

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TESE

Uso de Diferentes Reguladores de Crescimento Como Alternativa de
Controle de *Rhipicephalus microplus*

BARBARA RAUTA DE AVELAR

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

USO DE DIFERENTES REGULADORES DE CRESCIMENTO COMO
ALTERNATIVA NO CONTROLE DE *Rhipicephalus microplus*

BARBARA RAUTA DE AVELAR

Sob a Orientação da Professor
Fabio Barbour Scott

Tese submetida comorequisito parcial
para obtenção do grau de Doutor em
Ciências, no Programa de Pós-
Graduação em Ciências Veterinárias.

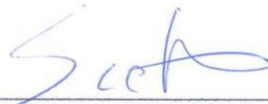
Seropédica, RJ
Abril de 2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

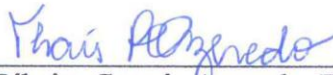
BARBARA RAUTA DE AVELAR

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

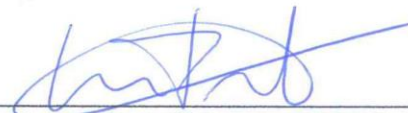
TESE APROVADA EM 03/04/2018



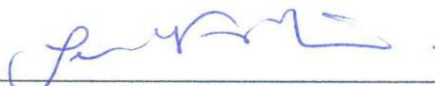
Fabio Barbour Scott Dr., UFRRJ
(Orientador)



Thaís Ribeiro Correia Azevedo, Dr^a., UFRRJ



Yara Peluso Cid, Dr^a., UFRRJ



Isabella Vilhena Freire Martins, Dr^a., UFES



Licius de Sá Freire, Dr., FIPERJ

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A948u Avelar, Barbara Rauta de , 1987-
Uso de Diferentes Reguladores de Crescimento Como
Alternativa de Controle de Rhipicephalus microplus /
Barbara Rauta de Avelar. - 2018.
120 f.

Orientador: Fabio Barbour Scott.
Tese (Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Ciências
Veterinárias, 2018.

1. carrapato. 2. benzoilfeniluréia. 3. análogo do
hormônio juvenil. I. Scott, Fabio Barbour, 1966-,
orient. II Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Programa de Pós Graduação em Ciências
Veterinárias III. Título.

Dedico a todos os animais...

“Um pouco de ciência nos afasta de Deus,
muito nos aproxima” Louis Pasteur

"De absoluto só a Relatividade." Albert
Einstein

“Não poucas vezes esbarramos com o nosso
destino pelos caminhos que escolhemos para
fugir dele.” Jean de La Fontaine.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dá forças invisíveis, nos momentos mais difíceis no caminho até aqui.

A minha família, especialmente meus pais Almir R. de Avelar e Vera L. Rauta de Avelar, e a minha irmã Lara Rauta de Avelar, por me apoiarem e entenderem os meus momentos de ausência, para poder cumprir essa jornada.

Ao Vinicius Fernandes meu companheiro de todas as horas, por estar ao meu lado nessa caminhada, com o seu carinho, amor e parceria.

Aos meus animais de estimação Zeus (in memorian), Amora e Tutu, e a todos os animais do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) por me ensinarem toda a beleza que existe na Veterinária. Especialmente aos animais que fizeram parte da Colônia de *Rhipicephalus microplus*, fundamentais na execução do trabalho.

Aos meus amigos do LQEPV que estiveram junto de mim, nestes quatro anos de doutorado, auxiliando nos experimentos, nos estudos. E com a amizade indo além às vezes do trabalho Rosangela dos Santos; Xuxu (Monique M. Lambert), Diefrey Ribeiro e aos demais alunos de pós graduação e residência do LQPV.

Aos queridos estagiários (Gabriela Almeida, Brenna Gava, Jéssica K. Chaves, Caroline Rodrigues, Nathalia Villela, Renan B. Tavares e Roxane Marina) que passaram durante esses quatro anos de trabalho pelo laboratório, alegrando os meus dias e tornando a execução das tarefas diárias menos extenuantes.

A equipe de campo do LQEPV por me ajudarem com as execuções dos experimentos e os manejo dos animais da colônia. Especialmente Gabriela F. Oliveira, Monique T. Medeiros e Raphael Comissário.

Ao setor de farmacometria do LQEPV por me ajudarem com as diluições utilizadas no experimento. Especialmente a Thais Paes por me auxiliar na compreensão de uma área distinta da minha formação, respondendo minhas milhares de duvidas.

As meninas do administrativo Jessica Lobato, Aline Pereira e Rafaella Vizzoni pela convivência no LQEPV nesses últimos anos.

Aos técnicos, Ivan Serafim pelo auxílio dados nas aulas de parasitologia, o apoio com os estudos e a torcida. E Arthur Santiago Junior pelos auxílios com questões burocráticas.

As minhas queridas amigas e ex-professoras Louisiane C. Nunes e Isabella V. F. Martins por me ensinarem o prazer pela pesquisa que mantenho até hoje.

Aos professores do curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias (PGCV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) pelos conhecimentos transmitidos. Especialmente a professora Thais R. Correia, por está sempre disposta a ajudar e por todo o conhecimento passado nestes quatros anos. Inclusive por estimular o meu amor pela parasitologia. A professora Katherina Coumendouros pelas horas de descontração. E professora Melissa do C. Chambarelli pelos momentos de apoio.

Ao meu orientador Fabio B. Scott pela orientação e por me ensinar o gosto pela sala de aula, que resolvi levar pelo resto da vida.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo auxílio financeiro cedido nestes quatros anos.

A FAPUR (A Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da UFRRJ) e ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo financiamento da pesquisa

A UFRRJ e ao PGCV por me proporcionarem esta experiência

BIOGRAFIA

Barbara Rauta de Avelar nasceu na cidade de Cachoeiro de Itapemirim no Espírito Santo, no dia 04 de dezembro de 1987, filha de Vera Lucia Rauta de Avelar e Almir Ribeiro de Avelar. cursou o ensino fundamental no Colégio Municipal Professor Pedro Estelita Herkenhoff. No ensino fundamental foi aprovada em segundo lugar na Escola Agrotécnica Federal de Alegre, mas cursou o mesmo na Escola Guimarães Rosa, em Cachoeiro de Itapemirim, onde se formou no ano de 2005. Em 2006 ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal do Espírito Santo, por meio de vestibular, no município de Alegre. Durante a graduação foi bolsista de Extensão FAPES e bolsista de iniciação científica CAPES em projetos relacionados a parasitologia, também foi estagiária do Laboratório de Parasitologia Veterinária, sob a orientação da Professora Dr^a. Isabella Vilhena Freire Martins do terceiro período da graduação até graduar-se no primeiro semestre de 2011. Publicou o primeiro artigo científico como co-autora no ano de 2008, no quinto período da graduação. No segundo semestre de 2011 ingressou no curso de Mestrado em Ciências Veterinárias da UFES, com concentração na área de Parasitologia Veterinária, com bolsa CAPES. No qual defendeu a seguinte dissertação em julho de 2013: Análise Espacial da Favorabilidade da Ocorrência de Cisticercose Bovina no Espírito Santo, sob a orientação da Professora Dr^a. Isabella Vilhena Freire Martins. De agosto de 2013 a fevereiro de 2014 trabalhou como apoio técnico da FAPUR no LQEPV. E em março de 2014 ingressou no Doutorado, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, com bolsa CAPES sob a orientação do Professor Dr. Fabio B. Scott.

RESUMO

AVELAR, Barbara Rauta de. Uso de diferentes Reguladores de Crescimento como alternativa no controle de *Rhipicephalus microplus*. 119f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

Com o objetivo de avaliar a eficácia *in vitro*, sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*, dos reguladores de crescimento fluazuron, piriproxifen e diflubenzuron em três ensaios realizados com metodologias de solubilização e tempo imersão distintos. Os ensaios *in vitro* foram realizados com carrapatos oriundos da cepa Porto Alegre. As metodologias de solubilização empregadas para os três ensaios foram as seguintes: no primeiro ensaio utilizou-se concentrado emulsionável de fluazuron a 10%, e para o piriproxifen e diflubenzuron foi utilizado matéria prima solubilizada em Triton-X 100 a 10% e xilol, a diluição seriada também em água destilada. Neste ensaio foram analisadas as seguintes concentrações para os três reguladores de crescimento 7.000, 6.000, 5.000, 4.000, 3.000, 2.000, 1.000, 500, 250 e 125 ppm. No segundo ensaio utilizou-se matéria prima de fluazuron e piriproxifen solubilizada em Triton-X 100 e N-metilpirrolidona e concentrado emulsionável de diflubenzuron a 1%, também com a realização da diluição seriada em água destilada. Neste foram utilizadas concentrações distintas para os reguladores de crescimento, para o fluazuron as concentrações foram 4.000, 3.750, 3.500, 3.000, 2.750, 2.500, 2.000, 2.250, 2.000, 1.750, 1.500, 1.250, 1.000, 750, 500, 250, 100 e 50 ppm, para o piriproxifen 13.000, 12.000, 11.000, 10.000, 9.000, 8.000, 7.000, 6.000, 5.000, 4.000, 3.000, 2.000, 1.000, 500, 250, 100 e 50 ppm e para o diflubenzuron 10.000; 9.000; 8.000; 7.000; 6.000; 5.000; 4.000; 3.000; 2.000; 1.000; 500; 250; 125 e 62,5 ppm. No terceiro e último ensaio foi utilizada matéria prima de fluazuron, piriproxifen e diflubenzuron diluída em Triton-X 100, N-metilpirrolidona e acetona, com a diluição seriada realizada com o diluente. As concentrações em ppm no terceiro ensaio foram as mesmas para os três reguladores de crescimento, sendo 4.000; 3.000; 2.000; 1.000; 500; 100; 50; 25; 1; 0,5; 0,1; 0,05 e 0,01 ppm. Para a realização do ensaio *in vitro* as fêmeas ingurgitadas foram imersas nas diferentes concentrações por tempos distintos, no primeiro estudo por cinco minutos e nos dois seguintes por um minuto, depois de secas e pesadas foram acondicionadas individualmente em placa de petri por 21 dias para pesagem das respectivas posturas. Posteriormente foram acondicionadas por mais 21 dias para a leitura do percentual de eclosão. Como resultado, o fluazuron apresentou eficácia de 100% nos três ensaios, principalmente nas concentrações mais altas. O piriproxifen apresentou eficácia mais alta no último ensaio, com 89% de eficácia na concentração de 3.000 ppm, no entanto nos outros ensaios apresentou eficácia de aproximadamente 70% nas maiores concentrações, em todos os três ensaios foi observado que o piriproxifen reduziu o peso das posturas. E o diflubenzuron apresentou maior eficácia no primeiro estudo, no entanto a solubilização deste não foi adequada, no segundo e terceiro ensaios a eficácia encontrada para este regulador do crescimento foi inferior a 40%. Assim é possível concluir que os diferentes resultados sobre os pesos das posturas oriundas das fêmeas ingurgitadas, como as diferentes porcentagens de eclosão, os índices de eficiência reprodutiva e as eficácias para os reguladores dos crescimentos utilizados foram decorrente das metodologias de solubilização da matéria prima.

Palavras chaves: Carrapato, benzoilfeniluréia, análogo do hormônio juvenil

ABSTRACT

AVELAR, Barbara Rauta de. Use of different Growth Regulators as an Alternative in the Control of *Rhipicephalus microplus*. 119f. Thesis (Doctorate in Veterinary Sciences). Veterinary Institute, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

In order to evaluate the *in vitro* efficacy, on the engorged females of *Rhipicephalus microplus*, of the growth regulators fluazuron, piriproxyfen and diflubenzuron in three tests carried out with different solubility methodologies and immersion time. Assays *in vitro* were performed with ticks from the Porto Alegre strain. The solubility methodologies used for the three tests were as follows: in the first test, fluazuron 10% emulsifiable concentrate was used, and for the pyriproxyfen and diflubenzuron, solubilized feedstock was used in Triton-X 100 10% and xylol, a dilution also in distilled water. In this assay the following concentrations were analyzed for the three growth regulators 7.000, 6.000, 5.000, 4.000, 3.000, 2.000, 1.000, 500, 250 and 125 ppm. In the second assay fluazuron and pyriproxyfen solubilized in Triton-X 100 and N-methylpyrrolidone and diflubenzuron 1% emulsifiable concentrate were also used, also with the serial dilution in distilled water. In this, different concentrations were used for the growth regulators; for fluazuron the concentrations were 4.000, 3.750, 3.500, 3.000, 2.750, 2.500, 2.000, 2.250, 2.000, 1.750, 1.500, 1.250, 1.000, 750, 500, 250, 100 and 50 ppm, for piriproxyfen 13.000, 12.000, 11.000, 10.000, 9.000, 8.000, 7.000, 6.000, 5.000, 4.000, 3.000, 2.000, 1.000, 500, 250, 100 e 50 ppm and for diflubenzuron 10.000; 9.000; 8.000; 7.000; 6.000; 5.000; 4.000; 3.000; 2.000; 1.000; 500; 250; 125 and 62,5 ppm. In the third and final assay, fluazuron, piriproxyfen and diflubenzuron diluted in Triton-X 100, N- methylpyrrolidone and acetone with the serial dilution performed with the diluent. The concentrations in ppm in the third assay were the same for the three growth regulators, 4,000; 3,000; 2,000; 1,000; 500; 100; 50; 25; 1; 0.5; 0.1; 0.05 and 0.01 ppm. To perform the *in vitro* assay the engorged females were immersed at different concentrations for different times, in the first study for five minutes and in the two following for one minute, after drying and weighing were individually packed in petri dish for 21 days for weighing of the respective postures. Afterwards they were stored for another 21 days to read the percentage of hatching. As result, fluazuron showed 100% efficacy in all three trials, especially at the highest concentrations. Pyriproxyfen had the highest efficacy in the last trial, with 89% at 3,000 ppm, however, in the other trials, it showed approximately 70% efficacy at the highest concentrations in all three trials it was observed that pyriproxyfen reduced the weight of the postures. And diflubenzuron was more effective in the first study, however, the solubility of this drug was not adequate. In the second and third trials the efficacy was found to be less than 40%. Thus it is possible to conclude that the different results on the weights of the postures from the engorged females, such as the different hatching percentages, the reproductive efficiency indices and the efficacies for the growth regulators used were due to the methodologies of solubilization of the raw material.

Keyword: Tick, benzoylphenylureas, Juvenile Hormone Analogues

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de <i>Rhipicephalus microplus</i> , em diferentes concentrações de fluazuron. (Primeiro ensaio).....	21
Tabela 2. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de <i>Rhipicephalus microplus</i> , imersas em diferentes concentrações de Piriproxifen. (Primeiro ensaio).....	23
Tabela 3. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de <i>Rhipicephalus microplus</i> , imersas em diferentes concentrações de Diflubenzuron. (Primeiro ensaio).....	25
Tabela 4. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de <i>Rhipicephalus microplus</i> , imersas em diferentes concentrações de Fluazuron. (Segundo ensaio).....	27
Tabela 5. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de <i>Rhipicephalus microplus</i> , imersas em diferentes concentrações de Piriproxifen. (Segundo ensaio).....	29
Tabela 6. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de <i>Rhipicephalus microplus</i> , imersas em diferentes concentrações de Diflubenzuron. (Segundo ensaio).....	31
Tabela 7. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de <i>Rhipicephalus microplus</i> , imersas em diferentes concentrações de Fluazuron. (Terceiro ensaio)	33
Tabela 8. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de <i>Rhipicephalus microplus</i> , imersas em diferentes concentrações de Piriproxifen. (Terceiro ensaio)	35
Tabela 9. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de <i>Rhipicephalus microplus</i> , imersas em diferentes concentrações de Diflubenzuron. (Terceiro ensaio)	37
Tabela 10. Eficácia do fluazuron sobre fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus microplus</i> , para o primeiro, segundo e terceiro ensaio	39
Tabela 11. Eficácia do piriproxifen sobre fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus microplus</i> , para o primeiro, segundo e terceiro ensaio	42
Tabela 12. Eficácia do dilubenzuron sobre fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus microplus</i> , para o primeiro, segundo e terceiro ensaio	44

LISTAS DE QUADRO

Quadro 1. Metodologias para solubilização dos princípios ativos e de imersão de teleóginas utilizadas no primeiro, no segundo e no terceiro ensaio.....	18
---	----

ANEXOS

ANEXO A. Cópia de declaração da aprovação do comitê de ética para manutenção da colônia de <i>Rhipicephalus microplus</i>	57
ANEXO B. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para fluazuron no primeiro ensaio	58
ANEXO C. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para piriproxifen no primeiro ensaio	62
ANEXO D. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para diflubenzuron no primeiro ensaio	66
ANEXO E. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para fluazuron no segundo ensaio.....	70
ANEXO F. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para piriproxifen no segundo ensaio.....	77
ANEXO G. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para diflubenzuron no segundo ensaio.....	84
ANEXO H. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para fluazuron no terceiro ensaio.....	90
ANEXO I. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para piriproxifen no terceiro ensaio	96
ANEXO J. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para diflubenzuron no terceiro ensaio.....	102

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Rhipicephalus (Boophilus) microplus.....	3
2.1.1 Classificação Taxonômica.....	3
2.1.2 Morfologia.....	3
2.1.3 Ciclo biológico.....	4
2.2 Importância Econômica.....	5
2.3 Controle de Rhipicephalus microplus.....	6
2.3.1 Controle Químico.....	8
2.3.2 Reguladores de Crescimento de Insetos (IGR's).....	10
2.3.2.1 Inibidores da síntese de quitina.....	10
2.3.2.1.1 Diflubenzuron.....	11
2.3.2.1.2 Fluazuron.....	11
2.3.2.2 Análogo do hormônio juvenil.....	12
2.3.2.2.1 Piriproxifen.....	13
2.4. Testes in vitro e in vivo Para Avaliação de Eficácia.....	13
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. Diluições dos Ensaios in vitro.....	16
3.4. Teste de Imersão de Teleóginas.....	18
3.5. Avaliação da Eficácia.....	19
3.6. Estatística.....	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
4.1 Primeiro Ensaio in vitro.....	20
4.1.1 Fluazuron.....	20
4.1.2 Piriproxifen.....	22
4.1.3 Diflubenzuron.....	24
4.2 Segundo Ensaio in vitro.....	26
4.2.2 Fluazuron.....	26
4.2.2 Piriproxifen.....	28
4.2.3 Diflubezuron.....	30
4.3 Terceiro Ensaio in vitro.....	32
4.3.2 Fluazuron.....	32
4.3.2 Piriproxifen.....	34
4.3.3 Diflubenzuron.....	36
4.4. Comparação Entre as Eficácias Obtidas para o Fluazuron nos Três Ensaios Realizados.....	38
4.5 Comparação Entre as Eficácias Obtidas para o Piriproxifen nos Três Ensaios Realizados.....	41
4.6. Comparação Entre as Eficácias Obtidas para o Diflubenzuron nos Três Ensaios Realizados.....	43
6 CONCLUSÃO.....	46
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
ANEXOS.....	57

1 INTRODUÇÃO

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* membro da Família Ixodidae é a única espécie do subgênero *Boophilus* presente no Brasil. É conhecido por ser um dos principais ectoparasitos dos bovinos, causando prejuízos de 3,24 bilhões de dólares a pecuária brasileira, com danos diretos e indiretos, como a irritabilidade, espoliação sanguínea, perda de peso, redução na produção de leite, miíases secundárias e danos no couro, além da transmissão de agentes infecciosos (GRISI et al., 2014).

Possui ciclo monóxeno, com a fase de vida parasitária pouco variável, que dura em torno de 21 dias do momento de fixação da larva até a queda da teleógina. Entretanto, as fases não parasitárias que ocorrem a partir da queda das fêmeas ingurgitadas, com o período de pré postura, postura, eclosão larval e tempo de sobrevivência das larvas na pastagem são dependentes de fatores ambientais.

Dessa forma o controle desses carrapatos, deve ser realizado com base no conhecimento da sua ecologia. Porém, este é realizado basicamente pelos produtores rurais, sem conhecimento técnico prévio, com o uso de acaricidas de forma indiscriminada. Tal fato tem como consequência o aparecimento da resistência nas populações de carrapato aos acaricidas.

O controle de *R. microplus* é realizado basicamente com diversas bases acaricidas presentes no mercado veterinário, como organofosforados, amidinas, piretróides, lactonas macrocíclicas, fenilpirazoles e reguladores de crescimento de insetos (IGR's). Existem várias formas de aplicação de produtos com ação acaricida. As principais formas farmacêuticas disponíveis no mercado são pulverização, "pour on" ou injetáveis. Entre os fármacos mais comuns utilizados no controle deste carrapato encontram-se o fluazuron pertencente ao grupo das benzoilfenilureia, que inibe a síntese de quitina.

Como o desenvolvimento de novas bases químicas envolve investimentos de elevada monta, e com o crescente aparecimento de populações resistentes aos acaricidas, a indústria com o intuito de aumentar a eficácia dos produtos presentes no mercado, tem apostado na associação dos mesmos, com a estratégia de ataque múltiplo, pois uma mesma formulação utilizará princípios ativos com modos de ação distintos.

A categoria dos reguladores de crescimento possui diversas moléculas com potencial para serem empregadas no controle de *R. microplus* e que não foram exploradas. Essas moléculas possuem diferentes modos de ação, inibidores da quitina como a triazina e pirimidina e análogos do hormônio juvenil como o piriproxifen e metoprene. Os inibidores da síntese de quitina como as benzoilfeniluréias com destaque para o diflubenzuron, o lufenuron e o fluazuron. Esta última molécula, o fluazuron, possui atividade já reconhecida frente ao carrapato, como citado acima.

O diflubenzuron, molécula mais antiga deste grupo com inúmeras aplicações no controle de pragas agrícolas e domissanitárias, possui na medicina veterinária uso reconhecido para o controle de mosca do chifre (*Haematobia irritans*). Enquanto o análogo do hormônio juvenil piriproxifen também utilizado no controle de pragas agrícolas e domissanitárias, além de ser amplamente utilizado na saúde pública no controle de mosquitos é empregado na veterinária no controle de pulgas em cães e gatos.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia do uso de diferentes reguladores de crescimento: fluazuron, diflubenzuron e piriproxifen, frente a fêmeas

ingurgitadas do carrapato *R. microplus*, através de três ensaios *in vitro* com diferentes metodologias de solubilização e diferentes diluentes, além de diferentes tempos de imersão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Rhipicephalus (Boophilus) microplus

2.1.1 Classificação Taxonômica

O parasito *Rhipicephalus microplus* (CANESTRINI, 1887) foi classificado como pertencente ao filo Arthropoda (VON SIEBOLD; SLANNIUS, 1845), a Classe Arachnida (LAMARCK, 1802), a Subclasse Acari (LEACH, 1817), a Superordem Parasitiformes (RENTER, 1909) e Ordem Ixodida. De forma que dentro da Ordem Ixodida, na qual estão localizados os carrapatos, é possível encontrar três famílias: Nutalliellidae, Argasidae e Ixodidae (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTTI, 2001).

O carrapato *R. microplus* pertence a está última família conhecida por abrigar os carrapatos duros ou “hard ticks”. Constituída por 13 gêneros, com 650 espécies, divididos em cinco subfamílias, dentre elas a Rhipicephalinae, que possui oito gêneros e 119 espécies, incluindo a espécie *R. microplus*, parasita preferencial dos bovinos, pelo qual recebeu a designação “carrapato do boi” (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTTI, 2001; SERRA-FREIRE, 2011).

De acordo com essa designação este carrapato foi classificado anteriormente como *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) do latim “menor amigo do boi” (PEREIRA, 2008). No entanto após pesquisas moleculares e morfológicas demonstraram uma estreita relação entre os gêneros *Boophilus* (CURTICE, 1981) e *Rhipicephalus* (KOCH, 1844), de forma que as espécies pertencentes a esse gênero passaram a pertencer ao gênero *Rhipicephalus* (MURREL; BARKER, 2003).

Assim, o gênero *Boophilus* foi retido como um subgênero de *Rhipicephalus*, de modo que a sinonímia de *Boophilus* com *Rhipicephalus* não resultou na perda do nome *Boophilus* e a mudança na nomenclatura ocorreu para refletir a compreensão na filogenia do carrapato (MURREL; BARKER, 2003). Anteriormente chamado de *Boophilus microplus* agora conhecido como *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a única espécie desse subgênero presente no Brasil (PEREIRA et al., 2008).

2.1.2 Morfologia

O carrapato *R. microplus*, assim como as outras espécies de carrapatos, caracteriza-se por possuir três pares de patas quando larvas e quatro quando ninfas e adultos. Caracteriza-se também pelo dimorfismo sexual acentuado, por não apresentar segmentação corporal e o corpo em formato ovalado. Além de possuir, escudo fortemente esclerotizado em todas as fases de desenvolvimento, que ocupa um terço do corpo das larvas, das ninfas e das fêmeas, e nos machos cobre inteiramente o dorso (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTTI, 2001; SERRA-FREIRE, 2011).

Os machos exibem apenas um ligeiro crescimento no tamanho do corpo durante a alimentação. Nos outros estágios de vida, o restante da cutícula corporal pode expandir-se grandemente. Isto é feito através de síntese de nova cutícula em vez de simples expansão e ocorre durante o período de longa alimentação com sangue. Com a cutícula das fêmeas triplicando de espessura durante a alimentação, no entanto na fase rápida do engurgitamento a cutícula destas diminui de espessura (SONENSHINE; ROE, 2014).

As camadas cuticulares são formadas de quitina e se dividem em epicutícula e pró-cutícula. A epicutícula é uma estrutura fina (1 µm ou menos) revestida por uma camada de cera e a epiderme junto com essas camadas da cutícula forma o tegumento. Já em relação à

ação do sistema endócrino dos carrapatos nas mudanças entre os estágios de vida, há indícios que estes sintetizam o hormônio juvenil, assim como nos insetos. Pois, nos insetos estes são responsáveis pelas mudanças nos estágios de vida que ocorrem durante o ciclo, e nos carrapatos, o hormônio juvenil age diretamente na reprodução e na síntese de cutícula (POUND; OLIVER, 1979; SEIXAS et al., 2010; SONENSHINE; ROE, 2014).

2.1.3 Ciclo biológico

Rhipicephalus microplus ocorre entre a latitude de 32° Norte e 35° Sul, o que corresponde à faixa intertropical e abrange os seguintes continentes: América Central, América do Sul, África do Sul e Oceania. É um parasito habitual de bovinos, porém pode ser encontrado em outros hospedeiros domésticos e silvestres, como búfalos, camelos, ovelhas, burros, cabras, gatos, coelhos, preguiças, cães, porcos e cervídeos (FREITAS et al., 1978, GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTTI, 2001)

Considerado carrapato de um só hospedeiro, com o seu desenvolvimento em duas fases: uma fase parasitária que ocorre sobre o animal e uma fase de vida livre ou não parasitária, que ocorre no ambiente, ou seja, com um ciclo monóxeno. No qual a fase parasitária compreende 5% da população de carrapatos e a fase não parasitária 95% (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTTI, 2001; PEREIRA, 2008; SANTAREM; SATOR, 2003; SERRA-FREIRE, 2011). Assim a fase de vida parasitária se inicia quando a larva se fixa no hospedeiro e dura aproximadamente 18 a 21 dias, sendo pouco influenciada pelas condições climáticas e ambientais, uma vez que a temperatura corporal dos animais permanece constante (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTTI, 2001; PEREIRA, 2008; PEREIRA et al., 2008; SERRA-FREIRE, 2011).

A larva ao subir no hospedeiro se fixa em locais abrigados de defesa mecânica, como por exemplo, a base da cauda, barbeta, peito e parte posterior da coxa. Nas regiões em que essas larvas se fixam aparecem zonas de hiperemia e inflamação (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTTI, 2001; PEREIRA, 2008; PEREIRA et al., 2008; SERRA-FREIRE, 2011). Quando ocorre a troca de cutícula originam-se às ninfas. As ninfas ao se alimentarem e ao mudarem de cutícula, dão origem ao adulto imaturo, macho e fêmea. As fêmeas após a cópula se alimentam até o completo ingurgitamento e caem ao solo. Já o macho permanece sobre o animal, por mais ou menos dois meses a procura de novas fêmeas (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTTI, 2001).

As fêmeas ingurgitadas se desprendem naturalmente dos hospedeiros para a oviposição no solo, que podem durar vários dias, com cada fêmea ovipondo entre 3000 e 4000 ovos que permanecem aglutinados. As larvas eclodem desses ovos entre 14 a 146 dias e as teleóginas morrem após completar o período de postura (MONTEIRO, 2011; TAYLOR; COOP; WALL, 2014).

A fase não parasitária é dependente das condições ambientais, pode durar aproximadamente até 300 dias, como relatado por diversos autores (BROVINI et al., 2003; FURLONG, 1998, FURLONG; BROVINI; CHAGAS, 2002; PEREIRA et al., 2008; GLORIA et al., 1993; PINHEIRO et al., 2014; TAYLOR; COOP; WALL, 2014). Gloria et al.

(1993) perceberam que com o aumento da temperatura pode ocorrer encurtamento do ciclo. Já, Brovini et al. (2003) afirmaram que o deslocamento das fêmeas ingurgitadas, o período de pré postura, postura e incubação dos ovos são diretamente influenciadas pela temperatura, encontram correlação significativa da temperatura com o tempo de postura, período de incubação dos ovos e período de pré postura, sendo esses menores no verão e maiores no inverno. Porém mesmo as fêmeas ingurgitadas se deslocam mais no inverno, tal comportamento não provoca perdas significativas de peso, nem provoca diminuição na produção de ovos (BROVINI et al., 2003).

Ao contrario das teleóginas, as larvas no inverno encontraram-se menos dispersas em posições superiores nas gramíneas, o que facilita a infestação no hospedeiro, já com o aumento da temperatura no verão ou com diminuição da umidade elas ficam mais ativas e dispersas (FURLONG; BROVINI; CHAGAS, 2002). Além de apresentarem respostas comportamentais ao ambiente, como capacidade de absorver água da atmosfera, migrações horizontais e verticais, além de responder a estímulos de CO₂, vibração, luz e componentes odoríferos (FURLONG; BROVINI; CHAGAS, 2002). Como evidenciado por Pereira (2008) onde a longevidade das larvas foi significativamente influenciada pelo índice pluviométrico.

