

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ASPECTOS ECOLÓGICOS, BIOLÓGICOS E DE
RESISTÊNCIA DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*
(Acari: Ixodidae) NA REGIÃO DE JABOTICABAL, SÃO
PAULO, BRASIL**

Breno Cayeiro Cruz

Médico Veterinário

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ASPECTOS ECOLÓGICOS, BIOLÓGICOS E DE
RESISTÊNCIA DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*
(Acari: Ixodidae) NA REGIÃO DE JABOTICABAL, SÃO
PAULO, BRASIL**

Breno Cayeiro Cruz

Orientador: Prof. Dr. Gilson Pereira de Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Alvimar José da Costa

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, área de Patologia Animal.

2017

Cruz, Breno Cayeiro
C957a Aspectos ecológicos, biológicos e de resistência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) na região de Jaboticabal, São Paulo, Brasil / Breno Cayeiro Cruz. - - Jaboticabal, 2017
v, 146 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017

Orientador: Gilson Pereira de Oliveira

Coorientador: Alvimar José da Costa

Banca examinadora: Cláudio Alessandro Massamitsu Sakamoto, Marcos Rogério André, Claudinei da Cruz, Darci Moraes Barros-Battesti

Bibliografia

1. Ecologia. 2. Ciclo de vida livre. 3. Fase parasitária. 4. Controle. 5. Susceptibilidade. 6. Carrapato bovino. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.995.42

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

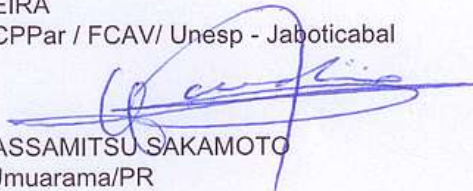
TÍTULO DA TESE: ASPECTOS ECOLÓGICOS, BIOLÓGICOS E DE RESISTÊNCIA DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (ACARI: IXODIDAE) NA REGIÃO DE JABOTICABAL, SÃO PAULO, BRASIL

AUTOR: BRENO CAYEIRO CRUZ
ORIENTADOR: GILSON PEREIRA DE OLIVEIRA
COORIENTADOR: ALVIMAR JOSÉ DA COSTA

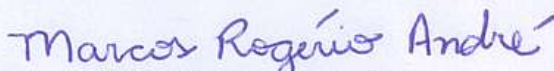
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em MEDICINA VETERINÁRIA, área: PATOLOGIA ANIMAL pela Comissão Examinadora:



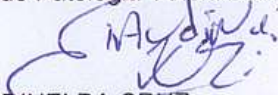
Prof. Dr. GILSON PEREIRA DE OLIVEIRA
Centro de Pesquisa Parasitológicas / CPPar / FCAV/ Unesp - Jaboticabal



Prof. Dr. CLÁUDIO ALESSANDRO MASSAMITSU SAKAMOTO
Centro de Ciências Agrárias / UEM - Umuarama/PR



Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. CLAUDINEIDA CRUZ
Departamento de Agronomia / UNIFEB - Barretos/SP



Profa. Dra. DARCI MORAES BARROS-BATTESTI
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 27 de outubro de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

BRENO CAYEIRO CRUZ – Filho de Mauro Sérgio Cruz e Sônia Aparecida Cayeiro Martins Cruz, nascido em 11 de abril de 1987 em Franca, São Paulo. Ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade de Franca (UNIFRAN) em Janeiro de 2005, estagiando na Clínica de Grandes Animais, pertencente ao Hospital Veterinário desta mesma universidade, durante quatro anos. Realizou estágio curricular no Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR), pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/UNESP, campus de Jaboticabal, entre setembro e novembro de 2009, obtendo o título de Médico Veterinário em dezembro deste ano. Entre 2010 e 2011, realizou estágio no CPPAR e no Instituto de Pesquisas em Saúde Animal Ltda. (IPESA, Formiga/MG). Iniciou o curso de mestrado em Medicina Veterinária, área de Patologia Animal, em agosto de 2011, com a dissertação “Ocorrência de resistência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) à ivermectina administrada em bovinos de São Paulo e Minas Gerais, Brasil”. Recebeu bolsa da CAPES por 18 meses e do CNPq por dois meses ao longo do mestrado, publicando neste período 11 artigos, seis resumos expandidos e 28 resumos em anais de congresso, e ministrando a palestra “Importância e manejo de carrapatos em ambiente urbano” no V Curso de Tratamento Domissanitário – Manejo de Vetores e Pragas Urbanas, realizado na FCAV/UNESP. Obteve o título de Mestre em Medicina Veterinária, área de Patologia Animal, em 29 de novembro de 2013. Iniciou o curso de Doutorado na mesma Universidade em 10 de março de 2014, sendo bolsista FAPESP e CAPES (processo nº 2014/14820-2). Desde então publicou 29 artigos científicos, seis capítulos de livros e 63 resumos em anais de congresso. Ministrou três aulas no curso de pós-graduação em Medicina Veterinária (“Complexo *Amblyomma cajennense*, *Dermacentor nitens* e *Argas miniatus*”; “Guias internacionais para avaliação de antiparasitários em cães e gatos” e “Aspectos ecológicos, biológicos e de resistência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) na região de Jaboticabal, São Paulo, Brasil”), além de oito aulas no curso de graduação em Ciências Biológicas, compreendendo toda a área de artropodologia do referido curso.

*“Regrets, I've had a few,
but then again, too few to mention.
I did what I had to do,
and saw it through without exemption.*

*I planned each charted course,
each careful step along the byway.
And more, much more than this,
I did it my way.*

*Yes, there were times, I'm sure you knew,
when I bit off more than I could chew.
But through it all, when there was doubt,
I ate it up and spit it out.
I faced it all and I stood tall,
And did it my way”*

Frank Sinatra

DEDICO

Aos sete seres que dão razão à minha existência:

Mauro, Sônia, André, Clara,

Luciane, Pietra e Paçoca.

Sem vocês, nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me dar a oportunidade de chegar até aqui.

Ao Prof. Dr. Gilson Pereira de Oliveira, pela sua orientação durante este Doutorado, pela grande amizade cultivada ao longo de todos os anos juntos e pelo maravilhoso exemplo de vida e profissão; e ao Prof. Dr. Alvimar José da Costa, pelas oportunidades oferecidas e pela grande confiança em mim depositada.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, e à CAPES, pela concessão de bolsa para a realização deste projeto (processo nº 2014/14820-2); e à bolsa de Iniciação Científica concedida a Ana Flávia de Lima Mendes, cujo apoio e suporte foram essenciais para a realização dos experimentos.

Aos professores que aceitaram compor as bancas de qualificação e defesa, Prof^a. Dr^a. Darci Moraes Barros-Battesti, Prof. Dr. Marcos Rogério André, Prof. Dr. Cláudio Alessandro Massamitsu Sakamoto e Prof. Dr. Claudinei da Cruz, por sua imensurável contribuição ao aperfeiçoamento do trabalho.

Aos pesquisadores da Embrapa Gado de Corte, especialmente Leandro de Oliveira Souza Higa, Vinícius da Silva Rodrigues e Marcos Valério Garcia, em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, pela realização dos Testes de Pacotes de Larvas.

Àqueles com quem tive a oportunidade e honra de conviver no CPPAR ao longo deste Doutorado: Willian Giquelin Maciel, Vando Edésio Soares, Gustavo Felippelli, Carolina Buzzulini, Isabella Barbosa dos Santos, Gabriel Pimentel Campos, Flávia Carolina Fávero, Carlos Augusto Nicolino, Weslen Fabrício Pires Teixeira, Luciana Prando, Daniel Pacheco de Melo, Lucas Vinícius Costa Gomes, Marcel Kenzo Vilalba Onizuka e Murilo Abud Bichuette.

Aos vários técnicos, funcionários e estagiários, tanto do CPPAR quanto do IPESA, que tiveram alguma parte, mesmo que pequena, no desenvolvimento deste projeto.

Dentre estes, em especial, à Ana Lúcia Doni Scarpa, que desde 2009 tem sido de grande ajuda na minha caminhada acadêmica e profissional, e ao grande amigo Aurélio Leão (*in memorian*), cujos ensinamentos e companhia sempre serão lembrados.

À todos os professores e funcionários responsáveis pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da FCAV/UNESP de Jaboticabal, além de toda a equipe do Departamento de Patologia Veterinária.

Aos bovinos que fizeram parte deste experimento, sem os quais nada seria possível, e pelos quais me afeiçoei profundamente ao longo dos dois anos em que trabalhamos juntos.

Ao grande amigo Dr. Marcos Valério Garcia, por todo o auxílio e orientação imprescindíveis ao longo deste processo.

Aos meus pais Mauro Sérgio Cruz e Sônia Aparecida Cayeiro Martins Cruz, meus irmãos André Cayeiro Cruz e Clara Cayeiro Cruz, meus avós Mauro Cruz (*in memorian*) e Isolina Liboni Cruz (*in memorian*), Afraim Cayeiro Martins e Anézia Lemo Martins, meus sogros Marco Antônio Leone e Ana Maria Wagner Leone, e a toda a minha família, que sempre me apoiou em minhas escolhas e me encorajou ao longo do caminho.

Acima de tudo, às duas pessoas que, ao meu lado, mais sofreram durante este doutorado: Luciane Danielle Leone e Pietra Leone Rosa. Se não fosse pela imensa paciência, incentivo, amor, motivação, inspiração e força que sempre recebi de vocês, no decorrer deste árduo e longo caminho, nada disso teria sido possível.

À todos os demais, amigos e companheiros que, de forma direta ou indireta, me ajudaram no desenvolvimento deste grandioso trabalho. Foi graças a cada atitude e cada palavra de incentivo que fui capaz de atingir esta vitória.

SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	IV
ABSTRACT.....	V
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. <i>RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS</i> (CANESTRINI, 1888).....	3
2.2. RECLASSIFICAÇÃO DA ESPÉCIE	4
2.3. ASPECTOS ECOLÓGICOS	5
2.4. IMPACTO DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS E AMBIENTAIS	7
2.5. CONTROLE	8
2.6. CONTROLE ESTRATÉGICO.....	10
2.7. RESISTÊNCIA DO CARRAPATO BOVINO	11
2.8. DIAGNÓSTICO DA RESISTÊNCIA DO CARRAPATO BOVINO.....	12
3. OBJETIVOS.....	14
4. REFERÊNCIAS.....	14
CAPÍTULO 2 – ASPECTOS ECOLÓGICOS E BIOLÓGICOS DO CICLO DE <i>RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS</i> (CANESTRINI, 1888) (ACARI: IXODIDAE) PARASITANDO BOVINOS MESTIÇOS EM UMA REGIÃO DE CLIMA TROPICAL COM ESTAÇÃO SECA	25
1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1. CEPA DE CARRAPATOS	28
2.2. ANIMAIS EXPERIMENTAIS	29
2.3. AVALIAÇÕES DA FASE DE VIDA PARASITÁRIA.....	29
2.4. OBTENÇÃO DAS VARIÁVEIS AMBIENTAIS.....	30
2.5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS E CORRELAÇÕES.....	31
3. RESULTADOS.....	31
4. DISCUSSÃO	39
5. REFERÊNCIAS.....	46
CAPÍTULO 3 – COMPARAÇÃO DE TRÊS METODOLOGIAS PARA ANÁLISE DE VARIÁVEIS BIOLÓGICAS DA FASE DE VIDA LIVRE DE <i>RHIPICEPHALUS</i> (<i>BOOPHILUS</i>) <i>MICROPLUS</i> (CANESTRINI, 1888) (ACARI: IXODIDAE).....	55
1. INTRODUÇÃO	55
2. MATERIAL E MÉTODOS	57
2.1. GRUPO I: GAIOLAS DE TELA METÁLICA	57
2.2. GRUPO II: TUBOS METÁLICOS AO NÍVEL DO SOLO	58
2.3. GRUPO III: TELEÓGINAS DISPOSTAS LIVREMENTE NA PASTAGEM.....	59
2.4. AVALIAÇÕES DAS VARIÁVEIS BIOLÓGICAS DO CARRAPATO BOVINO.....	59

3. RESULTADOS.....	61
4. DISCUSSÃO	63
5. REFERÊNCIAS.....	67
CAPÍTULO 4 – DINÂMICA POPULACIONAL, ASPECTOS ECOLÓGICOS E BIOLÓGICOS DO CICLO DE VIDA LIVRE DE <i>RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS</i> (CANESTRINI, 1888) (ACARI: IXODIDAE) EM UMA REGIÃO DE CLIMA TROPICAL COM ESTAÇÃO SECA.....	73
1. INTRODUÇÃO	74
2. MATERIAL E MÉTODOS	75
2.1. LOCAL.....	76
2.2. COLÔNIA DE CARRAPATOS E MANUTENÇÃO DA CEPA	76
2.3. AVALIAÇÃO DA FASE DE VIDA LIVRE DO CARRAPATO.....	77
2.4. DESENVOLVIMENTO DA FASE DE VIDA LIVRE EM LABORATÓRIO.....	81
2.5. CORRELAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS BIOLÓGICAS COM VARIÁVEIS SAZONAIS.....	81
2.6. ESTIMATIVA DO NÚMERO DE GERAÇÕES ANUAIS DO CARRAPATO BOVINO	82
2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	83
3. RESULTADOS.....	83
3.1. COLETA E IDENTIFICAÇÃO DE PREDADORES	83
3.2. AVALIAÇÃO DA FASE DE VIDA LIVRE (NÃO PARASITÁRIA) DO CARRAPATO BOVINO	84
3.3. CORRELAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS BIOLÓGICAS E DADOS CLIMATOLÓGICOS	87
3.4. ESTIMATIVA DO NÚMERO DE GERAÇÕES ANUAIS.....	93
4. DISCUSSÃO	94
5. REFERÊNCIAS.....	103
CAPÍTULO 5 – SENSIBILIDADE DE LARVAS DE <i>RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS</i> (CANESTRINI, 1888) (ACARI: IXODIDAE) A ACARICIDAS TÓPICOS E ATUALIZAÇÃO DE UM PROGRAMA DE CONTROLE ESTRATÉGICO	113
1. INTRODUÇÃO	114
2. MATERIAL E MÉTODOS	116
2.1. CEPAS DE CARRAPATO UTILIZADAS.....	116
2.2. FÁRMACOS UTILIZADOS	117
2.3. AVALIAÇÃO DO PERFIL DE MORTALIDADE LARVAL (AÇÃO ANTI-IXODÍDICA).....	118
2.4. PROPOSTA DE CONTROLE ESTRATÉGICO.....	119
3. RESULTADOS.....	120
4. DISCUSSÃO	123
5. REFERÊNCIAS.....	129
CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	139
1. INTRODUÇÃO	139
2. CONCLUSÕES OBTIDAS	140
3. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	144

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 11511/14 do trabalho de pesquisa intitulado "Aspectos ecológicos, biológicos e de resistência de *Rhipicephalus (boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) na região de Jaboticabal, São Paulo, Brasil", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Gilson Pereira de Oliveira está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 07 de julho de 2014.

Jaboticabal, 07 de julho de 2014.


Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

ASPECTOS ECOLÓGICOS, BIOLÓGICOS E DE RESISTÊNCIA DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) NA REGIÃO DE JABOTICABAL, SÃO PAULO, BRASIL

RESUMO – *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) é o mais importante ectoparasito da pecuária brasileira, cujo controle exige conhecimentos comportamentais de seu ciclo biológico para melhor sucesso na atuação sobre e fora do hospedeiro, combatendo-o em épocas do ano desfavoráveis ao mesmo. A maioria das informações sobre sua biologia e ecologia foi originada em outros países ou então há muito tempo. Baseado nas mudanças climáticas recentes e ausência de informações sobre ecologia e biologia deste ixodídeo na região, este estudo, conduzido em bioma de Cerrado e clima tropical com estação seca (Aw), obteve tais dados pela observação, ao longo de dois anos, dos fatores envolvidos nas suas fases de vida parasitária e não parasitária, além de avaliar o comportamento desta cepa quanto à evolução do perfil de resistência/susceptibilidade aos acaricidas. Observando a fase de vida parasitária deste carrapato, foi possível perceber sua adaptação às mudanças climáticas, com cinco gerações anuais registradas em dois anos consecutivos pela primeira vez na literatura. Constatou-se que não houve correlações significativas entre seu ciclo parasitando bovinos e os níveis de chuva, temperaturas ambiental e ao nível do solo e umidade relativa do ar. Já a fase de vida livre foi influenciada pelos fatores climáticos, com correlação positiva entre pluviosidade/pré-postura, correlações negativas entre temperatura/pré-postura, incubação e pré-eclosão, entre umidade relativa do ar/incubação e pré-eclosão. Os dados obtidos indicaram que o período de seca (outono e inverno) é mais favorável à manutenção do carrapato bovino no ambiente, além de albergar as maiores cargas parasitárias nos hospedeiros. A dinâmica populacional calculada reforça a adaptação deste ixodídeo às mudanças climáticas, culminando na existência de 5,212 gerações anuais mesmo em condições climáticas e ambientais distintas, oscilando entre 2,6 e 8,3 gerações/ano. Considerando estes dados, foi proposta uma metodologia de controle estratégico específica, tratando os animais entre a segunda metade da primavera e a primeira metade do verão (outubro a fevereiro). Estes tratamentos na estação chuvosa levariam a populações menores na estação seca, reduzindo também o “spring rise”. A análise da eficácia de diferentes compostos químicos por meio do Teste de Pacote de Larvas gerou resultados contraditórios, com alta eficácia registrada para piretróides e organofosforados, e oscilações na eficácia do amitraz. Estes valores levantaram questionamentos sobre a aplicabilidade desta técnica no monitoramento da resistência. Futuros estudos devem ser propostos, analisando a real eficácia dos Testes de Pacote de Larvas, confrontando diferentes metodologias *in vivo* e *in vitro*; comparando a dinâmica populacional deste ixodídeo em diferentes pastagens, formas de manejo, taxas de lotação, altitudes e biomas; atestando a eficácia da metodologia de controle estratégico proposta e, principalmente, confirmando a possibilidade de observarem-se mais de oito gerações de *R. microplus* por ano em condições climáticas ideais.

Palavras chave: Ciclo de vida livre, Controle, Ecologia, Fase parasitária, Carrapato bovino, Susceptibilidade.

