RELAÇÃO DA CARGA MEDIA, RAZÃO FÊMEA/MACHO E NÚMERO DE OVOS POR FÊMEA DE POPULAÇÕES DE *Cooperia* spp., EM BEZERROS HVB E MESTIÇOS HVB x GUZERÁ

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 em Parasitologia Veterinária

CLAUDIO GRANZOTTO PALOSCHI

Rio de Janeiro

1981

BIOGRAFIA

CLAUDIO GRANZOTTO PALOSCHI, filho de Ary Paloschi e Myres Granzotto Paloschi, nasceu em Caçador, Estado de Santa Catarina, em 15 de abril de 1955.

Cursou o primário e o ginasial em Santa Catarina; concluiu o Técnico de Contabilidade em Curitiba-Paraná. Em 1974, ingressou no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná, graduando-se em 1977.

Em 1978, foi contratado pela Secretaria de Estado da Agricultura do Paraná, no Departamento de FiscalizaÇão da Defesa Sanitária Animal.

Em 1979, foi contratado pela Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária S.A. (EMPASC), no cargo de pesquisador.

No mesmo ano, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária, a nível de Mestrado, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

A meus pais, Ary e Myres e irmãos Leyza e Ilton pelo amor e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, especialmente:

- ao Dr. MICHAEL ROBIN HONER, Professor Titular do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UF-RRJ), orientador desta tese, pela incansável ajuda, estímulo e confiança em nós depositada;
- à EMPRESA CATARINENSE DE PESQUISA AGROPECUÁRIA S.A. (EMPASC); em especial aos Drs. JOSÉ OSCAR KURTZ e CARLOS PIETA FILHO;
- à EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRA-PA), por ter permitido a realização deste curso;
- ao Prof. HUGO EDISON BARBOZA DE REZENDE, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária da UFRRJ, pela assistência durante o curso e a realização desta pesquisa;

- ao Prof. RAMAYANA MENEZES BRAGA, Professor Colaborador do Departamento de Biologia Animal, área de Parasitologia, da UFRRJ, pela amizade e colaboração na realização deste trabalho;
- ao Prof. NICOLAU MAUÉS DA SERRA FREIRE, Professor Assistente em Parasitologia Veterinária da UFRRJ, pelas sugestões apresentadas;
 - à DIVA MONTEIRO DA SILVA, pela mecanografia do texto;
- ao CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E
 TECNOLÓGICO CNPq, que possibilitou a realização do Projeto:
 "Parasitismo em Bovinos de Leite no Estado do Rio de Janeiro:
 Epidemiologia, Importância Econômica e Controle";

aos professores, colegas e a todos que de alguma forma nos auxiliaram neste período de trabalho.

Í N D I C E

I.	INTRODUÇÃO	1
II.	REVISÃO DE LITERATURA	5
III.	MATERIAL E MÉTODOS	20
IV.	RESULTADOS	29
V.	DISCUSSÃO	45
VI.	CONCLUSÕES	76
VII.	RESUMO	78
VIII.	SUMMARY	80
IX.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

I. INTRODUÇÃO

No aprimoramento da produção animal vários obstáculos impõem-se e, dentre eles, indiscutivelmente, aparecem os nematódeos gastrintestinais nos ruminantes. Em sua maioria, as infecções parasitárias apresentam-se de maneira subclínica, e mesmo assim são responsáveis pelo retardo do crescimento, aumento da taxa de mortalidade, principalmente em animais jovens, e pela diminuição do índoe de fertilidade.

A sanidade de um rebanho deve ser bem dirigida para que haja um bom crescimento e boa produção, sendo necessário, para isso, o desenvolvimento de técnicas e medidas adequadas.

Em seu relacionamento com os hospedeiros, os nematódeos gastrintestinais competem na utilização de nutrientes, seja diretamente na luz do tubo digestivo ou após terem sido absorvidos, refletindo negativamente na fonte de energia de mantença e produção dos animais.

O rebanho do Brasil é estimado em 107.349.052 cabe-

ças, segundo dados estatísticos da Fundação Instituto Brasileito de Geografia e Estatística - IBGE, Censo de 1976. No Estado do Rio de Janeiro, de 1.716.946 cabeças, 315.345 são de bezerros, dos quais 116.626 são fêmeas e 153.721 machos, segundo FIDERJ (1979). O rebanho do Rio de Janeiro apresenta um índice de mortalidade próximo a 15%, informação prestada pela EMATER-Rio, em comunicação pessoal.

As medidas de controle de helmintos gastrintestinais em bovinos exigem um conhecimento suscinto da epidemiologia das infecções. O curso destas dependem diretamente das condições climáticas, surgindo a necessidade de estudos específicos para cada área geográfica. As características próprias de cada área geográfica não permitem a extrapolação de dados de uma região para outra quando as condições meteorológicas são distintas (ROSE, 1963).

Segundo GRISI & NUERNBERG, 1971, os estudos no Brasil sobre parasitoses gastrintestinais de bovinos, são relatos que, em sua maioria, se limitam a registro de ocorrências morfológicas de nematódeos.

Os trabalhos epidemiológicos realizados com animais de diferentes faixas etárias, raças e graus de sangue, em relação aos dados meteorológicos demonstram a prevalência e a intensidade de infecções. Destacando-se os seguintes para diferentes áreas geográficas no Brasil: COSTA et al. (1974) e GUI-MARÃES et al. (1975) em Minas Gerais; GRISI & NUERNBERG (1971) e MELO & BIANCHIN (1977) em Mato Grosso do Sul; COSTA, NOGUEI-

RA & COSTA (1978), COSTA et al. (1978) e MACHADO et al. (1979) em São Paulo; PEREIRA (1973), CARNEIRO & FREITAS (1977) e COSTA et al. (1979) em Goiás; MOURA (1974) na Bahia; RASSIER (1975) no Rio Grande do Sul e MACIEL (1979) em Rondônia.

Além dos aspectos acima descritos, a epidemiologia possue outros que são indispensáveis para o perfeito entendida estratégia dos nematódeos para sobreviverem. aspecto, observamos trabalhos que procuram destacar a número de helmintos fêmea e macho, COSTA (1965) na Bahia com helmintos de suínos, ROCHE & PATRZEK (1966) com Ancylostoma ninum (Ercolani, 1859) e a duração da infecção; GUIMARÃES et al. Três Corações, Ibiá e Calciolândia (1976)(MG) em com Cooperia spp. Ransom, 1907. Esta razão foi recalculada em termos da (teta) e introduzida nos estudos para uma melhor representação gráfica da relação fêmea e macho para *Haemonchus* Das et Whitlock, cayuqensis 1960 (CROFTON & WHITLOCK, 1969) e para parasitos do intestino de equinos (OGBOURNE, 1971).

outro lado, existem, ainda, descrições que demonshaver uma correlação positiva entre a densidade tram da população fêmeas de Metastrongylus apri (Gmelin, 1790) emsuínos, e o número médio de ovos por fêmea (DIXON, 1971).

trabalhos aqui destacados e em muitos outros Nos abordam helmintos de bovinos observa-se, em sua maioria, que populações do gênero *Cooperia* ocorrem maior freqüência com intensidade. A constatação deste fato, em nossa região, nos leestudo que explorasse todos estes aspectos, a fazer um vou daria oportunidade de um conhecimento mais que, sem dúvida, nos

amplo da epidemiologia deste gênero e, conseqüentemente, contribuindo com subsídios básicos para um planejamento de programas de controle mais eficientes e econômicos.

O presente trabalho faz parte do Projeto "Parasitismo em Bovinos de Leite do Estado do Rio de Janeiro: Epidemiologia, Importância Econômica e Controle", aprovado pelo CNPq no
Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal - PRONAPESA.

II. REVISÃO DE LITERATURA

Na mesma Fazenda por nós trabalhada neste projeto, experimentos científicos foram conduzidos testando alguns eficiência de bovinos de raças leiteiras. Assim é que, CARMO (1961), na Fazenda NASCIMENTO Santa Mônica, CNPGL-EMBRAPA, em Barão de Juparanã, Estado do Rio de Janeiro, realizaram um estudo relativo ao comportamento da raça Holandês, variedade malhada de preto em relação a eficiência reprodutiva e a produtividade leiteira, descrevendo também as características localização geográfica, solo, pastagem e o manejo climáticas, rebanho na área estudada. Concluíram que, embora haja evidente diminuição da produtividade dessa raça em nosso meio, como nos trópicos em geral, em relação a dos países de clima temperado, a média é superior em cerca de 50% às obtidas em rebanhos holandeses oficiais nos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro.

MADALENA, MARTINEZ & FREITAS (1979), também na Fazenda Santa Mônica, utilizando bovinos da raça Holandês preto

e branco (HPB), 1/2 HPB x 1/2 Gir (F_1); 3/4 HPB x 1/4 Gir (B_1), analisaram os parâmetros individuais de 634 lactações. A geração F_1 tinha maior produção inicial do que HPB ou B1; e os grupos F_1 e B_1 tiveram o período de lactação mais extenso que HPB.

FREITAS, MADALENA & MARTINEZ (1980), ainda na Fazenda Santa Mônica, compararam as idades ao primeiro parto de 52 vacas Holandês preto e branco (HPB), 62 vacas 1/2 HPB x 1/2 Gir (F₁) e 66 vacas 3/4 (HPB) x 1/4 Gir (B₁). Concluíram que o grau de sangue teve efeito significativo. As vacas F₁ tiveramo seu primeiro parto 166 ± 49 dias antes de HPB, e 101 ± 49 dias antes das B₁, sendo que estas últimas pariram 65 ± 51 dias antes de HPB.

a. GÊNERO Cooperia NO BRASIL

Mesmo sabendo que os diferentes trabalhos incluídos nesta revisão foram feitos abordando diversos helmintos gastrintestinais de ruminantes, o objetivo principal desta revisão foi expor os resultados obtidos somente para o gênero Cooperia.

FREITAS & COSTA (1970), no Estado de Minas Gerais, utilizando 80 bezerros mestiços Holandês com Zebu com idade variando de 6 a 14 meses, realizaram um estudo sobre a distribuição dos helmintos nas diferentes partes do sistema digestório de bovinos. Neste trabalho, identificaram as seguintes espécies do gênero Cooperia: C. punctata v. Linstow, 1907; C. pectinata Ransom, 1907 e C. oncophora (Railliet, 1898). Considera-

ram que elas ocorrem em maior intensidade na primeira metade do primeiro terço do intestino delgado.

COSTA, FREITAS & GUIMARÃES (1970), na Bacia Leiteira de Três Corações, em Minas Gerais, estudaram a prevalência e intensidade de infestação por helmintos, necropsiando 87 bezerros mestiços holandês com zebu de vários graus de sangue com idade variando de 4 a 16 meses. Obtiveram, através da análise dos resultados do gênero Cooperia, a prevalência, intensidade média e a variação do número de helmintos para os bezerros parasitados que foram 100%, 4.832 e 30 a 32.502, respectivamente. As espécies encontradas foram C. punctata, C. pectinata e C. oncophora.

COSTA & FREITAS (1970), em Minas Gerais, ao apresentarem uma lista atualizada sobre helmintos parasitos dos animais domésticos no Brasil, relataram a presença de *C. curticei* (Giles, 1892), *C. oncophora*, *C. pectinata* e *C. punctata* localizadas no intestino delgado dos hospedeiros.

GRISI & NUERNBERG (1971) no Estado do Mato Grosso do Sul, realizaram um estudo sobre a incidência de nematódeos gastrintestinais de bovinos, utilizando 65 animais de ambos os sexos e diferentes idades. Pelas necropsias, calcularam a incidência de Cooperia spp. (61,5%) sendo que C. punctata foi mais freqüente do que C. pectinata, com 82,4% e 17,6%, respectivamente.

COSTA et al. (1971), na Bacia Leiteira de Ibiá, em Minas Gerais, utilizando 77 bezerros mestiços zebu com holandês, com diferentes graus de sangue e idade variando de 4 a 15 meses, registraram que a prevalência das espécies do gênero Cooperia foi de 100% e a intensidade média das infecções de 5.194. As espécies obtidas foram *C. punctata, C. pectinata* e *C. oncophora.*

COSTA et al. (1973), na Bacia Leiteira de Calciolândia, em Minas Gerais, necropsiaram 59 bezerros mestiços holandês com zebu, com idade variando de 6 a 13 meses, revelaram a presença de helmintos do gênero Cooperia com 100% de prevalência e número médio de parasito por hospedeiro igual a 7.383, apresentando uma variação de 3 a 52.904; sendo as espécies observadas: C. punctata, C. pectinata e C. oncophora.

PEREIRA (1973), em zona de cerrado na região de Dourados, em Goiás, observou a prevalência e variação estacional de helmintos gastrintestinais de bovinos utilizando 16 bezerros de quatro propriedades. Não foi encontrada carga quantitativamente significante entre os animais mestiços zebu, sendo estimado haver somente infestações subclínicas, mas as bezerras mestiças com holandês foram marcadamente mais suscetíveis às infecções. Notou, ainda, como freqüente na área estudada, os helmintos do gênero Cooperia.