No entanto, de acordo com Furlong (1998) a simples presença de larvas na pastagem em função do chamado tempo de sobrevivência não é parâmetro preciso, uma vez que para o sucesso da infestação, além dos fatores como tipo de vegetação, lotação e condições climáticas durante o desenvolvimento dos ovos é necessário dispêndio de grande energia o que inviabiliza o sucesso das larvas velhas disponíveis na pastagem.

Pinheiro et al. (2014) relataram que o desenvolvimento embrionário de *R. microplus* é retardado pela queda de temperatura, mas não de forma deletéria a formação do embrião. Da mesma forma que o prolongamento da exposição a altas temperaturas a acelera a eclosão das larvas dos ovos de forma a garantir que a emergência das larvas coincida com as condições ótimas para sobrevivência.

2.2 Importância Econômica

O impacto econômico na pecuária brasileira causado pelos endos e ectoparasitas é de pelo menos \$13,96 bilhões de acordo com Grisi et al. (2014). Muito desse impacto econômico causado por parasitas, deve-se ao fato do melhoramento genético dos rebanhos bovinos, principalmente das espécies leiteiras, ter se dado com a introdução de raças bovinas européias, sensíveis a infecções e infestações parasitárias, o que implica em níveis mais altos de infestação ambiental, perpetuando altas prevalências (BIEGELMEYER et al., 2015; PEREIRA et al., 2008).

Dentre esses parasitos, destaca-se *R. microplus* originário da Ásia e introduzido na maioria dos países tropicais por meio da importação de gado. Inclusive no Brasil, com a importação de bovinos provenientes da Ilha dos Açores, no período da colonização (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTTI, 2001; SERRA-FREIRE, 2011). Apresentando-se como um ectoparasito de grande importância, devido à sua ampla distribuição geográfica, cobrindo todas as regiões do clima tropical e subtropical do mundo, além de ser um dos principais problemas de saúde animal no Brasil, pois possui a pecuária bovina como importante atividade econômica, apresentando um rebanho de aproximadamente 212.797.824 cabeças de gado (IBGE, 2011; REYES, 2007).

Este parasito é responsável por causar prejuízos na pecuária brasileira, que passaram de dois bilhões para 3,24 bilhões de dólares, e ocorrem de forma direta pelo efeito da picada e suas conseqüências como a irritabilidade, espoliação sanguínea, perda de peso, redução na produção de leite, mifases secundárias e danos no couro. Além da transmissão de agentes infecciosos, como os agentes da tristeza parasitária bovina (GRISI et al., 2002; GRISI et al., 2014; PEREIRA, 2008; NAVA et al., 2014). No entanto as perdas indiretas causadas por *R. microplus* com o custo do controle químico, resíduos deixados nos produtos de origem animal e os danos ambientais decorrentes do uso desses produtos, podem ser ainda maiores, uma vez que os animais utilizados para calcular os prejuízos, são animais controle, que não receberam qualquer tipo de tratamento (GRISI et al., 2014; PEREIRA, 2008).

Como por exemplo, os animais avaliados por Rodrigues e Leite (2013) em propriedades leiteiras de Minas Gerais, nos quais a queda na produção leiteira causada por infestações de *R. microplus* representaou 2,7% a menos na produção de leite, com 90,24 litros

de leite a menos por vaca em lactação. De forma que a redução na produção de leite caracteriza-se como um dos aspectos majoritários na composição total do valor de impacto econômico provocado por este carrapato.

Assim como foi constatado por Grisi et al. (2014) que o prejuízo causado por *R. microplus* ao rebanho leiteiro foi em torno de \$922,36 milhões. Além do prejuízo causado nos rebanhos de corte que chegaram a \$ 2.313,99 milhões, considerado que o rebanho de corte é constituído por cerca de 11% de *Bos taurus* e 89% de *Bos indicus* e cruzamentos, o que representa separadamente perdas econômicas em torno de \$1.587, \$376 e \$349 milhões para os rebanhos de *B. taurus* e cruzamento de *B. tauros* x *B. indicus* ou *B. indicus*, respectivamente. Dessa forma esta espécie de carrapato é a que apresenta maior interesse econômico na América Latina, sendo motivo de grande preocupação para bovinocultores, a ponto de centralizar as atenções da indústria farmacêutica veterinária, órgãos governamentais e instituições de ensino e pesquisa em vários países (PEREIRA et al., 2008).

2.3 Controle de *Rhipicephalus microplus*

O controle de *R. microplus* ocorre principalmente na fase parasitária (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTTI, 2001). Porém, apesar de muitos pesquisadores ao redor do mundo se dedicarem ao estudo sobre ciclo e controle deste carrapato, geralmente esse conhecimento não chega até os criadores e quando chega as vezes não é colocado em prática (PEREIRA et al., 2008)

A forma que o controle deste parasito é realizado quase que exclusivamente pela utilização de acaricidas, na maioria dos casos de forma aleatória, sem conhecimento prévio do comportamento e aspectos bioecológicos relacionados ao ciclo de vida do carrapato nas diferentes regiões. (FURLONG; BROVINI; CHAGAS, 2002; NAVA et al., 2015). A não observação desses aspectos promove a aplicação dos carrapaticidas de forma desenfreada realizadas entre seis a 24 vezes por ano, como controle tradicional ou curativo, forma de controle mais comum no Brasil (GOMES, 1998; PEREIRA et al., 2008).

De acordo com Santarém e Sator (2003), existe uma falta de monitoramento racional e eficaz do uso de produtos químicos, acarretando o aumento do uso desses. Tais fatos levam ao aparecimento acelerado de resistência dos carrapatos aos diversos princípios ativos utilizados comercialmente, devido a uma grande pressão de seleção (LE GALL, 2016; NAVA et al., 2015; SANTAREM; SATOR, 2003), com registros de casos de resistência a praticamente todos os antiparasitários disponíveis (NAVA et al., 2014).

Uma forma de maximizar o controle de *R. microplus*, com acaricidas, seria por meio do controle estratégico, no qual os produtos são aplicados nas épocas mais apropriadas de acordo com o conhecimento pormenorizado da ecologia do carrapato com detalhes sobre o seu ciclo de vida em cada região (PEREIRA, 2008, NAVA et al., 2015). Pois, o conhecimento sobre o efeito do ambiente na fase não parasitária do carrapato, particularmente sobre a produção de ovos e larvas e a longevidade dessas, é importante para a compreensão da dinâmica e da intensidade das infestações nos bovinos, uma vez que essas são variáveis em cada região (PEREIRA et al., 2008).

Há o desenvolvimento de diferentes gerações deste parasito durante o ano, nas diferentes regiões. Com aumento da densidade populacional de carrapatos, na primavera, ocorre um fenômeno chamado “spring rise”, que coincide com a entrada da estação chuvosa e o aumento da temperatura, se caracteriza como o aparecimento da primeira geração. A segunda geração ocorre no final da primavera após a queda das teleóginas oriundas da primeira geração, sendo esta a estação mais quente do ano e com desenvolvimento mais rápido das fases não parasitárias (ALVEZ-BRANCO; PINHEIRO; SAPPER, 2001; PEREIRA et al., 2008).

O pico de carrapatos na geração seguinte é maior do que na anterior, ou seja, a população destes parasitos é maior na segunda geração do que na primeira, assim também ocorre com a terceira geração que se inicia no final do verão, início do outono, quando ocorre o início do período chuvoso. Já, a quarta geração se inicia nos meses com menor temperatura e índice pluviométrico, e em consequência disso apresenta uma curva de crescimento mais longa e baixa. Como as estações meteorológicas são distintas nas regiões, algumas dessas regiões apresentam entre três e cinco gerações desse parasito por ano (ALVEZ-BRANCO; PINHEIRO; SAPPER, 2001; PEREIRA et al., 2008).

Assim, o controle estratégico de *R. microplus* é estabelecido da seguinte forma, os tratamentos carrapaticidas, ocorrem dentro de um intervalo de 150 dias e atingem basicamente a primeira, a segunda e o início da terceira geração. Para que a população de carrapato esteja relativamente baixa no que seria o final da terceira e toda quarta geração, com o intuito de diminuir ou não se necessitar de tratamentos carrapaticidas adicionais, nos animais até a próxima primavera, quando se deve reiniciar o programa de controle estratégico no rebanho (PEREIRA et al., 2008).

Uma vez que a finalidade desse tipo de controle é reduzir a carga parasitária de carrapatos nos animais, a descontaminação das pastagens e a manutenção das mesmas com baixos níveis de infestação por carrapato. Porém em propriedades de regiões com condições ambientais muito favoráveis pode ser necessários tratamentos adicionais durante o resto do ano (ALVEZ-BRANCO; PINHEIRO; SAPPER, 2001). Ainda, pode ser necessário realizar esses tratamentos adicionais nos animais com maior susceptibilidade a *R. microplus*, pois como se sabe alguns animais possuem maior susceptibilidade as infestações do que outros (FURLONG; MARTINS; PRATA, 2003)

Em relação à eficiência reprodutiva dos exemplares de carrapatos que infestaram animais considerados sensíveis e animais considerados resistentes, constataram-se que a resistência genética do bovino a *R. microplus*, além de afetar o número de carrapatos transportados pelos animais, também afetou o peso da massa do ovo, a produção de ovos e os índices de nutrição dos carrapatos. De tal maneira que a seleção de animais considerados resistentes também poderia ser usada como uma ferramenta estratégica para o controle destes parasitos nos sistemas de produção, reduzindo os níveis de infestação no gado e no meio ambiente (BIEGELMEYER et al., 2015).

Gomes et al. (2016) sugerem um método de tratamento seletivo e parcial dos animais, como forma de controle dos carrapatos, no qual somente os animais que apresentassem contagem superiores a 20 exemplares de *R. microplus* seriam tratados e assim uma parcela dos carrapatos não teria contato com compostos químicos. Esse método de tratamento teria como objetivo retardar o aparecimento da resistência aos acaricidas. Nava et al. (2015) realizaram o tratamento seletivo de animais com carrapaticidas de longa ação na Argentina e concluíram que por meio dessa estratégia de controle é possível evitar o pico na população de *R. microplus* no outono.

Outra forma de desfavorecer as infestações nos animais, até mesmo nas épocas mais favoráveis para a sobrevivência das larvas no ambiente é a rotação das pastagens, com um período necessário de descanso de 60 dias para reduzir significativamente a capacidade de infestação das larvas, maior do que os períodos normalmente utilizados para o descanso das pastagens, que giram em torno de 30 a 45 dias (FURLONG, 1998; PEREIRA, 2008; SANTAREM; SATOR, 2003).

Técnicas como a utilização de vacinas e o uso de controle biológico, também têm sido empregadas como alternativas no controle de *R. microplus*, no entanto a aplicabilidade desses em larga escala é discutida. Com o uso de vacinas até o presente momento não foi possível obter níveis satisfatórios de eficácia, porém existem vários antígenos candidatos para vacina anticarrapato (RESENDE, 2016).

Em relação ao controle biológico, estudos realizados com diversas formas de controle: como a utilização de fungos e nematóides entomopatogênicos vem sendo realizados com apresentação de bons resultados em relação aos fungos *Aspegillus níger*, *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* (ALONSO-DIAS et al., 2007; BARCI et al., 2009; MONTEIRO et al., 2011).

2.3.1 Controle Químico

No Brasil, o controle do carrapato *R. microplus* é realizado quase que exclusivamente por meio da aplicação de acaricidas comerciais, sendo seis as classes de acaricidas predominantes no mercado: organofosforados, piretróides, amidinas, fenilpirazóis, lactonas macrocíclicas, e as benzoilfenilureia (ANDEOTTI, 2010).

Os acaricidas possuem mecanismos de atuação que agem principalmente no sistema nervoso e provocam a paralisia e morte do carrapato. Existem quatros modos de ação dos carrapaticidas que atuam desta forma: os que agem ativando os canais de cloro, os antagonistas dos canais de cloro mediado por gaba, os moduladores dos canais iônicos e osinibidores da acetil colinesterase. Além dos que agem no sistema nervoso e sinapses neuro- musculares, existem também acaricidas que atuam em outras vias, como inibidores da cadeia de transporte e elétrons na mitocôndria, inibidores da síntese de quitina e inibidores da acetil Coa carboxilase (LE GALL, 2016).

O grupamento dos organofosforados que possuem capacidade de se ligarem a enzima acetilcolinesterase e interferirem na transmissão nervosa vêm sendo empregados no controle de carrapato desde os anos 70. Os piretróides, também muito empregados para esta finalidade, atuam nos canais de sódio dos parasitas resultando em repolarização retardada axônios nervosos e eventual paralisia, e além de possuírem excelente atividade repelente (TAYLOR, 2001).

As amidinas, outro grupamento, possuem como principal representante o amitraz, e atuam em receptores locais de octopamina em ectoparasitas resultando em hiperexcitabilidade neuronal e morte destes, tem sido utilizada no controle de *R. microplus* por todo mundo. Já as lactonas macrocíclicas, extraídas de fungos do gênero *Streptomyces*, surgiram na década de 80, tem como principal característica possuem atividade endectocida, com capacidade de prevenir infecções e infestações parasitárias, são divididas em dois grupos as avermectinas (ivermectina, abamectina, doramectina, eprinomectina e selamectina) e as milbemicinas (moxdectina e milbecinaoxima). Possuem modo de ação atribuído à alta afinidade com os canais de cloreto-glutamato (Glu-Cl), abertura desses canais causa um lento e irreversível aumento na condutância da membrana, com paralisia da musculatura e morte do parasito (ANDREOTTI, 2010; MENDONÇA, 2010; TAYLOR, 2001).

O fenilpirazoles, classe que tem como principal representante o fipronil, atua bloqueando a transmissão de sinais pelo neurotransmissor inibitório, GABA, foi uma das últimas moléculas introduzidas para o controle do carrapato, este fato ocorreu na década de 90, do século anterior. Existe ainda o emprego de sinergistas, como o butóxido de piperonila, que são capazes de inibir a atividade das enzimas oxidases multifuncionais dos artrópodes, importantes na detoxificação de inseticidas e acaricidas e potencializar a ação dos carrapaticidas em menores doses (BECKEL et al., 2006; TAYLOR, 2001).

Outra classe que possui mecanismo de atuação diferenciado das demais é a classe das benzoilfenilureia pertencente ao grupo dos inibidores do crescimento dos insetos. Agem inibindo a síntese de quitina e possui como representante o fluazuron para o controle do carrapato (TAYLOR, 2001).

Esses diferentes princípios ativos são apresentados das mais diversas formas no mercado veterinário, com formulações de contatos ou sistêmicas, que podem ser aplicadas por meio de pulverização, imersão, “pour on” ou injetáveis (FURLONG; MARTINS, 2000).

Assim pode-se se dizer que o uso de banheiros de imersão é comumente realizado no sul do país, já em outras regiões é comum utilizar o pulverizador costal. Porém, quando as populações de carrapatos não são mais susceptíveis aos produtos disponíveis com esse tipo de apresentação, é necessário a utilização de produtos mais recentes que possuem apresentações “pour on” ou injetável. No entanto estes geralmente são mais caros e não podem ser utilizados em vacas em lactação, com exceção de um produto a base de eprinomectina (ANDREOTTI et al., 2010; FURLONG; MARTINS; PRATA, 2007; PEREIRA et al., 2008).

As formulações “pour on” são aplicadas em uma linha sobre o dorso do animal e caracteriza-se como uma forma de tratamento rápida e precisa. Mas apesar dos produtos administrados topicamente serem mais fáceis de usar, além de apresentarem uma redução de custos, pois não necessitam de agulhas ou seringas, bem como o fato de que não contribui para transmissão de patógenos de animal para animal usando as mesmas agulhas, a via de administração injetável é amplamente utilizada no gado, devido ao fato da eficácia carrapaticida de produtos com essa via de administração não sofrerem influências de fatores externos, como chuvas (GOMES et al., 2015; TAYLOR, 2001).

A frequente exposição dos carrapatos aos carrapaticidas, muitas vezes em consequência de um manejo equivocado, tem levado as populações de carrapatos a desenvolverem resistência aos carrapaticidas, ou seja, ocorre a diminuição da susceptibilidade de uma população de carrapato a um acaricida, usado na dose recomendada (FAO, 2004; FURLONG; MARTINS, 2000). De acordo com Andreotti (2010) o aparecimento da resistência aos acaricidas pelos carrapatos, assim como o risco a saúde humana, envolve a questão da presença de resíduos nos produtos de origem bovina impulsionou a pesquisa por novas moléculas.

Assim os organofosforados aparecem para substituir os organoclorados, em 1955. As amidinas sucederam os organofosforados, em 1975, da mesma forma os piretróides sintéticos, em 1977. Já no início dos anos 80 surgiram as lactonas macrocíclicas, com a ivermectina que revolucionaram o mercado de antiparasitários. No final da década de 90 início dos anos 2000 foram lançadas as bases fipronil (fenilpirazole) e fluazuron (benzofeniluréia) (ANDREOTTI, 2010).

Porém existem registros de resistência de populações distintas de carrapatos para todas as bases presentes no mercado. Pois, um produto que não é eficaz frente uma cepa de carrapato, pode ser para outra, e também podem existir populações de carrapatos com resistência a mais de uma base acaricida, chamada de resistência múltipla. Também há um fenômeno conhecido como resistência paralela, no qual a resistência a determinada base, também confere resistência para outra base química, por exemplo, cipermetrina e deltametrina (ANDREOTTI, 2010; FAO, 2004; FURLONG; MARTINS, 2000).

O fenômeno da resistência é geralmente irreversível e apesar dos mecanismos de resistência aos acaricidas não estarem completamente elucidados esses mecanismos fisiológicos relacionados à resistência são principalmente: a diminuição de penetração cuticular da droga, a resistência metabólica e a resistência por insensibilidade de sítio de ação (ANDREOTTI, 2010). Até hoje o único grupamento químico, que as populações de carrapato resistentes, após 15 a 20 gerações sem a pressão de seleção, voltaram a ser sensíveis, são as amidinas (amitraz) (CARNEIRO et al., 2015; FURLONG; MARTINS; PRATA, 2007).

A resistência aos acaricidas começaram a ser relatadas no Brasil a partir de 1953 para os grupamentos dos arsênicais e dos organoclorados, a partir de 1963 para os organofosforados, a partir de 1989 para os piretróides, a partir de 1995 para amidinas e 2001 para as lactonas macrocíclicas (ANDREOTTI, 2010). Recentemente o fenômeno da resistência também foi relatado por Mendes et al. (2013) a diferentes piretróides, por Daher et al. (2012) e Machado et al. (2014) para amitraz, organofosforado e piretróide, e Klafke et al. (2012) e Cruz (2013) para ivermectina. Castro-Janer et al. (2010) relataram casos de

resistência a fipronil e Reck et al. (2014) ao fluazuron, já Klafke et al. (2017) relataram a presença de cepas multiresistentes.

Para contornar essa situação, pois o desenvolvimento de novos produtos possui um custo muito elevado, têm se buscado aumentar o espectro de ação dos compostos antiparasitários, com a associação dos princípios ativos já existentes em uma única formulação, pois, alia uma satisfatória eficácia terapêutica a praticidade de administração. A indústria farmacêutica veterinária têm buscado encontrar maior eficácia e um diferencial entre os outros produtos disponíveis no mercado, trabalhando com a qualidade da matéria prima e dos veículos empregados, por este motivo muitas vezes bases químicas iguais ou semelhantes apresentam eficácias diferentes frente à mesma população (FURLONG; MARTINS; PRATA, 2007; TAYLOR, 2001).

2.3.2 Reguladores de Crescimento de Insetos (IGR's)

Os reguladores do crescimento dos insetos (IGRs) caracterizam por interferirem no processo de crescimento e desenvolvimento, dos insetos. E não por matar diretamente os artrópodes alvos, ou seja, não possuem efeito “knock down” (GRAF et al., 2004; TAYLOR, 2001).

Assim os IGRs agem nas formas imaturas, como no desenvolvimento embrionário, além de agirem sobre as mudas de larvas e ninfas. Ainda, possuem a capacidade de interferirem nos parâmetros reprodutivos, como a postura (GRAF et al., 2004). Dessa forma, o uso destas bases químicas necessitará de tempo para efetuar o controle eficaz dos artrópodes, com isso em muitos casos é recomendado à utilização de acaricidas ou inseticidas tradicionais em associações (TAYLOR, 2001). Para o controle de *R. microplus* os IGRs vêm sendo associados a outras moléculas, Gomes et al. (2015) associaram o fluazuron a ivermectina, Coelho et al. (2015) associaram fluazuron mais abamectina, Maciel et al. (2016) associaram o novaluron a eprinomectina e Lopes et al. (2017) associaram o fluazuron ao fipronil.

As moléculas pertencentes aos IGRs foram descobertas na década de 1970, sua classificação é realizada de acordo com o modo de ação. O que faz com que existam três grupos distintos: inibidores da síntese de quitina, inibidores da quitina e análogos do hormônio juvenil (GRAF, 1993; TAYLOR, 2001). De modo que o uso destas seja muito seguro em mamíferos, pois os mesmos não apresentam hormônios juvenis e estruturas quitinosas ou ainda, receptores para estas moléculas (BOWMAN, 2003).

2.3.2.1 Inibidores da síntese de quitina

A quitina é um polissacarídeo que forma os elementos de suporte das estruturas extracelulares, principalmente no exoesqueleto dos artrópodes. Os inibidores da síntese de quitina pertencem ao grupo das benzoilfeniluréia, que compreende os seguintes compostos fluazuron, diflubenzuron e lufenuron. Sugere-se que esses compostos interfiram na montagem das cadeias de quitinas em microfibrilas, com a interferência na ecdise do artrópode, durante as mudas, nos adultos interfere na reprodução, impedindo que os ovos eclodam (GRAF, 1993; TAYLOR, 2001).

Os compostos do grupo benzoilfeniluréia são moléculas altamente lipofílicas, por isso se acumulam no tecido adiposo e são excretadas por um longo período de forma inalterada. A diferença deste grupo para as moléculas: triazina e pirimidina, é que estas são responsáveis por inibir a deposição da quitina na cutícula e não a sua síntese (TAYLOR, 2001). Assim tipicamente as benzoilfenilureia mostram um amplo espectro de atividade contra ampla gama de insetos e com uma fraca eficácia, contra os membros da Subclasse Acari. No entanto alguns derivados exibem padrões incomuns de atividade, com alta eficácia frente a estes indivíduos (GRAF, 1993).

2.3.2.1.1 Diflubenzuron

O diflubenzuron é a molécula do grupo das benzoilfeniluréias com maior número de aplicações. Ele é utilizado nos mercados domissanitários no controle de baratas, mosca doméstica (*Musca domestica*), no mercado agrícola no controle de lagartas, gafanhotos (*Hemileucaoliviae*) (COSTA, 2007). Na veterinária o diflubenzuron é utilizado no controle de moscas do chifre (*Haematobia irritans*) com formulação oral, na concentração de 3%, associado ao sal mineral (ANDREOTTI et al., 2015; OLIVEIRA; GOMES; SANTOS, 2009). Para o controle de *H. irritans* esse regulador de crescimento é considerado eficaz de acordo com Porto et al. (2012).

O uso do diflubenzuron 3% administrado por via oral apresenta a vantagem de não deixar resíduos no leite e na carne dos animais tratados (TFOUNI et al., 2007; TFOUNI et al.; 2013). Nesse tipo de apresentação o diflubenzuron é ainda capaz de auxiliar no controle do *R. microplus*, diminuindo a carga parasitária nos animais tratados, o que proporciona uma quantidade menor de tratamentos com carrapaticidas (ANDREOTTI et al., 2015; OLIVEIRA; GOMES; SANTOS, 2009). No entanto Andreotti et al. (2015) não observaram alterações na eficiência reprodutivas de fêmeas ingurgitadas oriundas de bovinos tratados com diflubenzuron 3%. Assim como foi observada a ausência de alterações histológicas nas fêmeas ingurgitadas recuperadas.

Fora do Brasil formulações de diflubenzuron na forma de concentrado emulsionável estão disponíveis no mercado para o controle de piolhos e moscas em pequenos ruminantes. Fourie et al. (1995) na África do Sul, testaram uma dessas formulações contra *Damalinea limbata* em cabras encontram eficácia satisfatória no controle desses parasitos. Na Austrália o uso do diflubenzuron é liberado para o controle de moscas e piolhos em ovinos (LEVOT, 2001). No entanto o uso em larga escala deste regulador do crescimento levou ao aparecimento de piolhos e moscas resistentes. Testes *in vitro* para diagnosticar a resistência de *Bovicola ovis* a essa molécula foram desenvolvidos (LEVOT; SALES, 2008).

2.3.2.1.2 Fluazuron

O Fluazuron é um composto atípico dentro da classe das benzoilfeniluréia, pois apresenta baixa atividade contra insetos, mas apresenta uma excelente eficácia frente ao carrapato (GRAF, 1993). Assim foi o primeiro regulador de crescimento registrado para o uso em carrapatos (BULL et al., 1996).

Esse composto é utilizado para o controle de carrapato em bovinos (TAYLOR, 2001). Age sobre as larvas e as ninfas de *R. microplus* impedindo que estas completem a muda (MACIEL et al., 2016). Pois, quando administrado pela via tópica “pour on” o fluazuron demora em torno de 15 dias para apresentar eficácia satisfatória, tempo necessário para que as ninfas presentes no corpo do animal cheguem ao estágio de adulto, como comprovado por Martins, Correa e Ceresér (1995), Mendonça (2010), Gomes et al. (2015) e Maciel et al. (2016).

Esse fato é melhor elucidado em estudo realizado por Calligaris et al. (2013) em estudo com ninfas de *R. sanguineus* em coelhos tratados com fluazuron, no qual observaram as alterações morfológicas provocadas por este principio nos exemplares de carrapato, poderiam impedir o desenvolvimento deste e o termino da ecdise para o próximo estágio de desenvolvimento. Melo (2007) também em estudo realizados com coelhos tratados com fluazuron, mas infestados artificialmente com larvas, ninfas e adultos não alimentados de *R. sanguineus*, observou a interferencia na biologia destes carrapatos pelo fluazuron, como o aumento do período de pré postura, diminuição no peso da massa de ovos, aumento no período de incubação dos ovos, diminuição do índice de eficiência reprodutiva, inibição do processo de ecdises entre os estágios de larva para ninfa e de ninfa para adulto.

Enquanto Vieira (2012) avaliou a eficácia do fluazuron administrado por via oral frente a *R. sanguineus* em cães artificialmente infestados com larvas, ninfas e adultos, com o composto apresentando eficácia na inibição das mudas de larva para ninfa e de ninfa para adulto. Mas, apresentando baixa eficácia frente aos exemplares adultos e sobre a eficiência de fêmeas ingurgitadas recuperadas.

Bull et al. (1996) também citam a ação deste regulador de crescimento frente aos estágios imaturos de *R. microplus*. Porém sobre as fêmeas adultas, o tratamento com o fluazuron “pour on” resulta em ovos inviáveis. Quando as fêmeas ingurgitadas de carrapatos são tratadas in vitro com fluazuron, estas realizam a postura, mas o composto impede que os ovos dessas posturas eclodam (FAO, 2004). No entanto, técnicas in vitro que busquem avaliar a eficácia do fluazuron frente a populações de campo são ainda pouco difundidas, talvez pelo fato desse regulador de crescimento ainda apresentar boa eficácia frente a *R. microplus* (FAO, 2004). Porém recentemente Reck et al. (2014) relataram a presença de uma cepa resistente a esse princípio no Brasil e Coure, Solaris e Trelles (2017) relataram o mesmo fato no Uruguai.

Gaudêncio et al. (2017) ao avaliarem as enzimas de detoxificação em cepa resistente ao fluazuron em comparação com cepa sensível de *R. microplus* tratadas observaram as fêmeas ingurgitadas da cepa resistente tratadas com fluazuron apresentando a monooxigenase como enzima responsável pela detoxificação do fluazuron no corpo gorduroso e também nos ovos provenientes destas. Para o estágio de larva, os autores observaram as carboxilesterases como enzimas que apresentaram maior atividade de detoxificação na cepa resistente.

Assim a utilização desse composto utilizado em associação com outros princípios pode ser uma saída para a questão da resistência. Coelho et al. (2015) ao associar o fluazuron com a abamectina, em formulação “pour on” encontraram 91 dias de eficácia carrapaticida frente a *R. microplus* superior a 95%. O mesmo período de eficácia foi observado por Lopes et al. (2017) em bovinos tratados com associação de fluazuron mais fipronil.

Uma ressalva em relação ao uso do fluazuron, pois como ele se liga ao tecido adiposo, a gordura do leite age como uma rota de excreção, provavelmente encurtando o período de proteção. Essa rota proporciona proteção para o bezerro lactante sem necessidade de tratamento direto. Porém, como resultado da persistência do agente químico nas gorduras das vacas tratadas, deve haver um período de seis semanas de carência para o consumo da carne e do leite por humanos (BULL et al., 1996)

2.3.2.2 Análogo do hormônio juvenil

O sistema hormonal dos insetos e dos crustáceos são os mais conhecidos entre os artrópodes. Dentre os hormônios deste sistema, destaca-se hormônio juvenil responsável pela metamorfose. Nos insetos esses hormônios são terpenóides derivados do ácido farnesóico, e que possuem cinco formas estruturais conhecidas: JH-0, JH-I, JH-II, JHIII, e 4-metil JH-I (SEIXAS et al., 2010; SONENSHINE; ROE, 2014). Em relação indivíduos da Subclasse Acari, não se sabe exatamente como esse sistema funciona, porém existem indícios que estes possuam também hormônios juvenis, e que esses sejam responsáveis por proteínas responsáveis pela síntese de cutícula e pela reprodução (SEIXAS et al., 2010; SONENSHINE; ROE, 2014).

Os inibidores do crescimento dos insetos, análogos dos hormônios juvenis imitam as atividades dos hormônios juvenis naturais dos artrópodes. Uma vez que para a realização das mudas entre os estágios ocorre a destruição dos hormônios juvenis acumulados, pelas esterases, até que se complete o desenvolvimento no estágio de adulto (BATISTA et al., 2012; SEIXAS et al., 2010). Assim os análogos dos hormônios juvenis quando se ligam aos mesmos receptores que os hormônios endógenos se ligariam, por possuírem estruturas diferentes não são destruídos pelas esterases, impedindo o inseto de realizar o completo desenvolvimento (TAYLOR, 2001).

Esses compostos foram desenvolvidos pela indústria na década de 1970. De forma que os primeiros compostos foram o metoprene e hidropene. Sendo o metoprene um dos principais representantes desta classe, utilizado no controle de pragas agrícolas, no controle de mosquitos na saúde pública e controle de pulgas em cães e gatos na medicina veterinária (GRAF, 1993). Entretanto, poucos trabalhos relacionando a utilização desses compostos, no controle do carrapato, são encontrados na literatura (CORREIA, 2003).