ECOLOGICAL, BIOLOGICAL AND RESISTANCE ASPECTS OF *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) IN THE REGION OF JABOTICABAL, STATE OF SÃO PAULO, BRAZIL

ABSTRACT – *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) is the main ectoparasite in Brazilian cattle industry, and its control demands behavioral knowledge of its biologic cycle, for increased success in actions over and out of the hosts, with treatments in periods of the year less favorable to this tick. Most of the information about its biology and ecology was originated in other countries or a long time ago. Based in recent climate changes and absence of ecologic and biologic data on this region, the present study, conducted in the Brazilian “Cerrado” biome and tropical savanna climate (Aw), obtained such data through the observation, during two consecutive years, of factors involved on parasitic and free living phases of its cycle, also evaluating the behavior of this strain regarding evolution of its resistance/susceptibility profile against acaricides. Observing the parasitic phase of the Southern Cattle Tick, it was possible to detect adaptations of this ixodid to climate changes, with five annual generations in two consecutive years being registered for the first time in literature, without significant correlations between its period parasitizing bovines and rain levels, environmental and soil level temperatures and relative air humidity. The free living period of its cycle was affected by climatic variables, with positive correlation between rainfall and the period before oviposition, and negative correlations between temperatures and the period before oviposition, egg incubation and period before hatching, and between relative air humidity and egg incubation and the period before larval hatching. Obtained data indicate that the dry season (autumn and winter) is more favorable for maintenance of the Southern Cattle Tick on the environment, as well as presenting highest parasitic burdens in hosts. Population dynamics calculated reinforces the adaptations of such ixodid to climate changes, leading to the existence of 5.212 yearly generations even in distinct climatic and environmental conditions, varying between 2.6 and 8.3 generations per year. Considering such data, a specific strategic control methodology was proposed, treating animals between the second half of spring and the first half of summer (October to February). Such treatments in rainy seasons would lead to smaller populations on the dry season, also reducing the “spring rise”. Analysis of efficacy of different chemical compounds using the Larval Packet Test generated contrasting results, with high efficacy indexes registered for pyrethroids and organophosphates, with variations in amitraz efficiency. Such values lead to a questioning of the applicability of such technique in monitoring resistance. Future studies must be proposed, analyzing the real efficacy of Larval Packet Tests, confronting different *in vivo* and *in vitro* methodologies; comparing population dynamics of such ixodid in different pastures, husbandry methods, stocking rates, altitudes and biomes; confirming the efficacy of the proposed strategic control method and, above all, confirming the possibility of observing more than eight *R. microplus* yearly generations in ideal climatic conditions.

Keywords: Control, Ecology, Free living cycle, Parasitic phase, Southern Cattle Tick, Susceptibility

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo, com população estimada em 224,846 milhões de animais, se mantendo até 2015 como o segundo maior abatedor mundial de bovinos, com mais de 38 milhões de cabeças, abaixo da China. O país ocupa esta mesma posição no ranking de maiores produtores mundiais de carne bovina, superado pelos Estados Unidos. Também figura como o sexto maior produtor mundial de leite. Apesar da constante oscilação, o estado de São Paulo continua apresentando um percentual relevante deste rebanho, com cerca de 6,5 milhões de animais (ANUALPEC, 2016).

Considerando a relevância socioeconômica do complexo pecuário no país, é essencial salientar que a produção animal em geral se sustenta sobre três pilares básicos: genética, nutrição e sanidade. Dentro do contexto da sanidade animal, o enfoque no parasitismo tem merecido crescente atenção, na busca de novas alternativas para o seu combate efetivo (GEARY & THOMPSON, 2003).

Apesar da preocupação com o controle parasitário, as indústrias farmacêuticas têm investido cada vez menos em novas alternativas, focando seus esforços na reutilização de princípios ativos por meio de associações ou maiores concentrações. O custo crescente para se desenvolverem novas drogas e a diminuição da vida útil dos fármacos têm desestimulado a procura de bases químicas com mecanismos diferenciados de ação (SIQUEIRA *et al.*, 2016).

Os carrapatos são ectoparasitos importantes para a saúde pública e sanidade animal, primeiramente pela transmissão de agentes infecciosos, incluindo bactérias, protozoários e diversos vírus (principalmente das famílias Bunyaviridae, Flaviviridae e Reoviridae), mas também por causarem injúrias diretas a seus hospedeiros por meio da hematofagia (TREES, 1999; BLAGBURN & DRYDEN, 2009; ANDREOTTI, 2010; BANETH, 2014; LANI *et al.*, 2014).

Dentre estes ácaros se destaca o carrapato bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, que gera prejuízos anuais estimados em pelo menos 3,24 bilhões de dólares apenas no Brasil (GRISI *et al.*, 2014).

Altas cargas deste ectoparasito apresentam relação direta com diminuição do ganho, ou mesmo perda, de peso pelos animais parasitados, com intensidade dependente da raça e, conseqüentemente, susceptibilidade dos bovinos em questão (BRIZUELA *et al.*, 1996).

Isto se agrava devido às condições climáticas favoráveis existentes no Brasil. Por conta deste ambiente propício, as doenças parasitárias, principalmente aquelas que envolvem este ixodídeo, acabam se tornando endêmicas, exigindo atenção especial no manejo sanitário dos rebanhos (MARTINS, 2006).

O impacto dos carrapatos como vetores se agrava ainda pelo fato de grande parte dos agentes transmitidos por estes artrópodes serem causadores não somente de doenças animais, mas também de zoonoses relevantes; pelo constante aumento na prevalência, em diversos países, de infecções originadas por carrapatos nos últimos anos; e pelo surgimento constante de novos patógenos transmitidos pelos mesmos (BANETH, 2014).

O conhecimento da ecologia e biologia do carrapato bovino se torna cada vez mais importante, pois permite definir os pontos vulneráveis de seu ciclo de vida e estabelecer estratégias adequadas de controle. Tal conhecimento é hoje fator indispensável, tendo em vista a relevância do controle de ixodídeos para a saúde pública e as dificuldades atuais de se atingir este objetivo.

Somam-se a estes aspectos as severas e constantes mudanças climáticas observadas, com graduais modificações de diversos ecossistemas. Este panorama amplia a necessidade de maiores estudos com foco no ciclo biológico de quaisquer parasitos, tornando-se cada vez mais essencial o desenvolvimento de novas pesquisas em busca de dados atualizados e concretos, específicos de cada região, bioma, ambiente, clima, cepa ou população.

Porém, apenas os conhecimentos sobre sua ecologia e biologia não são suficientes. Além disso, é de extrema relevância o conhecimento do perfil de sensibilidade das mais variadas cepas de *R. microplus*, sendo a disseminação da resistência a maior problemática encontrada atualmente no seu combate. Este fenômeno evolui rapidamente, oscilando de forma expressiva entre regiões, ou mesmo propriedades, diferentes. Pesquisas buscando a determinação pontual deste perfil são essenciais para que se atinja um efetivo controle acaricida.

Na busca por suprir esta carência de informações específicas, fazem-se necessários estudos que avaliem de forma ampla todos os fatores previamente descritos, sejam relacionados à ecologia, biologia ou ao fenômeno da resistência, de forma concomitante.

Mais especificamente, é premente conhecer a ecologia e biologia de *R. microplus*, tanto na fase de vida livre (nas pastagens) como na fase parasitária (em bovinos), investigando de forma concreta os dados frente às mudanças climáticas e ambientais presenciadas. Pesquisas que reúnam informações sobre o perfil de susceptibilidade ou resistência de variadas cepas frente aos quimioterápicos mais utilizados no mercado também devem ser constantemente buscadas.

2. Revisão de Literatura

2.1. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888)

Existem mais de 900 espécies de carrapatos descritas, todas agrupadas na ordem Ixodida (Metastigmata), que se divide em três famílias. A família Ixodidae, os “carrapatos duros”, engloba pelo menos 722 espécies, enquanto a família Argasidae, os “carrapatos moles”, apresenta mais de 208 espécies. A terceira família, Nuttalliellidae, é representada por uma única espécie, *Nuttalliella namaqua*, possuindo características comuns entre ixodídeos e argasídeos (NAVA *et al.*, 2017).

Os gêneros reconhecidos atualmente para a família Ixodidae são: *Amblyomma*, *Anomalohimalaya*, *Bothriocroton*, *Cosmiomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes*, *Margaropus*, *Nosomma*, *Rhipicentor* e *Rhipicephalus*, além dos gêneros extintos *Cornupalpatum* e *Compluriscutula* (GUGLIELMONE *et al.*, 2010; GUGLIELMONE *et al.*, 2013).

A Região Neotropical está representada por pelo menos 117 espécies de ixodídeos pertencentes aos gêneros *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* e *Rhipicephalus*, sendo que este último apresenta mais de 80 espécies reconhecidas, das quais algumas das mais economicamente relevantes estão representadas nesta região: *R. microplus* e o complexo *Rhipicephalus sanguineus* (WALL & SHEARER, 2001; HORAK *et al.*, 2002; BLAGBURN & DRYDEN, 2009).

No Brasil, a fauna ixodídica é composta por 70 espécies, que se distribuem em nove gêneros: *Ornithodoros*, *Antricola*, *Argas*, *Nothoaspis*, *Amblyomma*, *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus* e *Dermacentor* (MARTINS *et al.*, 2013; KRAWCZAK *et al.*, 2015; LABRUNA *et al.*, 2016; WOLF *et al.*, 2016).

Dentre os ixodídeos presentes no Brasil, destaca-se o carrapato bovino, *R. microplus*. Esta espécie, inicialmente denominada *Haemaphysalis micropla* (CANESTRINI, 1888), é distribuída nos países do hemisfério sul, ocorrendo também no hemisfério norte, predominantemente nas zonas tropicais. É considerado um dos ectoparasitas de bovinos mais preocupantes da África em geral, Austrália e da América Latina, com grande relevância como vetor de *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, *Anaplasma marginale* e *Borrelia theileri* na América do Sul e Central (TAYLOR *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2008; CATTO *et al.*, 2010; ESTRADA-PEÑA, 2015).

2.2. Reclassificação da espécie

Recentemente, ocorreu grande progresso na compreensão da filogenia e evolução dos carrapatos, principalmente ixodídeos, com mudanças constantes de classificação e nomenclatura (BARKER & MURRELL, 2004).

Em 2009, Labruna *et al.* utilizaram a avaliação da performance reprodutiva e técnicas moleculares para caracterizar grupos do carrapato bovino da Austrália, Ásia, África e Américas. Seus resultados indicaram a existência de ao menos duas espécies distintas compartilhando o nome *R. microplus*. Pesquisas foram conduzidas baseando-se em evidências taxonômicas, reclassificando os carrapatos da Austrália, Indonésia, Nova Caledônia, Bornéu, Sumatra, Java, Nova Guiné, Camboja e Taiti como *Rhipicephalus (Boophilus) australis*, diferenciando definitivamente esta espécie, redescrevendo estágios adultos e larvais (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2012).

Estudos recentes continuam focando na caracterização molecular deste ixodídeo, trazendo novas informações sobre a diversidade críptica e conjuntos genéticos distintos em todo o mundo. Em 2015, pesquisadores da Malásia propuseram que o complexo destes carrapatos é composto por pelo menos cinco táxons, sendo que alguns, como *R. microplus* e *R. australis*, coexistem em determinados países asiáticos (LOW *et al.*, 2015).

Outro estudo atual, avaliando a caracterização molecular deste carrapato no Brasil por meio de análise dos genes COX-I e ITS-2 de carrapatos originados de 22 estados diferentes, demonstrou diversidade haplotípica dentro do território nacional. Foram identificados dez haplótipos distintos, com o grupo H-2 se distribuindo nas regiões Norte, Centro-Oeste, Sul e Sudeste do país (incluindo carrapatos dos estados de São Paulo e Minas Gerais). O haplótipo H-3, com carrapatos de Rondônia e da Paraíba, formou um clado distinto dos demais na árvore filogenética Bayesiana, indicando a existência de ao menos duas populações geneticamente distintas. O haplótipo H-2 indica que a população de carrapatos *R. microplus* pode estar sofrendo estruturação populacional, se dividindo em pelo menos duas populações, conforme apresentado pela análise molecular em rede e pela árvore filogenética com o gene COX-I (CSORDAS *et al.*, 2016).

Dados de campo de diferentes regiões ainda são necessários para esclarecer a atual distribuição destes grupos, assim como a evolução de *R. microplus* e *R. australis*. Adicionalmente, as constantes mudanças climáticas podem modificar ainda mais a distribuição destes parasitos (ALI *et al.*, 2016). Torna-se, assim, premente a necessidade de pesquisas sobre biologia e epidemiologia de *R. microplus* nos seus diversos habitats. Mesmo com vasta literatura sobre sua dinâmica populacional, seu comportamento estará sempre sendo influenciado pelas condições ambientais, assim como do hospedeiro, em determinadas condições e áreas específicas, deixando clara a necessidade de novos e constantes esforços direcionados ao tema (LABRUNA & VERÍSSIMO, 2001).

2.3. Aspectos ecológicos

A maior parte dos conhecimentos significativos sobre a ecologia deste ixodídeo que está atualmente disponível foi gerada em estudos e pesquisas conduzidos na Austrália. Somente mais tarde estas informações foram extrapoladas para países da América e África (MAGALHÃES & LIMA, 1992; NAVA *et al.*, 2013). Com a certeza de se tratarem de espécies diferentes, amplia-se a necessidade da busca por informações relacionadas à influência dos aspectos ecológicos sobre o ciclo de vida de cada espécie (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2012).

Devido às condições climáticas favoráveis existentes no Brasil, as doenças parasitárias, principalmente aquelas que envolvem este ixodídeo, acabam se tornando endêmicas, exigindo atenção especial no manejo sanitário dos rebanhos (MARTINS, 2006). Dentre as variáveis climáticas, as que apresentam mais significativa influência na fase de vida não parasitária dos carrapatos são aquelas relacionadas ao próprio ambiente, tais como a vegetação, altitude, topografia e, principalmente, concernentes aos fatores climáticos, em especial a temperatura, índices pluviométricos e umidade do ar (PFÄFFLE *et al.*, 2013).

Apesar de diversos trabalhos focando nos carrapatos e nas doenças transmitidas por eles, o dinamismo deste sistema significa que novos fatores estão constantemente modificando a epidemiologia em áreas específicas, com mudanças no habitat gerando impacto significativo na dinâmica da ecologia dos carrapatos e patógenos que eles transmitem (NAVA *et al.*, 2013).

Vale ressaltar que a fase do ciclo de *R. microplus* desenvolvida no ambiente é de extrema relevância. Portanto, características espaciais únicas de cada ambiente ou local assumem papel essencial na determinação dos padrões de dispersão e crescimento populacional do parasito (TEEL *et al.*, 1996).

Os principais fatores ambientais que influenciam na distribuição e abundância de carrapatos são aqueles relacionados ao microclima, clima e habitat. Diferentes espécies de ixodídeos apresentam tolerância a variações limitadas na temperatura e umidade para que consigam se desenvolver e sobreviver. Umidades baixas por longos períodos geralmente levam a morte por dessecação, já que estes não conseguem se reidratar adequadamente. Altas temperaturas e umidade vão interferir negativamente no desenvolvimento interestadial, impedindo a eclosão adequada das larvas e aumentando sua mortalidade. A temperatura ao nível do solo interfere diretamente na evaporação, afetando a capacidade de reidratação e consequente sobrevivência dos carrapatos (PFÄFFLE *et al.*, 2013).

Cada alteração nestas variáveis, por fenômenos naturais ou intervenção direta do homem, muda o balanço ecológico e o contexto no qual cada hospedeiro, vetor ou parasito se reproduz e desenvolve. Mais aprofundadas pesquisas sobre a biologia e ecologia, baseadas nas mudanças climáticas e ambientais, se tornam necessárias para prever seu impacto no ciclo dos parasitos (PATZ *et al.*, 2000).

2.4. Impacto das mudanças climáticas e ambientais

As severas e constantes mudanças climáticas observadas, com graduais modificações de diversos ecossistemas, reforçam a relevância do conhecimento da biologia e ecologia dos parasitos (PFÄFFLE *et al.*, 2013). Este tema tem recebido interesse crescente da comunidade científica, buscando conhecimento de seus impactos na epidemiologia de doenças parasitárias e infecciosas (BETT *et al.*, 2017).

Os artrópodes em geral apresentam sensibilidade intrínseca as variáveis de clima e ambiente, sendo possivelmente mais impactados por este cenário (OGDEN & LINDSAY, 2016). No caso dos carrapatos, que passam a maior parte de seu ciclo no ambiente, sua biologia e ecologia são diretamente dependentes de uma complexa combinação de variáveis (ESTRADA-PEÑA, 2015).

Diversas alterações ambientais têm impacto significativo nas doenças parasitárias, tais como desmatamento, formação de pastagens em áreas de floresta, alterações nos cursos de água, formações de represas e lagos, assentamentos humanos, construção de estradas, presença e competência de vetores, assim como sua orientação antropofílica, fenômenos climáticos extremos (por exemplo, o *El Niño*) e características do microclima ou macroclima, em especial temperatura e pluviosidade (PATZ *et al.*, 2000).

Muitos estudos têm buscado o desenvolvimento de modelos para prever como as futuras mudanças ambientais e climáticas vão afetar fatores críticos das relações entre carrapatos, seus hospedeiros e os patógenos que transmitem. No entanto, a maioria destes modelos apenas correlaciona a ocorrência do carrapato com o clima e/ou ambiente, na busca por prever futuras ocorrências geográficas, sem considerar mais variáveis ambientais envolvidas no processo. Tais modelos não são capazes de prever por completo como o panorama dos carrapatos pode ser alterado frente às tendências de mudanças climáticas (CARVALHO *et al.*, 2017).

Existe uma tendência, quando se avaliam os impactos das mudanças climáticas e ambientais sobre os parasitos, de que as hipóteses sejam relegadas a um status de baixa significância quando não fornecem indicação imediata de sua relevância (PFÄFFLE *et al.*, 2013).

Ainda assim, estes modelos têm gerado resultados significantes, principalmente em áreas de maior latitude, onde o impacto das mudanças climáticas tende a ser mais severo. Exemplos de suas aplicações são as projeções para prever a expansão de ocorrência da doença de Lyme no Canadá, causada pelo aumento das temperaturas globais e, conseqüentemente, das áreas propícias para o desenvolvimento de seu principal vetor, *Ixodes scapularis* (OGDEN *et al.*, 2006), assim como estimativas do período anual de ocorrência desta doença nos Estados Unidos, ampliando as épocas onde as condições ambientais são ideais para a transmissão de *Borrelia burgdorferi* (MONAGHAN *et al.*, 2016).

É essencial que pesquisas nos mais diversos níveis sejam desenvolvidas, buscando melhor entendimento do impacto das mudanças climáticas e ambientais sobre os parasitos e sobre as doenças que eles transmitem (PATZ *et al.*, 2000). Amplia-se a necessidade de maiores estudos e de novas pesquisas em busca de dados atualizados e concretos, específicos de cada região, bioma, ambiente, clima, cepa ou população, já que variações regionais destas condições vão gerar respostas diferentes de cada parasito (ESTRADA-PEÑA, 2008).

2.5. Controle

O controle de *R. microplus* baseia-se, principalmente, no uso de fármacos aplicados de forma tópica, com a pulverização, imersão, “pour on”, brincos impregnados ou aspersão sendo as principais vias, e parenteral, predominantemente pela via subcutânea (TAYLOR *et al.*, 2007; ANDREOTTI, 2010).

No entanto, de acordo com Pereira *et al.* (2008), para o efetivo controle deste ixodídeo é necessário sempre levar em conta que apenas 5% dos indivíduos se encontram no animal, enquanto os 95% restantes da população parasitária estão presentes no ambiente, na fase denominada de vida livre ou não parasitária.

Mesmo antes da disseminação de resistência aos acaricidas, o conhecimento da biologia do carrapato bovino, buscando seu controle estratégico (CURTICE, 1892), e o uso de técnicas não químicas, como a rotação de pastagens ou suplementação mineral dos bovinos (FRANCIS, 1892; HUNTER & HOOKER, 1907) já eram recomendados como auxiliares no controle.