KESSLER & GONZALES (1973), em Porto Velho, Território Federal de Rondônia, examinando material coletado de uma terneira de aproximadamente um ano e meio de idade, identificaram a presença da espécie *C. punctata*.

MOURA (1974), na Bacia Leiteira de Itapetinga, na Ba-

hia, necropsiou 12 bezerros mestiços holandês com zebu e obteve as seguintes espécies do gênero *Cooperia* com as respectivas prevalências e número médio de parasitos por hospedeiro: C. punctata 91,66% e 2.217; C. pectinata 41,66% e 235; C. curticei 41,66% e 73.

COSTA et al. (1974), nas Bacias Leiteiras de Três Co-Calciolândia, em Minas Gerais, estudaram a rações, Ibiá e de variação estacional intensidade de infecção por da helmintos utilizando 206 bezerros mestiços holandês com zebu, em sua maioria machos, com idade variando de 4 a 16 meses. O gênero Cooperia estava representado pelas espécies C. punctata, C. pectinata e C. oncophora. Verificaram que, mesmo com pouca acentuação na variação da temperatura, de certo modo as infecções rasitárias acompanharam as variações das precipitações pluviométricas. Em relação a Cooperia spp. notaram, inclusive, que precipitações muito intensas assinaladas na Bacia Leiteira Três Corações, prejudicaram o desenvolvimento dos ovos e das larvas de tal modo que o parasitismo só alcançou maior intensidade final da estação chuvosa. Na Bacia Leiteira onde estações foram bem definidas, o declínio das des infecções por Cooperia spp. acompanhou quase que fielmente o declínio das precipitações pluviométricas.

GUIMARÃES et al. (1975), também nas Bacias Leiteiras de Três Corações, Ibiá e Calciolândia, trabalhando com material de necrópsias de 145 bezerros machos, mestiços holandês com zebu, com idade variando de 3 a 16 meses, e grupados em sete fai-

xas etárias, encontraram as seguintes espécies do gênero Cooperia: C. punctata, C. pectinata e C. oncophora. Os autores concluíram que a intensidade da carga parasitária por Cooperia spp. apresentou uma tendência a aumento até 10 a 12 meses de idade, e que o aumento numérico das infecções em média até os 15 a 16 meses de idade deve ser atribuído à tendência de aumento, especialmente de Cooperia. Os grupos com faixas etárias de 3 a 4 meses (6 animais), 5 a 6 meses (37 animais) e 7 a 8 meses (49 animais) apresentaram variações das infecções de 43 a 7.688; 1 a 17.630 e 33 a 52.804, respectivamente.

RASSIER (1975), na Região Fisiográfica Encosta do Sudeste no Rio Grande do Sul, estudou a prevalência e variação estacional de nematódeos parasitos gastrintestinais em 72 bezerros de raças de origem européia com idade variando entre 2 a 14 meses e de ambos os sexos. Para o gênero Cooperia, a prevalência e a intensidade média das infecções entre os bezerros foi de 90,28%, 1.146, respectivamente; as espécies identificadas foram: C. punctata e C, oncophora. Destacou que as infecções foram mais acentuadas na primavera e no outono.

NOGUEIRA et al. (1976), em Guaíra, São Paulo, em trabalho epidemiológico sobre helmintoses gastrintestinais, utilizou cinco bezerros nascidos durante a estação chuvosa e que foram necropsiados com 12 meses de idade. O gênero *Cooperia* apresentou a prevalência e intensidade média da infecção de 100% e 9.822, respectivamente, com valores paramétricos de 2.290 a 15.190. As espécies encontradas foram: *C. punctata* e *C. pectinata*.

CARNEIRO & FREITAS (1977) apresentaram dados sobre observações preliminares relativas a intensidade parasitária de helmintos gastrintestinais em seis bezerros da raça gir, em Goiás. Os animais haviam nascido na estação das chuvas, e foram distribuídos em três grupos de acordo com a data de nascimento, sem distinção de sexo, e necropsiados aos 12 meses de idade. O gênero que apresentou maior intensidade de infecção foi Cooperia, apresentando números médios de helmintos nos três grupos de 1.375, 1.580 e 1.170, respectivamente. Foram assinaladas C. punctata e C. pectinata, sendo que a primeira ocorreu em maior intensidade.

MELLO (1977), na zona de cerrado do Mato Grosso do Sul, realizou um estudo preliminar das infestações nas gens de larvas infestantes de nematódeos gastrintestinais bovinos de corte durante a estação seca. Observou que o número de larvas recuperadas apresentava uma relação muito estreita com a curva de precipitação pluviométrica, sendo mais alta chuvas pesadas; que as larvas mais comumente logo após as contradas pertenciam gênero Cooperia. Concluiu ao que, te a estação seca, desde que as condições climáticas não sejam muito adversas, algumas larvas infestantes de nematódeos gastrintestinais de bovinos, especialmente Cooperia spp., podem estar presentes nas pastagens.

SOUZA, RAMOS & SOUZA (1977), no município de Lages, em Santa Catarina, trabalhando em diagnóstico helmintológico de terneiros de corte com idade variando de 7 a 11 meses, e cria-

dos sob condições naturais, constataram que C. punctata ocorreu com freqüência de 60,46%, outras espécies do mesmo gênero foram: C. oncophora com 32,18 e C. curticei com 7,36%.

MELO & RIBEIRO (1977), no Estado do Mato Grosso do Sul, baseados em dados de necropsias efetuadas de 1972 a 1976 e na literatura existente, apresentaram uma lista atualizada dos helmintos parasitos dos animais domésticos em diferentes regiões e relacionaram a presença de C. punctata e C. pectinata.

MELO & BIANCHIN (1977), em zona de cerrado do Mato Grosso do Sul, estudaram epidemiologicamente as helmintoses qastrintestinais em bezerros de corte e relataram que entre espécies mais comumente observadas o gênero Cooperia (C. pectinata e C. punctata) apresentava prevalência de 71%. Os autores concluíram, também, que as infestações por helmintos adultos nos animais durante a estação seca é alta, porém é baixa a freqüência de larvas infestantes nas pastagens.

COSTA, NOGUEIRA & COSTA (1978) acompanharam o curso natural das infecções por nematódeos gastrintestinais em bezerros mestiços nascidos durante a estação seca, em Guaíra, São Paulo. Verificaram a presença de C. punctata e C. pectinata e que os animais adquiriram menor infecção do que os nascidos durante a estação chuvosa.

COSTA et al. (1978), em estudo preliminar sobre helmintoses gastrintestinais de bovinos em Jaboticabal, São Paulo, necropsiaram quatro bezerros e diagnosticaram as espécies *C.*

punctata e C. pectinata. Os autores relataram que, tal como ocorrem nas culturas de larvas, Coopería spp. participou como um dos gêneros prevalentes e que aparentemente os bezerros machos apresentaram contagens de ovos por grama de fezes (OPG) mais elevados do que as fêmeas.

COSTA et al. (1979), em Uruana, Goiás, trabalhando com 14 bezerros de 2 a 14 meses de idade, agrupados aos pares de faixa etária, relataram que o gênero Cooperia foi animais de todas as faixas etárias. encontrado em Foi trado um aumento de intensidade parasitária, pelo menos até idade. Os 14 meses de números mínimo e máximo de espécimens para bezerros de 4, 6 e 8 meses de idade foram de 40 a 31.960; 1.050 e 1300 a 2.890, respectivamente. Das espécies en-380 a contradas, C. punctata ocorreu em maior intensidade que C. pectinata.

MACIEL (1979), em Porto Velho, Rondônia, em estudo parasitológico helmintos gastrintestinais de bezerros de chos da raça Nelore com idade entre 10 e 14 meses, observou a prevalência e a intensidade média de infecção para Cooperia spp., respectivamente 81,20% e 12.940. A prevalência mostrou Cooperia spp. teve maior freqüência com grande predominânque cia sobre os demais gêneros. A variação total apresentada enparasitados foi 1.480 a 29.111. Concluiu tre bezerros de infecções por vermes adultos nos animais eram de grande intensidade, assumindo caráter mais grave durante o período seco.

MACHADO et al. (1979), em Barretos, São Paulo, através de coletas efetuadas em bovinos abatidos em frigorífico, estudaram a freqüência e a intensidade de infecção por helmintos gastrintestinais de 38 bovinos, com 24 a 60 meses de idade, pertencentes às raças Gir, Nelore e com diferentes graus de sangue e de cruzamento. No gênero Cooperia foram identificadas as espécies C. punctata e C. pectinata. A prevalência e o número médio de espécimens para C. punctata e C. pectinata foi 81,37% e 3.080 e 34,20% e 395, respectivamente.

b. RAZÃO FÊMEA/MACHO E O NÚMERO DE OVOS POR FÊMEA

COSTA (1965), na Bahia, estudando aspectos sobre helmintos parasitos de *Sus scrofa* em 62 animais, concluiu que algum fator seletivo influi sobre a evolução dos helmintos machos, sendo que os parasitos do sexo feminino ocorrem em maior número em quase todas as espécies.

BRADLEY (1965) apresentou um método simples para a representação gráfica das distribuições de amostras de helmintos, utilizando papel de probabilidade logarítmica. As distribuições agregadas como o lognormal produzem uma linha suave, que pode ser empregada na interpretação de populações de helmintos.

ROCHE & PATRZEK (1966), em Caracas, Venezuela, infectando artificialmente por via oral 57 cães sem raça definida, com *A. caninum* constataram que houve uma correlação estatisti-

camente significante entre a razão fêmea/macho e a duração da infecção. Chamaram a atenção para o fato de que as relações fêmea/macho mais próximas da unidade são geralmente encontradas na extremidade posterior do intestino delgado, e sugeriram que estes achados foram, principalmente, devidos ao deslocamento mais rápido dos machos pelo canal intestinal resultando uma taxa de perda maior.

CROFTON & WHITLOCK (1969), em Nova Iorque, nos Estados Unidos da América, trabalhando com ovinos infectados com H. c. cayugensis, observaram a predominância de fêmeas sobre machos, e introduziram a razão θ para a representação gráfica da relação fêmea/macho; quando a razão é igual a unidade, θ é igual a 45°.

DIXON (1971), em Londres, na Inglaterra, observou, em suínos, que o número médio de ovos por fêmea dentro de uma população de 78 fêmeas de M. apri mostrou correlação positiva com o tamanho da população.

LeJAMBRE & RACTLIFFE (1971), em Nova Iorque, estudaram outro tipo binomial para populações de $\it H.$ contortus em ovinos à proporção do flap tipo A e tipo B, utilizando a transformação angular $\it \theta$.

OGBOURNE (1971), na Inglaterra, trabalhando com parasitos coletados no lúmen do intestino de equinos, também utilizou a transformação angular O em estudos da relação fêmea/ macho, observando a predominância das fêmeas durante todo o ano.

GUIMARÃES et al. (1976), em Minas Gerais, trabalhan-

do com 215 bezerros mestiços holandês com zebu com 4 a 8 meses de idade, originários de rebanhos leiteiros, calcularam a relação fêmea/macho para nematódeos parasitos gastrintestinais; verificaram que, apesar de haver variações, ocorreu predominância de fêmeas sobre os machos. A relação média encontrada para Cooperia spp. de 1,400 e a análise estatística revelou que somente para Cooperia spp. foram obtidos resultados significativos.

c. Cooperia spatulata Baylis, 1938

BAYLIS (1938), no Museu Britânico, em Londres, descreveu uma nova espécie do gênero *Cooperia*, parasita de bovino e ovino, como *C. spatulata*. Os hospedeiros eram provenientes da Malásia e Austrália, e todos os animais recebidos eram machos, exceto um.

ROBERTS (1939) estudou a ocorrência e prevalência de helmintos gastrintestinais em bovinos de Queensland na Austrália. Relatou que *C. spatulata* estava presente em 21,8% dos animais, mas em números relativamente pequenos de 2 a 250 parasitos.

ALICATA (1947) In: ALICATA (1964), no Hawaí, em estudo de parasitos do homem e animais, relata a presença de C.spatulata parasitando intestino delgado de bovinos.

BECKLUND (1958), na Geórgia, examinando 480 machos de *Cooperia* procedentes de bovinos, identificou como *C. spatu-*

lata e após a comparação com material descrito por BAYLIS (1938)
confirmou a presença da espécie em bovinos nos Estados Unidos
da América.

ALICATA (1960), no Hawaí, em estudos sobre parasitos de bovinos, constatou a presença de *C. spatulata*, com prevalência de 1.092 parasitos para bezerros de 4 meses de idade.

BECKLUND (1961a), na Flórida, valendo-se de exames parasitológicos de 20 bezerros, aparentemente sadios, de 4 a 12 meses de idade, encontrou as espécies: *C. punctata, C. spatulata* e *C. mcmasteri* Gordon (1932). Sendo que a primeira espécie teve maior incidência e *C. mcmasteri*, a menor. *C. spatulata* foi raramente encontrada na Flórida, sendo diagnosticada em sete animais, os quais apresentaram freqüência de 1 a 520 e a média de 123 parasitos.

BECKLUND (1961b) relatou a ocorrência de *C. spatulata* em 38 ovinos do Sul da Geórgia.