2.3.2.2.1 Piriproxifen

O composto análogo do hormônio juvenil, piriproxifen 2- [1-methyl-2-(4-phenoxyphenoxy) ethoxy] pyridine, é utilizado no controle de pragas agrícolas, como a mosca branca (*Bemisia tabaci*) (INOUE et al., 2005; VIEIRA et al., 2012). Em saúde pública no controle de mosquitos (JAFFER et al., 2015) e na medicina veterinária no controle de pulgas. Pois, interrompe o desenvolvimento embrionário da pulga *Ctenocephalides felis felis*, quando empregado no cão, no gato e no (BATISTA et al., 2012; TAYLOR, 2001).

Yoshiaki e Buéi (2000) avaliaram o efeito ovicida do piriproxifen sobre os ovos de *C. felis*, e concluíram que ovos expostos por duas horas a este princípio não eclodem. Os mesmos autores observaram que fêmeas e machos não alimentados quando expostos a este análogo do hormônio juvenil produzem após alimentação e cópula, ovos inférteis. A esterilização dos exemplares adultos também foi observada.

Para o controle de ectoparasitos nos animais domésticos o piriproxifen é comumente associado a outros princípios ativos que possuam efeito “know down”, pois como regulador do crescimento este composto necessita de um tempo maior para promover o controle dos parasitos (GRAF, 1993).

O piriproxifen foi associado a outros compostos no controle de artrópodes da Ordem Ixodida. Souza et al. (2012) utilizaram a associação de piriproxifen com d-fenotrina no tratamento de gatos infestados naturalmente com o ácaro *Lynxacarus radovskyi* e concluíram que esta associação foi eficaz no controle desse artrópode.

Belozarov (2003) utilizou este análogo do hormônio juvenil sobre larvas e ninfas de *Ixodes ricinus* e observou a juvenalização do órgão de Haller's, órgão sensorial, com cerdas que atua na detecção de ferormônios, localizado na superfície dorsal do tarso dos carrapatos (SONENSHINE; ROE, 2014).

O piriproxifen demonstrou ainda interferência na muda de larvas ingurgitadas de *Amblyomma americanum*, mas não demonstrou influencia na muda das ninfas ingurgitadas, entretanto os adultos oriundos destas mudas mostraram-se letárgicos e morfologicamente alterados (DONAUE et al., 1997). Os efeitos deste composto em interromper as fases do ciclo do carrapato também foram observados por Ribeiro (2010) em exemplares de *R. sanguineus* recuperados de coelhos tratados pela via tópica “pour on”. Isso demonstra que o piriproxifen influencia na metamorfose dos carrapatos (BELOZEROV, 2003; DONAUE et al., 1997).

2.4. Testes in vitro e in vivo para avaliação de eficácia

Testes in vitro e in vivo são utilizados para testar a eficácia de novas moléculas frente ao carrapato *R. microplus*, assim como a avaliação da resistência aos carrapaticidas de uma determinada cepa (FAO, 2004; FIGUEIREDO, 2017; HOLDSWORTH et al., 2006). No entanto testes em animais envolvem repetições múltiplas devido a variações inerentes entre os animais hospedeiros, exigindo grandes quantidades de produtos de teste e de carrapatos, e por isso são mais dispendiosos (KROBER; GUERIN, 2007).

Entretanto, a existência de metodologias adequadas na pesquisa de novos bioativos é essencial para que os diferentes modos de ação possam efetivamente ser avaliados (FIGUEIREDO, 2017). Assim os testes in vitro geralmente são modificações dos testes

propostos por Drummond et al. (1973) para a imersão de adultos, e por Stone e Haydock (1962) e Shaw (1966) para os de pacote e imersão de larvas.

Por exemplo, Souza et al. (2004) avaliaram a influência de diferentes tempo de imersão, adaptação do teste proposto por Drummond et al. (1973) sobre as fêmeas ingurgitadas e para avaliação da cipermetrina, e encontraram influência do tempo de imersão na eficácia *in vitro*.

Apesar da proposta original de teste de imersão de adultos utilizar o tempo de 30 segundos, muitos estudos *in vitro*, utilizam tempos distintos de imersão. Estudos com extratos vegetais principalmente costumam usar cinco minutos de imersão (CLEMENTE et al., 2007; CHAGAS et al., 2016; FIGUEIREDO et al., 2018; SANTOS et al., 2013), no entanto existem estudo com até 40 minutos de imersão (VALE et al., 2013).

Outro ponto contraditório da técnica de imersão de adultos proposto por Drummond et al. (1973) é a avaliação do percentual de eclodibilidade, proposto inicialmente para ser feito por estimativa visual. Mas avaliação realizada por Figueiredo (2017) da comparação da técnica por quantificação por amostragem em relação à estimativa visual verificou que a quantificação por amostragem possui maior exatidão .

O próprio teste de pacotes de larvas proposto por Haydock (1962), foi adaptado pela FAO (2004), para o melhor diagnóstico da resistência aos acaricidas, que também foi adaptado por Miller et al.(2002) para o diagnóstico de resistência contra o amitraz, no qual em substituição ao papel filtro se utilizou um tecido de nylon. O teste de imersão de larvas proposto por Shaw (1966) também foi adaptado por Leite (1988) e Chagas et al. (2003), para um sanduíche de papel filtro com larvas imersos em acaricida. E posteriormente foi adaptado por Castro-Janner et al. (2009) e Klafke et al (2012) para testes de susceptibilidade com fipronil e ivermectina, respectivamente.

As alterações nas metodologias dos testes *in vitro* não se aplicam somente ao tempo ou modo de imersão e material usado para a confecção de pacotes (CHAGAS et al., 2003; CHAGAS et al., 2016; CLEMENTE et al., 2007; FAO, 2004; FIGUEIREDO et al., 2018; LEITE, 1988; MILLER et al., 2002; SANTOS et al., 2013; VALE et al., 2013;), mas também ao tipo de diluente que se é utilizado, o fluazuron, por exemplo, possui baixa solubilidade em água e etanol, por isso a diluição é preparada em acetona e Triton X-100 a 2%, da mesma forma a diluição seriada deste composto é realizada também com acetona e Triton X-100 a 2% (FAO, 2004).

Assim os erros de diluição são uma fonte importante de erro experimental. Pois, deve ser tomado um cuidado especial quando pequenos volumes do acaricida são adicionados a quantidades relativamente grandes de diluente. A seleção errônea de fêmeas ingurgitadas, assim como de larvas também podem influenciar no resultado do teste (FAO, 2004).

Da mesma forma a escolha da forma de apresentação do princípio ativo do acaricida utilizado para o teste, pois se recomenda que se use o ativo em grau técnico, no entanto na ausência deste pode-se utilizar pós molháveis ou concentrados emulsionáveis (FAO, 2004).

Cada circunstância e cada princípio ativo possui um teste *in vitro* indicado, para o diagnóstico da eficácia frente a *R. microplus*. Como o fluazuron que não é indicado à realização de testes *in vitro* que utilizam larvas (FAO, 2004). Alguns estudos avaliam ainda a utilização de testes com alimentação artificial para mimetizarem a ingestão do princípio ativo pelo carrapato no caso de acaricidas sistêmicos (KROBER; GUERIN, 2007; RECK et al., 2014)

Entretanto a liberação do registro de um acaricida veterinário só ocorre após a realização de testes com animais. Inclusive porque mesmo que os testes *in vitro* apresentem dados valiosos em relação à eficácia de uma molécula, a dose obtida em um teste *in vitro* pode não ser a dose que confira eficácia frente ao carrapato sobre o animal (BRASIL, 1997; HOLDSWORTH et al., 2006).

Correa et al. (2015) constataram esse fato e afirmou que o teste de imersão de adultos, pode subestimar a real eficácia de uma formulação a campo. Da mesma forma Sousa et al. (2004) encontraram maiores eficácias nos testes in vitro do que nos testes a campo. Assim fica posto que resultados obtidos in vitro podem ser subestimados ou superestimados em relação a ação de acaricidas em testes in vivo.

A legislação brasileira de acordo com a portaria nº 48 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento o teste necessário para registro ou atualização de uma formulação carrapaticida é o teste controlado, chamado teste de estábulo, com animais artificialmente infestados, com no mínimo seis animais em cada grupo de estudo. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) recomenda este mesmo teste para a determinação de dose (BRASIL, 1997; HOLDSWORTH et al., 2006).

O teste com bovinos mantidos a campo infestados naturalmente é considerado como um teste de informações complementares para ambos órgãos. Inclusive porque em testes realizados a campo, principalmente com formulações tópicas, a eficácia da formulação pode sofrer influencia de fatores extrínsecos. No entanto para ambos os testes é preconizado que para uma formulação seja considerada eficaz é necessária a obtenção de uma eficácia de 95% (BRASIL, 1997; GOMES et al. 2015; HOLDSWORTH et al., 2006).

Assim vários estudos avaliam a eficácia de novas formulações em animais, baseados nas metodologias propostas pela W.A.A.V.P e pelo MAPA (BORGES et al., 2008; ; CRUZ et al., 2015; GOMES et al. 2015; ROCHA, 2016; SOUZA et al., 2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo ocorreu nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), do Departamento de Parasitologia Animal (DPA) do Instituto de Medicina Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica, situado na Baixada Fluminense do Estado do Rio de Janeiro, na BR 465 Km 07.

Foram realizados três estudos *in vitro* visando a avaliação da ação dos IGRs fluazuron, diflubenzuron e piriproxifen sob fêmeas ingurgitadas (teleóginas) do carrapato *R. microplus*, com diferenças na metodologia quanto ao preparo das diluições com a utilização de diferentes solventes e também quanto ao tempo de imersão das teleóginas.

Dos IGRs utilizados apenas o fluazuron apresenta indicação de uso para o controle de *R. microplus* em bovinos. O piriproxifen possui indicação para o controle de pulgas em cães e gatos e o diflubenzuron é indicado para o controle de mosca do chifre em bovinos (GRAF, 1993; TAYLOR, 2001).

3.1. Diluições dos Ensaio *in vitro*

No primeiro ensaio foram utilizadas as seguintes concentrações em partes por milhão (ppm): 7.000, 6.000, 5.000, 4.000, 3.000, 2.000, 1.000, 500, 250 e 125, para ambos IGR's. Para o fluazuron foram realizadas diluições a partir do concentrado emulsionável (Lote IP270720152256 cedido pela CEVA) a 10%, ou seja apresentava 100.000µg/mL (100.000ppm) para obter soluções em 10 níveis de concentração, citados anteriormente, utilizando água destilada como diluente (Quadro 1).

Ainda nesse primeiro ensaio *in vitro* foi preparada uma solução mãe para o piriproxifen a partir da matéria prima (Lote 201004003 cedido pela Ouro fino), com três gramas de piriproxifen diluído em três mililitros de Triton-X 100 a 10% e quantidade suficiente de xilol para completar 30 mL de solução estoque, com a concentração final de 100.000 ppm. Da mesma forma foi preparada uma solução mãe para o diflubenzuron, também partir da matéria prima (Lote AUTO002249 cedido pela Champion) com 10% de diflubenzuron, mais 10% de Triton-X 100 a 10% e 80% de xilol, com concentração final de 100.000 ppm. Após a diluição da solução mãe dos dois IGRs, foram obtidas as concentrações em ppm utilizadas no teste, assim como para o fluazuron, utilizando água destilada como diluente (Quadro 1).

No segundo ensaio *in vitro* foram utilizados os mesmos IGRs diluídos de formas distintas do primeiro ensaio e também em concentrações diferentes das anteriores. Neste ensaio foi utilizado o fluazuron na forma de matéria prima (Lote IP270720152256 cedida pela CEVA) para a obtenção de cinco mililitros da solução mãe, com 50.000 ppm que foi obtida a partir de meio grama de fluazuron 10%, mais meio mililitro de Triton-X 100 10% e quatro mililitros de n-metilpirrolidona. Depois foi diluída de forma seriada em água destilada para as seguintes concentrações: 4.000, 3.500, 3.000, 2.750, 2.500, 2.250, 2.000, 1.750, 1.500, 1.250, 1.000, 750, 500, 250, 100 e 50 ppm (Quadro 1).

Para a formulação de 20 mL da solução mãe de piriproxifen, com 50.000 ppm utilizou-se um grama da matéria prima de piriproxifen a 5% (lote 201004003 cedido pela Ouro fino), mais dois mililitro de triton-x 100 a 10% e quantidade suficiente de n-metilpirrolidona, que foi diluída posteriormente de forma seriada em água destilada nas concentrações de 13.000, 12.000, 11.000, 10.000, 9.000, 8.000, 7.000, 6.000, 5.000, 4.000,

3.000, 2.000, 1.000, 500, 250, 100 e 50 ppm. Para as concentrações do diflubenzuron utilizou-se o concentrado emulsionável Domifly S3® a 1% da Champion que foi diluído em água destilada para as seguintes concentrações 10.000, 9.000, 8.000, 7.000, 6.000, 5.000, 4.000, 3.000, 2.000, 1.000, 500, 250, 125 e 62,5 ppm (Quadro 1).

No terceiro ensaio *in vitro* foram utilizadas as concentrações de 4.000; 3.000; 2.000; 1.000; 500; 100; 50; 25; 1; 0,5; 0,1; 0,05 e 0,01ppm para os três IGRs envolvidos, no estudo. Neste ensaio para obtenção das concentrações finais, a diluição da matéria prima foi baseada na metodologia descrita pela Food and Agriculture Organization (FAO) (2004) (Quadro 1).

Assim tanto para a obtenção da solução mãe do fluazuron 5% (Lote IP270720152256 cedida pela CEVA), a 50.000 ppm, como para a obtenção da solução mãe piriproxifen 5% (Lote 201004003 cedido pela Ouro Fino), na mesma concentração, sendo ambas feitas a partir das matérias primas destes IGRs, foram utilizados meio grama de matéria prima, mais 0,2g Triton-X 100, um mililitro de n-metilpirrolidona e quantidade suficiente de acetona para completar 10 mL. A partir da solução mãe obtida tanto para o fluazuron quanto para o piriproxifen, foram realizadas as diluições das concentrações seguintes utilizando como diluente uma solução feita com água destilada mais 0,02% de Triton-X 100, mais 1% de acetona e 0,1% de n-metilpirrolidona (Quadro 1).

Para a obtenção da solução mãe a 50.000 ppm de diflubenzuron (Lote AUTO002249 cedido pela Champion) foi realizada a diluição de meio grama da matéria prima em 0,2 mL de xileno e 10ml de n-metilpirrolidona. Assim depois de obtida essa solução mãe as concentrações seguintes foram obtidas por meio de diluição na seguinte solução água destilada q.s.p., 1% de n-metilpirrolidona e 0,02% de xileno, e ainda após a obtenção de cada concentração foi utilizada uma gota de Triton-X 100. O diluente sem acaricida e água destilada foram utilizados como controles negativos nos três ensaios (Quadro 1).

Quadro 1. Metodologias para solubilização dos princípios ativos e de imersão de teleóginas utilizadas no primeiro, no segundo e no terceiro ensaio.

1º Ensaio	2º Ensaio	3º Ensaio
CE Fluazuron MP Piriproxifen MP Diflubenzuron	MP Fluazuron MP Piriproxifen CE Diflubenzuron	MP Fluazuron MP Piriproxifen MP Diflubenzuron
Diluyente: Água	Diluyente: Água	Diluyente: Água + N-metilpirrolidona + Triton X-100 + acetona
Tempo de Imersão: cinco minutos	Tempo de Imersão: um minuto	Tempo de Imersão: um minuto
Concentração: Fluazuron, Piriproxifen e Diflubenzuron 125-7.000 ppm	Concentração: Fluazuron 50 – 4.000 ppm Piriproxifen 50 – 13.000 ppm Diflubenzuron 62,5 -10.000 ppm	Concentração: Fluazuron, Piriproxifen e Diflubenzuron 0,01 – 4.000 ppm
Prepara da Solução Mãe: Triton- X 100 10% + Xilol q.s.p.	Prepara da Solução Mãe: Triton –X 100 10% + N-metilpirrolidona – 4 mL	Preparo da Solução Mãe: Idem ao Diluyente

CE: Concentrado emulsionável; MP: Matéria Prima; q.s.p.: quantidade para completar o volume final

Fonte: Próprio Autor

3.4. Teste de Imersão de Teleóginas

As fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* utilizadas no estudo foram provenientes de uma colônia mantida nas dependências do LQEPV (Cepa Porto Alegre). O protocolo de manutenção desta cepa tem aprovação na CEUA-IV/UFRRJ sob o número 092/2014 com a data de 10 de maio de 2014 (Anexo A).

Para o primeiro ensaio as fêmeas ingurgitadas foram divididas em grupos de dez exemplares para cada concentração de cada IGR, no qual cada teleóquina representou uma unidade experimental, com o teste de imersão de adultos seguiu metodologia adaptada de Drummond et al. (1973). No qual os grupos de fêmeas ingurgitadas (n=10) foram imersos nas soluções com as concentrações a serem testadas, durante cinco minutos. E após este procedimento os carrapatos foram secos com o auxílio de papel toalha. Para que cada exemplar fosse individualmente, pesado em balança de precisão e fixado, pela região dorsal, em fitas dupla face no interior de placas de petri descartáveis, com nove centímetros de diâmetro, devidamente identificadas conforme a concentração e o IGR (Quadro 1)

Esses carrapatos foram mantidos em estufas de crescimento biológico do tipo B.O.D. com a temperatura e umidade relativa mantidas em $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e $80 \pm 10\%$, respectivamente, por 21 dias quando as suas respectivas posturas foram pesadas, também individualmente em balança de precisão. Após a este procedimento retornaram à estufa por mais 21 dias até completar o processo de eclosão, sendo então avaliadas, 42 dias após o tratamento, por estimativa de porcentagem, de larvas que eclodiram em relação as que não eclodiram em microscópio estereoscópico.

Já, no segundo e terceiro ensaio a metodologia utilizada foi adaptada da Fao (2004) na qual 12 fêmeas ingurgitadas foram utilizadas para cada concentração de IGR, também com cada exemplar como uma unidade experimental. No qual as teleóginas foram imersas em grupo ($n=12$) durante um minuto nas das soluções contendo as concentrações dos IGRs. Todas as outras etapas posteriores ao processo de imersão foram iguais as etapas descritas no primeiro ensaio in vitro (Quadro 1).

3.5. Avaliação da Eficácia

Para verificar a atividade dos IGRs sobre adultos utilizou-se o índice de eficiência reprodutiva (IER) = peso dos ovos/peso das fêmeas x 20000 x % eclodibilidade e a Eficácia EC = $(\text{IER controle} - \text{IER tratamento})/\text{IER controle} \times 100$ (DRUMMOND et al., 1973).

3.6. Estatística

Para a análise estatística dos dados utilizou-se o programa estatístico computacional BioStat 5, no qual verificou-se a normalidade dos dados para o peso das fêmeas ingurgitadas e das posturas e o índice de eficiência reprodutiva por meio do teste D'Agostino.

Assim para avaliar a variância estatística entre as médias de peso fêmeas ingurgitadas, peso de postura, porcentagem de eclosão e índice reprodutivo após o tratamento, quando os dados foram paramétricos utilizou-se ANOVA para um critério, teste T (AYRES et al., 2007; SAMPAIO, 2002). E para os não paramétricos o teste empregado foi o de Kruskal Wallis. Em todas as análises foi considerado o nível de confiança de 95% ($P \leq 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram abordados de forma a promover a descrição dos achados dos estudos de forma individualizada quanto aos três ensaios realizados.

4.1 Primeiro Ensaio in vitro

4.1.1 Fluazuron

Quanto aos resultados observados no primeiro estudo para o fluazuron (Tabela 1) pode-se notar que em relação ao peso médio das teleóginas não ocorreu diferença estatística significativa entre o grupo controle e os medicados, apresentando variações entre 0,178 e 0,261g. Tais resultados são importantes, pois significam que não havendo diferença significativa entre os valores médios das teleóginas dos diferentes grupos não ocorreria influência deste fator sobre os resultados observados entre os grupos para peso de postura, eclodibilidade, eficiência reprodutiva e conseqüentemente a eficácia IGR sobre a eficiência reprodutiva das fêmeas ingurgitadas tratadas.

Com relação ao peso médio das posturas pode-se observar que para o grupo controle e placebo os valores médios foram superiores aos dos grupos tratados com as concentrações mais elevadas. Entretanto não foram constatadas diferenças significativas entre os valores médios de posturas do grupo controle e placebo para as diferentes concentrações utilizadas para os grupos medicados (Tabela 1).

Quanto à eclodibilidade dos ovos ocorreu uma intensa inibição deste processo a partir de concentrações mais baixas como a de 500 ppm onde constatou-se um percentual de eclosão de apenas 6,1%. E da concentração de 3.000 ppm para cima ocorreu uma inibição completa da eclodibilidade dos ovos (Tabela 1).

Os valores médios de eficiência reprodutiva dos grupos tratados a partir da concentração de 500 ppm diferiram significativamente para os grupos controle e placebo. Destaca-se que a partir da concentração de 3.000 ppm os valores observados para este parametro foram de zero (0) (Tabela 1).

Para o fluazuron, os resultados observados indicaram ocorrer um incremento de atividade na inibição da eficiência reprodutiva à medida que a concentração foi subindo. Os níveis de eficácia observados para as concentrações de 125, 250, 500, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000 e 7.000 ppm foi respectivamente de 19,3; 88,3; 91,5; 93,2; 96,1 e 100; 100; 100; 100 e 100%. Tais resultados indicaram que o fluazuron neste ensaio a partir da concentração de 500 ppm começou a apresentar elevados níveis de eficácia sobre a eficiência reprodutiva do *R. microplus* atingindo 100% com a dose de 3.000 ppm (Tabela 1).

Tabela 1. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de *Rhipicephalus microplus*, em diferentes concentrações de fluazuron. (Primeiro ensaio).

Concentração (ppm ¹)	Peso Teleóginas (g)	Peso Posturas (g)	Eclobilidade (%)	Eficiência Reprodutiva	Eficácia (%)
7.000	0,221 ^a ±0,041	0,077 ^a ±0,020	0 ±0	0 ^b ±0	100
6.000	0,178 ^a ±0,019	0,083 ^a ±0,036	0 ±0	0 ^b ±0	100
5.000	0,161 ^a ±0,026	0,085 ^a ±0,045	0 ±0	0 ^b ±0	100
4.000	0,226 ^a ±0,041	0,126 ^a ± 0,024	0 ±0	0 ^b ±0	100
3.000	0,204 ^a ±0,030	0,108 ^a ±0,035	0 ±0	0 ^b ±0	100
2.000	0,202 ^a ±0,037	0,144 ^a ±0,026	3 ±8,6	31.199 ^b ±89.393	96,1
1.000	0,181 ^a ±0,031	0,099 ^a ±0,025	4,8 ±14,4	54.237 ^b ±162.711	93,2
500	0,178 ^a ±0,018	0,085 ^a ±0,027	6,1 ±11,6	67.475 ^b ±133.576	91,5
250	0,221 ^a ±0,035	0,138 ^b ±0,054	8,14 ±12,2	93.171 ^a ±220.368	88,3
125	0,226 ^a ±0,053	0,133 ^a ±0,054	45,1 ±29,3	640.807 ^a ±532.368	19,3
Diluyente	0,181 ^a ±0,026	0,052 ^a ±0,029	67,8 ±21,5	2.353.428 ^a ±4305.436	0
Controle	0,209 ^a ±0,037	0,102 ^a ±0,040	70,5 ±35,6	793.717 ^a ±405.717	

¹Ppm - partes por milhão. ²ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si (p>0,05).

4.1.2 Piriproxifen

Em relação aos resultados observados no primeiro estudo para IGR piriproxifen (Tabela 2), o peso das fêmeas ingurgitadas não divergiu significativamente entre os grupos controle e tratados. Com menor peso médio de 0,161 g e o maior peso médio de 0,222 g.

O peso médio posturas das teleóginas tratadas com as diferentes concentrações de piriproxifen apresentaram diferença significativa das posturas referentes ao grupo controle a partir da concentração de 6.000 ppm. No entanto foi observado a diminuição no peso das posturas de algumas concentrações em relação aos grupos controle e placebo (Tabela 2).

Assim como para o peso das posturas, a eclodibilidade média dos ovos foi menor para os grupos tratados com as concentrações de 3.000, 5.000 e 7.000 ppm, com o maior percentual de inibição da eclosão ocorrendo na concentração de 3.000 ppm (Tabela 2). Mas, quando avaliou se a eficiência reprodutiva média das fêmeas ingurgitadas houve diferença significativa para todas as concentrações superiores a 3.000 ppm (Tabela 2).

De modo que para o piriproxifen, os resultados observados de eficácia sob a inibição da reprodução das fêmeas ingurgitadas, apesar de não lineares e não tão elevados para *R. microplus* foram de 4,4; 23,1; 19,2; 27,9; 32,4; 63,2; 42,4; 62,2; 51,3 e 71,8% respectivamente para as concentrações 125, 250, 500, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000 e 7.000 ppm (Tabela 2). Com a eficácia máxima neste primeiro ensaio de 71,8% na última concentração de 7.000 ppm e a eficácia mínima de 4,4% na menor concentração de 125 ppm.

Tabela 2. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de *Rhipicephalus microplus*, imersas em diferentes concentrações de Piriproxifen. (Primeiro ensaio).

Concentração (ppm ¹)	Peso Teleóginas (g)	Peso Posturas (g)	Eclobilidade (%)	Eficiência Reprodutiva	Eficácia (%)
7.000	0,222 ^a ±0,036	0,065 ^b ±0,036	38,7 ±23,4	223.809 ^b ±207.936	71,8
6.000	0,206 ^a ±0,028	0,074 ^b ±0,033	56,35 ±10,1	386.574 ^b ±229.152	51,3
5.000	0,216 ^a ±0,054	0,078 ^a ±0,036	39,11 ±24,1	299.906 ^b ±224.746	62,2
4.000	0,201 ^a ±0,019	0,077 ^a ±0,029	56,66 ±22,0	457.059 ^b ±271.409	42,4
3.000	0,210 ^a ±0,028	0,078 ^a ±0,023	32,5 ±26,6	292.192 ^b ±252.679	63,2
2.000	0,217 ^a ±0,041	0,102 ^a ±0,027	55,6 ±23,1	536.483 ^a ±245.724	32,4
1.000	0,217 ^a ±0,026	0,104 ^a ±0,025	58,2 ±29,9	572.365 ^a ±340.314	27,9
500	0,184 ^a ±0,023	0,085 ^a ±0,017	67,3 ±19,2	641.373 ^a ±248.065	19,2
250	0,161 ^b ±0,026	0,078 ^a ±0,020	61,4 ±19,6	610.291 ^a ±270.958	23,1
125	0,199 ^a ±0,039	0,102 ^a ±0,025	73,7 ±14,7	759.176 ^a ±195.877	4,4
Diluyente	0,181 ^a ±0,026	0,052 ^a ±0,029	67,8 ±21,5	2.353.428 ^a ±4305.436	0
Controle	0,209 ^a ±0,037	0,102 ^a ±0,040	70,5 ±35,6	793.717 ^a ±405.717	

¹ Ppm - partes por milhão. ²ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si (p>0,05).

4.1.3 Diflubenzuron

As teleóginas separadas para este ensaio não apresentaram diferença significativa quando analisado o peso médio destas dentro de cada grupo experimental. Assim os pesos médios destas no ensaio variaram entre 0,181 a 0,237 gramas (Tabela 3).

E mesmo com o diflubenzuron neste ensaio não sendo totalmente solubilizado nas concentrações superiores a 4.000 ppm, o que implicou na não linearidade dos resultados individuais, por fêmea ingurgitada obtidos em cada grupo experimental. Só foram observadas diferenças estatísticas significativas em relação aos pesos médios das posturas dos grupos controle e placebo para as concentrações de 6.000 e 7.000 ppm. Com menores pesos de posturas em relação ao grupo controle observados a partir da concentração de 5.000 ppm (Tabela 3).

Já em relação o percentual de eclodibilidade o diflubenzuron não foi capaz de inibir a eclosão dos ovos oriundos das posturas das fêmeas ingurgitadas tratadas. Com o menor porcentagem de eclosão de 66,2% na concentração de 7.000 ppm (Tabela 3).

Com os índices de eficiência reprodutivas médios variando estatisticamente entre os grupos controle e tratado apenas para as concentrações de 6.000 e 7.000 ppm. Quando avaliada a eficácia sobre esse índice, observou a ausência desta para as concentrações de 125, 500, 1.000, 2.000 e 3.000 ppm. E com alguma eficácia para as concentrações de 250, 4.000 e 5.000 ppm. Assim os níveis de eficácia observados para as concentrações de 125, 250, 500, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000 e 7.000 ppm foi respectivamente de 0; 2,1; 0; 0 e 0; 0; 4,5; 24,5; 77,3, 64% (Tabela 3).

Tabela 3. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de *Rhipicephalus microplus*, imersas em diferentes concentrações de Diflubenzuron. (Primeiro ensaio).

Concentração (ppm ¹)	Peso Teleóginas (g)	Peso Posturas (g)	Eclodibilidade (%)	Eficiência Reprodutiva	Eficácia (%)
7.000	0,213 ^a ±0,028	0,045 ^b ±0,047	66,2 ±10,6	285.505 ^b ±314.512	64
6.000	0,219 ^a ±0,036	0,021 ^b ±0,042	91,5 ±2,5	180.429 ^b ±368.622	77,3
5.000	0,201 ^a ±0,035	0,069 ^a ±0,040	83,62 ±13,3	599.760 ^a ±348.632	24,4
4.000	0,213 ^a ±0,030	0,098 ^a ±0,039	83,33 ±13,8	757.956 ^a ±296.057	4,5
3.000	0,237 ^a ±0,034	0,110 ^a ±0,037	82,7 ±27,6	828.678 ^a ±281.658	0
2.000	0,217 ^a ±0,024	0,123 ^a ±0,019	89,2 ±3,78	1006.503 ^a ±59.568	0
1.000	0,226 ^a ±0,038	0,115 ^a ±0,046	81,6 ±14,9	803.435 ^a ±300.515	0
500	0,206 ^a ±0,036	0,113 ^a ±0,033	88,7 ±4,24	956.442 ^a ±173.065	0
250	0,227 ^a ±0,037	0,114 ^a ±0,050	79 ±25,8	777.019 ^a ±419.199	2,1
125	0,214 ^a ±0,049	0,102 ^a ±0,035	90,9 ±4,1	1038.587 ^a ±103.543	0
Diluyente	0,181 ^a ±0,026	0,052 ^a ±0,029	67,8 ±21,5	2.353.428 ^a ±4305.436	0
Controle	0,209 ^a ±0,037	0,102 ^a ±0,040	70,5 ±35,6	793.717 ^a ±405.717	

¹ppm- partes por milhão. ²ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si (p>0,05).