A seleção do fármaco mais adequado a ser empregado também é de grande relevância. O ideal é selecionar um acaricida que seja capaz de aniquilar todos os parasitos em quaisquer estádios de seu ciclo, agir de forma rápida, possuir baixa toxicidade ao hospedeiro, ser compatível com diversas bases e veículos a serem utilizados para sua administração, gerar o mínimo resíduo possível no meio ambiente e ser economicamente viável (BRANDER & PUGH, 1977).

Os fármacos para controle dos ectoparasitos em geral contém um espectro limitado de elementos químicos: carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio e enxofre. Os primeiros produtos utilizados com essa finalidade foram, na maioria das vezes, frutos de tentativas e erros com pesticidas agrícolas, sendo geralmente altamente tóxicos e derivados principalmente de arsênico, mercúrio, petróleo ou nicotina (FRANCIS, 1892; WALL & SHEARER, 2001).

Continuam existindo grandes desvantagens no uso indiscriminado de acaricidas, tais como o desenvolvimento de resistência, poluição ambiental, toxicidade natural e acúmulo de resíduos nos produtos provenientes de animais medicados, como carne, leite e derivados, couro e lã (DE CASTRO, 1997; CATTO *et al.*, 2010). A preocupação com os resíduos de medicamentos, principalmente na carne e leite produzidos no país, tem aumentado gradativamente, ao ponto de serem instituídas medidas extremas, como o temporário banimento das lactonas macrocíclicas de longa ação do mercado (MAPA, 2014).

Foi efetivamente a partir da década de 80 que o estudo aprofundado da biologia do carrapato bovino se tornou uma ferramenta essencial em seu controle, principalmente através da criação de esquemas estratégicos de tratamento, realizados nos momentos mais desfavoráveis de seu ciclo biológico (FURLONG *et al.*, 2002). Infelizmente, as alternativas disponíveis dificilmente são capazes de substituir por completo a utilização dos compostos químicos (FAO, 2003).

Desta forma, os quimioterápicos seguem como as principais ferramentas disponíveis para o controle de carrapatos (ANDREOTTI, 2010). Não obstante, o uso incorreto por parte da maioria dos produtores tem feito com que a resistência de *R. microplus* aos mesmos venha sendo comumente diagnosticada em um crescente número de países, dentre os quais se destaca o Brasil (KLAFKE *et al.*, 2006).

2.6. Controle estratégico

O sucesso na eliminação das populações de carrapatos requer uma estratégia de controle integrada, com métodos químicos, focados no controle da fase parasitária, e manejo ambiental, com diminuição da maior parte da população de ixodídeos que não está parasitando os bovinos (fase de vida livre). Para tanto, é essencial o conhecimento da biologia e ecologia deste ixodídeo, principalmente de suas relações com as variações do meio ambiente, sua dinâmica populacional e seus padrões de sazonalidade (ANDREOTTI *et al.*, 2016).

O controle estratégico se baseia no conhecimento destas variáveis para utilizar os fármacos de forma planejada, buscando maior êxito no controle de *R. microplus* ao escolher os princípios ativos mais eficientes frente a cepa em questão, fazer sua aplicação de forma correta, seguindo as doses recomendadas e as técnicas adequadas para cada via de aplicação, no período do ano correto para atingir maiores índices de eficácia contra este ixodídeo (GARCIA *et al.*, 2016).

Historicamente no Brasil, o padrão mais recomendado é o sistema estratégico convencional, aplicando uma série de cinco ou seis banhos/tratamentos com carrapaticidas em períodos definidos como desfavoráveis para que os carrapatos se desenvolvam no ambiente, atuando sobre gerações de desenvolvimento mais rápido e menores populações (FURLONG & PRATA, 2013; ANDREOTTI *et al.*, 2016; GARCIA *et al.*, 2016).

O controle estratégico deve ser regionalizado, considerando a dinâmica populacional do parasito alvo em cada localidade específica, baseando-se nas condições climáticas e ambientais que vão interferir em seu ciclo. Apesar disso, a maioria dos programas recomendados no território nacional se concentra no período de maiores temperaturas e umidade relativa. Neste período, que engloba primavera e verão, as gerações do carrapato se completam de forma mais rápida, sendo este o principal momento para início do controle estratégico de acordo com diversos trabalhos (FURLONG *et al.*, 2003; CHIEBAO *et al.*, 2006; FURLONG & SALES, 2007; PEREIRA *et al.*, 2008; FURLONG & PRATA, 2013; ANDREOTTI *et al.*, 2016; GARCIA *et al.*, 2016).

2.7. Resistência do carrapato bovino

O fenômeno da resistência é definido como a seleção da habilidade de determinado organismo em tolerar doses de um composto químico específico que seriam efetivamente letais para a maioria dos indivíduos normais (susceptíveis) daquela mesma espécie ou população (SCOTT, 1995; FAO, 2004).

Seu surgimento é baseado em alterações genéticas de alguns parasitos, principalmente aquelas responsáveis por modificar o sítio de ação do quimioterápico, aumentar o metabolismo ou o sequestro do fármaco, ou ainda reduzir a capacidade deste princípio ativo de penetrar através das camadas protetoras do exoesqueleto (GUERRERO *et al.*, 2012). De forma mais simples, para os produtores em geral, a resistência traduz-se como a perda total ou parcial de eficácia de um determinado produto disponível no mercado (NARI, 2005).

A resistência tem avançando progressivamente sobre os mais modernos grupos químicos disponíveis, sendo extensivamente documentada para o *R. microplus* (FAO, 2003; DAVEY *et al.*, 2006). A disseminação indiscriminada deste fenômeno assume importância ainda maior quando se leva em conta que o controle de carrapatos também objetiva o controle das doenças transmitidas pelos mesmos (LONDERSHAUSEN, 1996; SANGSTER, 2001).

Esse fenômeno é conhecido há pelo menos sete décadas (PEREIRA *et al.*, 2008), com os primeiros relatos no Brasil sendo registrados contra o arsênio, no ano de 1953. Com o passar dos anos, foi gradativamente confirmada resistência contra as principais classes de carrapaticidas: organoclorados, organofosforados, piretrinas, piretróides sintéticos, amidínicos e lactonas macrocíclicas (avermectinas e milbemicinas), além do fipronil e fluazuron (CATTO *et al.*, 2010; GUERRERO *et al.*, 2012, RECK *et al.*, 2014).

No Brasil, que não possui políticas públicas específicas para o controle e venda de produtos antiparasitários, a propagação de populações de carrapatos resistentes se encontra disseminada em todo o território nacional (GARCIA *et al.*, 2016). Em diversos estados, principalmente das regiões Sul e Sudeste do país, são amplamente diagnosticadas ocorrências de populações resistentes a até oito classes de acaricidas e suas associações (HIGA *et al.*, 2015).

Desde a década de 60, pesquisas têm sido direcionadas à busca de métodos alternativos para combater os ectoparasitos, visando uma menor dependência do uso de compostos químicos (NOLAN, 1985). Em sua maioria, as estratégias desenvolvidas se mostraram eficazes, práticas e economicamente viáveis, porém incapazes de prevenir e controlar o fenômeno da resistência aos antiparasitários (SCHILLHORN VAN VEEN, 1997).

A resistência de *R. microplus* existe em praticamente todas as regiões do planeta onde é realizado seu controle químico. É derivada da habilidade da população destes ixodídeos em buscar alternativas de sobrevivência no ambiente (ANDREOTTI, 2010). Por ser um carrapato monoxeno, o desenvolvimento da resistência nesta espécie ocorre de forma mais rápida do que nos demais ixodídeos, pois suas gerações mais curtas e a maior exposição das formas imaturas aos compostos químicos levam a uma maior pressão de seleção (SABATINI, 2001).

2.8. Diagnóstico da resistência do carrapato bovino

Detectar de forma rápida e definitiva a resistência aos carrapaticidas é essencial, pois contribui na escolha das bases químicas que vão ser mais bem empregadas em uma determinada população antes que este fenômeno se dissemine de forma indiscriminada (ANDREOTTI, 2010).

É primordial que se identifique de forma precoce o problema, buscando elaborar estratégias alternativas ou adicionais visando o controle da resistência, prevenção de sua emergência e a disseminação de parasitos resistentes, além da diminuição de despesas (KLAFKE, 2011). No entanto, tal diagnóstico enfrenta empecilhos, principalmente pela falta de provas e testes padronizados, o que torna inviável a manutenção de um programa de monitoramento em larga escala, ao nível regional ou mundial (NARI, 2005).

De acordo com a FAO (2004), para que um teste seja considerado ideal para a detecção da resistência, deve ser capaz de identificar o problema em um estágio inicial e, no caso de testes *in vitro*, fornecer esse diagnóstico antes que o problema adquira impacto considerável no campo. Além disso, deve ser de fácil realização e baixo custo, permitindo também novas reproduções dos resultados.

O diagnóstico da resistência é geralmente mensurado pela comparação da eficácia do produto em questão sobre uma cepa sensível, em relação à cepa suspeita. Para que o diagnóstico seja feito de forma mais prática e eficaz, é sugerido que uma dose discriminatória seja determinada para cada princípio ativo.

Os bioensaios *in vitro* são os mais comumente utilizados na literatura internacional para a detecção da resistência. Estes testes e metodologias se baseiam nas etapas da fase de vida não parasitária, ou vida livre, do carrapato, principalmente larvas ou fêmeas totalmente ingurgitadas (teleóginas). Tais técnicas têm se mostrado altamente eficazes para o diagnóstico precoce da resistência, especialmente por serem práticos, rápidos, econômicos, relativamente simples de executar e capazes de gerar resultados confiáveis (SCOTT, 1995).

O Teste de Imersão de Adultos (TIA) é um teste de fácil manipulação e rápida resposta, sendo um dos mais utilizados de forma rotineira (MARTINS, 2004; KUMAR *et al.*, 2011). Utiliza teleóginas imersas em acaricidas técnicos ou comerciais. No caso de lactonas macrocíclicas, fipronil e fluazuron, este teste pode ser realizado também com concentrados emulsionáveis do ativo (CID *et al.*, 2010).

O TIA se baseia na comparação da taxa de mortalidade de fêmeas, e/ou percentuais de eficácia do composto testado sobre os parâmetros reprodutivos, entre dois grupos: tratado e controle (não medicado). Os ovos também são analisados com relação ao seu peso e viabilidade. Uma importante limitação desta metodologia é o alto número de teleóginas necessárias para obter resultados confiáveis ou permitir uma análise estatística precisa (JONSSON *et al.*, 2007).

Os testes com larvas são geralmente mais demorados, levando entre cinco e seis semanas, laboriosos e requerem maiores recursos técnicos (KUMAR *et al.*, 2011). Ainda assim, são hoje considerados como a melhor alternativa, pois o elevado número de amostras utilizadas em cada bioensaio viabiliza a elaboração de maior quantidade de testes (SABATINI *et al.*, 2001).

Por muitos anos, a FAO tem recomendado como padrão o uso do Teste de Pacote de Larvas para a avaliação da resistência acaricida (FAO, 2004). Apesar disso, estudos na última década, como os realizados por Klafke (2011) com lactonas macrocíclicas, mostraram uma maior sensibilidade de novas técnicas como, por exemplo, o Teste de Imersão de Larvas (TIL).

3. Objetivos

Baseando-se no que foi previamente exposto, dois dos experimentos que compõem esta Tese de Doutorado objetivaram estudar a ecologia e a biologia de *R. microplus*, respectivamente nas fases de vida livre e de vida parasitária deste ixodídeo, na região de Jaboticabal, estado de São Paulo (longitude 48° 17' 03" Oeste, latitude 21° 14' 43" Sul). Tais estudos buscaram a atualização destes dados frente às mudanças climáticas e ambientais presenciadas com o passar dos anos nesta área de Cerrado e clima tropical com estação seca (Aw), ou tropical de savana (ANDRÉ & GARCIA, 2015), analisando-os durante dois anos consecutivos.

De forma mais específica, com relação à fase não parasitária, objetivou-se determinar o período de todas as variáveis biológicas do ciclo do carrapato, em pastagem e em condições laboratoriais: pré-postura, postura, incubação, pré-eclosão, maturação larval, longevidade das larvas e duração total do ciclo, além de comparar metodologias para estudar a fase de vida livre deste ixodídeo. Ambos os estudos também avaliaram as correlações das variáveis biológicas com os fatores climáticos; buscaram definir os números, máximo, médio e mínimo, de gerações anuais de *R. microplus* no bioma e clima avaliados.

Outro experimento concomitante objetivou avaliar a evolução do perfil de susceptibilidade da cepa de carrapatos utilizada, assim como a evolução deste fenômeno com o transcorrer dos dois anos que compreenderam o período experimental. Esta etapa buscou também definir uma proposta nova e efetiva de controle estratégico deste ixodídeo, aplicada ao clima e bioma avaliados.

4. Referências

- ALI, A.; PARIZI, L. F.; FERREIRA, B. R.; VAZ JUNIOR, I. S. A revision of two distinct species of *Rhipicephalus*: *R. microplus* and *R. australis*. **Ciência Rural**, v. 46, n. 7, p. 1240-1248, 2016.
- ANDRÉ, R. G. B.; GARCIA, A. Alguns aspectos climáticos do município de Jaboticabal – SP. **Nucleus**, v. 12, n. 2, p. 263-270, 2015.

ANDREOTTI, R. **Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil.** Campo Grande: Embrapa: CNPGC, 2010. 36 p.

ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. Procedimentos para o controle do carrapato-do-boi em dez passos. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. **Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo.** Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 201-202.

ANUALPEC. **Anualpec 2016: Anuário da Pecuária Brasileira.** São Paulo: IEG / FNP, 2016.

BANETH, G. Tick-borne infections of animals and humans: a common ground. **International Journal for Parasitology**, v. 44, p. 591-596, 2014.

BARKER, S. C.; MURRELL, A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. **Parasitology**, v. 129, p. S15-S36, 2004.

BETT, B.; KIUNGA, P.; GACHOHI, J.; SINDATO, C.; MBOTHA, D.; ROBINSON, T.; LINDAHL, J. GRACE, D. Effects of climate change on the occurrence and distribution of livestock diseases. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 137, p. 119-129, 2017.

BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, M. W. Biology, treatment, and control of flea and tick infestations. **Veterinary Clinics of Small Animals**, v. 39, p. 1173-1200, 2009.

BRANDER, G. C.; PUGH, D. M. **Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics.** Third edition. New York: Macmillan Publishing Inc., 1977. p. 412-422.

BRIZUELA, C. M.; ORTELLADO, C. A.; SANCHEZ, T. I.; OSORIO, O.; WALKER, A. R. Formulation of integrated control of *Boophilus microplus* in Paraguay: analysis of natural infestations. **Veterinary Parasitology**, v. 63, p. 95-108, 1996.

CANESTRINI, G. Intorno ad alcuni acari ed opilionidi dell'America. **Atti della Società Veneto-Trentina di Scienze Naturali**, Padua, v. 11, i. 1, p. 100-111, Tav. IX-X, 1888.

CARVALHO, B. M.; RANGEL, E. F.; VALE, M. M. Evaluation of the impacts of climate change on disease vectors through ecological niche modelling. **Bulletin of Entomological Research**, v. 107, p. 419-430, 2017.

CATTO, J. B.; ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W. **Atualização sobre o controle estratégico do carrapato-do-boi**. Campo Grande: Embrapa: CNPGC, 2010. 6 p. (Embrapa-CNPGC. Comunicado técnico, 123).

CHIEBAO, D. P.; NOGUEIRA, A. H. C.; GABRIEL, F. H. L. Controle do carrapato dos bovinos. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 32, n. 2, p. 79-82, 2006.

CID, Y. P.; MAGALHÃES, V. S.; SILVA, D. D.; LAMBERT, M. M.; SCOTT, F. B. Eficácia *in vitro* de lactonas macrocíclicas sobre teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32, supl. 1, p. 7-10, 2010.

CSORDAS, B. G.; GARCIA, M. V.; CUNHA, R. C.; GIACHETTO, P. F.; BLECHA, I. M. Z.; ANDREOTTI, R. New insights from molecular characterization of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 3, p. 317-326, 2016.

CURTICE, C. The cattle tick (*Boophilus bovis* Riley sp.). Biology. **Texas Agricultural Experiment Station Bulletin**, no. 24, p. 237-252, 1892.

DAVEY, R. B.; GEORGE, J. E.; MILLER, R. J. Comparison of the reproductive biology between acaricide-resistant and acaricide-susceptible *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 139, p. 211-220, 2006.

DE CASTRO, J. J. Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. **Veterinary Parasitology**, v. 71, p. 77-97, 1997.

ESTRADA-PEÑA, A. Climate, niche, ticks, and models: what they are and how we should interpret them. **Parasitology Research**, v. 103, Suppl. 1, p. S87-S95, 2008.

ESTRADA-PEÑA, A. Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v. 34, n. 1, p. 53-65, 2015.

ESTRADA-PEÑA, A.; VENZAL, J. M.; NAVA, S.; MANGOLD, A.; GUGLIELMONE, A. A.; LABRUNA, M. B.; DE LA FUENTE, J. Reinstatement of *Rhipicephalus (Boophilus) australis* (Acari: Ixodidae) with redescription of the adult and larval stages. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 4, p. 794-802, 2012.

FAO. **Resistencia a los antiparasitarios: Estado actual com énfasis en América Latina**. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2003, 51 p.

FAO. **Guidelines: Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants**. Roma: Food and Agriculture Organization, 2004. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/ag014e>>. Acesso em: 21 ago. 2017.

FRANCIS, M. Preventive measures for farm or range use. **Texas Agricultural Experiment Station Bulletin**, no. 24, p. 253-256, 1892.

FURLONG, J.; CHAGAS, A. C. S.; NASCIMENTO, C. B. Comportamento e ecologia de larvas do carrapato *Boophilus microplus* em pastagem de *Brachiaria decumbens*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 4, p. 213-217, 2002.

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

FURLONG, J.; PRATA, M. C. A. Carrapato-dos-bovinos: ações simples permitem convivência em harmonia. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W. **Carrapatos no Brasil. Biologia, Controle e Doenças Transmitidas**. Brasília, DF: Embrapa, 2013. P. 173-187.

FURLONG, J.; SALES, R. O. Controle estratégico de carrapatos no bovino de leite: uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 2, p. 44-72, 2007.

GARCIA, M. V.; HIGA, L. O. S.; BARROS, J. C.; ANDREOTTI, A. Protocolos sobre bioensaios para diagnóstico da resistência de *Rhipicephalus microplus* aos acaricidas. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. **Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 179-194.

GEARY, T. G.; THOMPSON, D. P. Development of antiparasitic drugs in the 21st Century. **Veterinary Parasitology**, v. 11, p. 167-184, 2003.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEÓN, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.

GUERRERO, F. D.; LOVIS, L.; MARTINS, J. R. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, p. 1-6, 2012.

GUGLIELMONE, A. A.; ROBBINS, R. G.; APANASKEVICH, D. A.; PETNEY, T. N.; ESTRADA-PEÑA, A.; HORAK, I. G.; SHAO, R.; BARKER, S. C. The Argasidae, Ixodidae and Nottalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. **Zootaxa**, v. 2528, p. 1-28, 2010.

GUGLIELMONE, A. A.; ROBBINS, R. G.; APANASKEVICH, D. A.; PETNEY, T. N.; ESTRADA-PEÑA, A.; HORAK, I. G. **The hard ticks of the world (Acari: Ixodida: Ixodidae)**. New York: Springer Science & Business Media, 2013. p. 1-7.

