99
CONTROLE		3	4.85	1.83	40987	29313	72.73	548848.940	

\* ER = Estimativa de reprodução.

OBA, M. S. P.; PEREIRA, M. DE C.; ALMEIDA, M. A. C. "In vitro" assays by means of OBA's (1972) and Drummond's (1973) of chlorpyrifos upon one allegedly resistant *B. microplus* strain from Taubaté, São Paulo, Brazil. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 13(2):409-20, 1976.

**SUMMARY:** To test the efficiency of Chlorpyrifos against one supposedly resistant strain of *B. microplus* from Taubaté, State of São Paulo, Brasil, the authors conducted "in vitro" assays, using criterion developed by Oba (1972) and by Drummond (1973). The results did not confirm the alleged drug resistance for that tick strain.

**UNITERMS:** *Boophilus microplus\**; *Chlorpyrifos\**; *Drugs, resistance\**.

#### REFERÉNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- |  |   |
|--|---|
| <p>1 — OBA, M. S. P. Ensaio crítico de técnicas de avaliação de drogas carapaticidas através de experimento piloto envolvendo bovinos naturalmente infestados com <i>Boophilus microplus</i> (Canestrini 1887) comparando três concentrações de uma droga em duas modalidades de aplicação: imersão e aspersão. São Paulo, 1972. Tese — Instituto de Ciências Biomédicas da USP.</p> | <p>2 — DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. <i>Boophilus microplus</i> and <i>Boophilus annulatus</i>: laboratory tests of insecticides. J. Econ. Entomol., 66(1):130-3, 1973.</p> |
|--|---|

Recebido para publicação em 31-8-76  
Aprovado para publicação em 13-8-76