KNIGHT (1962), em trabalhos de ocorrência de nematódeos em ruminantes abatidos em matadouro no Mississipi, Estados Unidos da América, efetuou somente a contagem e identificação dos parasitos machos. Nos ovinos, onze machos de *C. spatulata* foram encontrados numa amostragem representada por 440 exemplares, correspondendo a menos de 1% da população total de helmintos. As outras espécies do gênero *Cooperia*, encontradas, foram *C. punctata*, *C. oncophora* e *C. curticei*. De dois novilhos provenientes de Lousiania, a infecção por *C. spatulata* representava de 1 a 2% do número total de parasitos.

ROUKD (1962), no Kenya, em trabalho sobre helmintos parasitos de animais domésticos, fez uma complementação da lista de parasitos daquela região citando a presença de *C. spatulata* como parasita de bovinos e ovinos.

ORTLEPP (1964), em Natal, África do Sul, estudando bezerros machos, identificou *C. spatulata*. Relatou que seis espécies do gênero *Cooperia* são encontradas em ruminantes na África do Sul; em bovinos são típicas *C. pectinata, C. punctata, C. oncophora* e *C. mcmasteri*, sendo que *C. spatulata* foi encontrada somente nas áreas no interior de Natal, mas não podendo ser excluída a possibilidade de existir no distrito de Natal. A espécie encontrada especialmente em ovinos é *C. curticei*.

BECKLUND (1964), nos Estados Unidos da América, revisou uma lista de parasitas externos e internos dos animais domésticos nos Estados Unidos, seus domínios e no Canadá, descrevendo, também, sua distribuição geográfica. *C. spatulata* é relacionada como parasito do intestino delgado de bovinos na Flórida, Geórgia, Hawaí e Mississippi; além de ser encontrada em ovinos na Geórgia e Mississippi.

SEDDON (1967), na Austrália, referindo-se às doenças de animais domésticos, relata a presença de *C. spatulata* somente em bovinos.

WALKER & BECKLUND (1968), nos Estados Unidos da América, trabalhando com nematódeos do gênero *Cooperia*, assinalaram a presença de 39 espécimens de *C. spatulata* oriundas de bovinos da Geórgia e Flórida. Na mesma oportunidade fizeram um

estudo comparativo entre *C. punctata* e *C. africana* Monnig, 1932, evidenciando as diferenças biométricas das duas espécies.

STRINGFELLOW (1970), nos Estados Unidos da América, em estudo morfológico comparativo do cone genital de seis *Cooperia* spp. de bovinos e ovinos, constatou que esta estrutura é semelhante nas espécies *C. punctata* e *C. spatulata*.

III. MATERIAL E MÉTODOS

A. MATERIAL

1. Local

O presente trabalho foi realizado na Estação Experimental Santa Mônica da EMBRAPA, no Centro Nacional de Pesquisa - Gado de Leite (CNPGL), em Barão de Juparanã, município de Marquês de Valença, Estado do Rio de Janeiro, situada a 22°24' de latitude S e 43° 40' de longitude W, à altitude de 416 metros, à margem do Rio Paraíba do Sul, apresentando um clima tipo Cwa, CARMO & NASCIMENTO (1961).

Os dados metereológicos registrados durante o experimento foram fornecidos pela Estação Climatológica Principal de Vassouras que dista, aproximadamente, 5 km do local do experimento.

Os procedimentos de laboratório foram realizados na área experimental do Curso de Pós-GraduaÇão em Medicina Veteri-

nária-Parasitologia Veterinária, Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

2. Instalações

Utilizou-se piquetes com $35 \times 32 \text{ m}$ cuja pastagem era composta de capim grama-de-burro (Cynodon dactylon) e capim colonião (Panicum maximum), com uma base física de $4 \times 3 \text{ m}$, e um piquete formado com gramíneas, já citadas anteriormente, medindo $166 \times 44 \text{ m}$, onde os animais permaneciam por 30 dias antes do abate.

3. Animais

Foram utilizados 40 bezerros, machos, com idades variando de 5 a 7 meses e com diferentes graus de sangue HVB (Bos taurus) x Guzerá (B. indicus) nascidos e criados no próprio Centro (Tabela 1).

B. MÉTODOS

1. Manejo

Após o nascimento, os bezerros eram identificados com brincos plásticos e conduzidos ao abrigo coberto, onde permaneciam até serem formados lotes com seis diferentes graus de sangue; em seguida, eram transportados aos piquetes. Os bezerros eram aleitados artificialmente até o quarto mês de idade,

Tabela 1. Animais de diferentes graus de sangue (HVB e Guzerá) utilizados a cada mês do experimento

	JAN.	FEV.	MAR.	ABR.	MAI.	JUN.	JUL.	AGO.	TOTAL
HVB	1	1	1	1	0	1	1	1	7
7/8	1	1	1	0	1	1	0	1	6
3/4	1	1	1	0	0	1	1	1	6
5/8	1	0	1	0	1	1	1	0	5
1/2	0	1	1	2	1	1	.I	2	9
1/4	1	1	1	0	1 .	1	1	1	7
TOTAL	5	5	6	3	4	6	5	6	40

além de receberem uma suplementação de capim napier (Pannise-tum purpureum), ração comercial, sal mineral e o pastejo natural nos piquetes.

Quinzenalmente, administrava-se anti-helmíntico, Albendazole (Valbazen R 5% - Smith Kline). Alternadamente à aplicação do vermífugo, os animais eram banhados com carrapaticida do grupo piretróide sintético (Butox - Químio/Roussel).

Os animais que seriam sacrificados no mês seguinte, eram vermifugados, banhados e levados ao piquete maior permanecendo juntamente com outros bezerros do CNPGL, aproximadamente 30 dias, período em que deveria ocorrer a infecção natural por nematódeos.

No dia do sacrifício dos animais, um novo lote era introduzido no piquete, seguindo-se a mesma metodologia descrita.

2. Necropsia

Após a permanência no piquete maior, os animais eram sacrificados pelo seccionamento da medula espinhal à nível da articulação occipito-atlantoideana e feito a sangria. No processo de evisceração, o intestino delgado era separado, acondicionado em sacos plásticos e transportado ao laboratório de Parasitologia. Removido o mesentério, o intestino era aberto com o auxílio de enterótomo. Todo o conteúdo, bem como a lavagem da mucosa, era colocado em baldes e completado com água de torneira até 5 litros. Após a homogeneização, duas alíquotas de 10%, eram fixa-

das em formol acético aquecido a 70°C. Uma das alíquotas era trabalhada enquanto a outra ficava guardada.

3. Contagem e identificação dos helmintos

Todos os helmintos coletados de uma das alíquotas de 10% eram colocados em frasco com 50 ml de formol acético. Após a homogeneização do formol com helmintos, retirava-se duas alíquotas de 5 ml, cada (20%), separando-se os machos das fêmeas os quais eram colocados entre lâmina e lamínula, tendo lactofenol como meio de clarificação.

Tanto os machos como as fêmeas eram contados e identificados. Nas fêmeas fazia-se a contagem do número de ovos por 100 fêmeas, feita somente na parte anterior do útero.

4. Mensuração dos helmintos

Os machos e as fêmeas identificados como pertencentes a espécie *C. spatulata* foram medidos em escala de projeção preparada com micrômetro objetivo. A imagem dos nematódeos era projetada pela câmara clara sobre a escala facilitando a mensuração dos mesmos.

Nas Figuras 1 e 2 são demonstradas as medidas utilizadas para a biometria, excluído das figuras o comprimento total e a distância da vulva à extremidade posterior e ovos.

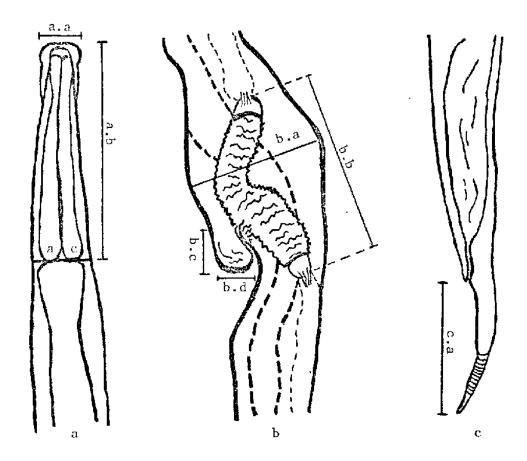


Figura 1. Medidas utilizadas para a biometria dos espécimens de *C. spatulata* Baylis, 1938: a.a = inflação anterior (fêmea e macho); a.b = comprimento do esôfago (fêmea e macho); a.c = largura final do esôfago (fêmea e macho); b.a = espessura máxima frente ao flap vulvar; b.b = comprimento ovojetor; b.c = comprimento da projeção vulvar (flap); b.d = largura da projeção vulvar (flap); c.a = distância do ânus à extremidade posterior.

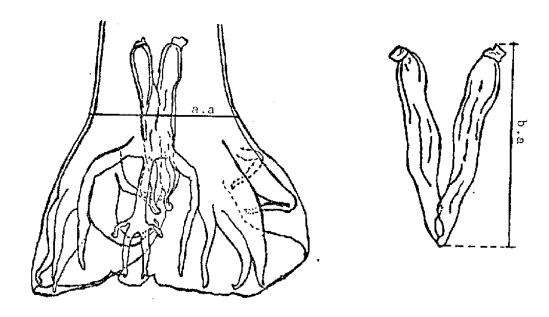


Figura 2. Medidas utilizadas para a biometria dos machos de $\it C.~spatulata~Baylis,~1938:~a.a=espessura~em~frente~a~bolsa;~b.a=comprimento~do~espículo.$

5. Estatística

Foram utilizados os seguintes testes ou tabelas não paramétricas:

- a) X^2 (qui-quadrado), utilizando a tabela extensa de ZAR (1974);
- b) Postos de Spearman ("ranking"), utilizando a Tabela de ZAR (1974) e o livro de SIEGEL (1975);
- c) a Tabela de MacKinnon (MACKINNON, 1964) para amostras binomiais até 1.000 com níveis de significância (bilateral) de .001, .01, .02, .05, .1 e .50;
- d) a transformação angular θ foi feita seguindo a publicação original de CROFTON & WHITLOCK (1969);
- e) a Prova Binomial para grandes amostras (>30) foi feita seguindo a técnica descrita por SIEGEL (1975) e ZAR (1974), utilizando a tabela extensa de ZAR;
- f) a técnica gráfica para representação de distribuições agregadas, descrita por BRADLEY (1965) foi utilizada para as cargas individuais dos 40 bezerros estudados.
- Os cálculos das médias, desvio padrão e coeficiente de variação foram feitos com Olivetti Logos 41 PD.

6. Fotografias

Esta operação foi efetuada com o auxílio de microscópio Wild M-20, em contraste de fase, utilizando filme High Contrast Copy (Kodak) .

IV. RESULTADOS

Os resultados do estudo realizado de Janeiro a Agosto de 1980, sobre o gênero *Cooperia*, com 40 animais, são apresentados em 25 Tabelas e 8 Figuras.

1. Necropsia

Nas Tabelas 2 a 9 apresenta-se, por mês, o registro de cada animal, constando do número, grau de sangue, data de nascimento, data da necropsia, número total de *Cooperia* spp., razão fêmea/macho, número de ovos por 100 fêmeas, menor e maior número de ovos por fêmea e a amplitude do número de ovos por fêmea durante os meses estudados.

Alguns animais foram necropsiados antes da data prevista devido ao seu estado de debilidade, como os de números 5341 (junho), 5383 (julho) e os de números 5374, 5387, 5389 e 5400 (agosto).

Tabelas 2 a 9. Nestas tabelas mensais são resumidas: informações sobre os animais necropsiados e os dados obtidos para *Cooperia* spp.; número total de *Cooperia* spp.; número de machos e fêmeas; número de ovos por 100 fêmeas; menor, maior e amplitude do número de ovos por fêmea.

u

Tabela 2. Lote formado correspondente ao mês de janeiro. Os animais são apresentados conforme o protocolo do programa de melhoramento do CNPGL.

Nº do animal	5144	5145	5148	5157	5200
Grau de sangue	HVB	1/4	7/8	3/4	5/8
Data de nascimento	6.7.79	7.7.79	9.7.79	15.7.79	29.7.79
Data da necropsia	23.1.80	23.1.80	23.1.80	23.1.80	23.1.80
Nº total de <i>Cooperia</i> spp. (Aliquota 1	0%) 35.660	23.810	46.880	40.030	28.630
Nº de machos	470	162	114	253	73
Nº de fêmeas	984	225	160	517	128
Nº de ovos por 100 fêmeas	1.097	2.220	1.444	917	1.578
Menor nº de ovos por fêmea	1	5	6	0	5
Maior nº de ovos por fêmea	18	40	26	17	25
Amplitude do nº de ovos por fêmea	17	. 35	20	17	20

32

Tabela 3. Lote formado correspondente ao mês de fevereiro. Os animais são apresentados conforme o protocolo do programa de melhoramento do CNPGL.