HIGA, L. O. S.; GARCIA, M. V.; BARROS, J. C.; KOLLER, W. W.; ANDREOTTI, R. Acaricide resistance status of the *Rhipicephalus microplus* in Brazil: a literature overview. **Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 7, p. 326-333, 2015.

HORAK, I. G.; CAMICAS, J. L.; KEIRANS, J. E. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. **Experimental and Applied Acarology**, v. 28, p. 27-54, 2002.

HUNTER, W. D.; HOOKER, W. A. **Information concerning the North American fever tick, with notes on other species**. Washington: Government Printing Office, 1907, p. 14-26.

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, p. 307–315, 2007.

KLAFKE, G. M.; SABATINI, G. A.; ALBUQUERQUE, T. A.; MARTINS, J. R.; KEMP, D. H.; MILLER, R. J.; SCHUMAKER, T. T. S. Larval immersion tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from State of Sao Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 386-390, 2006.

KLAFKE, G. M. **Diagnóstico e mecanismos de resistência a ivermectina em *Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae)***. 2011. 120 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

KUMAR, S.; PAUL, S.; SHARMA, A. K.; KUMAR, R.; TEWARI, S. S.; CHAUDHURI, P.; RAY, D. D.; RAWAT, A. K. S.; GHOSH, S. Diazinon resistant status in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* collected from different agro-climatic regions of India. **Veterinary Parasitology**, v. 181, p. 274-281, 2011.

KRAWCZAK, F. S.; MARTINS, T. F.; OLIVEIRA, C. S.; BINDER, L. C.; COSTA, F. B.; NUNES, P. H.; GREGORI, F.; LABRUNA, M. B. *Amblyomma yucumense* n. sp. (Acari: Ixodidae), a parasite of wild mammals in Southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 52, n. 1, p. 28-37, 2015.

LABRUNA, M. B.; NARANJO, V.; MANGOLD, A. J.; THOMPSON, C.; ESTRADA-PEÑA, A.; GUGLIELMONE, A. A.; JONGEJAN, F.; DE LA FUENTE, J. Allopatric speciation in ticks: genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **BMC Evolutionary Biology**, v. 9:46, p. 1-12, 2009.

LABRUNA, M. B.; NAVA, S.; MARCILI, A.; BARBIERI, A. R. M.; NUNES, P. H.; HORTA, M. C.; VENZAL, J. M. A new argasid tick species (Acari: Argasidae) associated with the rock cavy, *Kerodon rupestris* Wied-Neuwied (Rodentia: Caviidae) in a semiarid region of Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 9:511, p. 1-15, 2016.

LANI, R.; MOGHADDAM, E.; HAGHANI, A.; CHANG, L.; ABUBAKAR, S. Tick-borne viruses: A review from the perspective of therapeutic approaches. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, p. 457-465, 2014.

LONDERSHAUSEN, M. Approaches to new parasiticides. **Pesticide Science**, v. 48, p. 269-292, 1996.

LOW, V. L.; TAY, S. T.; KHO, K. L.; KOH, F.X.; TAN, T. K.; LIM, Y. A. L.; ONG, B. L.; PANCHADCHARAM, C.; NORMA-RASHID, Y.; SOFIAN-AZIRUN, M. Molecular characterization of the tick *Rhipicephalus microplus* in Malaysia: new insights into the cryptic diversity and distinct genetic assemblages throughout the world. **Parasites & Vectors**, v. 8, :341, p. 1-10, 2015.

MAGALHÃES, F. E. P.; LIMA, J. D. Desenvolvimento e sobrevivência do carrapato em pastagem de *Brachiaria decumbens* no município de Pedro Leopoldo, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 15-25, 1992.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 13, de 29 de maio de 2014**. Brasília: Diário Oficial da União, 2014, nº 102, p. 55, 30 de maio de 2014.

MARTINS, J. R. Manejo da resistência aos carrapaticidas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p. 114-115, 2004.

MARTINS, J. R. S. **Carrapato *Boophilus microplus* (Can. 1887) (Acari: Ixodidae) resistente a ivermectina, moxidectina e doramectina. Rio Grande do Sul, Brasil. 2006. 74 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Medicina Veterinária Preventiva e Epidemiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2006.**

MARTINS, T. F.; VENZAL, J. M.; TERASSINI, F. A.; COSTA, F. B.; MERCILI, A.; CAMARGO, L. M. A.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. New tick records from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 62, p. 121-128, 2013.

MONAGHAN, A. J.; MOORE, S. M.; SAMPSON, K. M.; BEARD, C. B.; EISEN, R. J. Climate change influences on the annual onset of Lyme disease in the United States. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 6, p. 615-622, 2016.

NARI, A. Estado actual de la resistencia de *Boophilus microplus* en America Latina y el Caribe. Perspectivas de aplicacion del control integrado. In: "30 AÑOS AL SERVICIO DE LA GANADERIA NACIONAL, 1975-2005", 2005, Jiutepec, Morelos, México.

NAVA, S.; MASTROPAOLO, M.; GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A. J. Effect of deforestation and introduction of exotic grasses as livestock forage on population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in northern Argentina. **Research in Veterinary Science**, v. 95, p. 1046-1054, 2013.

NAVA, S.; VENZAL, J. M.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; MARTINS, T. F.; GUGLIELMONE, A. A. **Ticks of the southern cone of America: diagnosis, distribution, and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance.** London, UK: Academic Press, Elsevier, 2017, 348 p.

NOLAN, J. Mechanisms of resistance to chemicals in arthropod parasites of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 18, p. 155-166, 1985.

OGDEN, N. H.; LINDSAY, L. R. Effects of climate and climate change on vectors and vector-borne diseases: ticks are different. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 8, p. 646-656, 2016.

OGDEN, N. H.; MAAROUF, A.; BARKER, I. K.; BIGRAS-POULIN, M.; LINDSAY, L. R.; MORSHED, M. G.; O'CALLAGHAN, C. J.; RAMAY, F.; WALTNER-TOEWS, D.; CHARRON, D. F. Climate change and the potential for range expansion of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* in Canada. **International Journal for Parasitology**, v. 36, p. 63-70, 2006.

PATZ, J. A.; GRACZYK, T. K.; GELLER, N.; VITTOR, A. Y. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1395-1405, 2000.

PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J.; KLAFKE, G. M. ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência.*** São Paulo: MedVet, 2008. p. 21-25, 65-90.

PFÄFFLE, M.; LITWIN, N.; MUDERS, S. V.; PETNEY, T. N. The ecology of tick-borne diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 43, p. 1059-1077, 2013.

RECK, J.; KLAFKE, G. M.; WEBSTER, A.; DALL'AGNOL, B.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSINI, V.B.; VARGAS, R.; SANTOS, J. S.; MARTINS, J. R. S. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: A field tick population resistant to six classes of acaricides. **Veterinary Parasitology**, v. 201, p. 128-136, 2014.

SABATINI, G. A. **Eficácia do Spinosad no tratamento de bovinos experimentalmente e naturalmente infestados por *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887).** 2001. 64 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, São Paulo, 2001.

SABATINI, G. A.; KEMP, D. H.; HUGHES, S.; NARI, A.; HANSEN, J. Tests to determine LC₅₀ and discriminating doses for macrocyclic lactones against the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 95, p. 53-62, 2001.

SANGSTER, N. C. Managing parasiticide resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 98, p. 89-109, 2001.

SCHILLHORN VAN VEEN, T. W. Sense or nonsense? Traditional methods of animal parasitic disease control. **Veterinary Parasitology**, v. 71, p.177-194, 1997.

SCOTT, J.A. The molecular genetics of resistance: resistance as a response to stress. **Florida Entomology**, v. 78, p. 399–414, 1995.

SIQUEIRA, F.; BLECHA, I. M. Z.; MACHADO, M. A.; COUTINHO, L. L.. Uso de técnicas de biologia molecular em estudos de avaliação da resistência genética de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus microplus*. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. **Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 99-114.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. 3ª edição. Tradução FIGUEIREDO, C.; VANZELOTTI, I. R.; ZANON, R. F. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. p. 576-577, 583-584, 646-648, 651-654.

TEEL, P. D.; MARIN, S. L.; GRANT, W. E. Simulation of host-parasite-landscape interactions: influence of season and habitat on cattle fever tick (*Boophilus* sp.) population dynamics. **Ecological Modeling**, v. 84, p. 19-30, 1996.

TREES, A. J. On ticks and tick-borne diseases. **Parasitology Today**, v. 15, p. 253-254, 1999.

WALL, R.; SHEARER, D. **Veterinary Ectoparasites: Pathology, Biology and Control**. Second edition. United Kingdom: Blackwell Science, 2001. p. 55-57, 65-66, 76, 181-185.

WILKINSON, P. R. Observations on infestations of undipped cattle of British breeds with the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini). **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 6, p. 655-665, 1955.

WOLF, R. W.; ARAGONA, M.; MUÑOZ-LEAL, S.; PINTO, L. B.; MELO, A. L. T.; BRAGA, I. A.; COSTA, J. S.; MARTINS, T. F.; MARCILI, A.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B.; AGUIAR, D. M. Novel *Babesia* and *Hepatozoon* agents infecting non-volant small mammals in the Brazilian Pantanal, with the first record of the tick *Ornithodoros guaporensis* in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, p. 449-456, 2016.

CAPÍTULO 2 – Aspectos ecológicos e biológicos do ciclo de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae) parasitando bovinos mestiços em uma região de clima tropical com estação seca

Resumo

O objetivo do presente estudo foi observar, ao longo de dois anos consecutivos, os fatores envolvidos na fase de vida parasitária de *R. microplus* em uma região do Cerrado brasileiro, caracterizado por clima tropical com estação seca. Para tanto, contagens de carrapatos foram conduzidas a cada 14 dias em seis bovinos mestiços, mantidos em um piquete de *Urochloa decumbens* infestado por este ixodídeo. Cinco gerações de carrapato foram obtidas em cada ano, com picos de infestação dos animais no começo e fim do outono, início da primavera e começo e fim do verão. É a primeira vez na literatura que cinco gerações de *R. microplus* são observadas ao longo de dois anos consecutivos. As maiores cargas parasitárias ficaram concentradas entre outono e inverno, que compreendem o período seco do ano. Nenhuma correlação significativa foi observada entre contagens de carrapatos em parasitismo e pluviosidade, umidade relativa do ar, temperatura ambiental e temperatura na superfície do solo. Estes fatores poderiam ser indicativos da adaptação de *R. microplus* ao cenário global de mudanças climáticas, tornando-se um entrave ainda mais importante para a indústria pecuária.

Palavras chave: Biologia; Bioma de Cerrado; Carrapato dos bovinos; Ecologia; Fase de vida parasitária; Sazonalidade.

1. Introdução

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) é um ectoparasito amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, com grande impacto na indústria pecuária, interferindo diretamente na produção animal.

Sua relevância é predominantemente associada à transmissão de patógenos, tais como *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*. No Brasil, as perdas econômicas causadas por este ixodídeo foram estimadas em 3,24 bilhões de dólares/ano (GRISI *et al.*, 2014).

O impacto dos carrapatos como vetores tem se agravado de forma considerável, predominantemente com o aumento da prevalência de infecções transmitidas por artrópodes em diversos países e a emergência ou reconhecimento de novos patógenos (BANETH, 2014). Isso é exemplificado, no caso do carrapato bovino, pela recente análise de exemplares de *R. microplus* obtidos em Madagascar, onde os autores detectaram molecularmente *Anaplasma ovis*, *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia ewingii* e *Ehrlichia muris* pela primeira vez nesta espécie de carrapato (MATYSIAK *et al.*, 2016).

Assim, torna-se importante deter conhecimentos sobre a ecologia e biologia deste ixodídeo, considerando que a maioria das informações sobre o mesmo foi descrita em condições australianas, com os dados obtidos somente depois sendo extrapolados para Américas e África (NAVA *et al.*, 2013). No entanto, há mais de uma década estudos reforçam a impossibilidade de se extrapolar preferências ecológicas de diferentes populações de carrapatos (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2006a).

A crescente detecção da diversidade genética de *R. microplus* (LOW *et al.*, 2015) reforça a necessidade de redescrever seu ciclo biológico, assim como reavaliar a influência dos fatores ecológicos sobre o mesmo. Até mesmo dentro do território nacional, Csordas *et al.* (2016) detectaram ao menos duas populações geneticamente distintas deste ixodídeo. Porém, não foram capazes de correlacionar tais grupos genéticos com diferentes localizações geográficas ou biomas.

Desta forma, dados específicos e atualizados de cada região, habitat, clima e/ou bioma se fazem necessários, visando esclarecer a distribuição de diferentes grupos genéticos, variações em fases específicas de seus ciclos biológicos, ou como as constantes mudanças climáticas podem modificar ainda mais tais aspectos (LABRUNA & VERÍSSIMO, 2001; ALI *et al.*, 2016).

Um exemplo de relevância da aquisição de dados localmente é demonstrado por um estudo de Estrada-Peña *et al.* (2005), que comparou fatores abióticos considerados críticos no aumento da aptidão de áreas para os carrapatos habitarem.

Este experimento demonstrou que a aptidão de diferentes áreas foi predominantemente afetada pelas temperaturas, em análises conduzidas na Austrália, enquanto nas Américas esta aptidão se definiu principalmente pela influência de precipitações pluviométricas (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2005).

Adicionalmente, é essencial se considerar a crescente dificuldade no controle de *R. microplus*, principalmente associada à disseminação da resistência desta espécie contra a maioria, senão a totalidade, das classes químicas disponíveis para combatê-la (RECK *et al.*, 2014; CRUZ *et al.*, 2015; MACIEL *et al.*, 2016; KLAFKE *et al.*, 2017). Conhecimentos da ecologia e biologia de seu ciclo se tornam cada vez mais relevantes na determinação de pontos vulneráveis, permitindo o desenvolvimento de estratégias eficientes de controle, que configuram uma necessidade urgente.

As severas e drásticas mudanças climáticas que o planeta vem sofrendo, com modificações graduais de microclimas e ecossistemas, apenas reforçam a premente necessidade de conduzir novos estudos especificamente focados no ciclo de vida dos principais parasitos economicamente importantes ao redor do planeta, buscando a obtenção de dados atualizados e concretos para cada ambiente, clima, altitude, vegetação e bioma específico.

O objetivo do presente estudo foi observar, ao longo de dois anos consecutivos, os fatores ambientais envolvidos na fase de vida parasitária de *R. microplus* em uma região do Cerrado, caracterizado por clima tropical com estação seca. Também avaliou, nos bovinos, o número de gerações anuais deste ixodídeo, além de traçar correlações entre as cargas parasitárias e as variáveis ambientais avaliadas. Desta forma, este experimento buscou um conhecimento atualizado e concreto da dinâmica populacional do carrapato bovino no clima e bioma estudados.

2. Material e métodos

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (protocolo número 11511/14) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP) de Jaboticabal. Apenas após a aprovação quaisquer etapas experimentais foram iniciadas.

O estudo foi realizado entre 1º de abril de 2015 e 1º de abril de 2017, no município de Jaboticabal, São Paulo, região Sudeste do Brasil, dentro do campus da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, em piquetes pertencentes ao Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR), nas coordenadas geográficas 21º 14' 43" Sul, 48º 17' 03" Oeste.

Esta localidade se caracteriza por altitude média de 583 metros e clima definido como Aw pela classificação climática de Köppen, denominado tropical com estação seca ou tropical de savana, com pluviosidade média anual de 1405,2 milímetros cúbicos (mm³) e temperaturas médias entre 29,7 °C e 16,9 °C (CEPAGRI, 2017). O bioma predominante no local do estudo é o Cerrado, a maior área de savana da América do Sul.

2.1. Cepa de carrapatos

A cepa de *R. microplus* usada neste experimento foi mantida no CPPAR por pelo menos cinco anos antes da condução deste estudo, originada de bovinos mestiços (*Bos taurus* x *Bos indicus*) naturalmente infestados. Esta cepa é denominada rotineiramente no laboratório de cepa CAMPO, caracterizada por distintos graus de resistência a diferentes acaricidas, como as lactonas macrocíclicas (LOPES *et al.*, 2013; LOPES *et al.*, 2014; CRUZ *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2015) e o fluazuron (CRUZ *et al.*, 2014; MACIEL *et al.*, 2016).

Fêmeas ingurgitadas foram colhidas diretamente dos animais para a condução deste experimento. Elas foram lavadas com água corrente, secas e dispostas em placas de Petri, mantidas então em estufa incubadora tipo BOD (temperatura aproximada de 27 °C e umidade acima de 80%) para oviposição.

Após 15 dias, as massas de ovos foram recuperadas e alíquotas de 0,250 gramas, equivalente a cerca de 5000 ovos (LABRUNA *et al.*, 1997), foram armazenadas em seringas plásticas com as pontas removidas, fechadas com chumaços de algodão. Estas seringas foram novamente mantidas na estufa, sob as mesmas condições de temperatura e umidade, até a eclosão completa das larvas e amadurecimento das mesmas (14 a 21 dias de idade), sendo posteriormente utilizadas para a infestação das pastagens deste estudo.

2.2. Animais experimentais

Para a avaliação *in vivo* da fase de vida parasitária de *R. microplus* em condições de campo, foram utilizados seis bovinos mestiços machos ($n = 6$), nunca tratados com acaricidas e/ou endectocidas, entre seis e 12 meses de idade. Estes animais foram mantidos ao longo de todo o experimento em piquetes formados por pastagens de *Urochloa decumbens* e *Cynodon dactylon*. Os dois piquetes eram contíguos entre si, de forma que os bovinos tinham livre acesso a ambas as gramíneas, em uma área total de 2783 metros quadrados (m^2), correspondente a aproximadamente 0,28 hectare.

Todos os bovinos foram pesados ao início e ao término do experimento, e os valores obtidos foram utilizados para calcular a taxa de lotação da pastagem experimental. Esta taxa de lotação é expressa na forma de unidades animais por hectare (UA/ha), sendo que uma unidade animal equivale a 450 quilos (kg) de peso vivo. Durante todo o experimento os bezerros foram suplementados diariamente com silagem de milho e concentrado comercial livre de enxofre, com água sendo fornecida *ad libitum*. Os bovinos foram inseridos na área experimental em 01º de abril de 2015, no outono, data definida como dia zero do estudo.

2.3. Avaliações da fase de vida parasitária

Os piquetes foram infestados com um total aproximado de 40.000 larvas de *R. microplus*, entre 14 e 21 dias de idade, divididas em quatro séries de 10.000 larvas nos dias experimentais zero, 15, 30 e 45. As infestações foram realizadas em pontos das pastagens onde os animais permaneciam com maior frequência, como as proximidades do tanque de água e do cocho de alimentação, ou os pontos onde os mesmos costumavam descansar. Após este período, os próprios bovinos foram responsáveis pela manutenção dos níveis constantes de infestação ambiental.

Iniciaram-se, no 18º dia após a primeira infestação (dia 18), contagens de fêmeas de *R. microplus* parcialmente ingurgitadas, medindo entre 4,5 e 8 milímetros de comprimento, presentes no lado esquerdo de cada animal, sendo os valores obtidos multiplicados por dois para estimativa das cargas totais (WILKINSON, 1955).