4.2 Segundo Ensaio in vitro

4.2.2 Fluazuron

O peso médio das teleóginas dos grupos controle, placebo e tratados neste ensaio com fluazuron não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 4), apresentando variações entre 0,260 e 0,292g.

E em relação às posturas realizadas pelas fêmeas ingurgitadas tratadas, o peso médio destas não diferiu significativamente em relação ao peso médio das posturas do grupo controle e placebo. Com os valores médios observados semelhantes para todos os grupos (Tabela 4).

Quando analisada a eclodibilidade média dos ovos, observou-se que em todas as concentrações ocorreram mínimos valores de porcentagem de eclosão, com o percentual de eclosão apresentando valores lineares crescentes claros de diminuição da eclodibilidade. Com os menores percentuais de eclodibilidade encontrados nas concentrações de 3.500 e 4.000 ppm (Tabela 4).

Os valores médios de eficiência reprodutiva diferiram estatisticamente para todas as concentrações dos grupos tratados quando comparados com o controle e o placebo. Todos os resultados obtidos com os cálculos da eficiência foram inferiores aos resultados obtidos para os grupos controle e placebo (Tabela 4).

Para o fluazuron, os resultados observados indicaram ocorrer um incremento de atividade na inibição da eficiência reprodutiva à medida que a concentração foi subindo, apesar de aparentemente não demonstrar uma proporcionalidade. Os níveis de eficácia observados sobre a eficiência reprodutiva das fêmeas tratadas nas concentrações de 50, 100, 250, 500, 750, 1.000, 1.250, 1.500, 1.750, 2.000, 2.500, 2.750, 3.000, 3.500 e 4.000 ppm foram respectivamente de 66,8; 73,9; 58,7; 62; 63,3; 80,3; 97,7; 85,1; 94; 97,1; 99,7; 99,9; 86,7; 99,9; 99,9 e 99,9% (Tabela 4).

Tabela 4. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de *Rhipicephalus microplus*, imersas em diferentes concentrações de Fluazuron. (Segundo ensaio).

Concentração (ppm ¹)	Peso Teleóginas (g)	Peso Posturas (g)	Eclobilidade (%)	Eficiência Reprodutiva	Eficácia (%)
4.000	0,269 ^a ±0,049	0,133 ^a ±0,059	0,09 ±0,02	994 ±3.295 ^b	99,9
3.500	0,266 ^a ±0,029	0,131 ^a ±0,043	0,08 ±0,02	1.024 ^b ±3.394	99,9
3.000	0,288 ^a ±0,029	0,133 ^a ±0,057	0,72 ± 1,71	7.884 ^b ±19.975	99,9
2.750	0,287 ^a ±0,026	0,152 ^a ±0,023	10,41 ±14,2	114.893 ^b ±155.897	86,7
2.500	0,273 ^a ±0,050	0,120 ^a ±0,051	0,08 ±0,02	932 ^b ±3.089	99,9
2.250	0,287 ^a ±0,032	0,103 ^a ±0,078	2,33 ±6,2	2.250 ^b ±5.108	99,7
2.000	0,262 ^a ±0,048	0,115 ^a ±0,064	2,8 ±8,0	24.911 ^b ±79.381	97,1
1.750	0,282 ^a ±0,063	0,123 ^a ±0,060	4,75 ±9,8	52.218 ^b ±108.824	94
1.500	0,284 ^a ±0,040	0,155 ^a ±0,027	10,5 ±12,6	128.930 ^b ±151.417	85,1
1.250	0,261 ^a ±0,044	0,125 ^a ±0,047	1,75 ±3,51	20.307 ^b ±41.945	97,7
1.000	0,260 ^a ±0,035	0,147 ^a ±0,021	14,91 ±16,0	170.972 ^b ±188.988	80,3
750	0,260 ^a ±0,032	0,134 ^a ±0,060	31 ±27,91	317.817 ^b ±309.462	63,3
500	0,282 ^a ±0,046	0,156 ^a ±0,024	27,33 ±22,2	328.694 ^b ±262.346	62
250	0,267 ^a ±0,019	0,150 ^a ±0,047	31,75 ±22,6	357.712 ^b ±253.370	58,7
100	0,292 ^a ±0,018	0,127 ^a ±0,052	20,33 ±24,6	225.752 ^b ±271.204	73,9
50	0,269 ^a ±0,037	0,151 ^a ±0,032	26,25 ±22,8	287.412 ^b ±266.204	66,8
Diluyente	0,271 ^a ±0,035	0,127 ^a ±0,043	77,5 ±35,64	762.465 ^a ±308.838	11,94
Controle	0,292 ^a ±0,045	0,151 ^a ±0,030	84 ±13,5	865.857 ^a ±180.970	

¹ppm- partes por milhão. ²ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si (p>0,05).

4.2.2 Piriproxifen

Quanto aos resultados observados no segundo estudo para o piriproxifen (Tabela 5), pode-se notar que o peso médio das teleóginas que não diferiu estatisticamente na comparação entre o grupo controle e placebo e os medicados, apresentando variações entre 0,274 e 0,315g.

Com relação ao peso médio das posturas pode-se observar que para o grupo controle e placebo os valores médios foram superiores aos dos grupos das concentrações a partir de 250 ppm. Foram constatadas diferenças significativas entre os valores médios de posturas do grupo controle e placebo para as diferentes concentrações utilizadas para os grupos tratados com as concentrações de 250, 3.000, 4.000 ppm e superiores a 6.000 ppm (Tabela 5).

Quanto à eclodibilidade dos ovos ocorreu uma inibição deste processo de forma crescente de acordo com o aumento das concentrações, com o menor percentual médio de eclosão encontrado na concentração de 10.000 ppm com 19,72% (Tabela 5).

Os valores médios de eficiência reprodutiva dos grupos tratados a partir da concentração de 250 ppm diferiram significativamente para os grupos controle e placebo. Com o menor valor observado para esse parâmetro na concentração de 10.000 ppm.

Assim para o piriproxifen os níveis de eficácia observados em relação ao índice de eficiência reprodutiva para as concentrações de 50, 100, 250, 500, 750, 1.000, 1.250, 1.500, 1.750, 2.000, 2.500, 2.750, 3.000, 3.500 e 4.000 ppm foi respectivamente de 11,8; 0; 49,9; 39,9; 32,7; 47,4; 60,1; 59,7; 55,6; 76,8; 79,9; 72,1; 69,8; 83,7; 70,8; 79,1; 79,8%. Tais resultados indicaram que o piriproxifen neste ensaio não apresentou elevados níveis de eficácia para as concentrações testadas (Tabela 5).

Tabela 5. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de *Rhipicephalus microplus*, imersas em diferentes concentrações de Piriproxifen. (Segundo ensaio).

Concentração (ppm ¹)	Peso Teleóginas (g)	Peso Posturas (g)	Eclobilidade (%)	Eficiência Reprodutiva	Eficácia (%)
13.000	0,315 ^a ±0,024	0,098 ^b ±0,037	21,33 ±23,7	163.702 ^b ±196.541	79,8
12.000	0,289 ^a ±0,045	0,090 ^b ±0,027	25,58 ±18,3	169.122 ^b ±152.704	79,1
11.000	0,281 ^a ±0,035	0,096 ^b ±0,013	33,33 ±16,7	236.427 ^b ±126.837	70,8
10.000	0,298 ^a ±0,033	0,089 ^b ±0,033	19,72 ±14,9	131.989 ^b ±117.309	83,7
9.000	0,303 ^a ±0,033	0,114 ^b ±0,029	30,5 ±19,1	244.679 ^b ±161.781	69,8
8.000	0,307 ^a ±0,042	0,112 ^b ±0,048	25,66 ±22,4	226.164 ^b ±195.035	72,1
7.000	0,313 ^a ±0,032	0,100 ^b ±0,043	20,66 ±23,3	163.288 ^b ±209.983	79,9
6.000	0,311 ^a ±0,028	0,103 ^b ±0,032	24,91 ±19,9	188.456 ^b ±157.228	76,8
5.000	0,314 ^a ±0,031	0,127 ^a ±0,028	41,66 ±21,1	360.092 ^b ±182.879	55,6
4.000	0,301 ^a ±0,038	0,118 ^b ±0,025	39,25 ±18,6	326.715 ^b ±179.797	59,7
3.000	0,288 ^a ±0,027	0,107 ^b ±0,047	35,58 ±25,6	323.788 ^b ±279.205	60,1
2.000	0,327 ^a ±0,043	0,137 ^a ±0,035	48,16 ±22,9	426.328 ^b ±244.325	47,4
1.000	0,308 ^a ±0,037	0,134 ^a ±0,018	61,08 ±18,4	545.873 ^b ±204.227	32,7
500	0,274 ^a ±0,046	0,123 ^a ±0,019	58,83 ±16,2	487.189 ^b ±187.828	39,9
250	0,316 ^a ±0,037	0,110 ^b ±0,049	54,45 ±24,6	410.726 ^b ±285.145	49,9
100	0,313 ^a ±0,042	0,162 ^a ±0,029	78,25 ±24,7	818.260 ^a ±268.900	0
50	0,298 ^a ±0,028	0,141 ^a ±0,019	74,5 ±17,5	715.239 ^a ±185.575	11,8
Diluyente	0,311 ^a ±0,021	0,142 ^a ±0,044	82,36 ±12,6	754.668 ^a ±262.672	6,9
Controle	0,304 ^a ±0,036	0,142 ^a ±0,049	86,72 ±9,7	810.920 ^a ±294.153	

¹ppm- partes por milhão. ²ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si (p>0,05).

4.2.3 Diflubezuron

Quanto aos resultados observados no segundo estudo para o diflubenzuron (Tabela 6), pode-se notar quanto ao peso médio das teleóginas que não ocorreu diferença estatística significativa entre o grupo controle, placebo e tratados, apresentando variações de peso entre 0,239 e 0,273 g.

Com relação ao peso médio das posturas pode-se observar que para o grupo controle/placebo não foi verificada diferença significativa quando comparados com os grupos tratados. Com os valores dos pesos médios de postura do grupo tratado tão elevados quanto aos do controle/placebo (Tabela 6).

Quanto à eclodibilidade os percentuais de eclosão dos ovos em larvas foram elevados em todas as concentrações dos grupos tratados. Com valores de eclodibilidade semelhantes aos observados nos grupos controle e placebo (Tabela 6).

Os valores médios de eficiência reprodutiva dos grupos tratados também não diferiram significativamente para os grupos controle e placebo. Com o menor valor médio de índice reprodutivo obtido na concentração de 3.000 ppm (Tabela 6).

De forma que para o diflubenzuron no segundo ensaio os níveis de eficácia observados para as concentrações de 62,5;125;250;500;1.000;2.000; 3.000; 4.000; 5.000; 6.000; 7.000; 8.000; 9.000 e 10.000 ppm foi respectivamente de 15,5; 37,7; 6; 17,4; 20,1; 24,5; 40,7; 20,8; 1,2; 6,4; 10,6; 19,9; 7,6 e 8,4. Com as maiores eficácias sobre a eficiência reprodutiva das fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* observadas nas concentrações de 125 e 3.000 ppm com 37,7 e 40,7% respectivamente (Tabela 6), não demonstrando nenhuma relação concentração dependência.

Tabela 6. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de *Rhipicephalus microplus*, imersas em diferentes concentrações de Diflubenzuron. (Segundo ensaio).

Concentração (ppm ¹)	Peso Teleóginas (g)	Peso Posturas (g)	Eclodibilidade (%)	Eficiência Reprodutiva	Eficácia (%)
10.000	0,266 ^a ±0,034	0,124 ^a ±0,044	78,72 ±11,7	750.092 ^a ±300.245	8,4
9.000	0,263 ^a ±0,060	0,129 ^a ±0,037	77,58 ±10	756.704 ^a ±130.646	7,6
8.000	0,261 ^a ±0,053	0,117 ^a ±0,035	68,75 ±22,7	655.983 ^a ±296.194	19,9
7.000	0,248 ^a ±0,057	0,109 ^a ±0,039	79,83 ±14,8	732.214 ^a ±262.916	10,6
6.000	0,250 ^a ±0,045	0,125 ^a ±0,039	75,5 ±21,4	766.760 ^a ±265.355	6,4
5.000	0,249 ^a ±0,033	0,131 ^a ±0,023	77,58 ±15,8	809.650 ^a ±159.175	1,2
4.000	0,250 ^a ±0,041	0,104 ^a ±0,053	76,45 ±26,7	684.466 ^a ±406.284	20,8
3.000	0,264 ^a ±0,039	0,099 ^a ±0,061	70,6 ±24,8	485.917 ^a ±396.681	40,7
2.000	0,248 ^a ±0,037	0,115 ^a ±0,040	66,75 ±16,9	618.291 ^a ±235.743	24,5
1.000	0,264 ^a ±0,043	0,119 ^a ±0,044	71,5 ±21	654.581 ^a ±255.240	20,1
500	0,265 ^a ±0,053	0,117 ^a ±0,035	74,83 ±10,5	676.922 ^a ±197.841	17,4
250	0,255 ^a ±0,044	0,122 ^a ±0,046	78,41 ±11,4	769.645 ^a ±324.607	6
125	0,251 ^a ±0,046	0,093 ^a ±0,047	63,90 ±30,7	512.970 ^a ±387.361	37,7
62,5	0,273 ^a ±0,051	0,122 ^a ±0,038	67,33 ±28,4	691.844 ^a ±462.718	15,5
Controle	0,239 ^a ±0,036	0,119 ^a ±0,030	81,33 ±10,1	819.102 ±199.819	

¹ppm- partes por milhão. ²ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem

significativamente entre si (p>0,05).

4.3 Terceiro Ensaio in vitro

4.3.2 Fluazuron

Quanto aos resultados observados no terceiro ensaio para o fluazuron (Tabela 7) pode-se notar quanto ao peso médio das teleóginas que não ocorreu diferença estatística significativa entre o grupo controle, placebo e tratados, apresentando variações entre 0,244 e 0,289 g.

Com relação ao peso médio das posturas pode-se observar que para o grupo controle e placebo os valores foram superiores aos dos grupos das concentrações mais elevadas. Foram constatadas diferenças significativas entre os valores médios de posturas do grupo controle e placebo para as concentrações de 50, 500, 2.000, 3.000 e 4.000 ppm (Tabela 7).

Quanto à eclodibilidade dos ovos ocorreu uma intensa inibição deste processo a partir de concentração 500 ppm onde constatou-se um percentual de eclosão de apenas 1,91%. Para as concentrações de 1.000, 2.000 e 4.000 ppm ocorreu uma inibição completa da eclodibilidade dos ovos (Tabela 7).

Os valores médios de eficiência reprodutiva dos grupos tratados para as concentrações superiores a 25 ppm diferiram significativamente para os grupos controle e placebo. Destaca-se que para as concentrações de 1.000, 2.000 e 4.000 ppm os valores observados para este parâmetro foram de zero (0) (Tabela 7).

Para o fluazuron, os resultados observados indicaram ocorrer um incremento de atividade na inibição da eficiência reprodutiva à medida que a concentração foi subindo. Os níveis de eficácia observados na inibição desse índice nas concentrações de 0,01; 0,05; 0,10; 0,50; 1; 25; 50; 100; 500; 1.000; 2.000; 3.000 e 4.000ppm foi respectivamente de 25,7; 23,3; 18,3; 12,8; 13,2; 67,4; 85,5; 56,6; 97,9; 100; 100; 99,7 e 100. Tais resultados indicaram que o fluazuron neste ensaio a partir da concentração de 500 ppm começou a apresentar elevados níveis de eficácia (Tabela 7).

Tabela 7. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de *Rhipicephalus microplus*, imersas em diferentes concentrações de Fluazuron. (Terceiro ensaio).

Concentração (ppm ¹)	Peso Teleóginas (g)	Peso Posturas (g)	Eclobilidade (%)	Eficiência Reprodutiva	Eficácia (%)
4.000	0,251 ^a ±0,046	0,114 ^b ±0,040	0 ±0	0 ^b ±0	100
3.000	0,257 ^a ±0,046	0,115 ^b ±0,033	0,33 ±1,1	2.778 ^b ±9.212	99,7
2.000	0,256 ^a ±0,036	0,122 ^b ±0,035	0 ±0	0 ^b ±0	100
1.000	0,282 ^a ±0,038	0,142 ^a ±0,021	0 ±0	0 ^b ±0	100
500	0,231 ^a ±0,021	0,097 ^b ±0,030	1,91 ±6,35	19.089 ^b ±63.311	97,9
100	0,250 ^a ±0,029	0,126 ^a ±0,027	36,08 ±26,5	393.314 ^b ±301.070	56,6
50	0,244 ^a ±0,024	0,110 ^b ±0,31	13,16 ±19,7	131.705 ^b ±198.455	85,5
25	0,254 ^a ±0,023	0,134 ^a ±0,019	26,91 ±23,0	295.934 ^b ±258.839	67,4
1	0,262 ^a ±0,039	0,127 ^a ±0,018	80,25 ±10,4	786.985 ^a ±141.014	13,2
0,50	0,283 ^a ±0,052	0,126 ^a ±0,032	84,25 ±12,9	790.228 ^a ±233.304	12,8
0,10	0,267 ^a ±0,024	0,131 ^a ±0,029	74,33 ±16,7	740.596 ^a ±242.268	18,3
0,05	0,252 ^a ±0,034	0,116 ^b ±0,013	73 ±15,3	694.949 ^a ±189.254	23,3
0,01	0,275 ^a ±0,039	0,124 ^a ±0,051	66,25 ±30,5	673.534 ^a ±339.201	25,7
Diluyente	0,289 ^a ±0,043	0,142 ^a ±0,024	80,75 ±9,9	793.731 ^a ±115.739	12,43
Controle	0,277 ^a ±0,039	0,147 ^a ±0,024	85,5 ±8,6	906.416 ^a ±119.171	

¹ppm- partes por milhão. ²ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si (p>0,05).

4.3.2 Piriproxifen

Em relação aos resultados observados para o piriproxifen no terceiro ensaio (Tabela 8), pode-se notar quanto ao peso médio das teleóginas que não ocorreu diferença estatística significativa entre o grupo controle e o medicado, apresentando variações entre 0,242 e 0,289 g.

Com relação ao peso médio das posturas pode-se observar que para o grupo controle/placebo os valores médios foram superiores aos das concentrações mais elevadas do grupo tratado. Diferenças significativas foram constatadas entre os valores médios de posturas do grupo controle/placebo para as concentrações de 0,50; 25; 50; 100; 500; 1.000; 2.000; 3.000 e 4.000 ppm (Tabela 8).

Os resultados obtidos quanto à eclodibilidade dos ovos demonstram haver redução na emergência das larvas de *R. microplus* os grupos tratados nas seguintes concentrações 0,10; 25; 100; 500; 1.000; 2.000; 3.000 e 4.000 ppm, com menor percentual de eclosão encontrado para a concentração de 3.000 ppm (Tabela 8).

Já os valores médios de eficiência reprodutiva dos grupos diferiram significativamente entre os grupos controle/placebo para com todas as concentrações a partir de 0,10 ppm, com exceção da concentração de 1 ppm.

Para o piriproxifen neste ensaio os resultados observados indicaram ocorrer um incremento de atividade na inibição da eficiência reprodutiva à medida que a concentração ia se tornando maior. Os níveis de eficácia observados para as concentrações de 0,01; 0,05; 0,10; 0,50; 1; 25; 50; 100; 500; 1.000; 2.000; 3.000 e 4.000 ppm foi respectivamente de 18,3; 21; 27,6; 37,4; 0; 36,1; 30,9; 38,3; 53,9; 81,1; 75,6; 89,7 e 85,7%. Tais resultados indicaram que o piriproxifen neste ensaio para a concentração de 3.000 ppm apresentou um índice de eficácia sobre a inibição da eficiência reprodutiva das fêmeas tratadas, que aproximasse de um percentual de eficácia elevado, com 89,7% de eficácia (Tabela 8).

Tabela 8. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de *Rhipicephalus microplus*, imersas em diferentes concentrações de Piriproxifen. (Terceiro ensaio).

Concentração (ppm ¹)	Peso Teleóginas (g)	Peso Posturas (g)	Eclodibilidade (%)	Eficiência Reprodutiva	Eficácia (%)
4.000	0,250 ^a ±0,023	0,070 ^b ±0,022	19,33 ±16,8	129.279 ^b ±118.423	85,7
3.000	0,260 ^a ±0,027	0,063 ^b ±0,028	13,72 ±23,2	93.629 ^b ±173.670	89,7
2.000	0,259 ^a ±0,023	0,075 ^b ±0,035	32,27 ±22,2	220.975 ^b ±191.685	75,6
1.000	0,246 ^a ±0,021	0,073 ^b ±0,026	24,08 ±18,4	171.183 ^b ±135.958	81,1
500	0,261 ^a ±0,022	0,096 ^b ±0,031	53 ±21,7	418.224 ^b ±275.427	53,9
100	0,249 ^a ±0,025	0,104 ^b ±0,022	66,83 ±11,7	559.328 ^b ±156.851	38,3
50	0,251 ^a ±0,030	0,096 ^b ±0,037	79,54 ±12,0	626.281 ^b ±277.375	30,9
25	0,242 ^a ±0,037	0,105 ^b ±0,040	66,18 ±18,2	578.762 ^b ±279.442	36,1
1	0,254 ^a ±0,046	0,161 ^a ±0,116	78,58 ±12,8	974.907 ^a ±592.773	0
0,50	0,261 ^a ±0,038	0,100 ^b ±0,060	68,4 ±25,0	567.667 ^b ±348.373	37,4
0,10	0,251 ^a ±0,031	0,118 ^a ±0,025	68,41 ±18,5	656.420 ^b ±231.207	27,6
0,05	0,264 ^a ±0,026	0,121 ^a ±0,032	75,08 ±17,3	715.783 ^a ±269.835	21
0,01	0,264 ^a ±0,043	0,123 ^a ±0,028	76,16 ±17,8	740.857 ^a ±230.999	18,3
Diluyente	0,289 ^a ±0,043	0,142 ^a ±0,024	80,75 ±9,9	793.731 ^a ±115.739	12,43
Controle	0,277 ^a ±0,039	0,147 ^a ±0,024	85,5 ±8,62	906.416 ^a ±119.117	

¹ppm- partes por milhão. ²ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si (p>0,05).

4.3.3 Diflubenzuron

Para os resultados observados neste terceiro ensaio para o diflubenzuron (Tabela 9), não ocorreu diferença estatística significativa entre o grupo controle/placebo e as concentrações empregadas no tratado, quanto ao peso das fêmeas ingurgitadas, que apresentaram variações entre 0,259 e 0,298 g.

Os pesos médios das posturas também não diferiram significativamente entre as diferentes concentrações dos grupos tratados para os grupos controle e placebo. De modo que os pesos médios das posturas foram muito semelhantes entre todos os grupos (Tabela 9).

Em relação ao percentual de eclosão, o menor percentual observado foi de 64,16 na concentração de 1 ppm, no entanto este foi muito próximo ao percentual de eclosão obtido nos grupos placebo/controle.

Os valores médios de eficiência reprodutiva para os grupos tratados também foram muito próximos quando comparados com os grupos tratados com o grupo controle/placebo. O menor valor de eficiência reprodutiva para a concentração de 10.000 ppm. Com os valores observados neste parâmetro também não diferindo estatisticamente entre os grupos controle, placebo e tratados (Tabela 9).

Assim para o diflubenzuron os resultados observados quanto aos níveis de eficácia observados para a inibição da eficiência reprodutiva das teleóginas tratadas nas concentrações de 0,01; 0,05; 0,10; 0,50; 1; 25; 50; 100; 500; 1.000; 2.000; 3.000 e 4.000 ppm foi respectivamente de 11,7; 23,6; 8,6; 16,9; 27,1; 20,2; 27,8; 0;17,7;11,5; 12,4 e 31,9% (Tabela 9).

Tabela 9. Peso médio das teleóginas e das posturas, percentual de eclosão médio, eficiência reprodutiva média e valores de eficácia do teste de imersão adultos de *Rhipicephalus microplus*, imersas em diferentes concentrações de Diflubenzuron. (Terceiro ensaio).

Concentração (ppm ¹)	Peso Teleóginas (g)	Peso Posturas (g)	Eclodibilidade (%)	Eficiência Reprodutiva	Eficácia (%)
4.000	0,259 ^a ±0,032	0,118 ^a ±0,032	69,66 ±24,3	587.561 ^a ±326.797	31,9
3.000	0,262 ^a ±0,041	0,127 ^a ±0,025	77,33 ±12,2	756.552 ^a ±177.364	12,4
2.000	0,292 ^a ±0,051	0,117 ^a ±0,057	90,3 ±4,8	763.768 ^a ±350.363	11,5
1.000	0,276 ^a ±0,027	0,127 ^a ±0,042	76,41 ±24,1	710.426 ^a ±340.429	17,7
500	0,279 ^a ±0,039	0,162 ^a ±0,096	81,33 ±25,5	984.500 ^a ±554.415	0
100	0,284 ^a ±0,034	0,107 ^a ±0,043	69,58 ±30,1	623.137 ^a ±346.821	27,8
50	0,267 ^a ±0,026	0,114 ^a ±0,041	72,83 ±23,4	688.994 ^a ±269.630	20,2
25	0,269 ^a ±0,035	0,115 ^a ±0,045	78,72 ±11,9	677.119 ^a ±272.643	21,6
1	0,281 ^a ±0,048	0,133 ^a ±0,038	64,16 ±34,4	629.178 ^a ±340.977	27,1
0,50	0,273 ^a ±0,040	0,114 ^a ±0,049	76,58 ±25,9	717.587 ^a ±324.137	16,9
0,10	0,260 ^a ±0,028	0,121 ^a ±0,040	85,36 ±9,6	788.652 ^a ±274.651	8,6
0,05	0,259 ^a ±0,031	0,111 ^a ±0,023	75,41 ±22,2	659.964 ^a ±250.483	23,6
0,01	0,274 ^a ±0,037	0,132 ^a ±0,029	77,83 ±24,7	762.496 ^a ±265.310	11,7
Diluyente	0,298 ^a ±0,035	0,122 ^a ±0,040	78,66 ±26,2	720.973 ^a ±260.386	12,43
Controle	0,265 ^a ±0,035	0,134 ^a ±0,022	85,16 ±11,8	720.973 ^a ±130.690	

¹ppm- partes por milhão. ²ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si (p>0,05).

4.4. Comparação Entre as Eficácias Obtidas para o Fluazuron nos Três Ensaios Realizados

Na tabela 10, podem ser observados de forma comparativa os valores de eficácia sobre a eficiência reprodutiva de fêmeas tratadas com fluazuron nas concentrações empregadas para os três ensaios, cujos resultados estão alocados na Tabela 1 (Primeiro Ensaio), Tabela 4 (Segundo Ensaio) e Tabela 7 (Terceiro Ensaio).

No primeiro ensaio pode-se verificar que o fluazuron começou a apresentar níveis elevados de eficácia (>90%) a partir de 500 ppm. A partir da concentração de 3.000 ppm os níveis de eficácia atingiram a marca de 100% (Tabela 10).

No segundo ensaio os níveis mais elevados de eficácia começaram a ser detectados a partir da concentração de 1.250 ppm. Nas concentrações de 3.000 a 4.000 ppm os níveis de eficácia ficaram na casa dos 99% (Tabela 10).

No terceiro ensaio os níveis de eficácia mais elevados foram observados a partir da concentração de 500 ppm (Tabela 10).

Tabela 10. Eficácia do fluazuron sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*, para o primeiro, segundo e terceiro ensaio.

Concentração (ppm ¹)	Eficácia (%) do Fluazuron		
	Ensaio I ²	Ensaio II ³	Ensaio III ⁴
7000	100	---	---
6000	100	---	---
5000	100	---	---
4000	100	99,9	100
3500	---	99,9	---
3000	100	99,9	99,7
2750	---	86,7	---
2500	---	99,9	---
2250	---	99,7	---
2000	96,1	97,1	100
1750	---	94,0	---
1500	---	85,1	---
1250	---	97,7	---
1000	93,2	80,3	100
750	---	63,3	---
500	91,5	62	97,9
250	88,3	58,7	---
125	19,3	---	---
100	---	73,9	56,6
50	---	66,8	85,5
25	---	---	67,4
1	---	---	13,2
0,5	---	---	12,8
0,1	---	---	18,3
0,05	---	---	23,3
0,01	---	---	25,7

¹ ppm- partes por milhão. ² Concentrado emulsionável, com diluição seriada em água e tempo de imersão de cinco minutos. ³ Solução obtida por meio da matéria prima, com diluição seriada em água destilada e tempo de imersão de um minuto. ⁴ Solução obtida por meio da matéria prima, com diluição seriada no diluente e tempo de imersão de um minuto.

Comparativamente o fluazuron no primeiro e segundo ensaio obtiveram resultados semelhantes em relação aos níveis de eficácia, para as concentrações superiores a 2.000 ppm, embora tenha se utilizado metodologias diferentes no tempo de imersão das teleóginas e também no procedimento empregado para a promoção da diluição. No primeiro ensaio utilizou-se o tempo de cinco minutos e no segundo ensaio usou-se o tempo de um minuto de acordo com a FAO (2004).

O tempo de exposição das fêmeas ingurgitadas ao fluazuron foi o mesmo para o segundo e terceiro ensaio. E quando comparada a eficácia do composto na concentração de 500 ppm nos dois ensaios foi observado que no segundo ensaio a eficácia foi de 62%, inferior a eficácia obtida no terceiro ensaio que foi de 97,9%, com a metodologia de sobulização conferindo essa diferença de eficácia do IGR para os dois ensaios.

Quanto ao primeiro ensaio, este apresentou uma elevada eficácia de 91,5% na concentração de 500 ppm, próxima a eficácia obtida no terceiro ensaio. Esse fato pode ser devido ao material utilizado para a realização do primeiro ensaio, que foi o concentrado emulsinável pronto ou pelo maior tempo de exposição das teleóginas ao princípio ativo. Assim pode-se afirmar que em altas concentrações a metodologia de solubilização do fluazuron não interfere na eficácia obtida sobre a eficiência reprodutiva das fêmeas ingurgitadas, mas em baixas concentrações o tipo de diluente utilizado para a solubilização influenciou nas eficácias obtidas.