Nº do animal	5161	5172	5193	5215	5217
Grau de sangue	3/4	HVB	1/4	1/2	7/8
Data de nascimento	17.7.79	22.7.79	25.7.79	5.8.79	5.8.79
Data da necropsia	21.2.80	21.2.80	21.2.80	21.2.80	21.2.80
Nº total de Cooperia spp	64.280	58.150	1.990	2.490	73.820
Nº de machos	569	204	44	78	318
Nº de fêmeas	639	329	55	170	331
Nº de ovos por 100 fêmeas	1.278	923	675	826	1.326
Menor nº de ovos por fêmea	·O	0	· 5	0	0
Maior nº de ovos por fêmea	26	23	16	19	27
Amplitude do nº de ovos por fêmea	26	. 23	11	19	27
Amplitude do ny de ovos por lemea	20				

Tabela 4. Lote formado correspondente ao mês de março. Os animais são apresentados conforme o protocolo do programa de melhoramento do CNPGL.

Nº do animal	5224	5225	5227	5237	5255	5272
Grau de sangue	5/8	7/8	1/4	3/4	1/2	HVB
Data de nascimento	10.8.79	10.8.79	10.8.79	18.8.79	29.8.79	16.9.79
Data da necropsia	23.3.80	23.3.80	23.3.80	23.3.80	23.3.80	23.3.80
Nº total de Cooperia spp.	3.670	13.770	37.580	27.930	7.530	6.840
Nº de machos	44	119	396	303	85	18
Nº de fêmeas	54	164	515	408	143	24
Nº de ovos por 100 fêmeas	1.325	1.224	1.544	2.405	58	31
Menor nº de ovos por fêmea	9	1	2	4	.0	0
Maior nº de ovos por fêmea	22 .	20	29	61	8	14
Amplitude do nº de ovos por fêmea	13	- 19	27	57	8	14

Tabela 5. Lote formado correspondente ao mês de abril. Os animais são apresentados conforme o protocolo do programa de melhoramento do CNPGL.

Nº do animal	5288	5293	5299
Grau de sangue	1/2	HVB	1/2
Data de nascimento	2.11.79	10.11.79	16.11.79
Data da necropsia	29.4.80	29.4.80	29.4.80
Nº total de Coopería spp.	11.480	9.980	10.450
Nº de machos	74	86	99
Nº de fêmeas	175	123	168
Nº de ovos por 100 fêmeas	1.144	364	861
Menor nº de ovos por fêmea	. 1	0	0
Maior nº de ovos por fêmea	24	10	. 23
Amplitude do nº de ovos por fêmea	23	10	23

Tabela 6. Lote formado correspondente ao mês de maio. Os animais são apresentados conforme o protocolo do programa de melhoramento do CNPGL.

Nº do animal	5290	5296	5308	5319
Grau de sangue	5/8	1/2	7/8	1/4
Data de nascimento	5.11.79	15.11.79	21.11.79	7.12.79
Data da necropsia	28.5.80	28.5.80	28.5.80	28.5.80
Nº total de Cooperia spp.	4.910	7,250	7.150	11.510
Nº de machos	30	36	68	114
Nº de fêmeas	69	152	121	183
Nº de ovos por 100 fêmeas	2.889	2.550	1.987	2.142
Menor no de ovos por femea	12	9	4	5
Maior nº de ovos por fêmea	54	47	36	38
Amplitude do nº de ovos por fêmea	. 42	. 38	32	33

Tabela 7. Lote formado correspondente ao mês de junho. Os animais são apresentados conforme o protocolo do programa de melhoramento do CNPGL.

Nº do animal	5238	5341	5345	5350	5355	5360
Grau de sangue	1/4	3/4	1/2	7/8	HVB	5/8
Data de nascimento	12.12.79	25.12.79	1.1.80	4.1.80	9.1.80	10.1.80
Data da necropsia	25.6.80	18,6.80	25.6.80	25.6.80	25.6.80	25.6.80
Nº total de Cooperia spp.	1.130	360	6.610	7.320	11.200	5.090
Nº de machos	17	1	53	101	157	26
Nº de fêmeas	25	4	87	132	223	76
Nº de ovos por 100 fêmeas	2.851	452	2.477	2.637	2.592	2,289
Menor nº de ovos por fêmea	17	8	10	13	9	10
Maior nº de ovos por fêmea	55	34	43	63	46	36
Amplitude do nº de ovos por fêmea	38	- 26	33	50	37	26

w

Tabela 8. Lote formado correspondente ao mês de julho. Os animais são apresentados conforme o protocolo do programa de melhoramento do CNPGL.

					-
Nº do animal	5370	5373	5381	5382	5383
Grau de sangue	1/2	1/4	3/4	5/8	HVB
Data de mascimento	3,2,80	10.2.80	7.3.80	8.3.80	9.3.80
Data da necropsia	30,7.80	30.7.80	30.7.80	30.7.80	25.7.80
Nº total de Cooperia spp.	6.070	4.880	20.530	30.750	16.790
Nº de machos	54	39	231	506	133
Nº de fêmeas	132	49	301	601	177
Nº de ovos por 100 fêmeas	1.234	2.833	1.001	2.030	1.741
Menor nº de ovos por fêmea	2	3	1	6	7
Maior nº de ovos por fêmea	24	48	18	39	32
Amplitude do nº de ovos por fêmea	22	45	17	3 3	25
mipricade do at an interpretation		•			

w

Tabela 9. Lote formado correspondente ao mês de agosto. Os animais são apresentados conforme o protocolo do programa de melhoramento do CNPGL.

Nº do animal	5374	5387	5389	5392	5394	5400
Grau de sangue	1/4	1/2	7/8	3/4	HVB	1/2
Data de nascimento	16.2.80	31.3.80	2.4.80	5.4.80	8.4.80	27.4.80
Data da necropsia	19,8.80	19.8.80	19.8.80	27.8.80	27.8.80	19.8.80
V total de Coopería spp.	2,520	2.190	10.590	3.560	2.990	1.890
19 de machos	22	20	1 51	50	44	31
Nº de fêmeas	25	52	222	95	57	46
Nº de ovos por 100 fêmeas	1.529	2.084	2,357	3.370	2,308	3.100
Menor nº de ovos por fêmea	0	4	8	4	6	12
Maior nº de ovos por fêmea	31	41	64	65	38	7.5
Amplitude do nº de ovos por fêmea	31	37	56	61	32	63

População de Cooperia spp. e condições climáticas

A distribuição de nematódeos do gênero *Cooperia e* as médias mensais das temperaturas máximas e mínimas, como também a precipitação pluviométrica mensal verificadas durante o período de janeiro a agosto de 1980, estão representadas na Figura 3.

O maior pico de *Cooperia* spp. ocorreu no mês de fevereiro, havendo um decréscimo até o mês de junho, ocorrendo outro pico no mês de julho, decrescendo novamente no mês subseqüente.

No período de janeiro a agosto de 1980, correspondente aos meses de trabalho, a média das temperaturas médias das máximas foi de 27,7°C, e das mínimas, 16,9°C, a média mensal de precipitação de 77,05 mm.

Identificação das espécies do gênero Cooperia

Foram identificadas:

- a) C. punctata seguindo as descrições de TRAVAS-SOS (1937); LEVINE (1968) e STRINGFELLOW (1970)
- b) *C. spatulata* seguindo as descrições de BAYLIS (1938).

Na Tabela 10, apresentamos o número de machos e fêmeas de C. *spatulata* distribuído por mês; nas Tabelas 11 e 12 a biometria de 57 machos adultos e 28 fêmeas adultas dando a

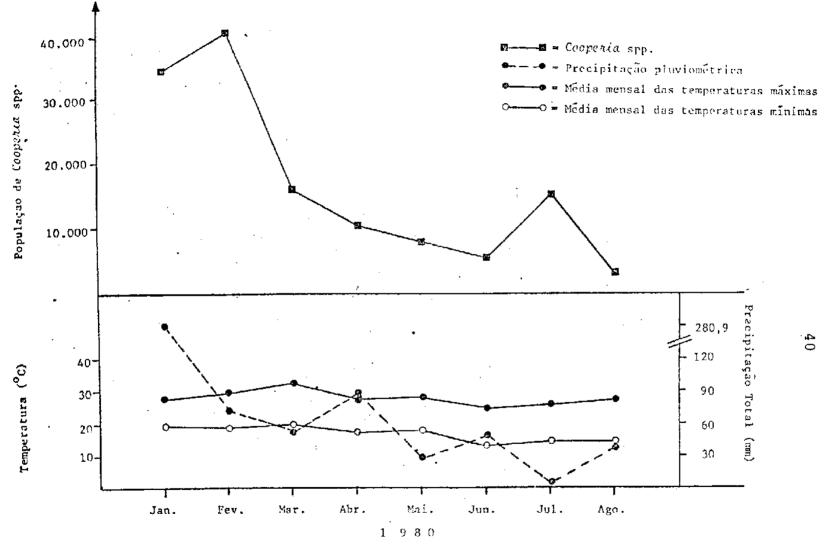


Figura 3. Flutuação da precipitação pluviométrica e das médias mensais das temperaturas máxima e mínima, com as c argas de helmintos do gênero *Cooperia* durante o período estudado: janeiro a agosto de 1980.

Tabela 10. Número de machos e fêmeas de *Cooperia spatulata* Baylis, 1938 encontrado, a cada mês, durante o trabalho.

Mês	Macho	Fêmea	٠.
Janeiro	6	0	•
Fevereiro	10	. 10	
Março	30	10	
Abril	0	0	
Maio	190	40	
Junho	130	50	
Julho	60	10	
Agosto	370	. 160	
Total	790	280	

Tabela 11. Biometria de 57 machos adultos de $Cooperia\ spatulata$ Baylis, 1938, com os limites de variação, média (\bar{x}) , desvio padrão (s) e coeficiente de variação (v)%.

Caracteres	Limites de Varriação	Média (x)	Desvio Padrão (s)	Coeficiente de Variação (v)%	
Comprimento total	5,0 - 7,9 mcm	6,77mm	6,325	11,09	
Comprimento do esôfago	350 - 430 ¹ 4	361 , 6 P	0,88	24,00	
Largura final do esofago	70 - 957	84,68 u	7,210	8,51	42
Espessura em frente a bolsa	130 - 250 µ	188,4 µ	0,265	14,07	10
Comprimento do espículo	185 - 260 μ	217,2µ	0,220	10,10	

Tabela 12. Biometria sobre 28 fêmeas adultas de $Cooperia\ spatulata$ Baylis, 1938, com os limites de variação, média (\bar{x}) , desvio padrão (s) e coeficiente de variação (v)%.

Caracteres	Limites de Variação	Média (x)	Desvio Padrão (s)	Coeficie de Varia (v)%	ção
Comprimento total	6,2 - 9,7 mm	7,85mm	0,62	7,86	
Inflação anterior	35 - 51µ	4 231	6,69	16,00	
Comprimento do esôfago	270 – 470µ	408µ	11,68	3,00	
Largura final do esôfago	70 – 92µ	79µ	0,67	1,00	
Espessura māxima (frente ao flap vulvar)	100 – 250µ	186µ	0,44	0,24	~
Comprimento do ovojetor	300 – 570µ	386µ	0,65	1,68	Ω Ω
Distância da vulva à extremidade posterior	1,35 - 2,40mm	1,98mm	2,38	1,20	
Distância do ânus à extremidade posterior	150 – 200µ	189µ	1,52	0,80	
Ovos (quantidade 129)	50 - 70 x 25 - 42µ	58 x 31µ	*	*	
Comprimento e largura do flap	90 - 120 x 90 -120u	$0,8079 \times 0,6448 \mu$	*	*	

^{*} Ovos provenientes de varias fêmeas, alguns não adultos o que pode influenciar a variação.

faixa de variação das medidas, média (x), desvio padrão (s) e o coeficiente de variação (v)%.

4. Freqüência relativa das espécies do gênero *Cooperia*

Nos 40 animais trabalhados, C. spatulata apresentou uma média mensal de 0,01%.

V. DISCUSSÃO

Os hospedeiros disponíveis para o nosso estudo é proveniente de um projeto de melhoramento do CNPGL - EMBRAPA, onde está sendo mantido um rebanho composto por bovinos HVB, Guzerá e mestiços de cruzamento destas raças em diversos graus de sanque.

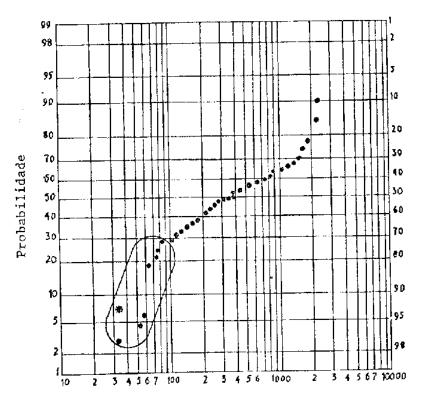
Os animais utilizados, por nós, eram pré-selecionados seguindo o protocolo do projeto de melhoramento, e não podíamos classificar os grupos de bezerros, isto é, não se tratava de um experimento inteiramente casualizado como pode ser verificado na Tabela 1.

Sabemos que as distribuições de helmintos em populações de hospedeiros portadores de infecções naturais não são normais, embora a tipificação da distribuição ainda esteja em discussão. A maioria dos autores refere-se a uma distribuição agregada do tipo binomial negativo ou lognormal (para discussão e literatura, ver BRADLEY, 1965; KENNEDY, 1975 e HONER, 1980). BRADLEY (1965), sem entrar em detalhes desta distribuição, desen-

volveu uma técnica gráfica para a representação de amostras de ovos ou helmintos numa população de hospedeiros, observando que diversas distribuições agregadas formam uma curva suave quando usa-se papel com eixos de probabilidade e de logaritmo.