As contagens de carrapatos seguindo esta metodologia foram repetidas em intervalos periódicos, de 14 em 14 dias, ao longo de ambos os anos do estudo. Dos valores obtidos em cada data de contagem, a dinâmica populacional de cada um dos anos foi definida, sendo subsequentemente utilizada para estimar o número de gerações anuais de carrapatos parasitando bovinos.

Resumindo o que foi previamente descrito de forma direta, foi empregado neste estudo o seguinte delineamento experimental: os animais foram alocados nos piquetes experimentais no dia zero, e as primeiras contagens de carrapatos nos bovinos foram feitas nos dias 18, 21 e 28 após infestação das pastagens (dia zero), com repetições a cada 14 dias até o dia 728, e a última contagem realizada no dia 731, data exata quando se completaram os dois anos do experimento, totalizando 54 contagens de fêmeas de *R. microplus* parasitando os bovinos experimentais.

Concomitantemente, ao longo de todo o período observacional, foram registrados os eventuais predadores de carrapatos que habitavam, ou ao menos se encontravam temporariamente, na área onde foi conduzido este experimento (piquetes contíguos de *U. decumbens* e *C. dactylon*).

2.4. Obtenção das variáveis ambientais

Pluviosidade, umidade relativa do ar e temperaturas médias, tanto do ambiente quanto obtida diretamente na superfície do solo, foram registradas diariamente durante os dois anos do estudo. Para o registro destas séries de dados, foram instalados no local do experimento um termohigrômetro digital e um pluviômetro analógico do tipo “cunha”, instalado seguindo as recomendações do fabricante. O termohigrômetro possuía um sensor externo, colocado diretamente no solo e protegido da luz solar pela vegetação, para avaliar a temperatura diretamente no local onde os carrapatos se encontrariam.

Os valores máximos, mínimos e médios de todas as variáveis foram registrados diariamente. Com estes dados foram calculadas as médias mensais de cada variável ambiental, posteriormente utilizadas para comparações e correlações com a dinâmica populacional de *R. microplus*.

2.5. Análises estatísticas e correlações

Todas as séries de dados obtidas ao longo do experimento, tanto referentes à dinâmica populacional quanto às variáveis climáticas, passaram inicialmente por uma transformação logarítmica (valor + 1) antes de serem analisadas. Estas variáveis foram subsequentemente submetidas à pré-testes de normalidade, homocedasticidade e análise de resíduos, sendo em seguida analisadas por meio de um delineamento totalmente casualizado. Comparações entre as médias obtidas para cada variável foram feitas com o teste T, selecionado de acordo com os resultados dos pré-testes.

Diferentes variáveis, tanto ambientais (temperatura ambiental, temperatura na superfície do solo, umidade relativa do ar e pluviosidade) quanto biológicas (contagens de carrapatos), foram correlacionadas entre si. As análises de correlações basearam-se no coeficiente de Pearson, tendo em vista a relação linear de variáveis contínuas. As análises utilizaram os pacotes Statistica 8.0 e SAS 9.0.

3. Resultados

Os bovinos experimentais foram pesados no início e ao término da etapa experimental (dois anos), registrando 150, 109, 95, 63, 102 e 106 kg no dia zero (total de 625 kg) e 497, 471, 301, 222, 386,5 e 458,5 kg no dia 731 (total: 2336 kg). Dois dos bovinos ganharam mais de quatro vezes o seu peso inicial, enquanto os outros quatro animais superaram o peso inicial em mais de três vezes. A somatória do peso dos seis bovinos também sofreu um aumento de quase quatro vezes.

Dentro da área destinada a este experimento, de 0,28 hectares (ha), estes animais geraram uma taxa de lotação inicial de 4,96 UA/ha, valor que aumentou também mais de três vezes até o encerramento do estudo, atingindo lotação, no dia 731 (última data de avaliação), de 18,54 UA/ha.

As maiores cargas parasitárias do primeiro ano foram obtidas em abril, junho e setembro, enquanto as médias mais baixas foram registradas no fim de abril, maio e fevereiro. Ao longo de todo o experimento, a maior contagem em um único animal foi de 324 fêmeas de *R. microplus*, registrada na primavera do primeiro ano.

No segundo ano, as maiores contagens se concentraram nos meses de abril (início do ano experimental), junho e março (último mês de avaliações), com valores inferiores sendo registrados em outubro, janeiro e fevereiro.

No ano I do estudo, foi possível determinar cinco picos de infestação, sendo o primeiro (média de 97,6 carrapatos) no início do outono, enquanto no fim desta estação foi observado o segundo (107 carrapatos por animal) pico. Na primeira metade do inverno as contagens decresceram, passando a subir até o início da primavera, atingindo o maior pico do estudo, com média de 123,67 carrapatos. No início do verão um novo pico ocorreu (35,67 carrapatos por animal), seguido novamente por uma queda nas contagens. Ao fim da estação as médias tornaram a subir, levando ao quinto pico de infestação (34,33 carrapatos por animal), observado em duas datas consecutivas: fim do verão e começo do outono (Tabela 1).

Ao longo do segundo ano, logo no início do outono foi observado um pico de 35 carrapatos por animal, o primeiro deste ano experimental, ocorrendo de forma contínua com o pico que encerrou o primeiro ano de avaliações. Os valores decresceram em seguida, subindo novamente no fim do outono, levando ao segundo pico (média de 32,33 carrapatos). As cargas parasitárias decresceram de forma constante, subindo somente na última contagem do inverno, determinando o terceiro pico de infestação, com média de 28,67 carrapatos por animal. No início da primavera, as contagens caíram até atingir o menor valor médio de todo o estudo (sete carrapatos) no início do verão. O quarto pico ocorreu imediatamente depois, com média de 19,67 carrapatos. As contagens tornaram a cair pelo restante desta estação, subindo novamente só no seu final, atingindo o valor máximo deste ano experimental, 53 carrapatos por animal, determinando o quinto e último pico de infestações (Tabela 2).

Os picos distintos de infestação (começo e fim do outono, fim do inverno/começo da primavera, começo e fim do verão) ocorreram de forma similar em ambos os anos (Figura 1). Dividindo ambos os anos em período seco (outono/inverno) e chuvoso (primavera/verão), observa-se que as cargas médias na seca são maiores nos dois anos, concentrando-se predominantemente entre os outonos, mas também com valores consideráveis nos invernos. As contagens ao longo de todo o experimento estão expressas de forma contínua na Figura 2.

Tabela 1. Contagens de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, parasitando bovinos, ao longo do primeiro ano experimental.

Estação	Data	Dia	Bovinos experimentais / Contagens de ixodídeos ^a						Média	Desvio padrão	Amplitude
			B001	B002	B005	B006	B010	B011			
Outono	17/04/15	18	14	24	30	4	90	-	32,40	33,69	86
	20/04/15	21	188	34	44	104	118	-	97,60	62,34	154
	27/04/15	28	12	0	34	4	0	-	10,00	14,28	34
	11/05/15	42	16	6	38	2	0	0	10,33	14,83	38
	25/05/15	56	40	40	196	86	38	8	68,00	67,49	188
	08/06/15	70	136	64	204	140	82	16	107,00	66,47	188
Valores médios de todas as contagens da estação (outono de 2015 – 1º ano experimental):									54,91	60,68	204
Inverno	22/06/15	84	102	66	28	144	20	6	61,00	53,65	138
	06/07/15	98	52	28	36	64	22	12	35,67	19,37	52
	20/07/15	112	0	6	46	66	0	0	19,67	28,94	66
	03/08/15	126	8	6	74	66	4	4	27,00	33,44	70
	17/08/15	140	30	46	16	74	42	10	36,33	23,20	64
	31/08/15	154	42	36	62	114	22	16	48,67	35,86	98
	14/09/15	168	104	100	44	118	62	18	74,33	39,22	100
Valores médios de todas as contagens da estação (inverno de 2015 – 1º ano experimental):									43,24	37,05	144
Primavera	28/09/15	182	324	98	72	80	154	14	123,67	108,00	310
	12/10/15	196	142	34	2	112	128	14	72,00	62,20	140
	26/10/15	210	64	90	92	124	40	8	69,67	41,42	116
	09/11/15	224	52	50	54	106	54	10	54,33	30,53	96
	23/11/15	238	74	42	46	32	32	20	41,00	18,54	54
	07/12/15	252	48	48	18	52	56	6	38,00	20,71	50
Valores médios de todas as contagens da estação (primavera de 2015 – 1º ano experimental):									66,44	59,59	322
Verão	21/12/15	266	34	22	26	32	46	16	29,33	10,48	30
	04/01/16	280	52	38	26	56	30	12	35,67	16,56	44
	18/01/16	294	22	20	8	24	12	24	18,33	6,74	16
	01/02/16	308	44	16	16	30	32	10	24,67	12,82	34
	15/02/16	322	6	8	12	20	10	8	10,67	5,01	14
	29/02/16	336	34	22	8	10	16	22	18,67	9,52	26
	14/03/16	350	58	24	10	30	40	44	34,33	16,75	48
Valores médios de todas as contagens da estação (verão de 2016 – 1º ano experimental):									24,52	13,97	52
Outono	28/03/16	364	38	18	26	54	34	36	34,33	12,16	36

^a carrapatos (4,5 a 8,0 mm) contados no lado esquerdo dos animais a cada 14 dias.

Tabela 2. Contagens de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, parasitando bovinos, ao longo do segundo ano experimental.

Estação	Data	Dia	Bovinos experimentais / Contagens de ixodídeos ^a						Média	Desvio padrão	Amplitude
			B001	B002	B005	B006	B010	B011			
Outono	11/04/16	378	62	18	30	32	32	36	35,00	14,57	44
	25/04/16	392	80	22	12	12	30	32	31,33	25,32	68
	09/05/16	406	52	24	18	12	34	40	30,00	14,86	40
	23/05/16	420	40	10	10	8	26	24	19,67	12,61	32
	06/06/16	434	38	12	26	26	22	30	25,67	8,62	26
	20/06/16	448	92	22	12	30	24	14	32,33	29,97	80
Valores médios de todas as contagens da estação (outono de 2016 - 2º ano experimental):									29,00	18,47	84
Inverno	04/07/16	462	42	30	10	32	16	20	25,00	11,78	32
	18/07/16	476	34	22	2	12	14	12	16,00	10,88	32
	01/08/16	490	28	26	6	16	10	30	19,33	10,09	24
	15/08/16	504	64	12	6	14	18	6	20,00	22,05	58
	29/08/16	518	28	20	4	28	12	18	18,33	9,33	24
	12/09/16	532	52	14	22	50	22	12	28,67	17,78	40
Valores médios de todas as contagens da estação (inverno de 2016 - 2º ano experimental):									21,22	14,05	62
Primavera	26/09/16	546	62	10	14	42	12	18	26,33	21,03	52
	10/10/16	560	16	4	2	14	2	8	7,67	6,12	14
	24/10/16	574	32	8	8	12	2	4	11,00	10,86	30
	07/11/16	588	18	4	16	42	12	6	16,33	13,71	38
	21/11/16	602	32	6	6	42	2	8	16,00	16,69	40
	05/12/16	616	20	12	6	16	2	2	9,67	7,53	18
19/12/16	630	8	2	14	12	8	4	8,00	4,56	12	
Valores médios de todas as contagens da estação (primavera de 2016 - 2º ano experimental):									13,57	13,34	60
Verão	02/01/17	644	12	2	2	14	4	8	7,00	5,18	12
	16/01/17	658	42	10	12	32	12	10	19,67	13,82	32
	30/01/17	672	26	6	12	12	2	8	11,00	8,27	24
	13/02/17	686	12	8	4	12	4	6	7,67	3,67	8
	27/02/17	700	30	2	2	24	2	4	10,67	12,82	28
	13/03/17	714	108	28	24	92	28	38	53,00	37,05	84
Valores médios de todas as contagens da estação (verão de 2017 - 2º ano experimental):									18,17	23,01	106
Outono	27/03/17	728	30	4	6	30	28	18	19,33	11,98	26
	30/03/17	731	24	14	8	34	6	4	15,00	11,78	28

^a carrapatos (4,5 a 8,0 mm) contados no lado esquerdo dos animais a cada 14 dias.

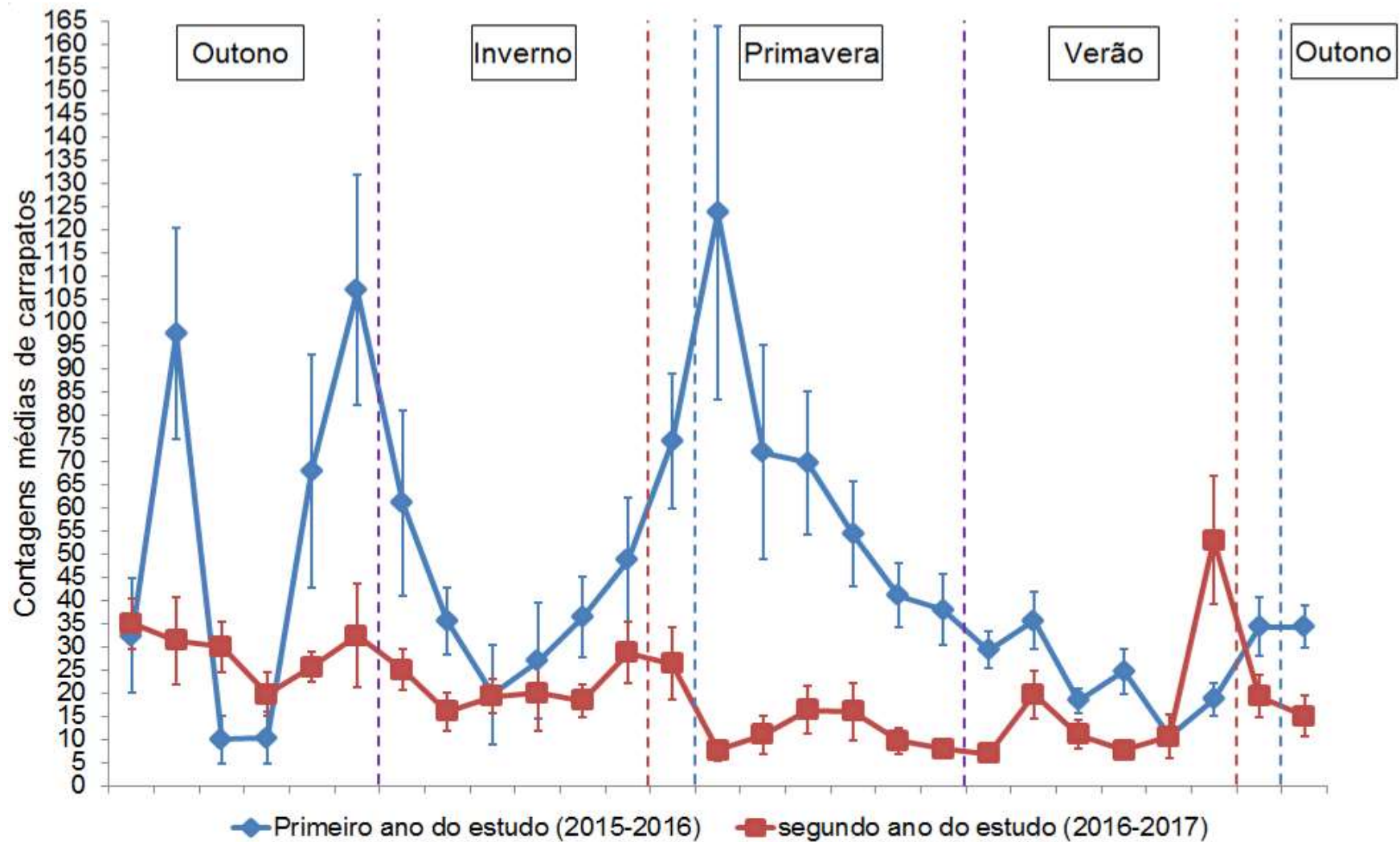


Figura 1. Variação sazonal de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* parasitando bovinos. Valores médios e erro padrão das médias de contagens durante dois anos. Linhas verticais representam as mudanças de estação (roxo = ambos os anos na mesma data; azul = primeiro ano; vermelho = segundo ano).

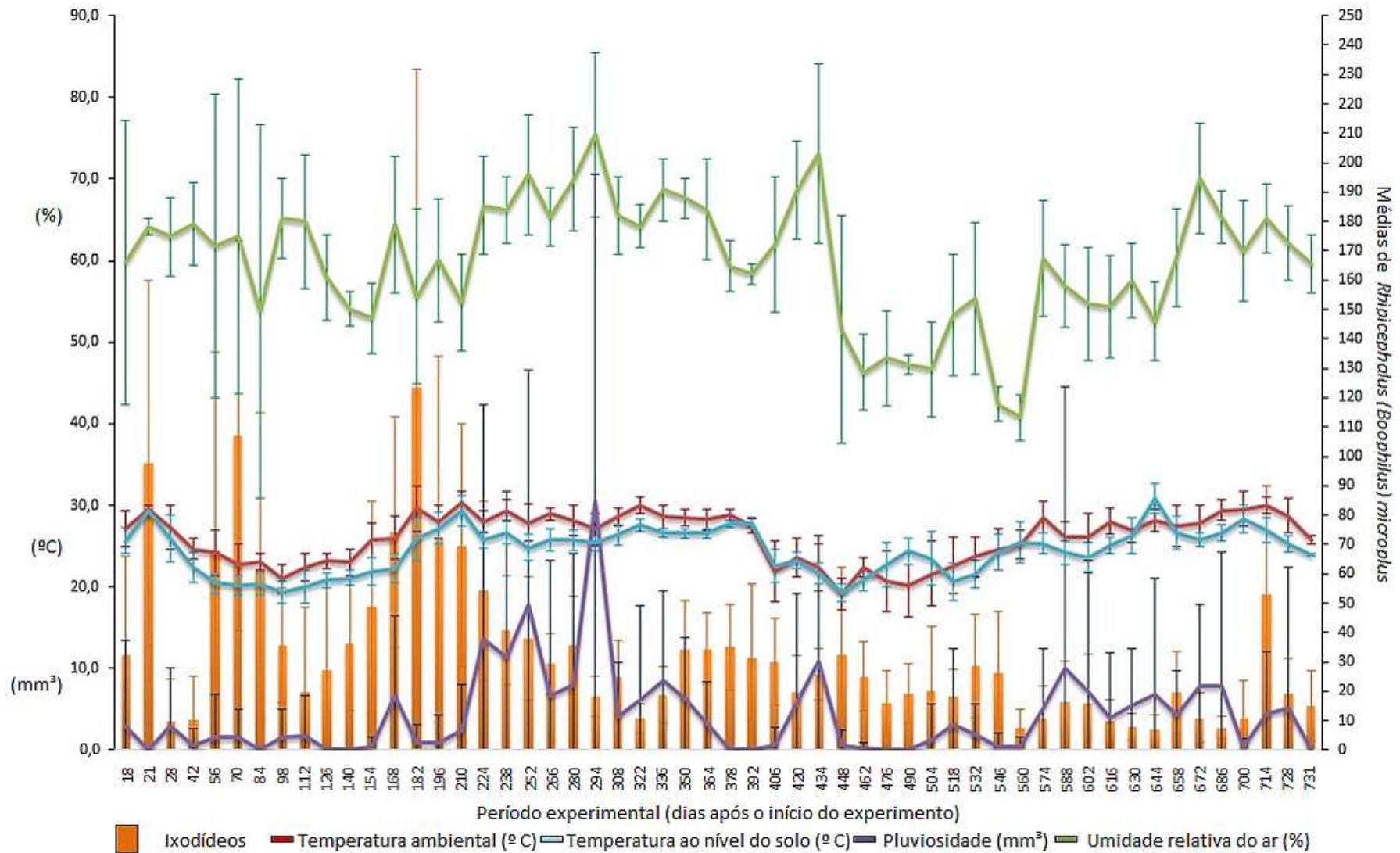


Figura 2. Médias e desvios padrão das variáveis climáticas avaliadas e das contagens de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Comparações para cada variável obtida ao longo do experimento. Dados em escala original.