Assim como os testes *in vitro* realizados com adultos (fêmeas ingurgitadas) de *R. microplus* são comumente utilizados para testar novas moléculas e também para avaliar a questão da resistência aos carrapaticidas em populações de carrapato oriundas do campo (FIGUEIREDO, 2017). O teste de imersão de teleóginas foi padronizado por Drummond et al. (1973) e adaptado por Graf et al. (1994) e pela FAO (2004) para a avaliar a eficácia do fluazuron.

Com a observação no decorrer estudo que a metodologia para a diluição do fluazuron interferiu na eficácia deste sobre as fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*. Com a técnica de diluição proposta pela FAO (2004), realizada no terceiro ensaio, como melhor opção para solubilização das matérias primas utilizadas.

A interferência da metodologia de solubilização da matéria prima na eficácia obtida deve-se ao fato que a disponibilidade de princípio ativo disponível na solução está proporcionalmente relacionada ao solvente utilizado. Problemas de diluição são uma fonte importante de erro experimental em teste *in vitro*. Como quando pequenos volumes do acaricida da solução estoque são adicionados a quantidades relativamente grandes de diluente. (FAO, 2004).

A correta diluição do fluazuron deve ser realizada em acetona e Triton X-100 a 2 %, pois este apresenta baixa solubilidade em etanol e água, por isso a diluição seriada é feita na solução diluente (FAO, 2004). Esse fato foi observado no presente estudo tanto para o fluazuron, quanto para os outros dois IGRs, pois apresentou se eficácias superiores em concentrações menores quando a diluição seriada foi realizada com o diluente, em comparação a diluição seriada realizada com água destilada.

Como a não padronização na metodologia de diluição é algo comum em testes *in vitro* de imersão, de modo que estas ocorrem principalmente quando se utilizam compostos administrados pela via tópica “pour on” ou na forma de concentrados emulsionáveis, e pela via subcutânea injetável. Ou ainda quando são utilizados extratos vegetais (FIGUEIREDO, 2017; JHONSSON; MILLER; ROBERTSON, 2007).

Para as bases químicas já estabelecidas o preconizado é que se utilize o padrão técnico, porem os produtos comerciais apresentados na forma de concentrado emulsionável e pó molháveis podem ser utilizados (FAO, 2004). Porem, tanto o produto já finalizado, como a matéria prima dos mesmos, podem apresentar componentes com solubilidade desconhecida que vão interferir na eficácia obtida no teste *in vitro*. Fato este que também foi observado no presente estudo.

Quando confrontam resultados de eficácia *in vitro*, obtidos no terceiro ensaio, para o fluazuron com a utilização de matéria prima e o método de diluição recomendado pela FAO (2004), com resultados obtidos por outros autores que utilizaram a mesma forma de diluição, porem com utilização de fluazuron técnico (Sigma) e o fluazuron “pour on” (Acatak ©Novartis) (PUERTA et al., 2015; RECK et al., 2014), foi possível constatar que as mesmas concentrações nos três estudos apresentaram eficácias distintas.

Com o ensaio *in vitro* realizado neste estudo apresentando eficácias inferiores, as eficácias encontradas por Reck et al. (2014) e Puerta et al. (2015), para as concentrações de 50; 0,5 e 0,05ppm. Que neste estudo apresentaram eficácias abaixo de 85%, enquanto Reck et

al. (2014) encontraram eficácias de 99% para as duas primeiras concentrações e 86% para a concentração de 0,05ppm. Enquanto Puerta et al. (2015) encontraram eficácias acima de 98% para as três concentrações.

Esses fatos reafirmam a questão dos componentes da matéria prima, que contem o principio ativo, possuir elementos com solubilidade desconhecida. O que pode ainda implicar também na eficácia de um produto final. Assim como os veículos usados e também a qualidade das moléculas, podem também estar relacionadas com a absorção do princípio ativo pelo organismo do animal (GOMES et al., 2015).

Um aspecto importante que deve ser comentado é que ao avaliar-se os dados de peso das posturas para todas as concentrações empregadas para o fluazuron nos três ensaios pode-se notar uma baixa influência na produção de ovos (Tabelas 1, 4 e 7). Com exceção, para as concentrações de 50, 500 2.000, 3.000 e 4.000 ppm empregadas no terceiro ensaio observou-se diferença significativa no peso das posturas com uma diferença significativa redução destes valores quando comparado com os do controle/placebo.

Tais resultados são condizentes com o colocado pela (FAO, 2004), ao afirma que o uso fluazuron in vitro quando em contato com teleóginas de *R. microplus* não promove a interrupção da ovoposição, mas sim da eclosão. Fato que pode ser observado claramente em todos os três ensaios realizados, onde ocorreu elevados níveis de inibição da eclosão dos ovos, demonstrando que este é o principal parâmetro a sofrer interferência direta deste IGR.

No entanto técnicas in vitro que busquem avaliar a eficácia do fluazuron e de outros IGRs frente a populações de carrapatos são ainda pouco difundidas. Talvez pelo fato desse regulador de crescimento, fluazuron, ainda apresentar uma boa eficácia frente ao *R. microplus* (FAO, 2004). No entanto recentemente Reck et al. (2014) relataram a presença de cepa de carrapato resistente a esse princípio no Brasil e Coure, Solaris e Trelles (2017) relataram o mesmo fato no Uruguai.

Assim fica claro a necessidade de ser estabelecido ensaios específicos para o estabelecimento dos critérios singulares da avaliação de eficácia carrapaticida através de estudos in vitro com IGRs, em decorrência das características próprias deste grupamento não só pelo mecanismo de ação, mas também pela elevada lipossolubilidade.

4.5 Comparação Entre as Eficácias Obtidas para o Piriproxifen nos Três Ensaios Realizados.

Na tabela 11, podem ser observadas de forma comparativa os valores de eficácia sobre o índice de eficiência reprodutiva das fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* tratadas com as diferentes concentrações de piriproxifen para os três ensaios. Os resultados individuais de cada ensaio encontram-se alocados na Tabela 2 (Primeiro Ensaio), Tabela 5 (Segundo Ensaio) e Tabela 8 (Terceiro Ensaio).

As maiores eficácias foram obtidas no primeiro ensaio com 7.000 ppm (71,8%), no Segundo Ensaio com 7.000 ppm (83,7%) e no terceiro ensaio com 3.000 ppm (89,7%) (Tabela 11).

Assim no primeiro ensaio foram observadas as menores eficácias em relação aos três ensaios, com apenas a concentração mais alta apresentando uma eficácia razoável de aproximadamente 70% (Tabela 11).

No segundo ensaio os níveis eficácias mais elevados encontrados ficaram entre 70 e 80%, e começaram a ser observados a partir da concentração de 6.000 ppm (Tabela 11).

No terceiro ensaio os níveis de eficácia mais elevados foram observados a partir da concentração de 1000 ppm (Tabela 11).

Tabela 11. Eficácia do piriproxifen sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*, para o primeiro, segundo e terceiro ensaio.

Concentração (ppm ¹)	Eficácia (%) do Piriproxifen		
	Ensaio I	Ensaio II	Ensaio III
13000	---	79,8	---
12000	---	79,1	---
11000	---	10,8	---
10000	---	83,7	---
9000	---	69,8	---
8000	---	72,1	---
7000	71,8	79,9	---
6000	51,3	76,8	---
5000	62,2	55,6	---
4000	42,4	59,7	85,7
3000	63,2	60,1	89,7
2000	32,4	47,4	75,6
1000	27,9	32,7	81,1
500	19,2	39,9	53,9
250	23,1	49,9	---
125	4,4	---	---
100	---	0	38,3
50	---	11,8	30,9
25	---	---	36,1
1	---	---	0
0,50	---	---	37,4
0,10	---	---	27,6
0,05	---	---	21
0,01	---	---	18,3

¹ ppm- partes por milhão. ² Solução obtida por meio da matéria prima, com diluição seriada em água e tempo de imersão de cinco minutos. ³ Solução obtida por meio da matéria prima, com diluição seriada em água destilada e tempo de imersão de um minuto. ⁴ Solução obtida por meio da matéria prima, com diluição seriada no diluente e tempo de imersão de um minuto.

Comparativamente, da mesma forma que no caso do fluazuron, a questão da solubilidade parece que foi determinante na questão dos níveis de eficácia observados. Desta forma as mesmas colocações apresentadas anteriormente para o fluazuron aqui também se aplicariam e sustentariam as explicações para com os achados diferenciados que foram observados entre os três ensaios. Para o piriproxifen ficou claro que não houve influência do tempo de imersão das fêmeas ingurgitadas sobre a eficácia.

Com este IGR apresentando eficácias crescentes de 42,4%; 59,7% e 85,7%, na concentração de 4.000 ppm para o primeiro, segundo e terceiro ensaio, respectivamente (Tabela 11). O mesmo fato pode ser observado para a concentração de 500 ppm que também se repete nos três ensaios, com eficácias de 19,2; 39,9 e 53,9% para os ensaios I, II e III, respectivamente. Porém em nenhum dos três ensaios realizados com o piriproxifen obteve-se eficácia sobre o índice de eficiência reprodutiva das teleóginas superior a 90%, com a concentração de 3.000 ppm no terceiro ensaio apresentando a maior eficácia entre todas as concentrações avaliadas para piriproxifen no decorrer dos ensaios I, II e III, com 89,7%, valor

esse inferior aos observados para os três ensaios realizados com o fluazuron, o qual na concentração de 3.000 ppm apresentou eficácias próximas a 100%.

A atividade dos análogos do hormônio juvenil nos carrapatos não é bem conhecida, pois a questão se os indivíduos da Subclasse Acari possuem ou não o hormônio juvenil ainda não está bem esclarecida. Supõe-se que estes possuem ação semelhante nos insetos e nos carrapatos (SONENSHINE; ROE, 2014). Nos insetos, como por exemplo, a *C. felis felis* o piriproxifen costuma inibir a mudança do estágio de larva para o estágio seguinte, porém no caso do *R. microplus* por se tratar de um carrapato de ciclo monexo não é possível avaliar a atividade in vitro sobre as larvas e ninfas ingurgitadas, por não existirem metodologias in vitro para análise da eficácia de um IGR sobre essas fases de um carrapato com ciclo monóxeno, uma vez que essas não se desprendem do hospedeiro para realizar o processo de muda (BATISTA et al., 2012; FAO, 2004; PEREIRA et al., 2008).

No presente estudo o piriproxifen apresentou capacidade de inibir a postura das fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, de forma significativa nos três ensaios. Assim como apresentou nos estudos com os seguintes insetos *Anopheles gambiae*, *Eriopsis connexa*, *Chrysoperla externa* e *Daphnia magna* realizado respectivamente pelos seguintes pesquisadores Jaffer et al. (2015); Rimold et al. (2017) e Watanabe et al. (2018). De acordo com Pound e Oliver (1979) o hormônio juvenil está diretamente ligado a reprodução da Subclasse Acari e além de inibir a postura o piriproxifen foi capaz de inibir a eclosão dos ovos de forma significativa nos três ensaios, para as concentrações mais altas. No entanto dados com piriproxifen no controle de carrapato são escassos.

Esse análogo do hormônio juvenil foi capaz de interferir na muda de larvas ingurgitadas de *Amblyomma americanum*, mas não na muda das ninfas ingurgitadas, mas os adultos oriundos destas mudas eram letárgicos e morfológicamente alterados (DONAUE et al., 1997). Provavelmente se possível fosse possível analisar a eficácia carrapaticida do piriproxifen sobre larvas de *R. microplus* encontrariam-se níveis mais elevados de eficácia.

Ribeiro (2010) também observou a atividade do piriproxifen sobre carrapato, quando empregado por via tópica em coelhos e constatou que esse IGR apresenta elevados níveis de eficácia interferindo de forma negativa nas diferentes fases do desenvolvimento do ciclo evolutivo de *Rhipicephalus sanguineus*. Belozarov (2003) observou que a ação deste composto promovia a juvenalização do órgão sensorial de Haller's sobre larvas e ninfas de *Ixodes ricinus*. O que comprova que o piriproxifen influencia na metamorfose dos carrapatos (BELOZEROV, 2003; DONAUE et al., 1997).

Embora os resultados observados no presente estudo indiquem que o piriproxifen apresente ação sobre *R. microplus* é necessário que mais estudos sejam realizados para que seja possível o estabelecimento de níveis mais elevados de eficácia e melhor compreensão dos mecanismos de ação deste IGR sobre carrapatos.

4.6. Comparação Entre as Eficácias Obtidas para o Diflubenzuron nos Três Ensaios Realizados.

Na tabela 12, podem ser observados de forma comparativa os valores de eficácia sobre a eficiência reprodutiva de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* imersas em diferentes concentrações de diflubenzuron para os três ensaios. Os resultados individuais de cada ensaio encontram-se alocados na Tabela 3 (Primeiro Ensaio), Tabela 6 (Segundo Ensaio) e Tabela 9 (Terceiro Ensaio).

Em todos os três ensaios realizados os resultados observados para o diflubenzuron em relação à eficácia são inconsistentes (Tabela 12). Resultados estes que mostram não haver uma clara relação entre dose/resposta.

Mesmo assim, pode-se observar uma crescente eficácia na concentração de 4.000 ppm de 4,5%, 20,8% e 31,9% , para o primeiro segundo e terceiro ensaio respectivamente (Tabela 12). A solubilização do diflubenzuron a partir dessa concentração no primeiro ensaio não foi completa, com a solução apresentando resíduos do produto, enquanto no terceiro ensaio houve completa diluição do princípio ativo na mesma concentração.

Em relação à concentração de 500 ppm quando se utilizou o concentrado emulsionável já pronto, foi observada uma maior eficácia. Assim o diflubenzuron apresentou uma eficácia de 17,4% no segundo ensaio com a utilização do Domifly® (Champion) e zero de eficácia para a concentração de 500 ppm no primeiro e terceiro ensaio (Tabela 12).

Tabela 12. Eficácia do diflubenzuron sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*, para o primeiro, segundo e terceiro ensaio.

Concentração (ppm ¹)	Eficácia (%) do Diflubenzuron		
	Ensaio I	Ensaio II	Ensaio III
10000	---	8,4	---
9000	---	7,6	---
8000	---	19,9	---
7000	64	10,6	---
6000	77,3	6,4	---
5000	24,4	1,2	---
4000	4,5	20,8	31,9
3000	0	40,7	12,4
2000	0	24,5	11,5
1000	0	20,1	17,7
500	0	17,4	0
250	2,1	6	---
125	0	37,7	---
100	---	---	27,8
62.5	---	15,5	---
50	---	---	20,2
25	---	---	21,6
1	---	---	27,1
0,50	---	---	16,9
0,10	---	---	8,6
0,05	---	---	23,6
0,01	---	---	11,7

¹ ppm- partes por milhão. ² Solução obtida por meio da matéria prima, com diluição seriada em água e tempo de imersão de cinco minutos. ³ Concentrado emulsionável, com diluição seriada em água destilada e tempo de imersão de um minuto. ⁴ Solução obtida por meio da matéria prima, com diluição seriada no diluente e tempo de imersão de um minuto.

As hipóteses que podem ser aventadas são: para o diflubenzuron as metodologias empregadas não são adequadas para avaliação da eficácia; os problemas de solubilidade observados e descritos anteriormente para esta molécula neste estudo interferiram de forma a não permitir a exposição do carrapato frente a quantidades adequadas de princípio ativo; e por fim o diflubenzuron não apresenta atividade sobre o carrapato de forma a interferir nos processos de ovoposição e eclosão dos ovos de *R. microplus*. A ausência de estudos *in vitro* e

de ensaios bem delineados in vivo para com esta molécula frente a carrapatos dificulta em muito qualquer tipo mais concreto de elucidações.

Outro método de teste in vitro como ensaio com alimentação artificial de fêmeas parcialmente ingurgitadas proposto por Reck et al. (2014) como uma alternativa para testar a toxicidade do fluazuron sobre os carrapatos. Pode ser utilizado para avaliar a eficácia do fluazuron sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* e apresentar resultados com eficácias mais elevadas para o diflubenzuron frente ao carrapato, além de ajudar a compreender como este princípio é capaz de ajudar no controle de *R. microplus*. Pois o diflubenzuron assim como o fluazuron pertencem as classes da benzoilfeniluréia, com capacidade de inibir a síntese de quitina nos artrópodes (ANDREOTTI et al., 2015; OLIVEIRA; GOMES; SANTOS, 2009; TAYLOR, 2001).

Mesmo o diflubenzuron sendo a molécula do grupo das benzoilfenilureias com maior número de aplicações na agropecuária é utilizado nos mercados domissanitários no controle de baratas, mosca doméstica (*Musca domestica*), no mercado agrícola no controle de lagartas, gafanhotos (COSTA, 2007). E na veterinária no controle de moscas do chifre (*Haematobia irritans*) com formulação oral, na concentração de 3%, associado ao sal mineral (ANDREOTTI et al., 2015; OLIVEIRA; GOMES; SANTOS, 2009).

Para o controle de *H. irritans* esse regulador de crescimento é considerado eficaz de acordo com Porto et al. (2012). E alguns autores ao avaliarem o emprego do diflubenzuron a 3% associado ao sal mineral dizem que nesse tipo de apresentação este IGR é ainda capaz de auxiliar no controle de *R. microplus*, diminuindo a carga parasitária nos animais tratados, o que proporciona uma quantidade menor de tratamentos com carrapaticidas (ANDREOTTI et al., 2015; OLIVEIRA; GOMES; SANTOS, 2009).

No entanto não se observou alterações na eficiência reprodutivas de fêmeas ingurgitadas oriundas de bovinos tratados com diflubenzuron 3%. Assim como foi observada a ausência de alterações histológicas nas fêmeas ingurgitadas recuperadas (ANDREOTTI et al., 2015). Tais resultados corroboram com os achados para eficiência reprodutiva das fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* expostas a diferentes concentrações do diflubenzon encontrados neste estudo.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo concluiu que:

1. O fluazuron demonstrou elevada eficácia in vitro na inibição do processo de ovoposição e eclosão dos ovos do carrapato *R. microplus*;
2. O piriproxifen demonstrou eficácia in vitro na inibição do processo de ovoposição e eclosão dos ovos do carrapato *R. microplus*, mas não de forma elevada;
3. O diflubenzuron não demonstrou eficácia in vitro na inibição do processo de ovoposição e eclosão dos ovos do carrapato *R. microplus*;
4. O método de diluição foi fator determinante para a obtenção de níveis de eficácia mais elevados para o fluazuron e para o piriproxifen.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O crescente desenvolvimento de populações resistentes de *R. microplus* frente a grupamentos de carrapaticidas tradicionais como os piretróides, organofosforados, amidinas, lactonas macrocíclicas e fenilpirazoles tem levado o mercado da indústria farmacêutica veterinária a buscar soluções para o enfrentamento deste grande problema.

Um dos caminhos que se tem verificado é a busca pela associação de diferentes moléculas buscando assim ação sinérgica ou complementar. Uma destas associações que veem sendo introduzidas no mercado Brasileiro é a associação do IGR fluazuron mais uma acaricida/inseticida tradicional como piretróides e organofosforados, fenilpirazoles e lactonas macrocíclicas.

Embora para o fluazuron já tiverem sido detectadas populações resistentes, o número destas é bem inferior aos dos outros grupamentos.

Dentro deste cenário, populações resistentes e inserção de um número cada vez maior de associações os IGRs estão passando a serem alvos da indústria farmacêutica veterinária para uma ampla utilização no controle do carrapato e de outros ectoparasitos.

Assim é necessária uma intensificação dos estudos para uma melhor caracterização da ação deste grupamento não só sobre o carrapato, mas em outros ectoparasitos de bovinos. A padronização de testes *in vitro* é necessária para que se possa explorar o máximo as particularidades da ação deste grupamento frente a *R. microplus*. A garimpagem de moléculas para o controle de ectoparasitos começa sempre pelos estudos *in vitro* neste sentido uma ampla discussão e exploração da padronização destes para o emprego com os IGR's é necessário de ser promovida.

Com isso a questão da correta solubilização dos princípios ativos, com os corretos diluentes é de extrema importância para que os valores de eficácia encontrados nos testes *in vitro* não sejam sub ou superestimados. Mesmo que as concentrações utilizadas para os estudos *in vivo* sejam geralmente superiores as encontradas nos ensaios *in vitro*, a disponibilidade de principio ativo em uma solução abaixo da concentração indicada, devido a problemas de diluição ou de padronização de técnica pode descartar erroneamente uma molécula com potencial acaricida.

Não há dúvida que diante dos mecanismos diferenciado de ação, da segurança para mamíferos e da baixa prevalência de populações resistentes, os IGRs são moléculas que serão amplamente estudadas e empregadas no controle de ectoparasitos dos animais domésticos nas próximas décadas.

Como perspectivas futuras sobre a eficácia dos IGRs sobre *R. microplus* e sobre a padronização de testes *in vitro* para avaliar a eficácia destes compostos sobre diferentes espécies de carrapatos é importante que se avalie a questão se o tempo de imersão das teleóginas influencia nos resultados obtidos. A avaliação de possíveis técnicas *in vitro* que avaliam o percentual de ecdise de larvas e ninfas ingurtadas de *R. microplus* para a melhor compreensão das atividades dos IGRs sobre essa espécie de carrapato, assim como estudos sobre as alterações morfológicas que esses compostos promovem sobre os carrapatos tratados. Assim como estudos *in vivo* bem delineados para o piriproxifen e diflubenzuron para avaliar a real eficácia desses IGRs quando empregados em animais que possuem mais variáveis extrínsecas capazes de interferir na eficácia do que um teste *in vitro*.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO-DÍAZ, M. A.; GARCÍA, L.; GALINDO-VELASCO, E.; LEZAMA-GUTIERREZ, R.; ANGEL-SAHAGÚN, C. A.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I.; FRAGOSO-SÁNCHEZ, H. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for the control of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on naturally infested cattle in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*. v.147, n.3-4, p.336-340, 2007.
- ALVES-BRANCO, F. de P.; PINHEIRO, A. da C.; SAPPER, M. de F. M. Os programas estratégicos para o controle do carrapato dos bovinos. Bagé: Embrapa Pecuária Sul, 2001. 3p. (Embrapa Pecuária Sul. Comunicado técnico, 43).
- ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; MATIAS, J.; BARROS, J. M.; MAGALHAES, G. M.; ARDSON, F. de A.; AGUIRRE, A. R. de A. Diflubenzuron Effectiveness in Cattle Tick (*Rhipicephalus Boophilus microplus*) Control in Field Conditions *Analytica Acta*. v.6, n.6, p.1-6, 2015.
- ANDREOTTI, R. Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus Boophilus* *microplus* aos acaricidas no Brasil. – Dados eletrônicos. – Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2010. 36 p. ; 21 cm. (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1983-974X ; 180).
- BARCI, L. A. G.; ALMEIDA, J. E. M. de; NOGUEIRA, A. H. de C.; ZAPPELINI, L. O.; PRADO, A. P. do. Seleção de isolados do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Ascomycetes: Clavicipitaceae) para o controle de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. v. 18, n. 1, p. 7-13, 2009.
- BATISTA, L. C. de S. O.; VIEIRA, V. P. DA C.; CORREIA, T. R.; SANTOS, E. C. F. dos; JUNIOR, P. I. F.; FLORENCIO, C. do N.; CARNEIRO, M. B.; SCOTT, F. B.; COUMENDOUROS, K. Eficácia *In vitro* de uma Formulação Aerossol de Piroproxifen e Ciflutrina no Controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). *Revista Brasileira Medicina Veterinária*. v.34; n.1, p.41-45, 2012.
- BECKEL, H. dos S.; LORINI, I.; LAZZARI, S. M. N. Efeito do Sinergista Butóxido de Piperonila na Resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) a Deltametrina e Fenitrotiom. *Revista Brasileira de Entomologia*. v.50, n.1, p.110-114, 2006.
- BELOZEROV, V. N. Effects of Juvenoids and Retinoic Acid on Development of Larvae and Nymphs in the Tick *Ixodes ricinus* L. (Acari, Ixodidae) and Regeneration of Haller's Organ during Metamorphosis. *Russian Journal of Developmental Biology*. v.34, n. 1, p.42-50, 2003.
- BIEGELMEYER, P.; NIZOLIB, L. Q.; DA SILVA, S. S.; DOS SANTOS, T. R. B.; DIONELLO, N. J. L.; GULIAS-GOMES, C. C.; CARDOSO, F. F. Bovine Genetic Resistance Effects on Biological Traits of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Veterinary Parasitology*. v.208, n.3-4, p.231-237, 2015.
- BORGES, F. A.; SILVA, H. C.; BUZZULINI, C.; SOARES, V. E.; SANTOS, E.; OLIVEIRA, G. P.; COSTA, A. J. Endectocide Activity of a new Long-Action Formulation Containing 2.25% Ivermectin + 1.25% Abamectin in Cattle. *Veterinary Parasitology* v.155, n.3-4, p.299-307, 2008.
- BOWMAN, D. D. *Georgis' Parasitology For Veterinarians*. 8ª ed. Editora Elsevier Science (Usa), 2003, 422p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 48 de 12 de maio de 1997. Diário Oficial (da) União. Brasília, 12 de maio de 1997. Seção I, n.92, p. 10165-10169.

BROVINI, C. N.; FURLONG, J.; CHAGAS, A. C. DE S. Influência dos Fatores Climáticos na Biologia e no Comportamento de Fêmeas Ingurgitadas de *Boophilus microplus* a Campo. *Bioscience Journal*, v.19, n.1, p.71-76, 2003.

BULL, M. S.; SWINDALE, S.; DOVEREND, D.; HESS, E. A. Suppression of *Boophilus Microplus* Populations With Fluazuron; An Acarine Growth Regulator. *Australian Veterinary Journal*. v.74, n.6, p.468-470, 1996.

CALLIGARIS, I. B.; OLIVEIRA, P. R. DE; ROMA, G. C.; BECHARA, G. H.; CARMAGO-MATHIAS, M. I. Action of the Insect Growth Regulator Fluazuron, the Active Ingredient of the Acaricide *acatakv*, in *Rhipicephalus sanguineus* Nymphs (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Microscopy Research And Technique*. v.76, n.1, p.1177-1185, 2013.

CARNEIRO, J. C.; COSTA, E. G. L.; VASCONCELOS, V. DE O.; OLIVEIRA, N. J. F. DE; DUARTE, E. R. Diagnóstico do controle e eficácia de acaricidas para o carrapato bovino no Semiárido do Norte de Minas Gerais. *Acta Scientiae Veterinariae*. v.43, n.1, p.1-10, 2015.

CASTRO-JANER, E.; MARTINS, J. R.; MENDES, C.; NAMINDOME, A.; KLAFKE, G. M.; SCHUMAKER, T. T. S. Diagnoses of Fipronil Resistance in Brazilian Cattle Ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) Using in Vitro Larval Bioassays. *Veterinary Parasitology*. v.173, n.3-4, p.300-306, 2010.

CASTRO-JANNER, E.; IFRAN, L. R.; PIAGGIO, J.; GIL, A.; MILLER, R. J.; SCHUMAKER, T. T. S. In vitro Tests To Establish Lc50 and Discriminating Concentrations for Fipronil Against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) And Their Standardization. *Veterinary Parasitology*. v.162, n.1-2, p.120-128, 2009.

CHAGAS, A. C. de S.; OLIVEIRA, M. C. de S.; GIGLIOTTI, R.; SANTANA, R. C. M.; BIZZO, H. R.; GAMA, P. E.; CHAVES, F. C. M. Efficacy of 11 Brazilian Essential Oils on Lethality of the Cattle Tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*. v.7, n.3, p.427-432, 2016.

CLEMENTE, M. A.; GOMES, F. T.; SCOTTON, A. C. B. S.; GOLDNER, M. S.; REIS, E. S. dos; ALMEIDA, N. C. de. Avaliação do Potencial de Plantas Mediciniais no Controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Biociências*. v.5, n.2, p.516-518, 2007.

COELHO, C. N.; CORREIA, T. R.; OLIVEIRA, G. F.; COUMENDOUROS, K.; TAVEIRA, M. T.; CALADO, S. B.; AVELAR, B. R. de; NASCIMENTO, C. G.; SCOTT, F. B. Associação de Abamectina com Fluazuron no Controle do Carrapato *Rhipicephalus microplus* em Bovinos Naturalmente Infestados. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. v.37, n.1, p.51-54, 2015.

CORRÊA, R. R.; LOPES, W. D. Z.; TEIXEIRA, W. F. P.; CRUZ, B. C.; GOMES, L. V. C.; FELIPPELLI, G.; MACIEL, W. G. M.; FÁVERO, F. C.; BUZZULINI, C.; BICHUETTE, M. A. B.; SOARES, V. E.; COSTA, A. J. A comparison of three different methodologies for evaluating *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* susceptibility to topical spray compounds. *Veterinary Parasitology*. v.207, n.1-2, p.115-124, 2015.

CORREIA, T. R. Eficácia do Inibidor de Crescimento de Inseto *pyriproxifen* associado ao piretróide *D-Phenotrina* No Controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae) em Cães, Gatos e no Ambiente. 2003, 52f. Dissertação (Mestrado): Seropédica: Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2003.

COSTA, F. M. Avaliação da Atividade Inseticida do Regulador de Crescimento de Insetos Diflubenzuron Contra *Anopheles darlingi*, em Condições de Laboratório. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado Em Entomologia): Manaus. Universidade Federal Do Amazonas, 2007.

COURE, U.; SOLARI, M. A.; TRELLES, A. Current Status of Resistance and First Diagnostic of Multiple Resistance *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Tick Simultaneously Resistant to Five Drugs InUruguay. *Veterinaria*. v.53, n.205, p.13-19, 2017.

CRUZ, B. C.; BUZZULINIA, C.; LOPES, W. D. Z.; MACIEL, W. G; BICHUETTE, M. A.; FELIPPELLI, G.; TEIXEIRA, W. F. P.; SOARES, V. E.; GOMES, L. V. C.; PRANDO, L.; CAMPOS, G. P.; COSTA, A. J. da. Effects of Different Spray Formulations on the Reproductive parameters of Engorged *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Females Detached From Experimentally Infested Cattle. *Preventive Veterinary Medicine*. v.122, n.1-2, p.70–75, 2015.