Apresentamos, na Figura 4, um gráfico das cargas individuais dos 40 bezerros utilizados, usando a técnica de BRAD-LEY (1965). Os primeiros sete valores do gráfico são menos confiáveis, devido ao fato de que são correspondentes aos cargas excepcionalmente baixas, grau de sangue 1/2 HVB abatidos antes da data prevista pelo projeto mental (5341, em junho; 5383, em julho e 5374,5387,5389 e 5400, em agosto). Por esta Figura, pode-se notar uma tendência para os valores mais centrais, aproximando-se a uma linha reta; isto sugere que as cargas tendem a ter uma distribuição do tipo lognormal. Por estas razões, decidimos utilizar as técnicas não paramétricas que são mais apropriadas em casos de não malidade dos dados e que são livres de suposições sobre as distribuição amostral. Estas técnicas foram empregadas na relação grau de sangue e as populações de Cooperia spp.

Na Tabela 13 estão representados os dados, com os resultados da análise das relações entre os diversos graus de sangue e as cargas médias de helmintos, razão fêmea/macho e o número de ovos da parte anterior do útero de 100 fêmeas. Para cada grau de sangue, foram feitas análises utilizando-se o teste X² (qui-quadrado), com o uso das tabelas extensas de ZAR (1974) (pág. 408/409).



Log.

Figura 4. Representação gráfica das cargas individuais de *Cooperia* spp. de 40 bezerros necropsiados durante o experimento.

os pontos nesta região são menos confiáveis, conforme observação no texto.

Tabela 13. Análise dos dados obtidos para Coopería spp. para os diferentes graus de sangue HVB e Guzerá.

	Graus de sangue					
Caracteres	HVB (7)	7/8 (6)	3/4 (6)	5/8 (5)	1/2 (9)	1/4 (7)
			· · - · · · · · · · · · · · · · · ·			,
Número de helmintos (\overline{x})	21.938	26.422	26.115	14.610	4.861	11.917
Razão fêmea/macho (x)	1,51439	1,39562	1,95268	1,87831	2,32198	1,34872
Número de ovos por fêmea (x)	14,45	18,30	19,72	20,24	17,44	19,70
Amplitude do número de ovos (x)	24,66	34,00	38,83	27,00	31,34	31,43
		•				

a. RELAÇÃO ENTRE AS CARGAS MÉDIAS E O GRAU DE SANGUE

MADALENA, MARTINEZ & FREITAS (1979) deram ênfase ao caráter de puro sangue das vacas HPB, pelo que julgaram não ser provável que os grandes contrastes, especialmente na produde leite e duração da lactação, fossem simplesmente decorção rentes de diferenças genéticas. Sugeriram, então, que outros fatores, tais como a subnutrição, os carrapatos e outros parasitos, impedissem a expressão do potencial genético. E FREITAS, MADALENA & MARTINEZ (1980), em trabalho com animais HPB x Gir, Fazenda Santa Mônica, do CNPGL - EMBRAPA, observaram que existem diferenças significativas no desempenho reprodutivo endiversos graus de sangue. Demonstraram que o F_1 (1/2 HPB) apresentaram um intervalo entre partos de 83 dias a menos do que o grupo HPB e, 64 dias a menos que o grupo B_1 (3/4). Verificaram, também, que as vacas F1 tiveram produção de leite maior e lactações mais longas do que o grupo HPB ou $\mathrm{B}_1.$

Evidenciamos, pela Tabela 14, que uma situação semelhante existiu entre as cargas de *Cooperia* spp. e os graus de sangue; as cargas menores ocorreram no grupo F_1 (1/2 HVB). As relações entre todos os graus de sangue foram apresentadas nesta Tabela. Observamos que houve diferenças significativas entre 1/2 HVB, 7/8 e 3/4 ao nível de 0,10<P<0,05; entre 1/2 e HVB ao nível de 0,25<P<0,10, enquanto que entre 1/2, 5/8 e 1/4 foi de 0,50<P<0,25. Observamos, também, que a relação entre HVB, 3/4 e 5/8

Tabela 14. Relação entre a carga média de *Cooperia* spp. e o grau de sangue HVB e Guzerá (Qui-quadrado).

	HVB	7/8	3/4	5/8	1/2	1/4
HVB	-	₽ ≂ 0,75	0,75 <p<0,50< th=""><th>0,75<p<0,50< th=""><th>0,25<p<0,10< th=""><th>0,50<p<0,25< th=""></p<0,25<></th></p<0,10<></th></p<0,50<></th></p<0,50<>	0,75 <p<0,50< th=""><th>0,25<p<0,10< th=""><th>0,50<p<0,25< th=""></p<0,25<></th></p<0,10<></th></p<0,50<>	0,25 <p<0,10< th=""><th>0,50<p<0,25< th=""></p<0,25<></th></p<0,10<>	0,50 <p<0,25< th=""></p<0,25<>
7/8	-	-	0,95 <p<0,90< th=""><th>0,50<p<0,25< th=""><th>0,10<p<0,05< th=""><th>0,25<p<0,10< th=""></p<0,10<></th></p<0,05<></th></p<0,25<></th></p<0,90<>	0,50 <p<0,25< th=""><th>0,10<p<0,05< th=""><th>0,25<p<0,10< th=""></p<0,10<></th></p<0,05<></th></p<0,25<>	0,10 <p<0,05< th=""><th>0,25<p<0,10< th=""></p<0,10<></th></p<0,05<>	0,25 <p<0,10< th=""></p<0,10<>
3/4			_	.0,50 <p<0,25< th=""><th>0,10<%0,05</th><th>₽ ≈ 0,25</th></p<0,25<>	0,10<%0,05	₽ ≈ 0,25
5/8		•			0,50 <p<0,25< th=""><th>0,75<p<0,50< th=""></p<0,50<></th></p<0,25<>	0,75 <p<0,50< th=""></p<0,50<>
1/2			ě		-	0,50 <p<0,25< th=""></p<0,25<>
1/4				<u>.</u>		

é ao nível de 0,75<P<0,50, como também para 1/4 e 5/8. Entre 3/4 e 7/8, o resultado obtido com χ^2 foi de 0,95<P<0,90.

b. RELAÇÃO ENTRE FÊMEA/MACHO E OS GRAUS DE SANGUE

Observamos, pela Tabela 15, que novamente o F^1 (1/2) em termos da relação fêmea/macho, apresenta diferenças significativas com os grupos HVB, 7/8, 1/4 (0,25<P<0,10). Sendo evidente os outros resultados menos ou não significativos.

COSTA (1965) esclareceu que em Sus scrofa o número de fêmeas de helmintos sempre supera o de machos, levantando a hipótese que existiria um fator seletivo sobre a evolução dos machos. ROCHE & PATRZEK (1966), trabalhando com A. caninum sugeriram que os machos são eliminados mais rapidamente que as fêmeas.

A escola de Cornell, nos Estados Unidos da América (CROFTON & WHITLOCK, 1969; LeJAMBRE & RATCLIFFE, 1971), introduziu o uso da razão 0 para descrever a razão fêmea/macho. OGBOURNE (1971) também utilizou esta razão em estudo de nematódeos gastrintestinais de equinos.

Uma análise dos nossos dados mensais está representada na Tabela 16 e Figura 5, onde podemos observar que o número de fêmeas foi sempre maior que o de machos (8 entre 53° 50' e 68° ou entre 1,44123 e 2,47617).

GUIMARÃES et al. (1976) calcularam o valor 1,400 para a razão média para *Cooperia* spp., em bezerros; este valor foi

Tabela 15. Relação entre a razão fêmea x macho de Cooperia spp. e o grau de sangue HVB e Guzerá (Qui-quadrado).

	нув	7/8	3/4 .	5/8	1/2	1/4
HVB	-	0,90 <p<0,75< td=""><td>0,75<p<0,50< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""><td>0,25<p<0,10< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""></p<0,75<></td></p<0,10<></td></p<0,75<></td></p<0,50<></td></p<0,75<>	0,75 <p<0,50< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""><td>0,25<p<0,10< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""></p<0,75<></td></p<0,10<></td></p<0,75<></td></p<0,50<>	0,90 <p<0,75< td=""><td>0,25<p<0,10< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""></p<0,75<></td></p<0,10<></td></p<0,75<>	0,25 <p<0,10< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""></p<0,75<></td></p<0,10<>	0,90 <p<0,75< td=""></p<0,75<>
7/8		-	0,50 <p<0,23< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""><td>0,25<r<0,10< td=""><td>0,95<p<0,90< td=""></p<0,90<></td></r<0,10<></td></p<0,75<></td></p<0,23<>	0,90 <p<0,75< td=""><td>0,25<r<0,10< td=""><td>0,95<p<0,90< td=""></p<0,90<></td></r<0,10<></td></p<0,75<>	0,25 <r<0,10< td=""><td>0,95<p<0,90< td=""></p<0,90<></td></r<0,10<>	0,95 <p<0,90< td=""></p<0,90<>
3/4			_	0,95 <p<0,90< td=""><td>0,75<p<0,50< td=""><td>0,50<f<0,25< td=""></f<0,25<></td></p<0,50<></td></p<0,90<>	0,75 <p<0,50< td=""><td>0,50<f<0,25< td=""></f<0,25<></td></p<0,50<>	0,50 <f<0,25< td=""></f<0,25<>
5/8		,	ent i majar da en a que la managar y la companya de la companya de la companya de la companya de la companya d	_	₽≃0,50	0,50 <p<0,25< td=""></p<0,25<>
1/2			,		_	0,25 <p<0,10< td=""></p<0,10<>
1/4						

Tabela 16. Valores de Θ^* para os meses do experimento.

Mês	Valor de €
Janeiro	60° 4'
Fevereiro	55° 141
Março	53° 50°
Abril	61° 20'
Maio	68°
Junho	640 401
Julho	56° 30°
Agosto	58° 38'
	•

^{*} razão fêmea/macho (CROFTON & WHITLOCK, 1969).

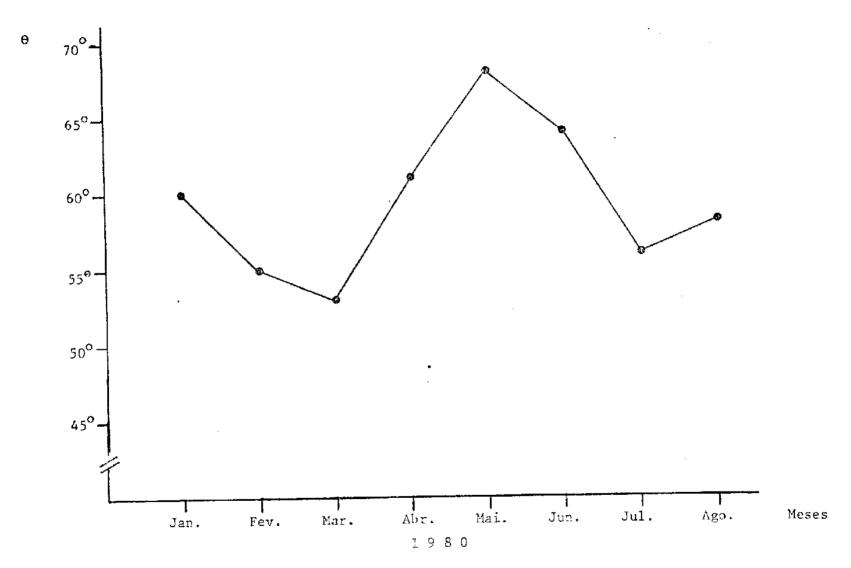


Figura 5. Representação gráfica dos valores de $extstyle{ heta}$ (teta) para cada mês do experimento.

o único a ser significativo entre todos os gêneros estudados.

Resumindo a literatura para A. caninum desde 1894 até 1966, ROCHE & PATRZEK (1966) apresentaram razões variando entre 0,7 a 11,0, sendo que este último valor foi constatado somente em um animal. Experimentalmente, demonstraram que a razão fêmea/macho aproxima-se mais a 1.0 quanto mais perto do intestino grosso, devido ao movimento de expulsão dos machos. Em 57 animais infectados artificialmente com 800 a 2.000 larvas, a razão variou entre 0,9 a 5,0.

Estes resultados de ROCHE & PATRZEK (1966) são basdiferentes dos nossos. Ressalta-se, entretanto, que tante estes autores trabalharam em condições artificiais e com 11 m a espécie altamente patogênica. Pensamos que as observações CROFTON & WHITLOCK (1969) com H. c. cayuqensis em de sejam mais relevantes. Estes autores observaram valores de $\,\Theta\,$ entre 41,2° e 69,3° correspondendo a \pm 0,88 até \pm 2,69 em mais expostos durante diversos períodos a infecções naturais nas pastagens, e diversos períodos após o último dia de pastagem até o sacrifício.