As variáveis climáticas registradas (temperatura ambiente, temperatura obtida diretamente na superfície do solo, umidade relativa do ar e índices pluviométricos) também estão graficamente representadas na Figura 2, juntamente com as contagens de carrapatos ao longo dos dois anos do experimento. As médias dos dados climáticos e seus desvios padrão estão plotados no eixo y principal, (esquerda) enquanto as médias e desvios das contagens de ixodídeos estão no eixo y secundário (direita). Ressalta-se que todos os dados estão na escala original.

Estas variáveis (médias por estação do ano), assim como as contagens de carrapatos médias de cada estação, foram comparadas utilizando o teste T. As diferenças significativas entre cada variável são indicadas por valores de P inferiores a 0,05 ($P < 0,05$). Os resultados destas análises estão expressos na Tabela 3.

Tabela 3. Comparações estatísticas entre contagens de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e variáveis ambientais.

Estação e Ano	Tratamentos / Médias e Desvios Padrão ¹				Contagens <i>R. microplus</i>
	Variáveis climáticas				
	Temperatura ambiental (°C)	Umidade relativa (%)	Pluviosidade (mm ³)	Temperatura do solo (°C)	
Outono de 2015	24,50 ± 2,02 bc	60,95 ± 2,81 bc	2,18 ± 1,53 b	22,27 ± 2,60 bc	1,74 ± 0,14 a
Inverno de 2015	24,76 ± 2,06 bc	59,56 ± 4,42 bc	1,89 ± 1,57 b	21,90 ± 1,61 c	1,68 ± 0,23 ab
Primavera de 2015	28,70 ± 0,26 a	64,52 ± 4,58 ab	9,03 ± 2,28 a	26,52 ± 1,05 a	1,69 ± 0,13 ab
Verão de 2016	28,55 ± 0,59 a	67,94 ± 2,14 a	9,11 ± 4,98 a	26,52 ± 0,53 a	1,42 ± 0,11 bc
Outono de 2016	23,61 ± 2,11 c	60,34 ± 4,48 bc	2,75 ± 1,74 b	23,21 ± 2,64 abc	1,47 ± 0,05 abc
Inverno de 2016	22,34 ± 1,62 c	48,40 ± 2,02 d	0,98 ± 1,02 b	22,97 ± 0,66 bc	1,36 ± 0,06 cd
Primavera de 2016	27,01 ± 0,29 ab	54,39 ± 1,74 cd	6,07 ± 2,53 ab	25,64 ± 1,49 ab	1,08 ± 0,11 d
Verão de 2017	28,77 ± 0,69 a	62,86 ± 0,17 ab	5,12 ± 1,90 ab	26,62 ± 0,86 a	1,21 ± 0,20 cd

¹ Valores seguidos pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste T ($P \geq 0,05$).

Resumindo os resultados destas comparações, os padrões sazonais esperados para cada variável climática foram observados, com temperaturas, ao nível do solo e do ambiente, e índices pluviométricos significativamente superiores em primaveras e verões (período chuvoso) quando comparados com outonos e invernos (período de seca). A umidade relativa do ar foi notadamente inferior nos invernos quando comparados aos verões.

Já com relação às contagens de carrapatos, um padrão decrescente foi observado nos valores obtidos. Este padrão é reforçado analisando a Figura 2, onde as contagens ao longo dos dois anos estão expressas de forma contínua. Estatisticamente, a única exceção para este padrão, do ponto de vista sazonal, foi a primavera do segundo ano, onde as médias de carrapatos foram significativamente inferiores às das demais estações.

Correlações entre as variáveis climáticas e as contagens de fêmeas de *R. microplus*, assim como para variáveis climáticas entre si, foram calculadas utilizando o coeficiente de Pearson (Tabela 4). Este coeficiente foi selecionado de acordo com os pré-testes conduzidos, baseado na relação linear de variáveis contínuas.

Tabela 4. Análise de correlações entre contagens de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e variáveis ambientais avaliadas.

Teste de Pearson ¹	Contagens de <i>R. microplus</i>	Temperatura ambiente (°C)	Umidade relativa do ar (%)	Pluviosidade (mm ³)	Temperatura do solo (°C)
Contagens de <i>R. microplus</i>	10,000 p = ---	-0,0011 p = 0,996	0,0290 p = 0,893	-0,1111 p = 0,605	-0,1437 p = 0,503
Temperatura ambiente (°C)		10,000 p = ---	0,5136² p = 0,010	0,5107² p = 0,011	0,8476² p = 0,000
Umidade relativa do ar (%)			10,000 p = ---	0,6321² p = 0,001	0,3287 p = 0,117
Pluviosidade (mm ³)				10,000 p = ---	0,3900 p = 0,060
Temperatura do solo (°C)					10,000 p = ---

¹ Coeficientes e significância (*P*) das correlações. Correlações negativas em vermelho e positivas em azul (tonalidades indicam a força de cada correlação).

² Correlações significativas (*P* < 0,05).

Nenhuma correlação significativa ($P < 0,05$) foi observada entre contagens de fêmeas parcialmente ingurgitadas (entre 4,5 e 8 milímetros) de *R. microplus* parasitando bovinos e as variáveis ambientais analisadas (temperatura ambiental e na superfície do solo, umidade relativa do ar e índices pluviométricos). Ainda assim, uma tendência de que as contagens de carrapatos acompanhem (tendência de correlações positivas) a umidade relativa do ar pôde ser observada. No entanto, tendências opostas (negativas) de correlação estiveram presentes para temperaturas (ambiente e sobre a superfície do solo) e pluviosidade, com contagens de ixodídeos decrescendo enquanto tais variáveis aumentaram.

As variáveis climáticas se comportaram como o esperado ao longo do experimento, com fortes correlações positivas registradas entre temperatura ambiental com temperatura ao nível do solo (0,8476), umidade relativa do ar (0,5136) e pluviosidade (0,5107). A umidade relativa do ar e os índices pluviométricos também apresentaram forte correlação positiva entre si (0,6321).

Ao longo dos dois anos, diversos predadores de carrapatos foram identificados na área experimental. Roedores (*Cavia* spp.) e lagartos (*Tupinambis* spp.) sempre estiveram presentes, mas os principais predadores em potencial observados foram aves, predominantemente exemplares de Curicaca (*Theristicus caudatus*), Quero-quero (*Vanellus chilensis*), Coró-coró (*Mesembrinibis cayennensis*), Anú-branco (*Guira guira*), Anú-preto (*Crotophaga ani*), Alma-de-gato (*Piaya cayana*), Pardal (*Passer domesticus*), Canário-da-terra-verdadeiro (*Sicalis flaveola*) e da família Columbidae (pombos, rolas e rolinhas). Garças vaqueiras (*Bubulcus ibis*) e gaviões Carcará (*Caracara plancus*) foram constantemente observados sobre os animais, ativamente se alimentando dos carrapatos.

4. Discussão

U. decumbens e *C. dactylon* foram as gramíneas selecionadas para o presente experimento. A primeira é a principal espécie utilizada para pastejo no Brasil, amplamente adaptada a variados tipos de solo e condições climáticas (CRISPIM & BRANCO, 2002), enquanto a segunda é altamente resistente ao pisoteio e pastejo, também utilizada em todo o país (LEITE & MACHADO, 1999).

Um estudo analisando os efeitos de gramíneas sobre as cargas de carrapatos indicou que *U. decumbens* é favorável para a manutenção das larvas no ambiente, enquanto estoloníferas (*C. dactylon*) também beneficiam a sobrevivência das mesmas, diminuindo a incidência de luz solar (VERÍSSIMO *et al.*, 1997).

A opção de avaliar a dinâmica populacional em pastagens cultivadas com as gramíneas mencionadas se baseou no fato de que este tipo de ambiente é mais favorável ao desenvolvimento de *R. microplus* quando comparado a pastagens mistas ou nativas, quando as taxas de lotação são superiores a 1,9 UA/ha (FONSECA *et al.*, 2005). Adicionalmente, os bovinos foram mantidos o tempo todo no mesmo ambiente, sem rotação de pastagens, um tipo de manejo identificado na literatura como favorável às infestações por carrapatos, levando a cargas parasitárias mais significativas (VERÍSSIMO *et al.*, 1997).

Devido à alta taxa de lotação do presente estudo, inicialmente superior a quatro UA/ha, a suplementação dos bovinos experimentais com concentrados comerciais foi necessária ao longo dos dois anos. Para evitar interferências no ciclo de vida dos carrapatos, uma ração livre de enxofre foi formulada, tendo em vista que a ingestão deste elemento químico tem notadamente um efeito deletério sobre infestações por carrapatos (COSTA-JÚNIOR & FURLONG, 2011).

Sabendo também que padrões raciais dos animais interferem nas cargas parasitárias (VERÍSSIMO *et al.*, 1997), este experimento optou por utilizar bovinos mestiços, visando minimizar o impacto deste fator nos resultados obtidos. Todos os detalhes previamente descritos, aplicados à metodologia, focaram em diminuir quaisquer interferências destes fatores sobre os resultados obtidos, permitindo uma correlação mais fidedigna entre contagens de carrapatos e variáveis climáticas.

No presente estudo, cargas parasitárias mais altas foram observadas no fim do inverno e começo da primavera de 2015. Este fenômeno, conhecido como “spring rise”, foi registrado no Brasil tanto em áreas de Cerrado quanto de Mata Atlântica (CARNEIRO *et al.*, 1992; ARAÚJO, 1994; KASAI *et al.*, 2000; LABRUNA & VERÍSSIMO, 2001; PEREIRA, 2008; GOMES *et al.*, 2016). É geralmente associado a um aumento das temperaturas e níveis de chuva, sendo também registrado na Austrália (*R. australis*), em condições climáticas similares (SNOWBALL, 1957) e na Índia (GHOSH *et al.*, 2007), onde ocorre simpatria de *R. microplus* e *R. australis*.

As cargas parasitárias no fim do inverno e começo da primavera de 2016 (segundo ano experimental), apesar de inferiores àquelas obtidas no primeiro ano, mantiveram padrão similar, mesmo com este ano apresentando níveis de chuva inferiores às médias históricas do local do estudo. Um aspecto significativo que pode explicar as contagens inferiores no segundo ano são as menores temperaturas mínimas registradas ao longo de todo o estudo, atingindo mínima média diária de 9,07 °C em julho de 2016. Estudos confirmam que temperaturas entre 14 e 5 °C são gradualmente prejudiciais aos ovos dos carrapatos, levando também a menor viabilidade larval (SUTHERST & BOURNE, 2006).

Diversos aspectos podem ser responsáveis pelas cargas parasitárias menores no segundo ano do estudo, tais como o desenvolvimento de mecanismos imunológicos, resultando em resistência adquirida dos bovinos contra infestações por *R. microplus* (WIKEL & ALLEN, 1982), eventualmente associada à predação contínua de carrapatos por garças (*Bubulcus ibis*) e carcarás (*Caracara plancus*). Outra possibilidade existente é de que a população de ixodídeos deste experimento tenha se ajustado ecologicamente, sofrendo deste momento em diante menores oscilações. A real influência de tais aspectos só poderia, no entanto, ser efetivamente comprovada através de pesquisas específicas.

Um fator provável da diminuição nas contagens de carrapatos foi o dano mecânico às pastagens, causado pelo pisoteio e pastejo ininterruptos. A taxa de lotação inicial era de 4,96 UA/ha, mas ao término dos dois anos o cálculo da taxa de lotação foi superior a 18 UA/ha. Este aumento considerável foi potencialmente responsável por aumentar os efeitos deletérios do pisoteio e do pastejo sobre os piquetes, criando um microclima cada vez menos favorável aos carrapatos, com maior exposição das larvas e ovos à luz solar direta.

As maiores cargas parasitárias do presente estudo foram observadas nos outonos, de forma similar ao descrito no Paraguai, em bioma de savana parecido com o Cerrado (BRIZUELA *et al.*, 1996) e no noroeste da Argentina, em uma localidade com menor pluviosidade e temperatura (MANGOLD *et al.*, 1994). Estes autores destacaram aumento no número de carrapatos durante a primavera, atingindo valores máximos no outono, com quedas acentuadas no inverno.

O mesmo padrão foi registrado também em estudos conduzidos em áreas de Cerrado, onde os autores demonstraram aumentos iniciais na primavera, com o primeiro pico no verão e dois picos subsequentes no outono. Ainda que seja o mesmo bioma do presente estudo (altitude de 583 metros), estas cargas superiores no outono foram registradas em altitudes maiores, de 749 metros (CARNEIRO *et al.*, 1992), 860 metros (DA SILVA *et al.*, 2010) e 1040 metros (PEREIRA, 2008).

Outras pesquisas conduzidas a 70 quilômetros de distância do presente estudo, com altitude e bioma praticamente idênticos, obtiveram resultados contraditórios. Veríssimo *et al.* (1997) registraram um padrão similar ao deste experimento, com picos de infestação distribuídos entre primavera, verão e outono, e contagens mais altas nesta última estação. Por outro lado, Labruna & Veríssimo (2001), no mesmo local, observaram picos de infestação concentrados no inverno e primavera, com taxas de infestação dos animais baixas durante o outono. Ambos os estudos foram conduzidos há quase duas décadas, com temperaturas médias predominantemente inferiores àquelas registradas no presente estudo, o que pode explicar esta diferença nos perfis de dinâmica populacional.

Cargas parasitárias predominantemente inferiores no outono também foram registradas em outra área de Cerrado, em uma localidade caracterizada por clima oceânico (MARVULLO, 2014), assim como em uma área de Mata Atlântica no estado vizinho de Minas Gerais, com clima subtropical úmido (ARAÚJO, 1994). Já na Argentina, em uma área com clima subtropical semiárido e índices inferiores de pluviosidade, foram observadas contagens de carrapato mais altas entre o verão e o outono (MOREL *et al.*, 2017).

Apesar de apenas um pico de infestação ter sido detectado nos invernos do presente estudo (final do segundo inverno), esta estação se mostrou favorável às infestações por *R. microplus* ao longo de todo o experimento. As cargas parasitárias médias desta estação superaram os verões de ambos os anos e a primavera do segundo ano de avaliações. Tais resultados estão de acordo com dados obtidos no estado do Rio de Janeiro, em uma área de Mata Atlântica próxima ao nível do mar (FONSECA *et al.*, 2005), onde as maiores cargas parasitárias foram observadas no inverno. Isto pode ser explicado pelos invernos amenos da região Sudeste do Brasil, com temperaturas médias mensais, no local deste estudo, sempre acima de 20 °C.

Esta tendência mundial, de invernos cada vez mais quentes, foi apontada anteriormente como responsável por aumentar significativamente a possibilidade de *R. microplus* ser introduzido ou reintroduzido em áreas que atualmente se encontram livres deste ectoparasito (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2006b).

Um padrão totalmente contrário é geralmente registrado na região Sul do Brasil. As condições climáticas do inverno nesta região são consideravelmente mais severas, eventualmente atingindo temperaturas negativas em algumas áreas. Assim, as cargas mais altas de carrapatos ficam limitadas à primavera e verão (GOMES, 2009). Tal perfil populacional, com o período chuvoso (primavera e verão) sendo mais favorável ao desenvolvimento de *R. microplus*, foi defendido por vários anos como sendo aplicável a todo o território nacional (ROCHA, 1999). Diversas pesquisas ao redor do mundo geralmente também associam a ocorrência de diversas doenças parasitárias a momentos onde a temperatura e pluviosidade estão mais altas, sendo este período favorável à disseminação e sobrevivência dos vetores (PATZ *et al.*, 2000), associando períodos de inverno e baixa umidade relativa com alta mortalidade larval (ESTRADA-PEÑA, 2015).

Mesmo com a diferença entre as cargas parasitárias médias nos dois anos do estudo, a dinâmica populacional observada foi consistente em ambos, com cinco distintos picos de infestação sendo registrados no começo do outono, ao término do outono, no início da primavera, no começo do verão e na conclusão desta estação. Foi possível determinar, assim, cinco gerações consecutivas de carrapatos por ano. Tal resultado está de acordo com dados obtidos no estado de Minas Gerais, em uma área de Cerrado com altitudes superiores a 800 metros (GOMES *et al.*, 2016), onde os picos de infestação também se concentraram na primavera, verão e outono, com cinco gerações distintas de carrapatos sendo identificadas em um ano de estudo.

A maioria dos estudos relacionados à dinâmica populacional de *R. microplus* parasitando bovinos, no entanto, aponta para a existência de três (CARNEIRO *et al.*, 1992; FONSECA *et al.*, 1999; LIMA *et al.*, 2000; FURLONG *et al.*, 2003; FURLONG & SALES, 2007; MARVULLO, 2014) ou quatro (ARAÚJO, 1994; ROCHA, 1999; KASAI *et al.*, 2000; LIMA *et al.*, 2000; LABRUNA & VERÍSSIMO, 2001; FURLONG *et al.*, 2003; FURLONG & SALES, 2007; PEREIRA, 2008; MOREL *et al.*, 2017) gerações por ano, em uma diversidade de países, biomas, climas e altitudes.

Um estudo estimou que cinco gerações de carrapatos por ano pudessem eventualmente ser observadas na região Norte do Brasil, onde as condições climáticas, predominantemente ligadas à floresta Amazônica, seriam ideais para este ectoparasito. Porém, as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do país só possibilitariam a existência de três ou quatro gerações anuais (EVANS, 1992). Um modelo computacional de simulações desenvolvido na Venezuela também levantou a possibilidade de cinco gerações anuais de *R. microplus*. Isto só ocorreria, no entanto, em condições climáticas perfeitas (HERNÁNDEZ-A *et al.*, 2000).

Apesar do levantamento hipotético desta possibilidade, ou de seu efetivo registro em apenas um ano, com bovinos periodicamente medicados (GOMES *et al.*, 2016), até o momento este é o primeiro trabalho que efetivamente confirma a ocorrência de cinco gerações do carrapato bovino por ano, por um mínimo de dois anos consecutivos com condições climáticas e ambientais distintas entre si.

Nenhuma correlação significativa foi observada entre as contagens de *R. microplus* e as variáveis climáticas obtidas ao longo dos dois anos do estudo. Ainda assim, uma tendência de fracas correlações negativas foi observada quando comparadas as contagens de carrapatos com pluviosidade (-0,1111) e temperatura ao nível do solo (-0,1437). A ausência de correlações significativas entre fatores abióticos e cargas parasitárias de *R. microplus* já havia sido observada no Brasil, em áreas de Cerrado (KASAI *et al.*, 2000) e de Mata Atlântica (FONSECA *et al.*, 1999).