DAHER, D. H.; BERTOLUCCI, A. V.; LOPES, E.; GUIMARÃES, A. M.; ROCHA, C. M.B. M. da. Fatores Associados à Resistência do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) no Sul de Minas Gerais. *Revista Verde*. v.7, n.1, p. 102 – 115, 2012.

DONAHUE, W. A.; TEEL, P. D.; STREY, O.F.; MEOLA, R. W. Pyriproxyfen Effects on Newly Engorged Larvae and Nymphs of the Lone Star Tick (Acari: Ixodidae). *Journal Medical Entomologic*. v.34, n.2, p.206-211, 1997.

DRUMMOND, R. O.; ERNST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAN, O. H. *Boophilus annulatus* and *B. microplus* Laboratory Tests of Insecticides. *Journal Of Economic Entomology*. v.66, n.1, p.130-133, 1973.

FIGUEIREDO, A. Avaliação dos Efeitos de Princípios Fitoterápicos e Homeopáticos no Controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e Comparação de Técnicas para Estimativa de Eclosão de Larvas in vitro. 2017. 73f Dissertação (mestrado): Jabocatical - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017.

FIGUEIREDO, A.; NASCIMENTO, L. M.; LOPES, L. G.; GIGLIOTTI, R.; ALBUQUERQUE, R. D. D. G.; SANTOS, M. G.; FALCÃO, D. Q.; NOGUEIRA, J. A. P.; ROCHA, L.; CHAGAS, A. C. S. First Report of The Effect of *Ocotea Elegans* Essential Oil on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary Parasitology*. v.252, n.1..p.131–136, 2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), 2004. Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants – Guidelines, Module 1 – Ticks: Acaricide Resistance: Diagnosis, Management and Prevention. Food And Agriculture Organization, Animal Production And Health Division, Rome, p. 25–77. 2014.

FOURIE, L. J.; KOK, D. J.; ALLAN, M. J.; OBEREM, P. T.; The Efficacy of Diflubenzuron Against the Body Louse (*Damalinea limbata*) Of Angora Goats. *Veterinary Parasitology*. v.59, n.3-4, p.257-262, 1995.

FREITAS, M. G.; COSTA, H. M. A.; COSTA, J. O.; IIDE, P. *Entomologia e acarologia Médica e Veterinária*. 4 ed. Belo Horizonte, 1978. p.252

FURLONG, J. Poder infestante de larvas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em pastagem de *Melinis minutiflora*, *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria mutica*. *Ciência Rural*. v.28, n.4, p.630-640, 1998.

FURLONG, J. Poder Infestante de Larvas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em Pastagem de *Brachiaria decumbens*. *Ciência Rural*, v.28, n.4 , p.635-640, 1998.

FURLONG, J.; BROVINI, C. N.; CHAGAS, A. C. S. Comportamento das larvas de *Boophilus microplus* em pastagem de *Pennisetum puerperium*. *Bioscience Journal*. v.18, n.1., p.23-31, 2002.

FURLONG, J.; MARTINS, J. R. Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, 2000, 25p (Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 59).

FURLONG, J.; MARTINS, J.R. de S.; PRATA, M.C. de A. Carrapato dos bovinos: controle estratégico nas diferentes regiões brasileiras. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. 6p. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico, 36).

FURLONG, J.; PRATA, M. C. A.; MARTINS, J. R. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? *A Hora Veterinária*. v.159, n.1, p.26-32, 2007.

GAUDÊNCIO, F. N.; KLAFKE, G. M.; TUNHOLI-ALVES, V. M.; FERREIRA, T. P.; COELHO, C. N.; FONSECA, A. H. DA; ANGELO, I. DA C.; PINHEIRO, J. Activity of carboxylesterases, glutathione-S-transferase and monooxygenase on *Rhipicephalus microplus* exposed to fluzaron. *Parasitology International*. v. 66, n.5, p. 584-587, 2017.

GLORIA, M. A. Estudos Preliminares para Avaliação do Uso de Compostos Análogos do Hormônio Juvenil no Controle de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887).1988. 64f Dissertação (Mestrado): Seropédica. Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

GLORIA, M. A.; DAEMON, N.; FACCIN, J. L. H.; GRISSI, L. Influencia de Diferentes Temperaturas Sobre a Biologia da Fase não Parasitária de *Boophilus microplus* (Can. 1887) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária*. v.2, n.2, p.85-91, 1993.

GOMES, A. O carrapato do boi, *Boophilus microplus*: ciclo, biologia, epidemiologia, patogenicidade e controle. In: KESSLER, R. H.; SHENK, M. A. M. (org). Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos. Campo Grande. EMBRAPA/CNPQC. p. 9-44, 1998.

GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; TEIXEIRA, W. F. P.; MACIEL, W. G.; CAYEIRO CRUZ, B. C.; FELIPPELLI, G., BUZZULINI, C.; SOARES, V. E.; MELO, D. P. de; MURILBICHUETTE, M. A.; JUNIOR, G. G.; COSTA, A. J. da. Population Dynamics and Evaluation of The Partial Selective Treatment of Crossbreed Steers Naturally Infested with *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in a Herd From The State of Minas Gerais in Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.220, n.1, p.72-76, 2016.

GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F.; FELIPPELLI, G.; MACIEL, W. G.; BICHUETTE, M. A.; RUIVO, M. A.; COLLI, M. H. A.; CARVALHO, R. S.; MARTINEZ, A. C.; SOARES, V. E.; COSTA, A. J. da. Acaricidal Effects of Fluzaron (2.5 Mg/Kg) and a Combination of Fluzaron (1.6 Mg/Kg) + Ivermectin (0.63 Mg/Kg), Administered at Different Routes, Against *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* Parasitizing Cattle. *Experimental Parasitology*. v.153, n.1, p.22-28, 2015.

GRAF J. F The Role Of Insect Growth Regulators In Arthropod Control. *Parasitology Today*. v.9, n.12, p.12, 1993.

GRAF, J. F.; SCHMID, H. R.; HESS, E. A.; FRIEDEL, T. Systemic Tick (Ixodidae) Control With Fluzaron. In: *Proceedings of Acarology IX*, V.1, Columbus, USA, p.481-482, 1994.

GRAF, J.F.; GOGOLEWSKI, R.; LEACH-BING, N.; SABATINI, G.A.; MOLENTO, M.B.; BORDIN, E.L.; ARANTES, G.J. Tick Control: An Industry Point of View. *Parasitology*, v. 129, n.1, p.427-442, 2004.

GRISI L.; LEITE R. C.; MARTINS, J. R. de S.; BARROSA, A. T. M. de B.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEÓN. A. A. P. de; PEREIRA, J. B., VILLELA, H. S. Reassessment of the Potential Economic Impact of Cattle Parasites in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. v.23, n.2, p.150-156, 2014.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA BORJA, G. E.; PEREIRA, J. B. Impacto Econômico das Principais Ectoparasitoses em Bovinos no Brasil. *Hora Veterinária*, v.21, n.125, p.8- 10, 2002.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D.M. Ectoparasitos De Importância Veterinária. São Paulo. Editora PLÊIADE/FAPESP. 1ºed. 2001. p.218.

HOLDSWORTH P. A.; KEMP, D.; GREEN, P.; PETER, R. J.; BRUIN, C. de; JONSSON, N. N.; LETONJA, T.; REHBEIN, S.; VERCRUYSSSE, J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) Guidelines for Evaluating the Efficacy of Acaricides Against Ticks (Ixodidae) on Ruminants. *Veterinary Parasitology*. v.136, n.1, p.29–43, 2006.

INOUE, I.; NAKAMURA, S.; FUJIMOTO, H.; KASAMATSU, K. Development of a Novel Insect Control System, Pyriproxyfen Tape Formulation. *Journal of Pesticide Science*. v.30, n.2, p.124–125, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). ESTATÍSTICAS DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA. 2011. DISPONÍVEL EM: <[HTTP://WWW.IBGE.GOV.BR/HOME/ DOWNLOAD/ESTATISTICA.SHTM](http://www.ibge.gov.br/home/download/estatistica.shtm)>. ACESSO EM: 30/01/2018.

JAFFER, A.; PROTOPOPOFF, N.; MOSHA, F. W.; MALONE, D.; ROWLAND, M. W.; OXBOROUGH, R. M.; Evaluating the Sterilizing Effect of Pyriproxyfen Treated Mosquito Nets against *Anopheles gambiae* at Different Blood-Feeding Intervals. *Acta Tropica*. v.150, n.xx, p.131–135, 2015.

JONSSON, N. N.; MILLER, R. J.; ROBERTSON, J. L. Critical Evaluation Of The Modified-Adult Immersion Test With Discriminating Dose Bioassay for *Boophilus microplus* using American and Australian Isolates. *Veterinary Parasitology*. v.146, n.3-4, p.307–315, 2007.

KAFLE, G. M.; CASTRO-JANER, E.; MENDES, M. C.; NAMINDOME, A.; SCHUMAKER, T. T. S. Applicability of in vitro Bioassays For the Diagnosis of Ivermectin Resistance in *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*. v.184, n.2-4, p.212– 220, 2012.

KLAFKE, G. M.; CASTRO-JANER, E.; MENDES, M. C.; NAMINDOME, A.; SCHUMAKER, T. T. S. Applicability of in Vitro Bioassays for the Diagnosis of Ivermectin Resistance in *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) *Veterinary Parasitology*. n.184, n.2-4, p.212– 220, 2012.

KLAFKE, G.; WEBSTER, A.; DALL AGNOL, B.; PRADEL, E.; SILVA, J.; LA CANAL, L. H. de; BECKER, M.; OSÓRIO, M. F.; MANSSON, M.; BARRETO, R.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSINI, V. B.; SANTOS, J. dos; RECK, J.; MARTINS, J. R. Multiple Resistance to Acaricides in Field Populations of *Rhipicephalus microplus* From Rio Grande do Sul State, Southern Brazil. *Ticks And Tick-Borne Diseases*. v. 8, n.2-4, p.73–80, 2017.

KROBER, T.; GUERIN, P. M. An in vitro Feeding Assay to Test Acaricides for Control of Hard Ticks. *Pest Management Science*. v. 63, n.1, p.17–22, 2007.

LE GALL, V. L. Bases Moleculares da Resistência a Ivermectina em *Rhipicephalus Microplus*. 2016. 113f. Dissertação (Mestrado): São Paulo. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo Departamento de Gênética e Biologia, 2016.

LEITE R. C. *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887): susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiogeográficas da baixada do Grande-Rio e do Rio de Janeiro, uma abordagem epidemiológica. 1988. 176f. Tese (Doutorado): Seropédica. Ciências da Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1988.

LEVOT, G. Implications of Insecticide Resistance for the Control of Flystrike and Lice on Sheep. *Proceedings of the Flics Conference*, v. 127, n.1, p.127-134, 2001.

LEVOT, G.; SALES, N. Resistance to Benzoylphenyl Urea Insecticides in Australian Populations of the Sheep Body Louse. *Medical and Veterinary Entomology*. v.22, n.4, p.331–334, 2008.

MACHADO, F. A.; PIVOTO, F. L.; FERREIRA, M. S. T. F.; GREGORIO, F. de V.; VOGEL, F. S. F.; L. A. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the Western-Central Region of Rio Grande do Sul, Brazil: Multiresistant Tick. *Revista Brasileira de Parasitologia*, v. 23, n. 3, p.337-342, 2014.

MACIEL, W. G.; LOPES, W. D. Z.; GOMES, L. V. C.; CRUZ, B. C.; FELIPPELLI, G.; SANTOS, I. B. dos; A, BORGES, F. de A.; JUNIORD, W. A. C. A.; SCARPA, A. B.; NICARETTA, J. E.; BASTOSB, T. S. A.; COSTA, A. J. da. Susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to Fluazuron(2.5 Mg/Kg) and a Combination of Novaluron(2.0 mg/Kg) + Eprinomectin (0.36 mg/Kg) in Field Studies in Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*. v.135, n.1, p.74–86, 2016.

MARTINS, J. R.; CORREA, B. L.; CERESÉR, V.H. Ação Carrapaticida do Fluazuron, Formulação “Pour-on”, Sobre o Carrapato Bovino *Boophilus microplus*. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*.v.1, n.2, p.257–261, 1995.

MELO, R. M. P. dos S. Morfologia e Biologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae) submetido ao Regulador de Crescimento de Artrópodes Fluazuron. 2007. 43f. Dissertação (mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária, Seropédica, 2007.

MENDONÇA, R. P de. Atividade Endectocida, Segurança Clínica e Farmacocinética de Resíduos de Uma Nova Alternativa Terapêutica (Fluazuron + Abamectina) em Bovinos. 2010, 167f. TESE (Doutorado): Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010.

MONTEIRO, S.V. *Parasitologia na Medicina Veterinária*. São Paulo. Editora Roca. 1ºed. 2010. p.368

MURREL, A.; BARKER, S. C. Synonymy of *Boophilus Curtice*, 1891 with *Rhipicephalus Koch*, 1844 (Acari: Ixodidae) *Systematic Parasitology*.v.56, n.3, p.169–172, 2003.

NAVA, A, S.; MANGOLDA, A. J; CANEVARIB, J. T.; GUGLIELMONEA, A. A. Strategic Applications of Long-Acting Acaricides Against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Northwestern Argentina, With an Analysis of Tick Distribution Among Cattle *Veterinary Parasitology*. v.208, n.3-4, p.225–230, 2015.

NAVA, S.; MANGOLD, A.J.; CANEVARI, J.; MOREL, N.; GUGLIELMONE, A.A. Strategic Treatments with Systemic Biocides to Control *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in Northwestern Argentina. *Investigation Veterinária*, v.16, n.1, p.23-30, 2014.

OLIVEIRA, B. R.; GOMES, A. G.; SANTOS, R. S. Controle do Carrapato *Boophilus microplus* com Diflubenzuron 3%, em fazenda de gado de corte no município de Pirenópolis Goiás. *A Hora Veterinária*. v.168, n.1, p.46-47, 2009.

PEREIRA, A. A. Aspectos Da Ecologia De *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae) No Município De Franca, Nordeste De São Paulo– Jaboticabal, 2008. 106 f.Tese (Doutorado) Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista, Faculdade De Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008.

PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J.; KLAFKE, G. M. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Biologia, Controle e Resistência. São Paulo. Editora Med Vet Livros, 2008. 1ºed. p.169.

PINHEIRO, M. C.; SÁ-HUNGARO, I. J.; MARTINS, C. D.; RAI, V. R.; FAMADAS, K. M. Capacidade de Sobrevivência do Embrião de *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) a Alterações Bruscas de Temperatura. *Archives of Veterinary Science*. v.19, n.1, p.17-23, 2014.

POUND, M. J.; OLIVER, J. H. Juvenile Hormone: Evidence of its Role in the Reproduction of Ticks. *Science*. v.206, n.4416, p.355–357, 1979.

PRATISSOLI, D.; THULER, R. T.; PEREIRA, F. F.; REIS, E. F. DOS; FERREIRA, A. T.. Ação Transovariana de Lufenuron (50g/L) Sobre Adultos de Spodopterafrugiperdae Seu Efeito Sobre o Parasitóide de Ovos Trichogramma pretiosum. Ciências Agrotécnicas, v.28, n.1, p.9 - 14, 2004.

PUERTA, M.; CHAPARRO, J. J.; LOPES-ARIAS, A.; ARROYAVE, S. A.; VILLAR, D. Loss of in vitro Efficacy of Topical Commercial Acaricides on Rhipicephalus microplus (Ixodida: Ixodidae) From Antioquian Farms, Colombia. Journal of Medical Entomology. v.52, n.6, p.1309-1314, 2015.

RECK, J.; KLAFKE, G. M.; WEBSTER, A.; DALL'AGNOL, B.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSINI, V. B.; VARGAS, R.; SANTOS, J. S. dos; MARTINS, J. R. First Report of Fluazuron Resistance in Rhipicephalus microplus: a Field Tick Population Resistant to Six Classes of Acaricides. Veterinary Parasitology. v.201, n.1-2, p.128-136, 2014.

RESENDE, P. de L. C. Controle do Carrapato Rhipicephalus microplus na América Latina: Antígenos e Ensaio Vacinais Analisados em Uma Revisão Sistemática. 2016. 96f. Dissertação (Mestrado): Florianópolis. Universidade Federal De Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Agroecossistemas. 2016.

REYES, U. A. G. Dinamica de la Garrapata (Boophilus microplus) en el Municipio de Siuna, Region Autonoma del Atlantico Norte. 2007. 75p. Monografía: Niquaragua. Facultad de Ciencia Animal (Faca) de la Universidad Nacional Agraria (Una), 2007.

RIBEIRO, F. de A. Ação do Regulador de Crescimento de Artrópodes, Piriproxifen, sobre Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae), em infestações artificiais, em coelhos. 2010. Dissertação (mestrado): Seropédica. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. 2010.

RIMOLD, F.; FOGEL, M. N.; RONCO, A. E.; SCHNEIDER, M. I. Comparative Susceptibility of Two Neotropical Predators, Eriopis connexa And Chrysoperla externa, To Acetamiprid And Pyriproxifen: Short And Long-Term Effects After Egg Exposure. Environmental Pollution. v.231, n.1, p.1042-1050, 2017.

ROCHA, C. N. C. da. Eficácia da Associação de Abamectina com Fluazuron no Controle de Rhipicephalus Microplus, Dermatobia Hominis e Nematóides Gastrointestinais em Bovinos. 2016.153f. Tese (Doutorado): Seropédica. Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro, Curso De Pós-Graduação Em Ciências Veterinárias, 2016.

RODRIGUES, D. S.; LEITE, R. C. Impacto Econômico de Rhipicephalus (Boophilus) microplus: Estimativa de Redução de Produção de Leite.Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. v.65, n.5, p.1570-1572, 2013.

SANTAREM, V. A.; SATOR, I. F. The Free-Living Phase and Seasonal Variation of Boophilus microplus in Botucatu, São Paulo State, Brazil.Semina: Ciências Agrárias, v.24, n.1, p.11-20, 2003.

SANTOS, F. C. C. dos; VOGEL, F. S. F.; ROLL, V. F. B.; MONTEIRO, S. G. In vitro Effect of the Association of Citronella, Santa Maria Herb (Chenopodium ambrosioides) and Quassia Tincture on Cattle Tick Rhipicephalus (Boophilus) microplus. Ciência Animal Brasileira. v.14, n.1, p.113-119, 2013.

SEIXAS, A.; OLDIGES, D. P.; DA SILVA VAZ JR., I.; TERMIGNONI, C. Endocrinologia e Controle da Vitelogenese em Carrapatos. Acta Scientiae Veterinariae, v. 38, n. 2, p.95-111, 2010.

SERRA-FREIRE, N. M. Ácaros (Carrapatos e outros). In: Entomologia Médica e Veterinária. MARCONDES, C. B. Editora Ateneu, 2º ed, 2011, 379-428.

SHAW, Culture of an Organophosphorus-Resistant Strain of Boophilus Microplus (Can.) and an Assessment of its Resistance Spectrum.Bulletin Entomological Research. v.56, n.3, p.389-405, 1966.

SILVA, H. C.; PRETTE, N.; LOPES, W. D. Z.; SAKAMOTO, C. A. M.; BUZZULINI, C.; SANTOS, T. R. DOS; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; FELIPPELLI, G.; CARVALHO, R. S.; MACIEL, W. G.; SOARES, V. E.; COSTA, A. J. da. Endectocide activity of a pour-on formulation containing 1.5 per cent ivermectin +0.5 percent abamectin in cattle. *Veterinary Record Open*. v.2, n.1, p.1-11, 2015.

SONENSHINE, D. E.; ROE, R. M. *Biology of Ticks*. Volume 1. 2ªed. Cidade. Editora Oxford University Press. 2014. p.540

SOUZA, A. P. DE; BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; KOLLING, A. Comparação da Eficácia de Carrapaticidas em Testes a Campo Com o Tempo de Imersão “in vitro”. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. v.3, n.2, p. 131-134, 2004.

SOUZA, A. P.; PAIM, F.; BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; MOURA, A. B.; ROSA, L. D.; MIQUELLUTI, D. J. Avaliação da Eficácia do Fipronil em *Rhipicephalus (Boophilus) microplusem* Tratamentos Consecutivos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.66, n.1, p.55-60, 2014.

SOUZA, C. P.; VEROCAI, G. G.; SOARES, L. B.; VIERIRA, V. P. DA C.; TAVARES, P. V.; NUNES, T. A. P.; MAGALHÃES, V. DE S.; SCOTT F. B. Eficácia da Associação de D-Fenotrina e Piriproxyfen no Controle de *Lynxacarus radovskyi* em Felinos Domésticos. *Revista Brasileira Medicina Veterinária*. v.34, n.1, p.28-30, 2012

STANNECK, D.; LARSEN, K. S.; MENCKE, N. Pyriproxyfen Concentration in the Coat of Cats and Dogs After Topical Treatment With A 1.0% W/V Spot-on Formulation. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. v.26, n.3, p.233–235, 2003.

TAYLOR, M. A. Recent Developments in Ectoparasiticides. *The Veterinary Journal*, v.161, n.3, p.253-268, 2001.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. *Parasitologia Veterinária*. Rio De Janeiro. 3ed. Editora Guanabara Koogan. 2014. p.902.

TFOUNI, S. A. V.; FURLANI, R. P. Z.; ARÁUJO, J. D.; SOUZA, R. M. Determination of Pesticide Residues Presence in Milk From Cows Treated with Diflubenzuron. *Revista Instituto Adolfo Lutz*. v.66, n.3, p.230-233, 2007.

TFOUNI, S. A. V.; FURLANI, R. P. Z.; CARREIRO, L. B.; LOREDO, I. S. D.; GOMES, A. G.; ALVES, L. A.; MATA, R. S. S.; FONSECA, A. M. D.; ROCHA, R. M. S. Determination of Diflubenzuron Residues in Milk and Cattle Tissues. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.65, n.1, p.301-307, 2013.

VALE, T. L.; SILVA, E. G.; FILHO, E. F. A.; TEIXEIRA, W. C.; GUERRA, R. de M. S. C.; SANTOS, A. C. G. Action of Botanical Aqueous Extract of *Cymbopogon nardus* on the Biology of *Rhipicephalus (Boophilus) microplusem*. *Enciclopédia Biosfera*. v.9, n.17; p.2012-660, 2013.

VIEIRA, V. P. da C. Atividade do Fluazuron Administrado por Via Oral no Controle de *Rhipicephalus sanguineus* em Cães. 2012. (56 f.). Tese(PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, [Seropédica-RJ] .

VIEIRA, V. S.; BOFF, M. I. C.; BUENO, A. F.; GOBBI, A. L.; LOBO, R. V. L.; BUENO, R. C. O. de F. Effects of Insecticides Used in *Bemisia tabaci* (Gennadius) Biotype Control and Their Selectivity to Natural Enemies in Soybean Crop. *Semina: Ciências Agrárias*. v.33, n.5, p.1809-1818, 2012.

WATANABE, H.; ODA, S.; ABE, R.; TANAKA, Y.; TATARAZAKO, N. Comparison of the Effects of Constant and Pulsed Exposure With Equivalent Time-Weighted Average Concentrations Of The Juvenile Hormone Analog Pyriproxyfen on the Reproduction of *Daphnia magna*. *Chemosphere*. v.195, n.1, p.810-816, 2018.

YOSHIAKI, Y.; BUÉI, K. Ovicidal Effects of The Juvenile Hormone Analogue, Pyriproxyfen, Against the Cat Flea, *Ctenocephalides felis* (Bouche) *Medical Entomology and Zoology*. v.51, n.1, p.27-31, 2000.

ANEXOS

ANEXO A. Cópia de declaração da aprovação do comitê de ética para manutenção da colônia de *Rhipicephalus microplus*.



Seropédica 10 de outubro de 2014

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que foi aprovado o protocolo de número 092/2014 intitulado "**Manutenção de colônia laboratorial do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos.**" encaminhado pelo Professor (a) do Departamento de Parasitologia Animal, Fabio Barbour Scott. Informamos que foi aprovado em reunião ordinária da CEUA-IV realizada no dia 10 de outubro de 2014, após avaliação do plenário da referida Comissão.

Jonimar Pereira Paiva
Vice-Coordenador CEUA-IV

ANEXO B. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para fluazuron no primeiro ensaio. Continua.

Concentração (ppm)	Peso telogina	Peso Postura	Percentual de eclosão	Eficiência reprodutiva (ER)	Média ER	Eficácia
125	0.217	0.129	87	1034377.88	640807.5	19.26
	0.137	0.077	11	123649.635		
	0.265	0.151	40	455849.057		
	0.295	0.073	1	4949.15254		
	0.136	0.182	69	1040104.71		
	0.293	0.173	58	684914.676		
	0.199	0.111	34	379296.482		
	0.263	0.163	55	681749.049		
	0.232	0.146	85	1069827.59		
	0.224	0.129	11	126696.429		
250	0.185	0.104	1	11243.2432	93171.41	88.26
	0.276	0.164	7	83188.4058		
	0.255	0.083	10	65098.0392		
	0.207	0.116	1	11207.7295		
	0.262	0.158	1	12001.0007		
	0.174	0.092	0	0		
	0.249	0.252	37	748915.663		
	0.214			0		
	0.219			0		
	0.173			0		
500	0.186	0.098	24	252903.226	67475.7	91.50
	0.191	0.114	0	0		
	0.165	0.097	34	399757.576		
	0.206	0.116	0	0		
	0.178	0.1	1	11200.9001		
	0.186	0.028	1	3010.75269		
	0.137	0.042	0	0		
	0.186	0.073	1	7849.46237		
	0.164	0.091	0	0		
	0.186	0.1	0	0		

ANEXO B. Continuação. Continua

	0.154	0.087	0	0		
	0.222	0.157	0	0		
	0.187	0.108	0	0		
	0.185	0.075	0	0		
1000	0.209	0.122	0	0	54237.29	93.17
	0.234	0.11	0	0		
	0.177	0.1	48	542372.881		
	0.175	0.096	0	0		
	0.135	0.076	0	0		
	0.14	0.064	0	0		
<hr/>						
	0.24	0.141	0	0		
	0.19	0.097	0	0		
	0.173	0.102	0	0		
	0.254	0.131	29	299133.858		
2000	0.246	0.148	0	0	31199.69	96.07
	0.241	0.155	1	12863.0705		
	0.195	0.109	0	0		
	0.184	0.108	0	0		
	0.15	0.075	0	0		
	0.15	0.078	0	0		
<hr/>						
	0.219	0.132	0	0		
	0.257	0.157	0	0		
	0.221	0.114	0	0		
	0.202	0.11	0	0		
3000	0.231	0.136	0	0	0	100.00
	0.223	0.13	0	0		
	0.164	0.071	0	0		
	0.192	0.108	0	0		
	0.177	0.105	0	0		
	0.155	0.024	0	0		

ANEXO B. Continuação. Continua

	0.236	0.111	0	0		
	0.277	0.136	0	0		
	0.245	0.144	0	0		
	0.247	0.133	0	0		
40000	0.266	0.158	0	0	0	100.00
	0.199	0.109	0	0		
	0.21	0.122	0	0		
	0.222	0.131	0	0		
	0.239	0.151	0	0		
	0.121	0.07	0	0		
	0.172	0.02	0	0		
	0.174	0.113	0	0		
	0.173	0		0		
	0.158	0.084	0	0		
50000	0.129	0.158	0	0	0	100.00
	0.161	0.115	0	0		
	0.159	0.126	0	0		
	0.151	0.089	0	0		
	0.139	0.077	0	0		
	0.202	0.069	0	0		
	0.171	0.095	0	0		
	0.138	0.003	0	0		
	0.166	0.11	0	0		
	0.164	0.082	0	0		
60000	0.164	0.089	0	0	0	100.00
	0.208	0.124	0	0		
	0.15	0.08	0	0		
	0.215	0.104	0	0		
	0.189	0.031	0	0		
	0.22	0.12	0	0		

ANEXO B. Continuação.

	0.234	0.061	0	0		
	0.273	0.096	0	0		
	0.213	0.046	0	0		
	0.209	0.078	0	0		
7000	0.2	0.056	0	0	0	100.00
	0.291	0.082	0	0		
	0.218	0.083	0	0		
	0.235	0.082	0	0		
	0.21	0.072	0	0		
	0.128	0.123	0	0		
	0.167	0.08	18	172455.09		
	0.229	0		0		
	0.169	0.029	60	142011.834		
Placebo	0.206	0.02	52	403883.495		
	0.221	0.08	77	801990.95	2353428	0.00
	0.182	0.095	88	570549.451		
	0.161	0.059	91	406956.522		
	0.145	0.036	78	10758620.7		
	0.165	0.048	83	10060606.1		
	0.172	0.077	64	357209.302		
	0.218	0.127	92	1071926.61		
	0.262	0.153	82	957709.924		
	0.234	0.142	80	970940.171		
	0.195	0.108	84	930461.538		
Controle	0.218	0.004	0	0	793717	
	0.201	0.123	97	1187164.18		
	0.203	0.115	91	1031034.48		
	0.173	0.09	0	0		
	0.153	0.074	94	909281.046		
	0.178	0.092	85	878651.685		

ANEXO C. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para piririproxifen no primeiro ensaio. Continua.