OGBOURNE (1971) fez observações em matadouro de eqüinos, calculando razões para Strongylus vulgaris (Looss, 1900) entre 47,6° a 62,6° (ou ± 1,0951 a 1,9210) e 47,6° para Strongylus edentatus (Looss, 1900) (ou ± 1,0951 a 1,9292). O número de animais pesquisados, a procedência e o manejo não foi fornecido, o que poderia influenciar nos resultados obtidos.

Além dos diferentes aspectos citados nos trabalhos

acima, não achamos muito expressivo o uso da razão Θ . Sendo que enfrentamos uma situação binomial, isto é, para o número de fêmeas/número de machos é mais apropriado o uso do teste binomial.

A tabela apresentada por MACKINNON (1964) oferece maneira de testar rapidamente as proporções de uma populauma dicótoma nos diversos níveis de significância. Aplicando ção esta tabela aos dados individuais dos bezerros para cada grau sangue, obtivemos a Tabela 17. Por ela pode-se verificar, de para o grau de sanque 1/2 HVB, que todos os animais tiveram uma razão fêmea/macho significativamente diferente da rada, diferenciando-se dos outros grupos estudados. Enfatizaque a tabela de Mackinnon é válida até contagens totais mos 1.000 exemplares, e que em poucos casos não foi possível aplicar em nossos dados. Observamos que o grupo F_1 apresentendência bastante diferente a do grupo puro sangue ta uma (HVB) e a dos demais.

Utilizando o teste binomial para grandes amostras (N>30) cuja equação é dada por:

$$z = \frac{x - \mu x}{6} \qquad \frac{(n\hat{p} - nc) - 0.5}{\sqrt{n\hat{p}\hat{q}}}$$

segundo ZAR (1974), foi calculado individualmente para cada animal e cada mês as razões fêmea/macho (Tabela 18).

Podemos concluir do teste de MacKinnon (MACKINNON, 1964), e do teste binomial para grandes amostras que a razão fê-

Tabela 17. Valores de P entre a razão fêmea/macho para cada animal em cada grau de sangue, Teste de MacKinnon MACKINNON (1964).

HVB	7/8	3/4	5/8	1/2	1/4
-	≈ 0,01	<0,001	<0,001	<0,001	0,001 <p<0,01< td=""></p<0,01<>
<0,001	n.s.	-	0,10 <p<0,50< td=""><td><0,001</td><td>n.s.</td></p<0,50<>	<0,001	n.s.
= 0,50	= 0,01	<0,001	<0,001	0,01 <p<0,02< td=""><td><0,001</td></p<0,02<>	<0,001
<0,001	<0,001	= 0,50	<0,001	<0,001	<0,001
= 0,001	= 0,05	0,001 <p<0,01< td=""><td>-</td><td><<0,001</td><td>0,10<p<0,50< td=""></p<0,50<></td></p<0,01<>	-	<<0,001	0,10 <p<0,50< td=""></p<0,50<>
,01 <p<0,02< td=""><td><0,001</td><td><0,001</td><td></td><td>0,001<p<0,01< td=""><td>= 0,50</td></p<0,01<></td></p<0,02<>	<0,001	<0,001		0,001 <p<0,01< td=""><td>= 0,50</td></p<0,01<>	= 0,50
,10 <p<0,50< td=""><td></td><td></td><td></td><td><<0,001</td><td>n.s.</td></p<0,50<>				<<0,001	n.s.
				<0,001	
				0,10 <p<0,05< td=""><td></td></p<0,05<>	

Tabela 18. Valores de P obtidos com a prova binomial para grandes amostras para a razão fêmea/macho por mês de experimento.

Mês	Nivel de	Significância
	aan ay'aanaa garagay sanaayaa yaanaa ay aanaa qaabaa yaabaa sanaa sanaa sanaa aa dabaa ahaa ahaa ahaa ahaa aha	
Janeiro	P <	< 0,001
Fevereiro	₽ <	< 0,001
Março	P <	< 0,001
Abril	P <	< 0,001
Maio	P <	< 0,001
Junho .	P <	< 0,001
Julho	P <	< 0,001
Agosto	P <	< 0,001

mea/macho para *Cooperia* spp. nesta população de hospedeiros, difere significativamente da esperada, visto por grau de sangue e por mês, e que a geração F1 (1/2 HVB) mostra uma tendência significativamente diferente neste aspecto do que os demais grupos de animais.

C. RELAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE OVOS DA PARTE ANTERIOR DO ÚTERO DE 100 FÊMEAS E OS GRAUS DE SANGUE

Podemos observar que os resultados do teste χ^2 , neste caso, são sem fatores significativos (Tabela 19).

DIXON (1971) observou, em 78 fêmeas de *M. apri*, que houve uma correlação positiva (r = + 0,3396, P<0,01) entre o tamanho da população e a média do número de ovos por fêmea, embora o valor de OPF (ovos por fêmea) variasse muito. DIXON (1971) levantou algumas sugestões para a relação: diminuição do efeito da reação imunológica, devido ao grande número de parasitos ocorre menor supressão de ovos por fêmea; aumento da possibilidade de fecundação das fêmeas, devido ao grande número de parasitos. Neste último caso, poderíamos esperar uma razão fêmea/ macho mais alta, o que não foi observado por este autor.

Observamos, pela Tabela 20, que a maior carga média mensal durante o período do experimento foi de 40.146 em fevereiro, e que a menor foi de 3.956 em agosto. Associados com estas cargas, observamos OPF de 10,06 e 24,58, respectivamente, resultados estes opostos aos de DIXON (1971). As razões fêmea/macho não apresentaram uma correlação deste tipo.

Tabela 19. Relação entre o número de ovos por fêmea e o grau de sangue HVB e Guzerá (Qui-quadrado).

	HVB	7/8	3/4	5/8	1/2	1/4
нув	-	P ~ 0,50	0,50 <p<0,25< td=""><td>0,50<p<0,25< td=""><td>0,75<p<0,50< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""></p<0,75<></td></p<0,50<></td></p<0,25<></td></p<0,25<>	0,50 <p<0,25< td=""><td>0,75<p<0,50< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""></p<0,75<></td></p<0,50<></td></p<0,25<>	0,75 <p<0,50< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""></p<0,75<></td></p<0,50<>	0,90 <p<0,75< td=""></p<0,75<>
7/8		-	0,90 <p<0,75< td=""><td>0,95<p<0,75< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""></p<0,75<></td></p<0,75<></td></p<0,75<></td></p<0,75<>	0,95 <p<0,75< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""></p<0,75<></td></p<0,75<></td></p<0,75<>	0,90 <p<0,75< td=""><td>0,90<p<0,75< td=""></p<0,75<></td></p<0,75<>	0,90 <p<0,75< td=""></p<0,75<>
3/4	•	in service and the service of the personal and another the	_	0,95 <p<0,90< td=""><td>0,75<p<0,50</p<</td><td>N.S.</td></p<0,90<>	0,75 <p<0,50</p<	N.S.
5/8		•	The secretary and the secretar		0,75 <p<0,50< td=""><td>0,95<p<0,90< td=""></p<0,90<></td></p<0,50<>	0,95 <p<0,90< td=""></p<0,90<>
1/2			,			0,75 <p<0,50< td=""></p<0,50<>
1/4				•		_

Tabela 20. Análise dos dados obtidos para Cooperia spp. para cada grupo mensal nos diferentes meses do experimento.

	M c s							
Caracteres	Jan. Fev.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.
úmero de helmintos (x)	34.802	40.146	16.220	10.397	7.705	5.285	15.804	3.956
azão fêmea/macho (x)	1,73658	1,44123	1,37802	1,83068	2,47617	2,12708	1,51110	1,64765
lúmero de ovos por fêmea (x)	14,51	10,06	12,31	7,89	23,90	22,15	17,66	24,58
implitude do número de ovos (x)	21,80	21,20	23,00	18,60	36,25	35,00	28,60	46,60

Por isso, tentamos analisar estes dados utilizando a técnica de postos ("ranking") apresentando na Tabela 21, 1 e subtotal 2. Concluímos que, nos postos de carga média de helmintos e razão fêmea/macho, não há correlação, mas no caso dos postos, a carga média de helmintos e ovos por fêmea, obreferida para fevereiro. Podemos servamos a relação јá então, que no conjunto da carga média de helmintos e a razão OPF não houve uma relação complexa entre estes componentes. A amplitude do número de ovos por fêmea segue os resultados de OPF, uma observação também oposta a de DIXON (1971).

Na Tabela 21, estamos eliminando o efeito dos graus de sangue dos bezerros, utilizando as médias mensais de todos os animais disponíveis em cada mês (Tabela 1).

Agrupando os mesmos dados, mas agora com a menor carga de helmintos em média durante o experimento, demonstra-se a maior razão fêmea/macho, mas o OPF é o segundo mais baixo; o grupo 7/8, com maior carga de helmintos, tem a razão fêmea/macho em segundo lugar e o OPF no terceiro lugar. Quanto a amplitude dos ovos por fêmea, não há uma razão distinta (Tabela 22).

Podemos concluir que as relações mais fortes são:

- 1) Carqa de helmintos por grau de sangue;
- 2) Carga de helmintos + grau de sangue + razão fêmea/macho; e que as outras relações estudadas, por enquanto, são menos interessantes.

Tabela 21. Postos dos valores, por mês, derivados da Tabela 20.

	Ме́s							
Caracteres	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.
Carga média do número de helmintos	7	8	6	4	3	2	5	1
Razão fêmea/macho	5	. 2	1	1 6	8	7	3	4
Subtotal I	12	10	7	10	11	9	8	5
Número de ovos por fêmea	4	2	3	1	7	6	5	8
Subtotal 2	16	12	10	11	18	15	13	13
Amplitude do número de ovos	3	2.	4	1	7	6	5	8
Total	19	14	14	12	25	21	18 ,	21

Tabela 22. Postos dos valores por grau de sangue derivados da Tabela 13.

0	·		Graus d	le Sangu	re	
Caracteres	HVB	7/8	3/4	5/8	1/2	1/4
	,	4		^	-	0
Média do número de helmintos Razão fêmea/macho	3				1 6	
a.1*		n	1.0	······································		
Subtotal	7	. 8	10	7	7	3
Número de ovos por fêmea	1	3	5	б	2	4
Subtotal	8	11	15	13	9	7
Amplitude do número de ovos	1	5		2	3	3
Total	9	16	21	15	12	10

d. VARIAÇÕES DAS CARGAS MENSAIS

Os dados mensais obtidos durante o experimento, são insuficientes para tirar conclusões sobre a epidemiologia do gênero *Cooperia* na área estudada. Contudo, são contribuições aos trabalhos concomitantes feitos com os mesmos animais no período de janeiro a agosto de 1980 (Figura 3). Por esta Figura podemos observar que as cargas de helmintos, após um pico no mês de fevereiro, sofreram um decréscimo durante o restante do período experimental, com exceção de um pico registrado no mês de julho. Ainda podemos observar, pela Figura 3, que as cargas seguem aproximadamente as variações das precipitações pluviométricas, com exceção do último pico, julho , o mês mais seco do ano, com uma precipitação total de 2,3 mm.

A temperatura média compensada mínima durante o experimento foi de 17,4°C, em junho e a máxima de 24°C, em março. Sabemos que esta faixa de temperatura é suficiente para permitir o desenvolvimento e a sobrevivência de *Cooperia* spp. nas pastagens (BRAGA, 1980).

COSTA et al. (1974) observaram que o declínio das cargas de *Cooperia* spp. era sincronizado com o declínio das precipitações pluviométricas, o que aparentemente acontece em nosso experimento (Figura 3).

Uma análise utilizando o teste de postes de Spearmann, relacionando as cargas observadas com o total da precipitação durante o mês anterior, mostra uma relação significativa

Tabela 23. Postos de Spearmann para a média das cargas mensais em relação à precipitação pluviométrica durante o período de pastejo (D = 0.05 < P < 0.10).

Média das Cargas Mensais	Postes	-Precipitação em mm (mensal -1)	Postes	đ	d²
34.802	2	137	2	0	0
40,146	1	281	l	0	0
16.220	3	75	Ţ	-1	1
15.804	4	48	6	-2	4
10.397	5	55	5	0	0
7.705	6	88	3	3	9
5.285	7	39	7	0	0
3.956	8	20	8	0	0

(0,05<P<0,10) o que poderia ser interpretado como prova do efeito das precipitações pluviométricas sobre as cargas de *Coope*-ria spp. (Tabela 23).

Devemos ressaltar, no entanto, que isso não pode ser afirmado sem levar em consideração o seguinte:

- 1) o pico de fevereiro poderia ser explicado em termos da precipitação pluviométrica do mes anterior (precipitação total 280,9 mm), o mesmo ocorrendo para o mês de julho, sendo que em junho houve uma precipitação total de 47,6 mm;
- 2) no mês de maio não observamos um aumento das cargas, embora houvesse, no mês anterior, uma precipitação pluviométrica ainda maior, num total de 87,8 mm do que em junho;
- 3) ausência de outras espécies comuns de nematódeos gastrintestinais, tais como *Trichostrongylus axei* (Cobbold, 1879) e *T. colubriformis* (Giles, 1892) e as cargas extremamente baixas de *H. placei* Place, 1893, podemos indagar se as condições de ambiente da áreas experimental são favoráveis para infecções deste tipo em geral, e então se a curva apresentada na Figura 3 é representativa da dinâmica de *Cooperia* spp. nesta região.
- 4) CARMO & NASCIMENTO (1961), MADALENA, MARTINEZ & FREITAS (1979) enfatizaram que as pastagens da Fazenda Santa Mônica são de baixa produção, principalmente na época seca, o que torna a alimentação dos animais precária. Por isso, durante o período seco, todos os animais receberam quantidades variáveis de suplementação, além da suplementação dada

normalmente aos bezerros. Não sabemos se este manejo poderia influenciar a quantidade de pasto consumido pelos bezerros e, conseqüentemente, o número de larvas L_3 ingeridas.