Outro estudo em uma área de transição entre Cerrado e Mata Atlântica descreveu um padrão similar de tendências negativas de correlação. Os autores observaram que contagens mais altas de carrapatos foram obtidas nos meses de menor temperatura e pluviosidade (SANTARÉM & SARTOR, 2003). Uma simulação computacional feita na Venezuela apontou para a mesma tendência, com contagens menores no período chuvoso e aumentando na seca (HERNÁNDEZ-A *et al.*, 2000).

Gomes *et al.* (2016) observaram uma correlação positiva não significativa entre cargas parasitárias e índices pluviométricos (0,39) em áreas de maior altitude do Cerrado. No entanto, o volume de chuva que registraram superou os volumes observados no presente estudo, enquanto as contagens de carrapatos foram inferiores. Estes autores obtiveram pico de 38 carrapatos em média, enquanto no presente experimento a média máxima observada foi de 123,67 carrapatos.

O mesmo padrão, com correlação positiva fraca entre contagens de carrapatos e índices pluviométricos (0,37), foi registrado em uma área do mesmo bioma com altitudes próximas às do trabalho aqui relatado (MARVULLO, 2014). Já no bioma de Mata Atlântica, em um ponto com altitudes também semelhantes às do presente estudo, uma correlação positiva forte foi verificada ao comparar contagens de carrapatos e volume de chuva (LIMA *et al.*, 2000).

Este padrão de correlações positivas foi reforçado quando avaliados os efeitos de diferentes cenários climáticos na aptidão de habitats para *R. microplus*. Estes autores observaram que aumentos, tanto de temperatura quanto de umidade, aumentaram também a susceptibilidade de uma área à infestação por carrapatos desta espécie (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2006b).

Em conclusão, é perceptível a existência de informações conflitantes referentes ao ciclo de vida parasitário de *R. microplus* em diferentes países e regiões, notadamente no território brasileiro. Isto é observado principalmente quando são consideradas as influências dos fatores ambientais sobre o período parasitário do ciclo deste ixodídeo.

Até em locais próximos e padrão climático similar, com o passar do tempo foi observada uma significativa mudança na dinâmica populacional. Isto reforça o fato de que o *R. microplus* possa estar se adaptando às mudanças climáticas e se tornando cada vez mais um entrave à pecuária.

Outro sinal significativo desta possível adaptação é a observação e definição de cinco gerações do carrapato bovino por ano. Tal possibilidade havia sido levantada por diferentes autores em variadas simulações, mas jamais havia sido efetivamente registrada até recentemente, sendo este estudo o primeiro a registrar este número por dois anos consecutivos.

O aumento no número de gerações anuais de *R. microplus* se torna mais alarmante quando se considera a ausência de correlações significativas da fase parasitária deste ixodídeo com as variáveis climáticas, não sendo esta etapa de seu ciclo efetivamente afetada por índices de precipitação pluviométrica, temperatura ambiental, temperatura diretamente na superfície do solo e umidade relativa do ar.

5. Referências

ALI, A.; PARIZI, L. F.; FERREIRA, B. R.; VAZ JUNIOR, I. S. A revision of two distinct species of *Rhipicephalus*: *R. microplus* and *R. australis*. **Ciência Rural**, v. 46, n. 7, p. 1240-1248, 2016.

ARAÚJO, J. V. Controle estratégico experimental do carrapato de bovinos *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae) em bezerros do município de Viçosa, zona da mata de Minas Gerais, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Sciences**, v. 31, n. 3-4, p. 216-220, 1994.

BANETH, G. Tick-borne infections of animals and humans: a common ground. **International Journal for Parasitology**, v. 44, p. 591-596, 2014.

BRIZUELA, C. M.; ORTELLADO, C. A.; SANCHEZ, T. I.; OSORIO, O.; WALKER, A. R. Formulation of integrated control of *Boophilus microplus* in Paraguay: analysis of natural infestations. **Veterinary Parasitology**, v. 63, p. 95-108, 1996.

BROVINI, C. N.; FURLONG, J.; CHAGAS, A. C. 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.

CARNEIRO, J. R.; CALIL, F.; PANICALI, E.; RODRIGUES, N. Ocorrência de Ixodidae e variação estacional do *Boophilus microplus* (Can., 1888) em bovinos da bacia leiteira de Goiânia-GO. **Revista de Patologia Tropical**, v. 21, n. 2, p. 235-242, 1992.

CEPAGRI – Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas à Agricultura. **Clima dos Municípios Paulistas – Jaboticabal**. Disponível em: cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima_muni_279.html>. Acesso: 16 jun. 2017.

COSTA-JUNIOR, L. M.; FURLONG, J.. Efficiency of sulphur in garlic extract and non-sulphur homeopathy in the control of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 25, p. 7-11, 2011.

CRISPIM, S. M. A.; BRANCO, O. D. **Aspectos gerais das braquiárias e suas características na sub-região da Nhecolândia, Pantanal, MS**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002. 26 p. (Embrapa-CPAP. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 33).

CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; MACIEL, W. G.; FELIPPELLI, G.; FÁVERO, F. C.; CRUZ, A. C.; BUZZULINI, C.; SOARES, V. E.; GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; OLIVEIRA, G.P.; COSTA, A. J. Effects of fluazuron (2.5 mg/kg) and a combination of fluazuron (3.0 mg/kg) + abamectin (0.5 mg/kg) on the reproductive parameters of a field population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* on experimentally infested cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 97, p. 80-84, 2014.

CRUZ, B. C.; LOPES, W. D. Z.; MACIEL, W. G.; FELIPPELLI, G.; FÁVERO, F. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; CARVALHO, R. S.; RUIVO, M. A.; COLLI, M. H. A.; SAKAMOTO, C. A. M.; DA COSTA, A. J.; DE OLIVEIRA, G. P. Susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin (200, 500 and 630 g/kg) in field studies in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 207, p. 309-317, 2015.

CSORDAS, B. G.; GARCIA, M. V.; CUNHA, R. C.; GIACHETTO, P. F.; BLECHA, I. M. Z.; ANDREOTTI, R. New insights from molecular characterization of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 3, p. 317-326, 2016.

DA SILVA, A. M.; ALENCAR, M. M.; REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S. Infestação natural de fêmeas bovinas de corte por ectoparasitas na região Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 7, p. 1477-1482, 2010.

ESTRADA-PEÑA, A. Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v. 34, n. 1, p. 53-65, 2015.

ESTRADA-PEÑA, A.; BOUATTOUR, A.; CAMICAS, J. L.; GUGLIELMONE, A. A.; HORAK, I.; JONGEJAN, F.; LATIF, A.; PEGRAM, R.; WALKER, A. R. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus *Boophilus* (Acari: Ixodidae) in Africa and Latin America. **Experimental and Applied Acarology**, v. 38, p. 219-235, 2006a.

ESTRADA-PEÑA, A.; CORSON, M.; VENZAL, J. M.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A. Changes in climate and habitat suitability for the cattle tick *Boophilus microplus* in its southern Neotropical distribution range. **Journal of Vector Ecology**, v. 31, i. 1, p. 158-167, 2006b.

ESTRADA-PEÑA, A.; SÁNCHEZ-ACEDO, C.; QUILEZ, J.; DEL CACHO, E. A retrospective study of climatic suitability for the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the Americas. **Global Ecology and Biogeography**, v. 14, p. 565-573, 2005.

ESTRADA-PEÑA, A.; VENZAL, J. M.; NAVA, S.; MANGOLD, A.; GUGLIELMONE, A. A.; LABRUNA, M. B.; DE LA FUENTE, J. Reinstatement of *Rhipicephalus (Boophilus) australis* (Acari: Ixodidae) with redescription of the adult and larval stages. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 4, p. 794-802, 2012.

EVANS, D. E. Tick infestation of livestock and tick control methods in Brazil: A situation report. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 13, i. 4, p. 629-643, 1992.

FONSECA, A. H.; PEREIRA, M. J. S.; FONSECA, A. H.; LEITE, R. C.; MARA, C. L. Dinâmica populacional do carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em São Miguel do Anta, MG, Brasil. **Revista da Universidade Rural, série ciências da vida**, v. 21, n. 1-2, p. 31-39, 1999.

FONSECA, A. H.; PEREIRA, M. J. S.; GÓES, M. H. B.; SILVA, J. X. Distribuição espaço-temporal de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae), analisada por geoprocessamento, no município de Seropédica, estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 14, n. 4, p. 167-172, 2005.

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

FURLONG, J.; SALES, R. O. Controle estratégico de carrapatos no bovino de leite: uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 2, p. 44-72, 2007.

GHOSH, S.; BANSAL, G. C.; GUPTA, S. C.; RAY, D.; KHAN, M. Q.; IRSHAD, H.; SHAHIDUZZAMAN, M.; SEITZER, U.; AHMED, J. S. Status of tick distribution in Bangladesh, India and Pakistan. **Parasitology Research**, v. 101 Suppl 2, p. s207-s216, 2007.

GOMES, C. C. G. **O carrapato-do-boi e o manejo de resistência aos carrapaticidas**. Bagè, RS: Embrapa Pecuária Sul, 2009, p. 1-5.

GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; 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. Acaricidal effects of fluazuron (2.5 mg/kg) and a combination of fluazuron (1.6 mg/kg) + ivermectin (0.63 mg/kg), administered at different routes, against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* parasitizing cattle. **Experimental Parasitology**, v. 153, p. 22-28, 2015.

GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; TEIXEIRA, W. F. P.; MACIEL, W. G.; CRUZ, B. C.; FELIPPELLI, G.; BUZZULINI, C.; SOARES, V. E.; DE MELO, D. P.; BICHUETTE, M. A.; JUNIOR, G. G.; DA COSTA, A. J. Population dynamics and evaluation of 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, p. 72-76, 2016.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEÓN, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.

HERNÁNDEZ-A, F.; TEEL, P. D.; CORSON, M. S.; GRANT, W. E. Simulation of rotational grazing to evaluate integrated pest management strategies for *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in Venezuela. **Veterinary Parasitology**, v. 92, p. 139-149, 2000.

KASAI, N.; LABRUNA, M. B.; PIRES, A. V.; LOUVANDINI, H.; ABDALLA, A. L.; GENNARI, S. G. Dinâmica populacional de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) em bovinos leiteiros mantidos em manejo de pastejo rotativo de capim-elefante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p. 453-458, 2000.

KLAFKE, G.; WEBSTER, A.; DALL'AGNOL, B.; PRADEL, E.; SILVA, J.; DE LA CANAL, L. H.; BECKER, M.; OSÓRIO, M. F.; MANSSON, M.; BARRETO, R.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSINI, V. B.; DOS SANTOS, J.; 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, i. 1, p. 73-80, 2017.

LABRUNA, M. B.; VERÍSSIMO, C. J. Observações sobre a infestação por *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em bovinos mantidos em rotação de pastagem, sob alta densidade animal. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, n. 2, p. 115-120, 2001.

LABRUNA, M. B.; LEITE, R. C.; DE OLIVEIRA, P. R.. Study of the Weight of Eggs from Six Ixodid Species from Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 2, p. 205-207, 1997.

LEITE, G. G.; MACHADO, F. O. C. **Capim "Coast-Cross" (*Cynodon dactylon* (L.) Pers)**. Planaltina: Embrapa: CPAC, 1999, p. 1-6.

LIMA, W. S.; RIBEIRO, M. F.; GUIMARÃES, M. P. Seasonal variation of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) in cattle in Minas Gerais state, Brazil. **Tropical Animal Health & Production**, v. 32, p. 375-380, 2000.

LOW, V. L.; TAY, S. T.; KHO, K. L.; KOH, F. X.; TAN, T. K.; LIM, Y. A. L.; ONG, B. L.; PANCHADCHARAM, C.; NORMA-RASHID, Y.; SOFIAN-AZIRUN, M. Molecular characterization of the tick *Rhipicephalus microplus* in Malaysia: new insights into the cryptic diversity and distinct genetic assemblages throughout the world. **Parasites & Vectors**, v. 8, p. 341, p. 1-10, 2015.

LOPES, W. D. Z.; TEIXEIRA, W. F. P.; DE MATOS, L. V. S.; FELIPPELLI, G.; CRUZ, B. C.; MACIEL, W. G.; BUZZULINI, C.; FÁVERO, F. C.; SOARES, V. E.; DE OLIVEIRA, G. P.; DA COSTA, A. J. Effects of macrocyclic lactones on the reproductive parameters of engorged *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* females detached from experimentally infested cattle. **Experimental Parasitology**, v. 135, p. 72-78, 2013.

LOPES, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; FELIPPELLI, G.; MACIEL, W. G.; BUZZULINI, C.; GOMES, L. V. C.; FÁVERO, F. C.; SOARES, V. E.; BICHUETTE, M.A.; DE OLIVEIRA, G. P.; DA COSTA, A. J. Efficacy of fipronil (1.0 mg/kg) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistant to ivermectin (0.63 mg/kg). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 115, p. 88-93, 2014.

MACIEL, W. G.; LOPES, W. D. Z.; GOMES, L. V. C.; CRUZ, B. C.; FELIPPELLI, G.; DOS SANTOS, I. B.; BORGES, F. A.; JUNIOR, W. A. G.; SCARPA, A. B.; NICARETTA, J. E.; BASTOS, T. S. A.; DA COSTA, A. J. 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, p. 74-86, 2016.

MANGOLD, A. J.; AGUIRRE, D. H.; GAIDO, A. B.; GUGLIELMONE, A. A. Seasonal variation of ticks (Ixodidae) in *Bos Taurus* x *Bos indicus* cattle under rotational grazing in forested and deforested habitats in northwestern Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 54, p. 389-395, 1994.

MARVULLO, A. H. F. **Distribuição anatômica e dinâmica populacional do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos do município de Óleo, São Paulo**. 2014. 66 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes) – Universidade Norte do Paraná, Univ. Estadual de Londrina, Arapongas, 2014.

MATYSIAK, A.; DUDKO, P.; DUDEK, K.; DUDEK, M.; JUNKUSZEW, A.; TRYJANOWSKI, P. The occurrence of pathogens in *Rhipicephalus microplus* ticks from cattle in Madagascar. **Veterinarni Medicina**, v. 61, i. 9, p. 516-523, 2016.

MOREL, N.; SIGNORINI, M. L.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A.; NAVA, S. Strategic control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation on beef cattle grazed in *Panicum maximum* grasses in a subtropical semi-arid region of Argentina. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 144, p. 179-183, 2017.

NAVA, S.; MASTROPAOLO, M.; GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A. J. Effect of deforestation and introduction of exotic grasses as livestock forage on population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in northern Argentina. **Research in Veterinary Science**, v. 95, p. 1046-1054, 2013.

PATZ, J. A.; GRACZYK, T. K.; GELLER, N.; VITTOR, A. Y. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1395-1405, 2000.

PEREIRA, A. A. **Aspectos ecológicos de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae) no município de Franca, nordeste de São Paulo**. 2008. 113 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – área de Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2008.

PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J.; KLAFKE, G. M. ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: biologia, controle e resistência**. São Paulo: MedVet, 2008. p. 21-25, 65-90.

RECK, J.; KLAFKE, G. M.; WEBSTER, A.; DALL'AGNOL, B.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSINI, V. B.; VARGAS, R.; SANTOS, J. S.; MARTINS, J. R. S. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: A field tick population resistant to six classes of acaricides. **Veterinary Parasitology**, v. 201, p. 128-136, 2014.

ROCHA, C.M.B.M. **Aspectos relevantes da biologia do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887)**. Lavras: Editora UFLA, 1999, p. 1-20.

SANTARÉM, V. A.; SARTOR, I. F. Fase de vida livre e flutuação sazonal do *Boophilus microplus* em Botucatu, São Paulo, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 11-20, 2003.

SNOWBALL, G. J. Ecological observations on the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 8, i. 4, p. 394-413, 1957.

SUTHERST, R. W.; BOURNE, A. S. The effect of desiccation and low temperature on the viability of eggs and emerging larvae of the tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Ixodidae). **International Journal of Parasitology**, v. 36, p. 193-200, 2006.

VERÍSSIMO, C. J.; DA SILVA, R. G.; DE OLIVEIRA, A. A. D.; RIBEIRO, W. R.; ROCHA, U. F. Contagens de ínstares do carrapato *Boophilus microplus* em bovinos mestiços. **Boletim da Indústria Animal**, v. 54, n. 2, p. 19-24, 1997.

WIKEL, S. K.; ALLEN, J. R. Immunological basis of host resistance to ticks. In: OBENCHAIN, F. D.; GALUN, R. **Physiology of ticks**. Oxford: Pergamon Press Ltd., 1992, p. 169-191.

WILKINSON, P. R. Observations on infestations of undipped cattle of British breeds with the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini). **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 6, p. 655-665, 1955.

CAPÍTULO 3 – Comparação de três metodologias para análise de variáveis biológicas da fase de vida livre de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae)

Resumo – O presente estudo objetivou a comparação de três metodologias utilizadas para a avaliação da fase de vida livre do carrapato bovino. Trinta repetições foram feitas para cada método: gaiolas de tela metálica, tubos metálicos ao nível do solo e teleóginas dispostas livremente na pastagem. Avaliações diárias foram conduzidas, ao longo de dois anos, registrando todas as variáveis biológicas dos carrapatos. Ao término de cada geração, uma nova repetição foi feita, totalizando cinco gerações consecutivas. Os resultados obtidos permitiram definir os tubos metálicos como propícios para avaliação dos parâmetros dependentes das teleóginas (pré-postura e postura), a análise das fêmeas livres em canteiros como ideal para observação da fase dos ovos (incubação e pré-eclosão) e o uso de gaiolas metálicas para obtenção dos melhores resultados para a fase larval (maturação e longevidade). As gaiolas, de forma geral, apresentaram menor oscilação de valores e permitiram que um maior número de repetições apresentasse seus dados totais, evitando ação de predadores que afetaram a obtenção de dados nos canteiros com fêmeas livres, e não sofrendo ação de agentes entomopatogênicos que interferiram nos dados obtidos pelos tubos. Ainda assim, o ideal é a utilização concomitante das três metodologias, com número considerável de repetições, permitindo obtenção de valores que suportem a definição das durações reais das variáveis biológicas deste ixodídeo em condições de campo.

Palavras chave: Avaliação na pastagem; Carrapato bovino; Fase não parasitária; Gaiolas teladas; Teleóginas livres; Tubos metálicos.

1. Introdução

Na última década, subdividiu-se o que até então era conhecido como *R. microplus* (LABRUNA *et al.*, 2009), redescrivendo *Rhipicephalus (Boophilus) australis* e diferenciando definitivamente ambas as espécies, com suporte de evidências moleculares, taxonômicas e morfológicas (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2012).

Desde então, estudos tem sido direcionados à caracterização molecular deste ixodídeo, trazendo novas informações sobre conjuntos genéticos distintos. Diversidades haplotípicas foram detectadas mesmo dentro do Brasil, com ao menos duas populações distintas (LOW *et al.*, 2015; CSORDAS *et al.*, 2016). O conhecimento da diversidade genética de *R. microplus* torna-se essencial para esclarecer a distribuição destes grupos distintos, assim como modificações de sua biologia e ecologia (ALI *et al.*, 2016).