Concentração (ppm)	Peso telógina	Peso Postura	Percentual de eclosão	Eficiência reprodutiva (ER)	Média ER	Eficácia
125	0.239	0.137	57	653472.8033	750176	435
	0.177	0.1	74	836158.1921		
	0.151	0.076	57	573774.8344		
	0.196	0.076	58	449795.9184		
	0.258	0.092	94	670387.5969		
	0.146	0.067	65	596575.3425		
	0.168	0.1	78	928571.4286		
	0.204	0.108	89	942352.9412		
	0.262	0.151	98	1129618.321		
	0.19	0.115	67	811052.6316		
250	0.11	0.051	65	602727.2727	610291.8	23.11
	0.18	0.081	87	783000		
	0.154	0.063	23	188181.8182		
	0.149	0.102	92	1259597.315		
	0.182	0.084	77	110709.2500		
	0.183	0.101	62	684371.5847		
	0.154	0.066	55	471428.5714		
	0.153	0.059	55	424183.0065		
	0.213	0.116	40	435680.7512		
	0.141	0.066	58	542978.7234		
500	0.166	0.086	60	621686.747	641373.8	19.19
	0.223	0.084	35	263677.13		
	0.225	0.117	85	884000		
	0.175	0.102	96	1119085.714		
	0.158	0.061	58	447048.1013		
	0.171	0.07	46	376608.1871		
	0.159	0.083	50	522012.5786		
	0.17	0.063	82	607764.7059		
	0.197	0.091	74	683654.8223		
	0.2	0.102	87	887400		

ANEXO C. Continuação. Continua

	0.208	0.111	94	1003269.231		
	0.222	0.107	31	298828.8288		
	0.163	0.067	27	221963.1902		
	0.253	0.137	34	368221.3439		
10000	0.228	0.112	81	175107.4151	572365.4	27.89
	0.226	0.074	33	216106.1947		
	0.254	0.143	88	990866.1417		
	0.195	0.072	80	590769.2308		
	0.191	0.093	19	185026.178		
	0.231	0.128	95	1052813.853		
	0.193	0.101	60	627979.2746		
	0.138	0.059	49	418985.5072		
	0.212	0.081	47	359150.9434		
	0.26	0.125	82	788461.5385		
20000	0.258	0.133	88	907286.8217	536183	32.41
	0.229	0.1	41	358078.6026		
	0.267	0.139	61	635131.0861		
	0.161	0.056	0	0		
	0.246	0.121	63	619756.0976		
	0.212	0.106	65	650000		
	0.219	0.088	46	369680.3653		
	0.221	0.057	1	5158.371041		
	0.212	0.102	71	683207.5472		
	0.217	0.078	11	79078.34101		
30000	0.186	0.081	59	515070.9077	292192.7	63.19
	0.267	0.025	0	0		
	0.153	0.063	6	49411.76471		
	0.199	0.099	69	686532.6633		
	0.198	0.079	30	239393.9394		
	0.236	0.109	32	295593.2203		

ANEXO C. Continuação. Continua

	0.231	0.094	63	512727.2727		
	0.177	0.079	79	705197.7401		
	0.184	0.077	41	343152.1739		
	0.214	0.096	74	663925.2336		
4000	0.2	0.09	65	383000	457059.1	42.42
	0.227	0.076	25	167400.8811		
	0.203	0		0		
	0.22	0.114	86	891272.7273		
	0.188	0.062	20	131914.8936		
	0.174	0.087	57	570000		
	0.144	0.057	36	285000		
	0.268	0.078	0	0		
	0.135	0.053	37	290518.5185		
	0.236	0.104	66	581694.9153		
5000	0.293	0.127	48	410109.213	299906.5	62.21
	0.205	0		0		
	0.196	0.072	1	7346.938776		
	0.232	0.099	34	290172.4138		
	0.294	0.127	72	622040.8163		
	0.165	0.072	58	506181.8182		
	0.19	0.11	58	671578.9474		
	0.222	0.082	55	406306.3063		
	0.23	0.098	62	528347.8261		
	0.24	0		0		
6000	0.204	0.09	60	329411.7047	386574.2	51.30
	0.19	0.067	64	451368.4211		
	0.152	0.052	34	232631.5789		
	0.252	0.121	69	662619.0476		
	0.184	0.072	49	383478.2609		
	0.2	0.049		0		

ANEXO C. Continuação.

	0.284	0.072	56	283943.662		
	0.217	0.08	19	140092.1659		
	0.258	0		0		
	0.246	0.106	62	534308.9431		
	0.165	0.061	49	362303.0303		
1000	0.181	0		0	223809.9	71.80
	0.248	0.097	8	62580.64516		
	0.191	0.089	63	587120.4188		
	0.196	0.052	49	260000		
	0.24	0.093	1	7750		
	0.167	0.08	18	172455.0898		
	0.229	0		0		
	0.169	0.029	60	142011.8343		
	0.206	0.02	52	403883.4951		
Placebo	0.221	0.08	77	661990.9502	2353428	0.00
	0.182	0.095	88	570549.4505		
	0.161	0.059	91	406956.5217		
	0.145	0.036	78	10758620.69		
	0.165	0.048	83	10060606.06		
	0.172	0.077	64	357209.3023		
	0.218	0.127	92	1071926.606		
	0.262	0.153	82	957709.9237		
	0.234	0.142	80	970940.1709		
	0.195	0.108	84	930461.5385		
Controle	0.218	0.004	0	0	793717	-
	0.201	0.123	97	1187164.179		
	0.203	0.115	91	1031034.483		
	0.173	0.09	0	0		
	0.153	0.074	94	909281.0458		
	0.178	0.092	85	878651.6854		

ANEXO D. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para diflubenzuron no primeiro ensaio. Continua.

Concentração (ppm)	Peso telogina	Peso Postura	Percentual de eclosão	Eficiência reprodutiva (ER)	Média ER	Eficácia
125	0.344	0.211	97	1189941.86	1038587	0
	0.184	0.091	83	820978.2609		
	0.205	0.122	87	1035512.195		
	0.157	0.08	97	988535.0318		
	0.234	0.143	94	1148888.889		
	0.222	0.132	91	1082162.162		
	0.173	0.0997	90	1037341.04		
	0.223	0.137	92	1130403.587		
	0.176	0.091	90	930681.8182		
	0.224	0.13	88	1021428.571		
250	0.282	0.175	95	1179078.014	777019.7	2.10
	0.195	0.106	8	86974.35897		
	0.28	0.144	84	864000		
	0.238	0.14	82	964705.8824		
	0.205	0		0		
	0.24	0.148	90	1110000		
	0.25	0.129	92	949440		
	0.223	0.123	92	1014887.892		
	0.216	0.136	93	1171111.111		
	0.15	0.043	75	430000		
500	0.11	0.04	87	632727.2727	056112.2	0
	0.246	0.15	83	1012195.122		
	0.212	0.119	87	976698.1132		
	0.231	0.138	89	1063376.623		
	0.217	0.128	91	1073548.387		
	0.215	0.117	95	1033953.488		
	0.23	0.149	85	1101304.348		
	0.206	0.075	83	604368.932		
	0.221	0.129	92	1074027.149		
	0.18	0.094	95	992222.2222		

ANEXO D. Continuação. Continua

	0.219	0.131	60	717808.2192		
	0.239	0.145	94	1140585.774		
	0.19	0.108	92	1045894.737		
	0.217	0.027	78	194101.3825		
1000	0.243	0.137	94	1059917.695	802135 7	n
	0.307	0.182	49	580977.1987		
	0.243	0.145	90	1074074.074		
	0.255	0.147	88	1014588.235		
	0.195	0.094	77	742358.9744		
	0.158	0.039	94	464050.6329		
	0.28	0.162	95	1099285.714		
	0.249	0.156	84	1052530.12		
	0.205	0.115	91	1020975.61		
	0.204	0.116	87	989411.7647		
2000	0.198	0.107	84	907878.7879	1006502	n
	0.213	0.118	95	1052582.16		
	0.22	0.131	89	1059909.091		
	0.196	0.1	90	918367.3469		
	0.204	0.112	91	999215.6863		
	0.205	0.115	86	964878.0488		
	0.297	0.145	90	878787.8788		
	0.294	0.147	92	920000		
	0.245	0.121	93	918612.2449		
	0.219	0.112	89	910319.6347		
3000	0.224	0.117	93	971517.8571	878678 1	n
	0.245	0.119	92	893714.2857		
	0.253	0.139	95	1043873.518		
	0.19	0.083	94	821263.1579		
	0.207	0.108	89	928695.6522		
	0.204	0.01	0	0		

ANEXO D. Continuação. Continua

4000	0.236	0.129	50	546610.1695		
	0.203	0		0		
	0.225	0.091	92	744177.7778		
	0.182	0.08	69	606593.4066		
	0.205	0.114	92	1023219.312	757956.8	4.51
	0.212	0.104	95	932075.4717		
	0.246	0.137	86	957886.1789		
	0.197	0.104	86	908020.3046		
	0.269	0.144	94	1006394.052		
	0.159	0.079	86	854591.195		
5000	0.246	0.068	88	486504.065		
	0.231	0		0		
	0.165	0.061	51	377090.9091		
	0.164	0.077	83	779390.2439		
	0.191	0.084	81	112400.133	599760.4	24.44
	0.187	0.089	95	904278.0749		
	0.219	0		0		
	0.223	0.119	84	896502.2422		
	0.251	0.127	94	951235.0598		
0.14	0.067	93	890142.8571			
6000	0.209	0.119	94	1070430.622		
	0.173	0		0		
	0.24	0		0		
	0.168	0		0		
	0.228	0.094	89	733859.6491	180120	77.27
	0.284	0		0		
	0.211	0		0		
	0.183	0		0		
	0.269	0		0		
	0.225	0		0		

ANEXO D. Continuação

	0.226	0.119	75	789823.0088		
	0.214	0		0		
	0.219	0		0		
	0.251	0		0		
7000	0.223	0.094	63	285505.4	64.03	
	0.3	0		0		
	0.257	0		0		
	0.244	0.065	54	287704.918		
	0.2	0.093	82	762600		
	0.205	0.087	57	483804.878		
	0.167	0.08	18	172455.0898		
	0.229	0		0		
	0.169	0.029	60	142011.8343		
	0.206	0.02	52	403883.4951		
Placebo	0.221	0.08	77	661990.9502	7353128	0
	0.182	0.095	88	570549.4505		
	0.161	0.059	91	406956.5217		
	0.145	0.036	78	10758620.69		
	0.165	0.048	83	10060606.06		
	0.172	0.077	64	357209.3023		
	0.218	0.127	92	1071926.606		
	0.262	0.153	82	957709.9237		
	0.234	0.142	80	970940.1709		
	0.195	0.108	84	930461.5385		
Controle	0.210	0.004	0	793717		
	0.201	0.123	97	1187164.179		
	0.203	0.115	91	1031034.483		
	0.173	0.09	0	0		
	0.153	0.074	94	909281.0458		
	0.178	0.092	85	878651.6854		

ANEXO E. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para fluazuron no segundo ensaio. Continua.

Concentração (ppm)	Peso telógina	Peso Postura	Percentual de eclosão	Eficiência reprodutiva (ER)	Média ER	Eficácia
4 000	0.26	0.155	1	11923.0769	994	99.89
	0.278	0.164	0	0		
	0.237	0.025	0	0		
	0.266	0.149	0	0		
	0.226	0.179	0	0		
	0.188	0.097	0	0		
	0.279	0.152	0	0		
	0.336	0.164	0	0		
	0.326	0.199	0	0		
	0.356	0.148	0	0		
	0.277	0.173	0	0		
	0.203	0		0		
	3 500	0.274	0.158	0		
0.325		0.091	0	0		
0.273		0.024	0	0		
0.265		0.151	0	0		
0.242		0.141	0	0		
0.205		0.102	0	0		
0.311		0.191	1	12282.9582		
0.261		0.15	0	0		
0.265		0.156	0	0		
0.24		0.093	0	0		
0.266		0.15	0	0		
0.26		0.165	0	0		

ANEXO E. Continuação. Continua

	0.269	0.16	0	0		
	0.308	0.171	0	0		
	0.285	0.152	0	0		
	0.291	0.156	0	0		
	0.215	0		0		
3 000	0.282	0.157	1	11134.7518	7 884	99 09
	0.267	0.035	0	0		
	0.289	0.088	0	0		
	0.301	0.161	1	10697.6744		
	0.314	0.151	0	0		
	0.343	0.208	6	72769.6793		
	0.287	0.157	0	0		
	0.261	0.151	5	57854.4061		
	0.326	0.175	46	493865.031		
	0.246	0.11	0	0		
	0.265	0.149	9	101207.547		
	0.292	0.113	0	0		
2 750	0.291	0.173	26	309140.895	114,893	86.73
	0.29	0.141	0	0		
	0.29	0.156	26	279724.138		
	0.31	0.193	0	0		
	0.27	0.146	0	0		
	0.27	0.144	0	0		
	0.338	0.178	13	136923.077		
	0.329	0.121	0	0		
	0.344	0.165	0	0		
	0.319	0.158	0	0		
	0.2	0.114	0	0		
	0.316	0.05	0	0		
2 500	0.236	0.136	0	0	932	99.89
	0.297	0.166	1	11178.4512		
	0.189	0.058	0	0		
	0.223	0.007	0	0		
	0.304	0.176	0	0		
	0.276	0.146	0	0		
	0.242	0.148	0	0		

ANEXO E. Continuação. Continua

	0.269	0.141	0	0		
	0.266	0		0		
	0.261	0.148	1	11340.9962		
	0.332	0.013	20	15662.6506		
	0.303	0.21	0	0		
2.250	0.242	0		0	2,250	99.74
	0.251	0.138	0	0		
	0.332	0.061	0	0		
	0.272	0.159	0	0		
	0.313	0.188	0	0		
	0.335	0.178	0	0		
	0.265	0		0		
	0.254	0		0		
	0.273	0.132	0	0		
	0.344	0.19	0	0		
	0.238	0		0		
	0.278	0.152	1	10935.2518		
2.000	0.335	0.198	0	0	24,911	97.12
	0.285	0.152	0	0		
	0.242	0.143	0	0		
	0.206	0.057	0	0		
	0.182	0.083	0	0		
	0.301	0.166	0	0		
	0.21	0.112	27	288000		
	0.398	0.212	0	0		
	0.319	0.176	34	375172.414		
	0.188	0.085	0	0		
	0.333	0.163	2	19579.5796		
	0.246	0.134	16	174308.943		
1.750	0.359	0.014	0	0	52,218	93.97
	0.174	0.094	0	0		
	0.272	0.152	0	0		
	0.304	0.167	0	0		
	0.245	0.141	5	57551.0204		
	0.302	0.003	0	0		
	0.244	0.138	0	0		

ANEXO E. Continuação. Continua

	0.239	0.129	0	0		
	0.26	0.144	26	288000		
	0.302	0.17	28	315231.788		
	0.258	0.154	36	429767.442		
	0.278	0.155	13	144964.029		
1 500	0.278	0.176	7	88655.0955	128,930	85.11
	0.323	0.153	0	0		
	0.266	0.178	0	0		
	0.366	0.116	0	0		
	0.211	0.185	16	280568.72		
	0.309	0.198	0	0		
	0.317	0.104	0	0		
	0.367	0.009	0	0		
	0.273	0.178	0	0		
	0.253	0.112	2	17707.5099		
	0.235	0.129	0	0		
	0.299	0.171	0	0		
1 250	0.197	0.067	0	0	20,307	97.65
	0.286	0.162	0	0		
	0.253	0.138	1	10909.0909		
	0.262	0.156	12	142900.763		
	0.2	0.094	0	0		
	0.286	0.172	6	72167.8322		
	0.226	0.119	0	0		
	0.251	0.147	12	140557.769		
	0.196	0.117	12	143265.306		
	0.24	0.143	4	47666.6667		
	0.313	0.177	2	22619.8083		
	0.264	0.156	1	11818.1818		
1 000	0.319	0.192	58	698181.818	170,972	80.25
	0.23	0.121	1	10521.7391		
	0.276	0.142	27	277826.087		
	0.267	0.146	6	65617.9775		
	0.207	0.123	15	178260.87		
	0.277	0.153	32	353501.805		
	0.274	0.155	9	101824.818		

ANEXO E. Continuação. Continua

	0.276	0.149	92	993333.333		
	0.265	0.144	18	195622.642		
	0.256	0.139	1	10859.375		
	0.25	0.138	26	287040		
	0.283	0.168	4	47491.1661		
750	0.326	0.192	38	447607.362	317,817	63.29
	0.291	0.164	6	67628.866		
	0.333	0.189	58	658378.378		
	0.259	0.145	52	582239.382		
	0.311	0.177	46	523601.286		
	0.315	0		0		
	0.221	0.008	0	0		
	0.289	0.169	1	11695.5017		
	0.263	0.154	67	784638.783		
	0.327	0.186	38	432293.578		
	0.238	0.173	14	203529.412		
	0.314	0.134	12	102420.382		
500	0.285	0.172	67	808701.754	328,694	62.04
	0.225	0.117	21	218400		
	0.272	0.161	37	438014.706		
	0.341	0.19	9	100293.255		
	0.218	0.11	0	0		
	0.258	0.142	44	484341.085		
	0.172	0.172	18	360000		
	0.289	0.164	48	544775.087		
	0.291	0.156	4	42886.5979		
	0.276	0.143	62	642463.768		
	0.308	0	0	0		
	0.299	0.166	31	344214.047		
250	0.277	0.155	53	593140.794	357,712	58.69
	0.285	0.161	50	564912.281		
	0.309	0.186	0	0		
	0.307	0.178	45	521824.104		
	0.282	0.155	42	461702.128		
	0.329	0.188	1	11428.5714		
	0.25	0.157	45	565200		

ANEXO E. Continuação. Continua

	0.267	0.148	4	44344.5693		
	0.282	0.163	7	80921.9858		
	0.279	0.148	0	0		
	0.239	0.129	0	0		
	0.302	0.183	63	763509.934		
100	0.287	0.145	67	611003.484	225,752	73.93
	0.256	0.02	0	0		
	0.291	0.172	26	307353.952		
	0.252	0.118	0	0		
	0.259	0.128	44	434903.475		
	0.265	0.161	33	400981.132		
	0.243	0.013	0	0		
	0.282	0.149	39	412127.66		
	0.285	0.168	29	341894.737		
	0.338	0.194	72	826508.876		
	0.327	0.192	16	187889.908		
	0.244	0.133	24	261639.344		
50	0.281	0.147	1	10462.6333	287,412	66.81
	0.229	0.109	0	0		
	0.288	0.138	1	9583.33333		
	0.303	0.172	58	658481.848		
	0.336	0.094	22	123095.238		
	0.338	0.198	48	562366.864		
	0.235	0.129	5	54893.617		
	0.333	0.165	74	733333.333		
	0.231	0.12	95	987012.987		
	0.273	0.156	64	731428.571		
	0.244	0.142	77	896229.508		
	0.26	0.142	74	808307.692		
Placebo	0.302	0.068	95	421814.51	762,465	11.94
	0.304	0.171	94	1057500		
	0.237	0.135	97	1105063.29		
	0.242	0.082	82	555702.479		
	0.219	0.031	0	0		
	0.291	0.13	81	723711.34		
	0.316	0.183	97	1123481.01		

ANEXO E. Continuação

	0.344	0.177	69	710058.14
	0.316	0.18	90	1025316.46
	0.3	0.15	55	550000
	0.339	0.202	97	1155988.2
	0.224	0.123	89	977410.714
Controle	0.29	0.163	62	696965.517
	0.267	0.119	88	784419.476
	0.24	0.133	84	931000
	0.225	0.083	97	715644.444
	0.274	0.157	95	1088686.13
	0.318	0.169	95	1009748.43
	0.369	0.158	87	745040.65

865 857

ANEXO F. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para piriproxifen no segundo ensaio. Continua.

Concentração (ppm)	Peso telógena	Peso Postura	Percentual de eclosão	Eficiência reprodutiva (ER)	Média ER	Eficácia
13,000	0.306	0.107	0	0	163701.8	79.81
	0.305	0.102	22	147147.541		
	0.271	0.072	34	180664.207		
	0.326	0.13	48	382822.086		
	0.291	0.125	60	515463.918		
	0.312	0.078	0	0		
	0.339	0.105	1	6194.69027		
	0.35	0.127	1	7257.14286		
	0.326	0.118	27	195460.123		
	0.293	0.064	0	0		
	0.357	0.15	63	529411.765		
	0.314	0.002	0	0		
12,000	0.29	0.081	11	61448.2759	169122	79.14
	0.272	0.085	0	0		
	0.39	0.056	26	74666.6667		
	0.25	0.076	53	322240		
	0.243	0.036	20	59259.2593		
	0.300	0.115	30	224025.714		
	0.242	0.091	22	165454.545		
	0.3	0.127	69	584200		
	0.337	0.135	21	168249.258		
	0.246	0.074	12	72195.122		
	0.34	0.116	32	218352.941		
	0.255	0.092	11	79372.549		

ANEXO F. Continuação. Continua

	0.343	0.096	39	218309.038		
	0.297	0.122	45	369696.97		
	0.255	0.093	26	189647.059		
	0.273	0.11	49	394871.795		
	0.267	0.087	29	188988.764		
11,000	0.293	0.078	2	10370.2112	236426.6	70.84
	0.311	0.108	0	0		
	0.247	0.085	30	206477.733		
	0.26	0.086	33	218307.692		
	0.343	0.114	54	358950.437		
	0.225	0.081	45	324000		
	0.266	0.099	48	357293.233		
	0.304	0.104	37	253157.895		
	0.22	0.08	38	276363.636		
	0.304	0.104	13	88947.3684		
	0.269	0.099	25	184014.87		
	0.313	0.127	46	373290.735		
10,000	0.307	0.09	7	41042.3433	131988.9	83.72
	0.284	0		0		
	0.288	0.045	0	0		
	0.362	0.095	0	0		
	0.34	0.112	9	59294.1176		
	0.298	0.111	20	148993.289		
	0.291	0.105	22	158762.887		
	0.334	0.147	28	246467.066		
	0.327	0.15	53	486238.532		
	0.243	0.073	11	66090.535		
	0.278	0.111	36	287482.014		
	0.274	0.082	36	215474.453		
9,000	0.295	0.08	0	0	244678.9	69.82
	0.34	0.162	27	257294.118		
	0.341	0.128	59	442932.551		
	0.328	0.108	21	138292.683		
	0.285	0.081	0	0		
	0.259	0.115	40	355212.355		
	0.332	0.133	55	440662.651		

ANEXO F. Continuação. Continua

	0.391	0.175	62	554987.212		
	0.308	0.134	34	295844.156		
	0.351	0.091	0	0		
	0.276	0.079	0	0		
	0.326	0.133	50	407975.46		
8 000	0.297	0.007	0	0	226164.3	72.11
	0.268	0.199	26	386119.403		
	0.348	0.117	7	47068.9655		
	0.341	0.144	38	320938.416		
	0.243	0.094	37	286255.144		
	0.268	0.066	0	0		
	0.276	0.106	54	414782.609		
	0.356	0.161	69	624101.124		
	0.299	0.163	0	0		
	0.313	0.139	64	568434.505		
	0.255	0.076	16	95372.549		
	0.291	0.014	0	0		
7,000	0.31	0.106	0	0	163288.2	79.86
	0.288	0.078	0	0		
	0.389	0.107	16	88020.5656		
	0.318	0.085	25	133647.799		
	0.318	0.128	30	241509.434		
	0.318	0.04	0	0		
	0.301	0.112	28	208372.093		
	0.323	0.117	12	86934.9845		
	0.36	0.103	0	0		
	0.325	0.133	49	401046.154		
	0.319	0.125	45	352664.577		
	0.28	0.119	42	357000		
6 000	0.281	0.019	0	0	188455.8	76.76
	0.337	0.139	24	197982.196		
	0.323	0.134	48	398266.254		
	0.251	0.091	2	14501.992		
	0.303	0.093	42	257821.782		
	0.295	0.073	0	0		
	0.337	0.094	35	195252.226		

ANEXO F. Continuação. Continua

	0.354	0.15	49	415254.237		
	0.351	0.168	64	612649.573		
	0.335	0.135	44	354626.866		
	0.372	0.164	63	555483.871		
	0.281	0.126	50	448398.577		
5,000	0.3	0.105	25	115000	360091.6	55.59
	0.305	0.123	43	346819.672		
	0.293	0.132	52	468532.423		
	0.322	0.137	60	510559.006		
	0.297	0.095	0	0		
	0.302	0.131	50	433774.834		
	0.258	0.061	0	0		
	0.269	0.075	23	128252.788		
	0.301	0.127	57	480996.678		
	0.277	0.098	50	353790.614		
	0.298	0.131	57	501140.94		
	0.399	0.152	37	281904.762		
1 000	0.286	0.103	0	0	326714.9	59.71
	0.27	0.077	8	45629.6296		
	0.309	0.149	48	462912.621		
	0.306	0.145	59	559150.327		
	0.262	0.129	51	502213.74		
	0.283	0.109	36	277314.488		
	0.363	0.132	45	327272.727		
	0.271	0.097	0	0		
	0.316	0.133	5	42088.6076		
	0.318	0.109	45	308490.566		
	0.267	0.09	35	235955.056		
	0.301	0.129	34	291428.571		
3 000	0.226	0.102	70	651858.407	323787.8	60.07
	0.263	0.135	63	646768.061		
	0.314	0.055	17	59554.1401		
	0.3	0.104	27	187200		
	0.311	0.002	0	0		
	0.306	0.21	56	768627.451		
	0.267	0.127	75	713483.146		

ANEXO F. Continuação. Continua

	0.294	0.124	55	463945.578		
	0.308	0.128	38	315844.156		
	0.253	0.104	33	271304.348		
	0.369	0.194	78	820162.602		
	0.339	0.113	0	0		
2 000	0.406	0.188	53	490851.458	426328.1	47.42
	0.259	0.076	12	70424.7104		
	0.333	0.133	57	455315.315		
	0.371	0.153	63	519622.642		
	0.339	0.098	47	271740.413		
	0.311	0.157	77	777427.653		
	0.349	0.177	65	659312.321		
	0.246	0.119	73	706260.163		
	0.308	0.15	75	730519.481		
	0.33	0.171	95	984545.455		
	0.32	0.137	44	376750		
	0.372	0.128	77	529892.473		
1 000	0.327	0.114	20	159449.541	545872.7	32.68
	0.281	0.126	48	430462.633		
	0.3	0.139	63	583800		
	0.375	0.154	53	435306.667		
	0.29	0.098	65	439310.345		
	0.276	0.138	67	670000		
	0.273	0.135	53	524175.824		
	0.281	0.148	65	684697.509		
	0.148	0.099	30	401351.351		
	0.256	0.104	37	300625		
	0.331	0.106	40	256193.353		
	0.257	0.1	48	373540.856		
500	0.298	0.141	43	400912.152	487189.1	39.92
	0.34	0.15	65	573529.412		
	0.304	0.126	70	580263.158		
	0.261	0.13	54	537931.034		
	0.289	0.128	54	478339.1		
	0.254	0.098	39	300944.882		
	0.273	0.146	89	951941.392		

ANEXO F. Continuação. Continua

	0.315	0		0		
	0.291	0.103	50	353951.89		
	0.305	0.133	49	427344.262		
	0.296	0.115	67	520608.108		
	0.328	0.137	49	409329.268		
750	0.267	0.047	46	101941.500	410725.6	49.35
	0.322	0.153	53	503664.596		
	0.295	0.058	0	0		
	0.35	0.165	40	377142.857		
	0.374	0.111	56	332406.417		
	0.26	0.141	95	1030384.62		
	0.389	0.168	94	811928.021		
	0.273	0.129	75	708791.209		
	0.322	0.162	89	895527.95		
	0.277	0.144	77	800577.617		
	0.426	0.25	72	845070.423		
	0.288	0.163	96	1086666.67		
100	0.362	0.16	0	0	818260.3	0
	0.293	0.145	86	851194.539		
	0.317	0.171	93	1003343.85		
	0.341	0.168	82	807976.54		
	0.293	0.164	96	1074675.77		
	0.292	0.145	88	873972.603		
	0.279	0.143	85	871326.165		
	0.303	0.159	50	524752.475		
	0.323	0.138	56	478513.932		
	0.263	0.132	88	883346.008		
	0.247	0.129	95	992307.692		
	0.309	0.16	91	942394.822		
50	0.337	0.163	96	928004.088	715239.3	11.79
	0.288	0.151	57	597708.333		
	0.271	0.103	74	562509.225		
	0.318	0.175	77	847484.277		
	0.321	0.125	96	747663.551		
	0.29	0.135	60	558620.69		
	0.256	0.123	54	518906.25		

ANEXO F. Continuação. Continua

	0.304	0.157	85	877960.526		
	0.312	0.165	82	867307.692		
	0.305	0.151	57	564393.443		
	0.284	0.145	97	990492.958		
	0.337	0.162	90	865281.899		
Placebo	0.320	0.168	91	951914.11	754668	6.93
	0.321	0.173	61	657507.788		
	0.358	0.152	73	619888.268		
	0.299	0.145	84	814715.719		
	0.298	0		0		
	0.31	0.154	94	933935.484		
	0.278	0.14	92	926618.705		
	0.307	0.123	74	592964.169		
	0.335	0.122	71	517134.328		
	0.318	0.178	96	1074716.98		
	0.3	0.168	75	840000		
	0.31	0.173	89	993354.839		
Controle	0.332	0.177	87	927650.602	810070.2	0
	0.273	0.146	89	951941.392		
	0.341	0.173	98	994369.501		
	0.337	0.183	98	1064332.34		
	0.234	0.106	97	878803.419		
	0.284	0.159	80	895774.648		
	0.281	0		0		

ANEXO G. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para diflubenzuron no segundo ensaio. Continua.

Concentração (ppm)	Peso telógina	Peso Postura	Percentual de eclosão	Eficiência reprodutiva (ER)	Média ER	Eficácia
10,000	0.31	0.121	51	398129.0323	750 092	8 43
	0.311	0.113	68	494147.91		
	0.302	0.159	85	895033.1126		
	0.276	0.157	92	1046666.667		
	0.275	0.154	77	862400		
	0.29	0.168	80	926896.5517		
	0.281	0.16	91	1036298.932		
	0.227	0.117	93	958678.4141		
	0.25	0		0		
	0.237	0.122	77	792742.616		
	0.199	0.089	72	644020.1005		
	0.23	0.136	80	946086.9565		
9 000	0.414	0.226	77	840676.3285	756 704	7 62
	0.245	0.135	96	1057959.184		
	0.214	0.118	61	672710.2804		
	0.237	0.11	76	705485.2321		
	0.235	0.104	66	584170.2128		
	0.264	0.141	74	790454.5455		
	0.36	0.176	80	782222.2222		
	0.247	0.097	81	636194.332		
	0.234	0.137	67	784529.9145		
	0.199	0.103	78	807437.1859		
	0.284	0.084	95	561971.831		
	0.226	0.121	80	856637.1681		

ANEXO G. Continuação.Continua.