Através destas considerações, é improvável que seja válido tirar conclusões gerais sobre a dinâmica de *Cooperia* spp. Sugerimos, então, que outros experimentos sejam necessários antes da formulação de um modelo epidemiológico para a região.

e. IDENTIFICAÇÃO DO GÊNERO Cooperia

Após o exame de todos os machos presentes nas alíquotas dos 40 bezerros estudados, observamos que o gênero *Cooperia* é representado pelo menos por duas espécies bem definidas: *C. punctata* e *C. spatulata*. Sendo a última, pela primeira vez, assinalada na América do Sul, razão pela qual descreveremos em maiores detalhes.

C. spatulata foi descrita, pela primeira vez, por BAY-LIS (1938), de material proveniente da Malásia e da Austrália. Sua distribuição atual ê apresentada na Tabela 24 e Figura 6. Podemos observar que esta espécie, por enquanto, tem sua distribuição limitada às áreas tropicais a temperadas, embora aparentemente ausente nas áreas temperadas frias. Observamos, também, que o parasito foi encontrado em bovinos e ovinos, sendo mais freqüente nos primeiros.

Em nosso material, encontramos um total de 790 ma-

Tabela 24. Distribuição mundial de *Cooperia spatulata* Baylis, 1938, baseada na literatura.

<u> </u>	Árca	Hospedeiro	Autor e ano	_
Austrālia:	Malasia e Austrália Queensland	bovino - ovino ovino bovino	BAYLIS (1938) ROBERTS (1938) ROBERTS (1939)	
	Queensland New South Wales	bovino	SEDDON (1947)	
Estados	Georgia	bovino	BECKLUND (1958)	
Unidos:	Hawai	bovino	ALICATA (1960)	
	Florida	bovino	BECKLUND (1961a)	
	Georgia	ovino	FECKLUND (1961b)	
	Mississippi	ovino	KN1GHT (1962)	
	Lousiania	bovino	KNIGHT (1962)	
	Geórgia e Flórida	bovino	WALKER & BECKLUND (1968)	
África:	Kenya	bovino - ovino	ROUND (1962)	6
	Natal-Africa do Sul	bovino	ORTLEPP (1964)	9
Brasil:	Ric de Janeiro	bovino	Presente Trabalho	

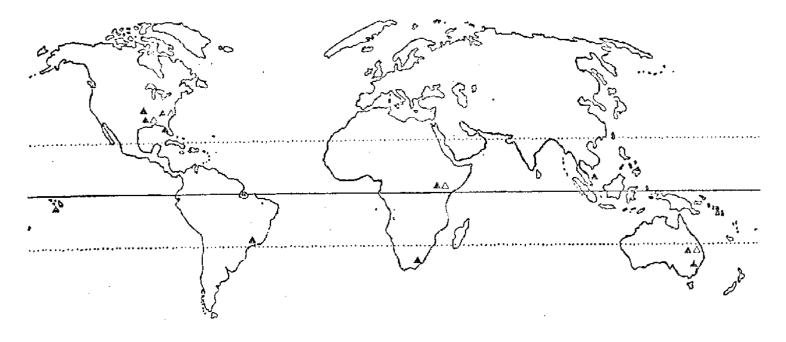


Figura 6. Distribuição mundial de Coopería Spatulata Baylis, 1938 (\triangle = Bovino; \triangle = Ovino).

chos e 280 fêmeas (Tabela 10); sendo que as últimas foram identificadas segundo as características morfológicas dadas por BAYLIS (1938). Devemos enfatizar que as fêmeas do gênero Cooperia são polimórficas (STRINGFELLOW, 1970), o que torna impossível provar que houve mais fêmeas desta espécie presente nas alíquotas examinadas. Na verdade, encontramos mais 1.070 exemplares de fêmeas cuja morfologia não permite a identificação certa como C. spatulata ou C. punctata, estas fêmeas serão assunto de outro estudo.

Na Tabela 11 é dada a biometria de 57 machos adultos de *C. spatulata*. Incluindo nesta tabela os limites de variação para facilitar a comparação com a descrição original de BAYLIS (1938).

Na Tabela 12 é apresentada a biometria de 28 fêmeas adultas de *C. spatulata*, também como os intervalos de variação.

Tabela 25, incluímos as medidas dadas por BAYLIS Comparando as três Tabelas anteriormente citadas, verificamos, nos machos, que a única medida que difere muito das BAYLIS (1938) é a do comprimento dos observações de explicado pelas diferenças das áreas geográficas, Isto pode ser poucos exemplares disponíveis por BAYLIS (1938) e pelo fato dos que tinham proveniência de bovinos e ovinos; esta hipótese é reforçada pelas observações de WALKER & BECKLUND (1968), que foram feitas com 39 espécimens de C. spatulata provenientes somente de bovinos e apresentaram um intervalo de variações para o comprimento dos espículos de 184 a 279u, isto é, muito próxi-

Tabela 25. Mensurações de *Cooperia spatulata* da descrição original, BAYLIS (1938).

Caracteres	Macho*	Fêmea*	
Comprimento total	6,3 - 7,5	6,1 - 7,8	
Comprimento do esôfago	0,35 - 0,41	0,4 - 0,44	
Espessura māxima frente bolsa	0,16 - 0,21	-	
Comprimenta do espículo	0,23 - 0,29	-	72
Espessura frente flap vulvar	-	0,17 - 0,24	
Comprimento do ovojetor	••••	0,30 - 0,55	
Distância vulva à extremidade posterior	-	1,4 - 2,1	
Distância ânus à extremidade posterior		0,17 - 0,21	
Ovos	m	0,068 - 0,082 x 0,034	- 0,042

^{*} Todas as medidas foram dadas em mm.

mo das nossas observações (Tabela 11).

Também sabemos que a população, trabalhada por nós, estava em desenvolvimento, posto que foram encontrados espécimens em diversas fases de desenvolvimento (L_4 , L_5 e adulto).

As fêmeas, por nós observadas, conferem com as observações de BAYLIS (1938), com exceção do comprimento total e comprimento do esôfago; atribuímos estas diferenças, também, aos mesmos fatores referidos para os machos.

Nas Figuras 7 e 8 estão apresentadas as características morfológicas para *C. spatulata*. Na Figura 7a, observamos os espículos iguais, sem projeções e ornamentações; havendo uma pequena concavidade ventral situada aproximadamente a 1/3 da extremidade posterior do espículo, o qual termina com pequena placa membranosa, observamos ainda o cone genital. STRINGFELLOW (1970) determinou que esta estrutura é idêntica nas espécies de *C. punctata* e *C. spatulata*.

Na Figura 7b, observamos o raio dorsal com a implantação dos ramos laterais ao nível da bifurcação principal e os processos digitiformes na extremidade posterior do raio dorsal.

Nas fêmeas, verificamos que a região vulvar é característica, concordando com a descrição e desenho de BAYLIS (1938), Figura 8a; é apresentada a inflação cefálica e os lábios, Figura 8b. A ponta da cauda da fêmea termina suavemente com ligeiras estrias transversais, Figura 8c.

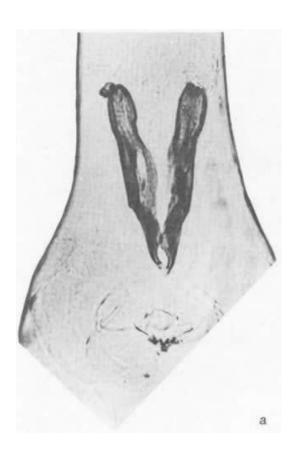
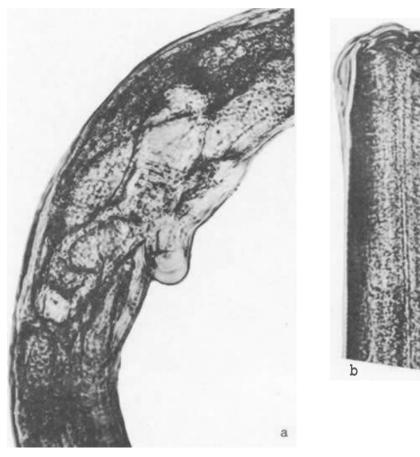




Figura 7. Características morfológicas do macho de *C. spatulata*Baylis, 1938. a = espículos; b = raio dorsal.



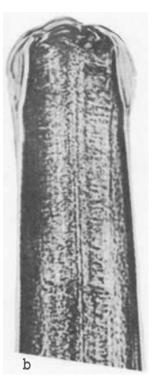




Figura 8. Características morfológicas de *C. spatulata* Baylis, 1938. a = Região vulvar; b = parte anterior da fêmea e do macho; c = ponta da cauda da fêmea.

VI. CONCLUSÕES

- 1) O grupo de bezerros F1 (1/2 HVB) apresenta uma carga média de *Cooperia* spp. significativamente baixa em relação aos demais grupos. O grupo de bezerros HVB apresenta uma carga média de *Cooperia* spp. entre o grupo F_1 e o B_1 (3/4 HVB).
- 2) O grupo de bezerros F_1 (1/2 HVB) apresenta uma razão fêmea/macho para Cooperia spp significativamente diferente dos demais grupos embora sempre houvesse mais fêmeas do que machos em todos os grupos.
- 3) A apresentação da razão fêmea/macho é mais expressiva utilizando testes binomiais (por exemplo de MACKINNON (1964) ou o teste binomial para grandes amostras) doque o uso da transformação θ .
- 4) Não houve uma relação significativa entre o grau de sangue e o número médio de ovos por fêmea;
- 5) As relações significativas são entre: cargas de helmintos + grau de sangue; carga de helmintos + grau de san-

gue + razão fêmea/macho; os demais fatores (número de ovos por fêmeas e variação do número de ovos) não são significativamente correlacionados.

- 6) Os dados obtidos durante o experimento não são suficientes para a construção de um modelo da dinâmica das cargas de *Cooperia* spp.
- 7) As espécies do gênero *Cooperia*, presentes, são:

 C. punctata v. Linstow, 1907 e C . spatulata Baylis, 1938, sendo assinalada pela primeira vez na América do Sul.

VII. RESUMO

Utilizando 40 bezerros de seis graus de sangue (HVB x Guzerá) provenientes do Centro Nacional de Pesquisas de Gado de Leite (CNPGL) - EMBRAPA, município de Marquês de Valença, Estado do Rio de Janeiro, foram realizadas análises da relação entre a carga média encontrada, razão fêmea/macho e o número de ovos por fêmea para cada grau de sangue, para o gênero Cooperia.

- O grupo F_1 (1/2 HVB) apresentou a menor carga de helmintos, bem como, a razão fêmea/macho mais significativa do que o grupo HVB e os demais grupos. O número de ovos por fêmea não apresentou diferenças significativas.
- O grupo HVB apresentou valores intermediários para os aspectos analisados. Algumas observações preliminares sobre a dinâmica das cargas são apresentadas.

Foram identificadas, no gênero *Cooperia*, as espécies C. punctata v. Linstow, 1907 e C. spatulata Baylis, 1938, salientando-se que esta última está sendo assinalada pela primeira vez como parasita de bovinos na América do Sul.

VllI. SUMMARY

THE RELATIONSHIP BETWEEN MEAN WORM-BURDEN, FEMALE/MALE RATIO AND THE NUMBER OF EGGS PER FEMALE IN POPULATION OF *Cooperia* spp. IN CALVES FRIESIAN HOLSTEIN AND FRIESIEN HOLSTEIN X GUZERA CROSSES

Forty calves of the breeding types Holstein-Friesian Red (HVB) crossed with Guzerá were used in this study and were obtained from the National Centre for Dairy Cattle Research (CNPGL - EMBRAPA), municipality of Marques de Valença, Rio de Janeiro State. Analyses were made of the relation between mean worm burden, female/male ratio, and the number of eggs per female of Cooperia spp., within and between the breeding types.

The $\rm F_1$ group (1/2 HVB) carried the lowest mean burden of helminths and the female/male ratio was more significant than in the HVB or other groups. The number of eggs per female did not present significant differences.

The group HVB showed intermediate values on analysis.

Some observations on the dynamics of the worm burdens are presented.

In the genus *Cooperia*, *C. punctata* v. Linstow, 1907 and *C. spatulata* Baylis, 1938 were observed, the latter species is recorded for the first time in South America.

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALICATA, J.E., 1960. Incidence of parasites in calves in Hawaii and the treatment of *Cooperia punctata*, with special reference to the efficacy of Ruelene. *Am. J. vet.*Res., 21;410-415.
- ALICATA, J.E., 1964. Parasitic infections of man and animals in Hawaii. Tech. Bull., 61, 138p.
- BAYLIS, H.A., 1938. A new species of *Cooperia* (Nematoda) from cattle and sheep. *Ann. Mag. nat. Hist. Ser.*, 11(1):68-73.
- BECKLUND, W.W., 1958. Cooperia spatulata recovered from cattle in the United States. J. Parasit., 44:186.
- BECKLUND, W.W., 1961a. Helminth infections of healthy Florida cattle, with a note on *Cooperia spatulata*. *Proc. helminth*.

 Soc. Wash., 28(2):183-184.

- BECKLUND, W.W., 1961b. Helminthiasis of sheep in Southern Georgia. J. Am. vet. med. Ass., 139(7):781-784.
- BECKLUND, W.W., 1964. Revised check list of internal and external parasites of domestic animals in the United States and Possessions and in Canada. Am. J. vet. Res., 25 (108):1380-1416.
- BRADLEY, D.J., 1965. A simple method of representing the distribution and abundance of endemic helminths. Ann. Trop.

 Med., 59(3):355-364.
- BRAGA, R.M., 1980. Desenvolvimento e sobrevivência de ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de bovinos sob condições naturais Tese de mestrado. UFRRJ. Rio de Janeiro, 89p.
- CARMO, J. & NASCIMENTO, C.B., 1961. Estudo sobre o comportamento da raça holandesa, var. malhada de preto, na fazenda "Santa Mônica", Barão de Juparanã, Estado do Rio de
 Janeiro. Ministério da Agricultura, Inst. Zootec., Publicação 39, 64p.
- CARNEIRO, J.R. & FREITAS, M.G., 1977. Curso natural de infecções helmínticas gastrintestinais em bezerros nascidos durante a estação chuvosa em Goiás. Arq. Esc. Ver. U.F. M.G., Belo Horizonte, 29(1):49-61.

- COSTA, H.M.A., 1965. Alguns aspectos sobre helmintos parasitos de *Sus domesticus* Linnaeus, 1758, procedentes do Estado da Bahia, Brasil. *Arq. Esc. Ver. U.F.M.G.*, Belo Horizonte, 17:11-44.
- COSTA, H.M.A. & FREITAS, M.G., 1970. Lista de helmintos parasitos dos animais domésticos do Brasil. Arq. Esc. Vet.

 U.F.M.G., Belo Horizonte, 22:33-94.
- COSTA, H.M.A.; FREITAS, M.G. & GUIMARÃES, M.P., 1970. Prevalência e intensidade de infecção por helmintos de bovinos procedentes da área de Três Corações. *Arq. Esc. Vet. U.F.M.G.*, Belo Horizonte, 22:96-101.
- COSTA, H.M.A.; COSTA, J.O.; GUIMARÃES, M.P. & FREITAS, M.G.,
 1971. Helmintos parasitos de bezerros procedentes da Bacia Leiteira de Ibiá-Minas Gerais. Arq. Esc. vet. U.F.M.
 G., Belo Horizonte, 23:221-228.
- COSTA, H.M.A.; FREITAS, M.G.; COSTA, J.O. & GUIMARÃES, M.P.,
 1973. Helmintos parasitos de bezerros na Bacia Leiteira
 de Calciolândia Brasil. Arq. Esc. Vet. U.F.M.G., Belo
 Horizonte, 25(2):111-116.
- COSTA, H.M.A.; GUIMARÃES, M.P.; COSTA, J.O. & FREITAS, M.G., 1974. Variação estacional da intensidade de infecção por helmintos parasitos de bezerros em algumas áreas de produção leiteira em Minas Gerais-Brasil. Arq. Esc. Vet. U.F.M.G., Belo Horizonte, 26(1):95-101.

- COSTA, A.J.; CAMPOS, M.S.; KASAI, N.; PAULILLO, A.C. & COSTA, A.F., 1978. Estudo preliminar sobre helmintoses gastrintestinais de bovinos no município de Jaboticabal, Estado de São Paulo, Brasil. Cient., 6(3):443-449.
- COSTA, A.J.; NOGUEIRA, C.Z. & COSTA, J.O., 1978. Curso natural das helmintoses gastrintestinais em bezerros nascidos durante a "Estação Seca" em Guaíra, Estado de São Paulo, Brasil. Arg. Inst. Biol., São Paulo, 45(4):291-298.
- COSTA, A.J.; COSTA, J.O.; SILVA, M.B.; CARVALHO, C.; PASTOR, J.

 C. & GALESCO, H., 1979. Helmintos parasitos de bezerros

 no município de Uruana-Goiás, Brasil. Arq. Esc, Vet. U.F.

 M.G., Belo Horizonte, 31(1):33-36.
- CROFTON, H.D. & WHITLOCK, J.H., 1969. Changes in sex ratio in Haemonchus contortus cayugensis, Cornell Vet., 59:388-392.
- DIXON, J.B., 1971. A positive correlation between population size and egg-content in *Metastrongylus apri* (Gmelin,1970).

 Parasitology, 63:191-194.
- FREITAS, M.G. & COSTA, H.M.A., 1970. Estudo da distribuição dos helmintos nas diferentes partes do sistema digestório de bezerros. Arq. Esc. Ver. U.F.M.G., Belo Horizonte,22: 179-196.

- FREITAS, A.F.; MADALENA, F.E & MARTINEZ, M.L., 1980. Idade do primeiro parto e intervalo entre partos de vacas HPB e mestiças HPB:GIR. *Pesq. agrop. bras.*, Brasília, 15(1): 101-105.
- FUNDAÇÃO IBGE, 1978. Anuário Estatístico do Brasil. Fundação

 Inst. Brasil. Geogr. Estat., Rio de Janeiro, 897p.
- FUNDAÇÃO IDERJ, 1979. Anuário Estatístico do Estado do Rio de Janeiro. Fundação Inst. Desenv. Econ., Rio de Janeiro, 615p.
- GRISI, L. & NUERNBERG, S., 1971. Incidência de nematódeos gastro-intestinais de bovinos, no Estado do Mato Grosso. Pesq. agropec, bras., Sér. vet., 6:145-149.
- GUIMARÃES, M.P.; FREITAS, M.G.; COSTA, H.M.A. & COSTA, J.O., 1975. Intensidade parasitária por nematóides no tubo digestivo de bezerros em diferentes faixas etárias. Arq. Esc. vet. U.F.M.G., Belo Horizonte, 27(1):67-72.
- GUIMARÃES, M.P.; COSTA, H.M.A.; COSTA, J.O. & FREITAS, M.G.,

 1976. The female to male ratio (FMR) in parasitism by

 nematodes from the genera Haemonchus, Cooperia, Trechos
 trongylus, Bunostomum, Oesophagostomum e Trichuris in cal
 ves. Arq. Esc. Vet. U.F.M.G., Belo Horizonte, 28(1):9
 15.

- HONER, M.R., 1980. Tipos de testes de antihelmínticos. Seminário, II *Congr. do Col. Bras. Parasitol*. Fortaleza, Ce, 12p (no prelo).
- KENNEDY, C.R., 1975. Ecological animal parasitology. Halsted Press, John Wiley & Sons, Inc., New York, 163p.
- KESSLER, R.H. & GONZALES, J.C., 1973. Achado helmintológico de necropsia de um bovino de Porto Velho, Território Federal de Rondônia, Brasil. Arq. Fac. Vet. U.F.R.G.S., Porto Alegre, 1 (1):47-49.
- KNIGHT, R.A., 1962. Occurrence of the nematodes, Trichostron-gylus longispicularis, Ostertagia lyrata and Cooperia spatulata in ruminants in Mississipi. Proc. helminthol.Soc. Wash., 29 (2):145-147.
- LeJAMBRE, L.F. & RATCLIFFE, L.H., 1971. Seasonal change in a balanced polymorphism in *Haemonchus contortus* populations. *Parasitology*, 62:151-155.
- LEVINE, N.D., 1968. Nematode parasites of domestic animals and of man. Ed. Burgess Publishing Company. E.U.A., 600 p.
- MACHADO, R.Z.; STARKE, W.A.; GIRIO, R.J.S.; SAMARA, S.I. & BE-RIGO, P.R., 1979. Freqüência e intensidade de infecção por helmintos gastrintestinais em bovinos abatidos no Frigorífico Anglo S/A, Barretos, Estado de São Paulo, Brasil. Cienc. (Número especial) : 103-109.

- MACIEL, F.C., 1979. Epidemiologia de helmintos gastrintestinais em bovinos de corte na região de Porto Velho. *Comuni-*cado Técnico nº 6, EMBRAPA, Porto Velho Rondônia, 23p.
- MACKINNON, W.J., 1964. Table for both the sign test and distribution-free confidence intervals of the median for sample sizes to 1,000. J. Amer. Statistical Assoc., 59:935-956.
- MADALENA, F.E.; MARTINEZ, M.L. & FREITAS, A.F., 1979. Lactation curves of Holstein-Friesian and Holstein-Friesan X Gir
 Cows. Anim. Prod., 29: 101-107.
- MELO, H.J.H., 1977. População de larvas infestantes de nematióides gastrintestinais de bovinos nas pastagens, durante a estação seca, em zona de cerrado do sul do Mato Grosso.

 **Arq. Esc. Vet. U.F.M.G., Belo Horizonte, 39(1):89-95.
- MELO, H.J.H. & BIANCHIN, I., 1977. Estudos epidemiológicos de infecções por nematódeos gastrintestinais de bovinos de corte em zona de cerrado de Mato Grosso. Pesq. agropec. bras., Brasília, 12: 205-216.
- MELO, H.J.H. & RIBEIRO, H.S., 1977. Helmintos parasitos dos animais domésticos no Estado de Mato Grosso. Arq. Esc.

 Vet. U.F.M.G., Belo Horizonte, 29(2):161-164.

- MOURA, J.A.J. 1974. Helmintos parasitos de bezerros na Bacia Leiteira de Itapetinga, Bahia, Brasil. *In: Anais Congr. Bras. Med. Vet.*, XIV, São Paulo, p.120.
- NOGUEIRA, C.Z.; COSTA, A.J.; MACHADO, R.Z. & KASAI, N., 1976.

 Evolução natural das infecções por nematóides parasitos gastrintestinais de bezerros nascidos durante a estação chuvosa em Guaíra, Estado de São Paulo, Brasil. Cient., 4(3):346-355.
- OGBOURNE, C.P., 1971. Variations in the fecundity of strongylid worms of the horse. *Parasitology*, 63:289-298.
- ORTLEPP, R.J., 1964. On the occurrence of *Cooperia mcmasteri*Gordon, 1932 and C. *spatulata* Baylis, 1938 (Nematoda) in
 bovines in South Africa. *J. S. Afr. vet. med. Ass.*, 35
 (2):157-159.
- PEREIRA, E., 1973. Prevalência e variação estacional dos nematóides gastro-intestinais em bezerros na região dos Dou rados, Goiás. Rev. Pat. Trop., 1(2) :55-61.
- RASSIER, D.S.S., 1975. Prevalência e variação estacional de nematóides parasitos gastrintestinais em bovinos na Encosta do Sudeste do Rio Grande do Sul. Tese de Mestrado, U.F.M.G., Belo Horizonte, 55p.

- ROBERTS, F.H.S., 1930 In: ROBERTS, F.S.H., 1939. The occurrence and prevalence of gastrointestinal helminths in apparently health catlle in Queensland, Australia. *J. comp. Path. Ther.*, 2(2):160-165.
- ROCHE, H. & PATRZEK, J., 1966. The female to male ratio (FMR) in hookworm. J. Parasit., 52(1):117-121.
- ROSE, J.H., 1963. Observations of the free-living stages of the stomach worm *Haemonchus contortus*. Parasitology, 53: 469-481.
- ROUND, M.C., 1962. The helminth parasites of domesticated animals in Kenya. J. Helminth., 36 (4):375-449.
- SEDDON, H.R., 1947. In: SEDDON, H.R., 1967. Diseases of domestic animals in Australia, part 1.: Helminth infestations. Commonwealth of Australia Department of Health, 2a. ed., 223p.
- SIEGEL, S., 1975. Estatística não paramétrica. McGraw-Hill do Brasil, São Paulo, 350p.
- SOUZA, R.M.; RAMOS, C.I. & SOUZA, A.P., 1977. Diagnóstico helmintológico em terneiros de corte no município de Lages,
 SC. Cumunicado Técnico n° 3, EMPASC-Florianópolis, 6p.

- STRINGFELLOW, F., 1970. Comparative morphology of the genital cones of *Cooperia* (Nematoda: Trichostrongylidae) from cattle and sheep in the United States with a key to the common species. *J. Parasit.*, 56(6) :1189-1198.
- TRAVASSOS, L., 1937. Revisão da família trichostrongylidae Lei: per, 1912. *Monogr. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro. 512p, 295 figs.
- WALKER, M.L. & BECKLUND, W.W., 1968. A note on the morphology of Cooperia punctata (Linstow, 1907) and Cooperia spatulata Baylis, 1938. Proc. helminth. Soc. Wash., 35(1): 49-51.
- ZAR, J.H., 1974. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall Inc.

 New Jersey, EUA, 620p.