	0.287	0.167	85	989198.6063		
	0.347	0.091	80	419596.5418		
	0.251	0.091	31	224780.8765		
	0.221	0.114	74	763438.914		
	0.285	0.07	26	127719.2982		
8 000	0.249	0.106	79	672610.4418	655,983	19.91
	0.377	0.207	85	933421.7507		
	0.236	0.114	41	396101.6949		
	0.261	0.129	67	662298.8506		
	0.217	0.109	94	944331.7972		
	0.197	0.111	96	1081827.411		
	0.198	0.097	67	656464.6465		
	0.316	0.142	77	692025.3165		
	0.354	0.211	91	1084802.26		
	0.252	0.139	90	992857.1429		
	0.231	0.086	85	632900.4329		
	0.249	0.135	83	900000		
7 000	0.314	0.08	39	198726.1146	732,214	10.61
	0.297	0.084	87	492121.2121		
	0.213	0.111	95	990140.8451		
	0.199	0.088	67	592562.8141		
	0.184	0.094	90	919565.2174		
	0.196	0.057	69	401326.5306		
	0.172	0.09	85	889534.8837		
	0.251	0.136	70	758565.7371		
	0.31	0.173	71	792451.6129		
	0.226	0.092	88	716460.177		
	0.23	0.118	81	831130.4348		
	0.184	0.06	17	110869.5652		
6 000	0.277	0.139	79	792851.9856	766 760	6 39
	0.291	0.162	93	1035463.918		
	0.313	0.179	87	995079.8722		
	0.306	0.171	97	1084117.647		
	0.199	0.083	91	759095.4774		
	0.203	0.117	82	945221.6749		
	0.208	0.079	50	379807.6923		

ANEXO G. Continuação.Continua.

	0.243	0.114	88	825679.0123		
	0.24	0.128	92	981333.3333		
	0.273	0.137	81	812967.033		
	0.338	0.194	60	688757.3964		
	0.214	0.102	74	705420.5607		
5 000	0.274	0.141	88	905693.4307	809 650	1 15
	0.241	0.12	88	876348.5477		
	0.243	0.135	87	966666.6667		
	0.237	0.124	77	805738.3966		
	0.256	0.148	78	901875		
	0.231	0.128	33	365714.2857		
	0.201	0.104	85	879601.99		
	0.258	0.137	89	945193.7984		
	0.258	0.111	0	0		
	0.261	0.041	57	179080.4598		
	0.29	0.165	85	967241.3793		
	0.305	0.176	67	773245.9016		
4 000	0.266	0.13	82	801503.1594	648,466	20.83
	0.23	0.13	92	1040000		
	0.257	0.145	94	1060700.389		
	0.224	0.126	92	1035000		
	0.156	0.064	95	779487.1795		
	0.299	0.034	88	200133.7793		
	0.197	0		0		
	0.266	0.116	61	532030.0752		
	0.222	0.123	69	764594.5946		
	0.233	0.049	62	260772.5322		
	0.283	0.16	85	961130.742		
	0.301	0.137	87	791960.1329		
3 000	0.247	0.141	83	947611.336	569,608	30.46
	0.325	0.048	4	11815.38462		
	0.209	0.073	70	488995.2153		
	0.236	0		0		
	0.323	0.186	93	1071083.591		
	0.302	0.165	92	1005298.013		
	0.223	0		0		

ANEXO G. Continuação.Continua.

	0.264	0.126	83	792272.7273		
	0.282	0.146	82	849078.0142		
	0.251	0.103	41	336494.0239		
	0.2	0.056	30	168000		
	0.232	0.12	60	620689.6552		
2.000	0.241	0.138	60	687156.9295	618,291	24.52
	0.277	0.159	60	688808.6643		
	0.335	0.189	84	947820.8955		
	0.203	0.04	84	331034.4828		
	0.256	0.089	65	451953.125		
	0.198	0.091	72	661818.1818		
	0.237	0.131	80	884388.1857		
	0.27	0.103	91	694296.2963		
	0.364	0.198	95	1033516.484		
	0.232	0.102	69	606724.1379		
	0.244	0.123	54	544426.2295		
	0.316	0.162	89	912531.6456		
1,000	0.22	0.045	13	55181.81818	654,581	20.09
	0.247	0.045	82	298785.4251		
	0.31	0.178	65	746451.6129		
	0.275	0.143	66	686400		
	0.218	0.117	75	805045.8716		
	0.217	0.117	78	841105.9908		
	0.251	0.098	81	632509.9602		
	0.244	0.13	83	884426.2295		
	0.324	0.162	62	620000		
	0.28	0.144	69	709714.2857		
	0.369	0.081	55	241463.4146		
	0.21	0.1	70	666666.6667		
500	0.335	0.198	79	953850.7463	676,922	17.36
	0.212	0.107	87	878207.5472		
	0.283	0.09	82	521554.7703		
	0.269	0.065	84	405947.9554		
	0.246	0.133	62	670406.5041		
	0.197	0.1	77	781725.8883		
	0.211	0.097	88	809099.5261		

ANEXO G. Continuação.Continua.

	0.298	0.152	73	744697.9866		
	0.299	0.132	64	565083.612		
	0.219	0.13	88	1044748.858		
	0.253	0.109	82	706561.2648		
	0.365	0.19	78	812054.7945		
250	0.241	0.198	90	1478838.174	769 645	6 04
	0.225	0.117	87	904800		
	0.23	0.064	86	478608.6957		
	0.24	0.131	94	1026166.667		
	0.254	0.022	69	119527.5591		
	0.238	0.125	53	556722.6891		
	0.193	0.1	77	797927.4611		
	0.261	0		0		
	0.257	0.145	87	981712.0623		
	0.367	0.096	62	324359.673		
	0.247	0.123	78	776842.1053		
	0.222	0.125	67	754504.5045		
125	0.203	0.039	85	526600.9852	512,970	37.37
	0.28	0.173	88	1087428.571		
	0.275	0.053	0	0		
	0.286	0.044	74	227692.3077		
	0.215	0.115	3	32093.02326		
	0.21	0.109	69	716285.7143		
	0.192	0.099	90	928125		
	0.295	0.133	94	847593.2203		
	0.363	0.081	83	370413.2231		
	0.276	0.125	59	534420.2899		
	0.262	0.125	78	744274.8092		
	0.308	0.098	86	547272.7273		
62.5	0.244	0.067	0	0	691,844	15.54
	0.246	0.153	82	1020000		
	0.208	0.191	76	1395769.231		
	0.244	0.069	19	107459.0164		
	0.358	0.146	88	717765.3631		
	0.188	0.172	89	1628510.638		
	0.289	0.104	54	388650.519		

ANEXO G. Continuação.Continua.

	0.24	0.129	83	892250
	0.276	0.153	92	1020000
	0.201	0.063	68	426268.6567
	0.241	0.116	72	693112.0332
	0.192	0.099	90	928125
Controle	0.255	0.12	86	885836.9099
	0.273	0.153	94	1053626.374
	0.315	0.174	90	994285.7143
	0.254	0.114	74	664251.9685
	0.216	0.081	63	472500
	0.243	0.133	78	853827.1605
	0.183	0.094	92	945136.612

ANEXO H. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para fluazuron no terceiro ensaio. Continua.

Concentração (ppm)	Peso telógina	Peso Postura	Percentual de eclosão	Eficiência reprodutiva (ER)	Média ER	Eficácia
4 000	0.212	0.108	0	0	0	100.00
	0.339	0.172	0	0		
	0.28	0.146	0	0		
	0.192	0.081	0	0		
	0.297	0.135	0	0		
	0.265	0.135	0	0		
	0.311	0.163	0	0		
	0.187	0.103	0	0		
	0.226	0.042	0	0		
	0.252	0.047	0	0		
	0.247	0.141	0	0		
	0.209	0.095	0	0		
3,000	0.214	0.114	0	0	2,778	99.69
	0.222	0.108	0	0		
	0.293	0.044	0	0		
	0.213	0.11	0	0		
	0.36	0.15	4	33333.33333		
	0.3	0.163	0	0		
	0.265	0.064	0	0		
	0.211	0.112	0	0		
	0.292	0.156	0	0		
	0.199	0.1	0	0		
	0.272	0.136	0	0		
	0.238	0.128	0	0		

ANEXO H. Continuação. Continua

	0.226	0.109	0	0		
	0.278	0.141	0	0		
	0.32	0.179	0	0		
	0.325	0.183	0	0		
	0.237	0.048	0	0		
2.000	0.273	0.136	0	0	0	100.00
	0.256	0.101	0	0		
	0.257	0.136	0	0		
	0.249	0.13	0	0		
	0.195	0.098	0	0		
	0.242	0.11	0	0		
	0.218	0.102	0	0		
	0.246	0.128	0	0		
	0.295	0.167	0	0		
	0.309	0.179	0	0		
	0.288	0.165	0	0		
	0.26	0.126	0	0		
1.000	0.295	0.163	0	0	0	100.00
	0.341	0.14	0	0		
	0.247	0.14	0	0		
	0.242	0.106	0	0		
	0.262	0.144	0	0		
	0.358	0.128	0	0		
	0.237	0.121	0	0		
	0.197	0.086	0	0		
	0.247	0.133	0	0		
	0.21	0.077	0	0		
	0.219	0.047	0	0		
	0.218	0.11	0	0		
500	0.247	0.123	23	229068.8259	19 089	97 89
	0.25	0.099	0	0		
	0.278	0.139	0	0		
	0.246	0.094	0	0		
	0.224	0.034	0	0		
	0.218	0.112	0	0		
	0.214	0.114	0	0		

ANEXO H. Continuação. Continua

	0.259	0.126	4	38918.91892		
	0.252	0.145	56	644444.4444		
	0.222	0.117	1	10540.54054		
	0.207	0.111	1	10724.63768		
	0.222	0.12	59	637837.8378		
100	0.249	0.131	35	368213.0924	393,314	56.61
	0.224	0.049	0	0		
	0.301	0.132	42	368372.093		
	0.267	0.157	79	929063.6704		
	0.22	0.126	43	492545.4545		
	0.28	0.151	56	604000		
	0.291	0.157	57	615051.5464		
	0.241	0.103	0	0		
	0.215	0.023	0	0		
	0.247	0.123	49	488016.1943		
	0.264	0.124	47	441515.1515		
	0.251	0.112	2	17848.60558		
50	0.284	0.154	45	488028.169	131,705	85.47
	0.255	0.133	0	0		
	0.211	0.111	1	10521.32701		
	0.242	0.109	0	0		
	0.2	0.088	0	0		
	0.274	0.146	6	63941.60584		
	0.238	0.105	8	70588.23529		
	0.229	0.123	2	21484.71616		
	0.209	0.106	22	223157.8947		
	0.267	0.151	33	373258.427		
	0.259	0.125	1	9652.509653		
	0.302	0.173	55	630132.4503		
25	0.273	0.154	16	180512.8205	295,934	67.35
	0.249	0.117	0	0		
	0.263	0.141	59	632623.5741		
	0.253	0.141	65	724505.9289		
	0.249	0.125	7	70281.1245		
	0.227	0.11	16	155066.0793		
	0.264	0.149	47	530530.303		

ANEXO H.Continuação. Continua

	0.252	0.114	92	832380.9524		
	0.295	0.131	88	781559.322		
	0.32	0.148	68	629000		
	0.23	0.122	70	742608.6957		
	0.264	0.143	84	910000		
1	0.33	0.13	61	480606.0606	786,985	13.18
	0.3	0.163	92	999733.3333		
	0.232	0.125	89	959051.7241		
	0.206	0.097	80	753398.0583		
	0.235	0.113	89	855914.8936		
	0.212	0.104	67	657358.4906		
	0.272	0.138	83	842205.8824		
	0.235	0.128	86	936851.0638		
	0.277	0.101	78	627148.0144		
	0.356	0.147	91	751516.8539		
	0.219	0.108	99	976438.3562		
	0.254	0.128	94	947401.5748		
0 50	0.212	0.109	87	894622.6415	790,228	12.82
	0.284	0.156	93	1021690.141		
	0.24	0.128	95	1013333.333		
	0.362	0.171	70	661325.9669		
	0.312	0.167	79	845705.1282		
	0.365	0.131	89	638849.3151		
	0.28	0.047	50	167857.1429		
	0.229	0.12	85	890829.6943		
	0.29	0.161	64	710620.6897		
	0.237	0.117	73	720759.4937		
	0.256	0.129	71	715546.875		
	0.276	0.143	68	704637.6812		
0 10	0.243	0.13	34	565786.0082	740,596	18.29
	0.263	0.143	92	1000456.274		
	0.251	0.13	95	984063.745		
	0.295	0.127	71	611322.0339		
	0.296	0.156	88	927567.5676		
	0.307	0.173	92	1036872.964		
	0.262	0.049	59	220687.0229		

ANEXO H. Continuação. Continua

	0.239	0.127	90	956485.3556		
	0.24	0.116	55	531666.6667		
	0.231	0.108	84	785454.5455		
	0.274	0.128	75	700729.927		
	0.271	0.112	69	570332.1033		
0.05	0.203	0.101	88	875665.0246	694,949	23.33
	0.21	0.095	78	705714.2857		
	0.244	0.125	90	922131.1475		
	0.252	0.12	53	504761.9048		
	0.33	0.111	40	269090.9091		
	0.292	0.148	77	780547.9452		
	0.232	0.111	77	736810.3448		
	0.337	0.184	92	1004629.08		
	0.2	0.09	67	603000		
	0.293	0.16	74	808191.1263		
	0.274	0.087	2	12700.72993		
	0.224	0.072	66	424285.7143		
0.01	0.234	0.127	78	846666.6667	673,534	25.69
	0.332	0.191	82	943493.9759		
	0.288	0.166	63	726250		
	0.295	0.004	1	271.1864407		
	0.295	0.141	88	841220.339		
	0.256	0.141	95	1046484.375		
	0.272	0.129	87	825220.5882		
	0.294	0.154	87	911428.5714		
	0.26	0.136	95	993846.1538		
	0.314	0.161	76	779363.0573		
	0.24	0.118	88	865333.3333		
	0.275	0.143	80	832000		
Placebo	0.405	0.196	71	687209.8765	793,731	12.43
	0.3	0.135	70	630000		
	0.292	0.153	76	796438.3562		
	0.326	0.162	61	606257.6687		
	0.25	0.094	90	676800		
	0.241	0.126	82	857427.3859		
	0.27	0.129	93	888666.6667		

ANEXO H. Continuação. Continua

	0.333	0.176	86	909069.0691
	0.248	0.123	65	644758.0645
	0.314	0.159	76	769681.5287
	0.259	0.127	94	921853.2819
	0.269	0.155	90	1037174.721
Controle	0.266	0.145	92	1003007.519
	0.209	0.105	81	813875.5981
	0.29	0.157	78	844551.7241
	0.328	0.194	92	1088292.683
	0.329	0.17	93	961094.2249
	0.241	0.126	85	888796.6805
	0.24	0.127	94	994833.3333

906 416

ANEXO I. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para piriproxifen no terceiro ensaio. Continua.

Concentração (ppm)	Peso telógina	Peso Postura	Percentual de eclosão	Eficiência reprodutiva (ER)	Média ER	Eficácia
4,000	0.275	0.082	2	11927.2727	129,279	85.74
	0.259	0.099	40	305791.506		
	0.235	0.072	29	177702.128		
	0.243	0.048	0	0		
	0.27	0.083	31	190592.593		
	0.25	0.086	45	309000		
	0.219	0.059	10	53881.2785		
	0.259	0.029	0	0		
	0.261	0.095	34	247509.579		
	0.277	0.087	34	213574.007		
	0.261	0.076	7	40766.2835		
	0.192	0.035	0	0		
	3,000	0.306	0			
0.228		0.086	11	82982.4561		
0.249		0.065	0	0		
0.289		0.04	0	0		
0.288		0.107	46	341805.556		
0.269		0.104	75	579925.651		
0.288		0.048	0	0		
0.235		0.049	0	0		
0.259		0.079	9	54903.4749		
0.219		0.07	10	63926.9406		
0.253		0.063	0	0		
0.231		0.051	0	0		

ANEXO I. Continuação. Continua

	0.238	0.099	73	607310.924		
	0.265	0.109	71	584075.472		
	0.24	0.08	30	200000		
	0.251	0.074	45	265338.645		
	0.264	0.09	25	170454.545		
2,000	0.22	0.091	40	330909.091	220,975	75.62
	0.281	0.001	0	0		
	0.279	0.107	24	184086.022		
	0.287	0.09	22	137979.094		
	0.268	0.094	14	98208.9552		
	0.292	0		0		
	0.225	0.075	11	73333.3333		
	0.237	0.09	59	448101.266		
	0.265	0.103	32	248754.717		
	0.205	0.059	14	80585.3659		
	0.215	0.064	19	113116.279		
	0.279	0.069	0	0		
1 000	0.255	0.062	0	0	171,183	81.11
	0.268	0.002	0	0		
	0.244	0.091	34	253606.557		
	0.23	0.073	49	311043.478		
	0.234	0.08	20	136752.137		
	0.26	0.096	38	280615.385		
	0.259	0.098	24	181621.622		
	0.292	0.1	46	315068.493		
	0.253	0.104	62	509723.32		
	0.267	0.103	58	447490.637		
	0.291	0.088	15	90721.6495		
	0.253	0		0		
500	0.237	0.129	98	1066835.44	418,224	53.86
	0.227	0.099	68	593127.753		
	0.244	0.121	71	704180.328		
	0.251	0.105	55	460159.363		
	0.304	0.117	41	315592.105		
	0.261	0.099	44	333793.103		
	0.25	0.091	25	182000		

ANEXO I. Continuação. Continua.

	0.258	0.101	60	469767.442		
	0.255	0.04	78	244705.882		
	0.234	0.121	63	651538.462		
	0.262	0.102	75	583969.466		
	0.264	0.105	41	326136.364		
100	0.223	0.105	84	791051.39	559,328	38.29
	0.267	0.123	73	672584.27		
	0.23	0.109	78	739304.348		
	0.26	0.125	69	663461.538		
	0.305	0.127	56	466360.656		
	0.219	0.095	70	607305.936		
	0.213	0.096	55	495774.648		
	0.231	0.109	72	679480.519		
	0.254	0.039	78	239527.559		
	0.268	0		0		
	0.23	0.105	78	712173.913		
	0.193	0.086	92	819896.373		
50	0.241	0.12	95	946058.091	626,281	30.91
	0.289	0.117	78	631557.093		
	0.249	0.088	56	395823.293		
	0.314	0.133	62	525222.93		
	0.221	0.115	90	936651.584		
	0.267	0.115	92	792509.363		
	0.249	0.127	82	836465.863		
	0.205	0		0		
	0.227	0.1	41	361233.48		
	0.202	0.083	53	435544.554		
	0.208	0.107	87	895096.154		
	0.249	0.089	37	264497.992		
25	0.256	0.111	57	494296.815	578,762	36.15
	0.202	0.1	77	762376.238		
	0.284	0.136	55	526760.563		
	0.207	0.086	79	656425.121		
	0.252	0.137	95	1032936.51		
	0.318	0.164	65	670440.252		
	0.289	0.149	82	845536.332		

ANEXO I. Continuação. Continua.

	0.24	0.128	89	949333.333		
	0.32	0.16	90	900000		
	0.31	0.159	92	943741.935		
	0.321	0.161	87	872710.28		
	0.266	0.128	58	558195.489		
1	0.273	0.128	73	684542.125	974,907	-7.56
	0.27	0.54	72	2880000		
	0.229	0.117	85	868558.952		
	0.236	0.125	91	963983.051		
	0.188	0.099	61	642446.809		
	0.184	0.087	58	548478.261		
	0.206	0.105	87	886893.204		
	0.241	0.12	63	627385.892		
	0.202	0		0		
	0.356	0.19	83	885955.056		
	0.23	0.093	78	630782.609		
	0.282	0.159	83	935957.447		
0 50	0.285	0.154	61	659228.01	567,667	37.37
	0.231	0.123	84	894545.455		
	0.284	0		0		
	0.285	0.018	0	0		
	0.257	0.105	88	719066.148		
	0.247	0.13	85	894736.842		
	0.23	0.11	59	564347.826		
	0.234	0.116	62	614700.855		
	0.294	0.138	74	694693.878		
	0.263	0.125	59	560836.502		
	0.241	0.127	95	1001244.81		
	0.244	0.127	63	655819.672		
0 10	0.221	0.112	79	800725.982	656,420	27.58
	0.205	0.063	51	313463.415		
	0.274	0.134	83	811824.818		
	0.268	0.121	65	586940.299		
	0.315	0.166	93	980190.476		
	0.238	0.112	73	687058.824		
	0.218	0.077	24	169541.284		

ANEXO I. Continuação. Continua.

	0.221	0.11	38	378280.543		
	0.233	0.124	81	862145.923		
	0.307	0.168	80	875570.033		
	0.288	0.112	84	653333.333		
	0.256	0.061	69	328828.125		
0 05	0.224	0.1	73	651785.114	715,783	21.03
	0.255	0.14	93	1021176.47		
	0.264	0.142	83	892878.788		
	0.283	0.145	84	860777.385		
	0.272	0.145	80	852941.176		
	0.286	0.062	41	177762.238		
	0.283	0.154	95	1033922.26		
	0.239	0.124	95	985774.059		
	0.368	0.18	89	870652.174		
	0.28	0.118	98	826000		
	0.302	0.169	97	1085629.14		
	0.297	0.091	46	281885.522		
0 01	0.227	0.093	63	516211.454	740,857	18.27
	0.201	0.097	53	511542.289		
	0.217	0.103	78	740460.829		
	0.29	0.149	94	965931.034		
	0.256	0.135	86	907031.25		
	0.244	0.097	82	651967.213		
	0.25	0.12	57	547200		
	0.294	0.154	87	911428.571		
	0.26	0.136	95	993846.154		
	0.314	0.161	76	779363.057		
	0.24	0.118	88	865333.333		
	0.275	0.143	80	832000		
Placebo	0.405	0.196	71	687209.811	793,731	12.43
	0.3	0.135	70	630000		
	0.292	0.153	76	796438.356		
	0.326	0.162	61	606257.669		
	0.25	0.094	90	676800		
	0.241	0.126	82	857427.386		
	0.27	0.129	93	888666.667		

ANEXO I. Continuação. Continua.

	0.333	0.176	86	909069.069
	0.248	0.123	65	644758.065
	0.314	0.159	76	769681.529
	0.259	0.127	94	921853.282
	0.269	0.155	90	1037174.72
Controle	0.266	0.145	92	1003007.52
	0.209	0.105	81	813875.598
	0.29	0.157	78	844551.724
	0.328	0.194	92	1088292.68
	0.329	0.17	93	961094.225
	0.241	0.126	85	888796.68
	0.24	0.127	94	994833.333

906 416

ANEXO J. Tabela contendo os valores de individuais de peso das fêmeas ingurgitadas, das posturas, dos percentuais de eclosão e da eficiência reprodutiva para diflubenzuron no terceiro ensaio. Continua.

Concentração (ppm)	Peso telógina	Peso Postura	Percentual de eclosão	Eficiência reprodutiva (ER)	Média ER	Eficácia
4,000	0.319	0.149	89	831410.6583	669,125	22.49
	0.249	0.058	77	358714.8594		
	0.213	0.156	89	1303661.972		
	0.289	0.122	80	675432.526		
	0.266	0.069	48	249022.5564		
	0.26	0.126	76	150015.5840		
	0.289	0.153	68	720000		
	0.219	0.122	65	724200.9132		
	0.301	0.105	90	627906.9767		
	0.237	0.15	65	822784.8101		
	0.228	0.078	0	0		
	0.238	0.131	89	979747.8992		
3 000	0.26	0.1	81	623076.9231	756,552	12.36
	0.323	0.176	75	817337.4613		
	0.346	0.115	68	452023.1214		
	0.253	0.127	64	642529.6443		
	0.223	0.128	91	1044663.677		
	0.253	0.117	94	869407.1146		
	0.29	0.165	94	1069655.172		
	0.251	0.093	86	637290.8367		
	0.245	0.139	63	714857.1429		
	0.288	0.156	77	834166.6667		
	0.196	0.099	79	798061.2245		
	0.216	0.111	56	575555.5556		

ANEXO J. Continuação. Continua.

	0.248	0.126	90	914516.129		
	0.318	0.171	89	957169.8113		
	0.302	0.159	96	1010860.927		
	0.315	0.153	94	913142.8571		
	0.225	0.112	91	905955.5556		
2.000	0.408	0		0	763,768	11.53
	0.312	0		0		
	0.248	0.134	96	1037419.355		
	0.295	0.157	94	1000542.373		
	0.297	0.138	89	827070.7071		
	0.326	0.169	82	850184.0491		
	0.206	0.094	82	748349.5146		
	0.264	0.144	10	109090.9091		
	0.326	0.157	75	722392.638		
	0.269	0.145	94	1013382.9		
	0.25	0.13	95	988000		
	0.283	0.153	89	962332.1555		
1.000	0.267	0.126	46	434137.5034	710,426	17.71
	0.24	0.095	69	546250		
	0.282	0.147	91	948723.4043		
	0.235	0.115	92	900425.5319		
	0.318	0.173	87	946603.7736		
	0.273	0.14	92	943589.7436		
	0.303	0.002	77	10165.0165		
	0.261	0.142	92	1001072.797		
	0.307	0.459	87	2601498.371		
	0.265	0.14	96	1014339.623		
	0.305	0.177	77	893704.918		
	0.348	0.168	96	926896.5517		
500	0.236	0.033	0	0	984,500	0
	0.262	0.138	89	937557.2519		
	0.358	0.183	93	950782.1229		
	0.265	0.136	96	985358.4906		
	0.244	0.122	72	720000		
	0.237	0.118	92	916118.1435		
	0.258	0.13	86	866666.6667		

ANEXO J. Continuação. Continua.

	0.293	0.067	88	402457.3379		
	0.292	0.152	85	884931.5068		
	0.304	0.171	94	1057500		
	0.258	0.129	83	830000		
	0.253	0.115	67	609090.9091		
100	0.334	0.066	10	59520.95808	623,137	27.82
	0.249	0.13	93	971084.3373		
	0.342	0.073	66	281754.386		
	0.265	0.136	87	892981.1321		
	0.319	0.13	80	652037.6176		
	0.269	0.007	0	0		
	0.226	0.118	82	856283.1858		
	0.244	0.116	78	741639.3443		
	0.282	0.128	79	717163.1206		
	0.284	0.141	75	744718.3099		
	0.24	0.111	88	814000		
	0.299	0.064	66	282541.806		
50	0.243	0.13	77	825808.5128	688,994	20.19
	0.327	0.17	96	998165.1376		
	0.26	0.132	75	761538.4615		
	0.248	0.118	82	780322.5806		
	0.266	0	0	0		
	0.275	0.128	68	633018.1818		
	0.241	0.13	90	970954.3568		
	0.223	0.105	83	781614.3498		
	0.264	0.133	59	594469.697		
	0.254	0.057	76	341102.3622		
	0.286	0.14	80	783216.7832		
	0.314	0.175	85	947452.2293		
25	0.312	0.163	85	888141.0250	677,119	21.57
	0.214	0.1	73	682242.9907		
	0.261	0		0		
	0.288	0.126	97	848750		
	0.317	0.133	55	461514.1956		
	0.215	0.117	83	903348.8372		
	0.28	0.139	90	893571.4286		

ANEXO J. Continuação. Continua.

	0.331	0.17	96	986102.719		
	0.245	0.101	93	766775.5102		
	0.235	0.12	86	878297.8723		
	0.225	0.045	0	0		
	0.244	0.118	68	657704.918		
1	0.214	0.1	91	850461.2891	629,178	27.12
	0.328	0.158	70	674390.2439		
	0.304	0.154	96	972631.5789		
	0.259	0.124	24	229806.9498		
	0.351	0.18	0	0		
	0.353	0.179	64	649065.1558		
	0.278	0.15	82	884892.0863		
	0.25	0.131	92	964160		
	0.301	0.008	0	0		
	0.223	0.111	89	886008.9686		
	0.194	0.095	90	881443.299		
	0.302	0.157	74	769403.9735		
0 50	0.219	0.036	52	170958.9041	717,587	16.88
	0.322	0.072	92	411428.5714		
	0.279	0.141	83	838924.7312		
	0.278	0.151	85	923381.295		
	0.276	0.154	93	1037826.087		
	0.301	0.154	72	736744.186		
	0.327	0.167	97	990764.526		
	0.261	0.136	95	990038.3142		
	0.243	0.137	97	1093744.856		
	0.233	0.119	67	684377.6824		
	0.277	0.139	90	903249.0975		
	0.273	0.141	85	878021.978		
0 10	0.286	0.137	87	833496.5035	788 652	8 65
	0.308	0.168	90	981818.1818		
	0.259	0.125	87	839768.3398		
	0.294	0.152	94	971972.7891		
	0.249	0.101	79	640883.5341		
	0.211	0		0		
	0.223	0.106	68	646457.3991		

ANEXO J. Continuação. Continua.

	0.201	0.075	65	485074.6269		
	0.232	0.116	95	950000		
	0.282	0.106	10	75177.30496		
	0.292	0.114	79	616849.3151		
	0.307	0.111	94	679739.4137		
0 05	0.284	0.129	76	690422.5552	659,964	23.55
	0.262	0.134	84	859236.6412		
	0.271	0.129	84	799704.797		
	0.263	0.13	90	889733.8403		
	0.23	0.067	74	431130.4348		
	0.214	0.082	62	475140.1869		
	0.272	0.143	92	967352.9412		
	0.256	0.111	87	754453.125		
	0.298	0.148	88	874093.9597		
	0.199	0.067	66	444422.1106		
	0.248	0.12	81	783870.9677		
	0.254	0.126	86	853228.3465		
0 01	0.303	0.158	87	901526.1521	762,496	11.68
	0.284	0.142	94	940000		
	0.302	0.156	95	981456.9536		
	0.356	0.187	90	945505.618		
	0.26	0.135	73	758076.9231		
	0.26	0.136	86	899692.3077		
	0.271	0.106	1	7822.878229		
	0.271	0.146	96	1034391.144		
	0.326	0.129	90	712269.9387		
	0.34	0.106	94	586117.6471		
	0.293	0.153	87	908600.6826		
	0.286	0.133	82	762657.3427		
Placebo	0.255	0.116	84	829216.5951	720,973	16.49
	0.332	0.163	86	844457.8313		
	0.357	0	0	0		
	0.297	0.151	97	986329.9663		
	0.312	0.127	86	700128.2051		
	0.258	0.11	90	767441.8605		
	0.264	0.132	52	520000		

ANEXO J. Continuação. Continua.

	0.353	0.184	95	990368.272
	0.278	0.136	91	890359.7122
	0.248	0.121	88	858709.6774
	0.285	0.164	87	1001263.158
	0.264	0.124	89	836060.6061
Controle	0.261	0.123	94	885977.0115
	0.207	0.091	88	773719.8068
	0.265	0.14	84	887547.1698
	0.237	0.125	88	928270.0422
	0.245	0.134	80	875102.0408
	0.242	0.128	90	952066.1157
	0.298	0.149	48	480000