A dinâmica populacional e o comportamento específico de cada cepa, grupo genético ou população, vão ser distintamente influenciados pelas condições ambientais e climáticas, assim como do hospedeiro, em determinadas regiões, áreas, biomas ou climas específicos, reiterando a necessidade de novas e constantes pesquisas sobre o tema (LABRUNA & VERÍSSIMO, 2001). Características relacionadas ao ambiente e aos fatores climáticos (temperatura e umidade relativa do ar) são aquelas com maior influência na fase de vida não parasitária dos carrapatos. O próprio dinamismo da tríade epidemiológica, mesmo nesta etapa onde não estão envolvidos os hospedeiros, permite que novos fatores estejam constantemente modificando os padrões destas relações em áreas específicas (PFÄFFLE *et al.*, 2013).

Mudanças no habitat e microclima, entre outros fatores, induzem assim um impacto significativo nas características ecológicas dos carrapatos e dos patógenos que transmitem (NAVA *et al.*, 2013), assumindo papel essencial na determinação dos padrões de dispersão e crescimento populacional (TEEL *et al.*, 1996). Cada alteração em um habitat muda completamente o balanço ecológico e o contexto no qual cada hospedeiro, vetor ou parasito se reproduz, desenvolve e eventualmente transmite patógenos. Pesquisas focando na biologia e ecologia de determinados parasitos, baseadas nas mudanças climáticas e ambientais, se tornam necessárias para prever o impacto de tais mudanças no ciclo de vida dos parasitos e das doenças transmitidas pelos mesmos (PATZ *et al.*, 2000).

Apesar da ampla gama de modelos disponíveis para prever o impacto das mudanças climáticas sobre os parasitos, ainda são necessárias pesquisas específicas que avaliem cada processo do ciclo, para definir a importância de cada variável ambiental em cada etapa do ciclo (ESTRADA-PEÑA, 2015).

Assim, este estudo objetivou comparar três metodologias empregadas no estudo da ecologia e biologia de *R. microplus* durante seu ciclo de vida livre (nas pastagens). Procurou também determinar os fatores que possam influenciar os resultados em cada metodologia e, assim, propor a melhor maneira para avaliação desta etapa do ciclo biológico do carrapato bovino em futuros estudos.

2. Material e Métodos

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/UNESP aprovou a realização deste experimento (protocolo nº 11511/14). O estudo teve duração de dois anos consecutivos, iniciado em 01º de abril de 2015, próximo ao início do outono (dia experimental zero).

Para sua realização, utilizou-se um piquete de *Urochloa decumbens* localizado no Centro de Pesquisas em Sanidade Animal, CPPAR, Departamento de Patologia Animal da FCAV/UNESP, em Jaboticabal, São Paulo (21º 14' 43" Sul, 48º 17' 03" Oeste). Esta área foi cultivada unicamente para o projeto, não recebendo em nenhum momento animais (hospedeiros).

O piquete foi dividido com a utilização de arames em diversos pontos de um metro quadrado cada, distribuídos em seguida aos três grupos de avaliação, os quais foram caracterizados pelas diferentes metodologias comparadas: gaiolas de tela metálica, tubos metálicos ao nível do solo e fêmeas livres na pastagem.

2.1. Grupo I: gaiolas de tela metálica

Em trinta pontos da pastagem ($n = 30$), que foram demarcados por gaiolas, foi realizada a avaliação das teleóginas em uma área significativa da gramínea. Estas fêmeas puderem se comportar livremente, porém as gaiolas instaladas rente ao nível do solo restringiram a entrada de predadores e eventuais hospedeiros. Estas gaiolas foram confeccionadas por uma estrutura metálica de ferro galvanizado nas dimensões de 60 centímetros (cm) de largura em cada um dos lados e 90 cm de altura acima do nível do solo, com quatro fixadores de cerca de 10 cm cada, para manter a estrutura rente ao solo.

As quatro laterais (90 x 60 cm) e a parte superior (60 x 60 cm) das gaiolas foram posteriormente revestidas por tela metálica do tipo “mosquiteiro”. Esta altura objetivou não interferir no crescimento da *U. decumbens* e na manutenção das larvas de carrapato em suas extremidades. Cada gaiola (Figura 1 A) recebeu 10 teleóginas por repetição (n = 300), colocadas no solo e protegidas da luz solar em meio à vegetação, com microclima adequado às mesmas (ESTRADA-PEÑA, 2015).

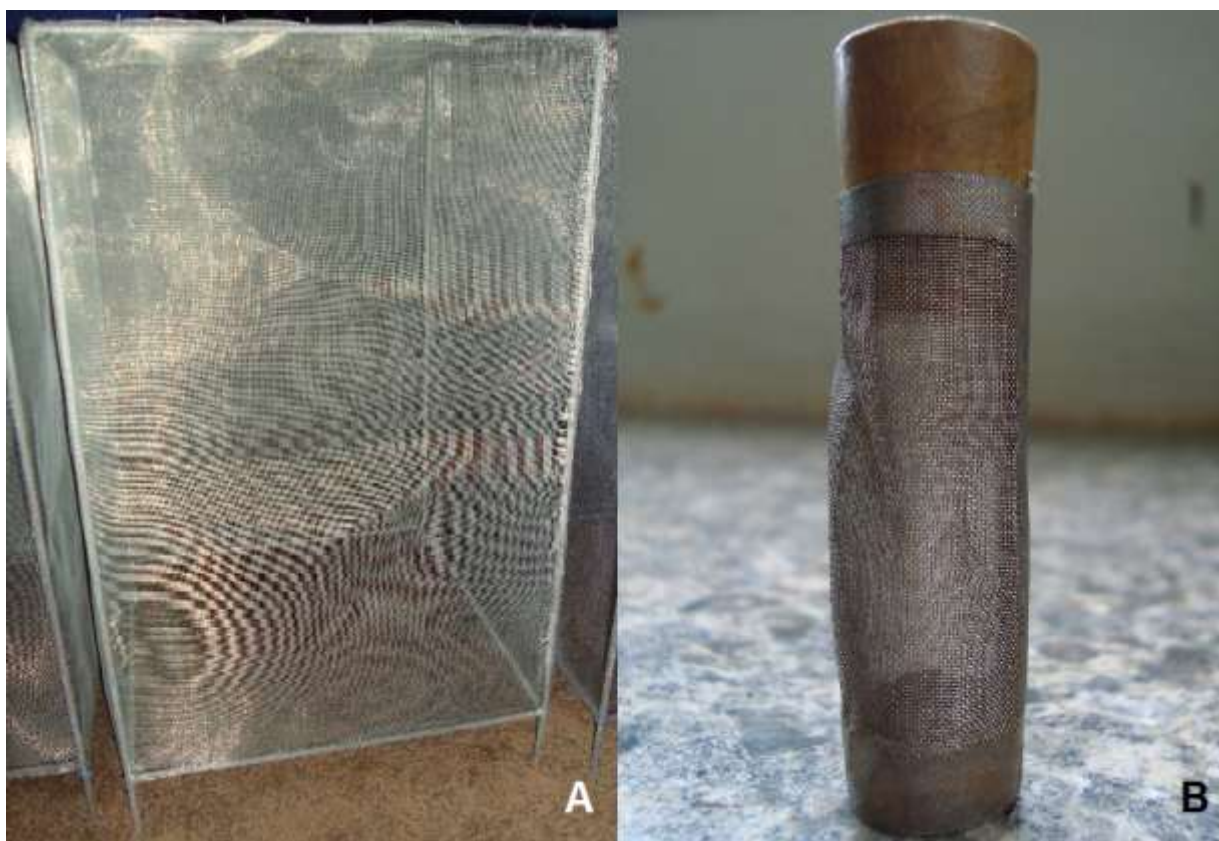


Figura 1. Materiais confeccionados para teste de duas metodologias de análise de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no ambiente (vida livre). **A.** Gaiolas de tela metálica (90 x 60 x 60 cm). **B.** tubos metálicos (4,5 x 1,5 cm).

2.2. Grupo II: tubos metálicos ao nível do solo

Os trinta pontos seguintes (n = 30) da pastagem experimental receberam pequenos tubos confeccionados de tela metálica (Figura 1 B). Foi utilizada tela com 39 malhas por centímetro linear, soldada no formato de um cilindro com 45 milímetros (mm) de comprimento por 15 mm de diâmetro.

Cada cilindro tinha a extremidade superior vedada pela mesma tela e a inferior fechada por uma rolha de cortiça, utilizada para a visualização do seu conteúdo e condução das análises. Os tubos receberam uma única teleógina cada ($n = 30$), sendo os mesmos então dispostos horizontalmente ao nível do solo, protegidos da luz solar pelo microambiente criado pela base da própria gramínea, propício ao desenvolvimento dos ixodídeos (ESTRADA-PEÑA, 2015).

2.3. Grupo III: teleóginas dispostas livremente na pastagem

Os trinta pontos remanescentes ($n = 30$) foram “infestados” livremente com 10 teleóginas cada ($n = 300$). Todas as teleóginas destes pontos foram dispostas no ponto central de cada canteiro, demarcado por uma estaca de madeira.

Nesta metodologia foi permitida livre locomoção das fêmeas, sem restringir também a ação de predadores presentes na área do experimento. Partindo do ponto central, os canteiros eram avaliados como um todo em cada data experimental. As fêmeas de *R. microplus* utilizadas para a infestação destes pontos, assim como nas gaiolas, também foram protegidas da luz solar pela própria vegetação, em um microclima propício ao seu desenvolvimento (ESTRADA-PEÑA, 2015).

2.4. Avaliações das variáveis biológicas do carrapato bovino

As observações dos canteiros foram realizadas diariamente com o auxílio de lupa binocular com aumento de duas vezes, evitando-se movimentos bruscos (OLIVEIRA *et al.*, 1974). Destas avaliações diárias foram obtidas as variáveis biológicas que compõem a fase de vida não parasitária de *R. microplus*.

Esta etapa do ciclo do carrapato bovino (vida livre) pode ser dividida didaticamente em duas grandes etapas: a fase de fêmeas e ovos, antes da eclosão da próxima geração de ixodídeos, e a fase larval, até que estas encontrem um hospedeiro e dêem continuidade ao ciclo. Definiu-se toda a fase de fêmeas e ovos no ambiente como período de pré-eclosão (PE). Este é o tempo compreendido desde a soltura das teleóginas na pastagem até a observação das primeiras larvas (PFÄFFLE *et al.*, 2013). Tal período englobou, assim, as variáveis biológicas de pré-postura (PP), postura (PO) e incubação dos ovos (INC).

O período de pré-postura foi considerado como o tempo decorrido entre a soltura das teleóginas e o início da oviposição. Até a visualização do primeiro ovo de cada fêmea, as observações foram realizadas diariamente. A duração da variável da postura foi compreendida desde a observação do primeiro ovo de cada fêmea, até que esta viesse a produzir seu último ovo. A incubação foi definida como o tempo transcorrido entre o primeiro dia da postura e a observação da eclosão da primeira larva oriunda daquela massa de ovos (SANTARÉM & SARTOR, 2003).

A fase larval inicia-se neste momento, primeiramente com o tempo até que as larvas atinjam plena capacidade infestante, demonstrada por meio do geotropismo negativo, denominado período de maturação. Em seguida foi observada a longevidade, até que a última larva de uma massa de ovos morra. Para a longevidade das larvas (LONG), o espaço de tempo entre a detecção da primeira larva de uma progênie e o desaparecimento da última larva foi considerado. As larvas foram detectadas por meio de observações visuais e tácteis, até o desaparecimento destas na extremidade das gramíneas, ou a mortalidade em todos os tubos (PEREIRA, 2008). No caso das teleóginas livres (61-90) ou em gaiolas (01-30), sua detecção contou com auxílio de uma flanela branca passada pelo canteiro. Larvas detectadas desta forma eram devolvidas à pastagem (PANDA *et al.*, 1992).

Das durações obtidas para cada variável, nos 30 canteiros de uma metodologia, foram calculados os valores médios destas em cada geração. No caso das gaiolas (01-30) e fêmeas livres (61-90), a duração de cada variável para cada canteiro foi calculada pela média obtida das 10 fêmeas utilizadas nestes pontos.

Em todas as datas de observação foi realizada a captura de possíveis predadores presentes nos canteiros experimentais, sendo os mesmos fixados individualmente em álcool 70°. Quaisquer espécies de artrópodes que pudessem preda os carrapatos foram capturadas e registradas, buscando estimar o possível impacto deste fenômeno sobre os dados obtidos por cada metodologia.

Todo o processo observacional iniciado com a soltura das teleóginas, denominado repetição ou geração, foi realizado consecutivamente após a morte das últimas larvas. Esta sucessão de gerações objetivou definir a variação dos parâmetros reprodutivos de *R. microplus* ao longo do ano, além do número real de gerações anuais deste ixodídeo observadas ao longo dos dois anos de estudo.

Assim que as últimas larvas de uma repetição desapareceram da pastagem, uma nova série foi iniciada com a soltura de novas teleóginas em todos os 90 canteiros experimentais (n = 630 teleóginas por repetição).

3. Resultados

Os valores médios obtidos para cada variável biológica, nas 30 repetições de cada metodologia (grupo I: gaiolas de tela metálica; grupo II: tubos metálicos ao nível do solo; grupo III: teleóginas dispostas livremente nas pastagens), em cada uma das repetições conduzidas no campo (gerações), estão expressos na Tabela 1.

Outro fator considerado como parâmetro de comparação entre os três grupos experimentais foi o número de pontos de avaliação (canteiros) que obtiveram apenas resultados parciais. Nos casos de dados parciais em uma repetição, não foi possível neste canteiro o cálculo de todas as variáveis biológicas. Tais valores estão expressos de forma percentual na Tabela 1.

Os menores períodos de pré-postura e as posturas mais longas foram registrados nos tubos metálicos, seguidos pelos canteiros com fêmeas livres. As incubações e períodos de pré-eclosão mais curtos foram observadas principalmente em canteiros onde as teleóginas foram dispostas livremente, seguidas daqueles com gaiolas teladas. Já as maturações mais céleres das larvas e as maiores longevidades das mesmas foram registradas em canteiros onde os carrapatos estavam protegidos por gaiolas de tela metálica.

Ao considerar as durações médias durante todo o período observacional, não avaliando separadamente as gerações, houve alguma variação neste perfil. Neste caso as gaiolas apresentando os melhores valores para incubação, pré-eclosão e longevidade; os tubos se mantiveram destacados para pré-postura e postura; os canteiros com fêmeas livres demonstraram melhores valores para a maturação das larvas. As gaiolas foram aquelas que indicaram menores amplitudes para os períodos de pré-postura, incubação e pré-eclosão. As menores oscilações das durações da postura, maturação e longevidade foram observadas nos canteiros com fêmeas dispostas livremente.

Tabela 1. Valores médios, desvios padrão e amplitude de cada variável biológica avaliada, além do percentual de dados parciais, em cada uma das repetições em canteiros com fêmeas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Variáveis analisadas	Metodologia empregada	Gerações/repetições consecutivas ao longo de dois anos																	
		Geração 1 (183 dias)			Geração 2 (127 dias)			Geração 3 (159 dias)			Geração 4 (152 dias)			Geração 5 (102 dias)			Média dos dois anos (723 dias)		
		Média	Desvio padrão	Amplitude	Média	Desvio padrão	Amplitude	Média	Desvio padrão	Amplitude	Média	Desvio padrão	Amplitude	Média	Desvio padrão	Amplitude	Média	Desvio padrão	Amplitude
Pré-Postura (dias)	Gaiolas	4,50	1,39	6,00	4,30	1,58	8,00	3,01	0,95	3,33	3,56	0,76	3,50	2,48	0,16	1,00	3,56	1,32	8,00
	Tubos	2,57	0,90	3,00	4,77	1,28	8,00	2,63	1,35	4,00	2,70	0,53	2,00	2,30	0,47	1,00	2,99	1,32	9,00
	Livres	3,29	1,74	7,50	4,09	1,37	7,00	2,88	1,11	4,00	4,53	0,83	4,00	1,47	0,41	2,00	3,21	1,58	9,00
Postura (dias)	Gaiolas	25,39	3,26	15,00	9,90	5,39	21,50	10,02	3,97	16,00	10,70	3,57	12,43	7,64	1,29	4,70	12,65	7,35	31,00
	Tubos	26,54	10,65	40,00	13,83	8,14	31,00	18,50	5,13	17,00	20,08	5,59	23,00	11,40	4,58	18,00	17,98	8,75	46,00
	Livres	18,35	5,01	16,00	5,60	3,55	13,00	7,48	4,65	17,50	13,86	3,73	16,34	14,60	2,49	10,90	11,78	5,84	27,00
Incubação (dias)	Gaiolas	45,12	4,40	21,50	30,06	5,75	20,50	26,86	1,30	5,00	50,87	4,96	23,00	25,88	1,54	5,50	35,51	11,08	42,00
	Tubos	46,81	4,24	20,00	39,29	8,93	33,00	28,37	1,52	5,00	55,64	7,90	40,00	32,29	7,24	19,00	39,91	11,84	50,00
	Livres	43,13	3,51	10,00	29,30	6,14	18,00	26,66	1,54	6,00	72,84	6,34	27,50	25,26	4,19	21,00	38,50	19,82	67,00
Pré-Eclosão (dias)	Gaiolas	50,68	3,22	11,00	36,72	3,61	20,00	29,87	1,04	5,00	54,43	4,77	23,00	28,36	1,55	5,50	39,66	11,19	42,00
	Tubos	49,27	4,48	22,00	43,90	8,48	33,00	31,00	1,51	6,00	58,40	7,77	39,00	34,61	7,16	19,00	42,78	11,84	51,00
	Livres	47,38	4,72	15,00	33,00	6,80	23,00	29,54	1,23	5,50	77,04	6,20	27,00	26,72	4,23	21,00	40,81	19,98	67,00
Maturação (dias)	Gaiolas	9,12	5,83	25,00	2,79	1,01	4,00	2,88	0,86	4,00	6,74	4,42	24,50	4,44	1,45	5,50	5,08	4,01	27,00
	Tubos	8,65	3,92	16,00	7,05	5,21	20,00	5,90	2,28	7,00	11,96	6,30	24,00	9,46	4,56	20,00	8,57	4,95	26,00
	Livres	5,40	2,03	6,00	3,23	1,52	7,00	3,06	0,86	2,67	6,14	1,98	7,00	5,29	3,12	15,33	4,48	2,37	15,33
Longevidade (dias)	Gaiolas	108,00	8,84	38,00	70,62	12,05	54,00	98,65	18,01	49,00	84,69	9,51	40,70	46,16	15,34	51,00	80,78	25,41	108,50
	Tubos	91,48	25,99	105,00	31,84	23,27	78,00	75,48	21,31	86,00	52,80	16,83	61,00	33,44	19,08	55,00	58,84	31,33	130,00
	Livres	101,50	10,73	37,00	59,57	10,92	40,00	81,92	4,16	14,50	44,88	11,57	45,00	50,58	11,01	49,20	62,57	19,68	99,00
Duração Total (dias)	Gaiolas	158,68	8,69	36,00	107,34	11,16	53,00	128,52	18,15	48,00	139,12	7,88	32,00	74,52	15,13	49,00	120,45	31,35	125,00
	Tubos	137,23	30,61	123,00	73,00	21,87	84,00	103,97	24,36	110,00	111,20	13,49	51,00	66,50	16,04	63,00	99,65	33,79	149,00
	Livres	148,88	11,59	37,00	92,57	10,39	37,00	111,47	3,54	9,00	121,68	8,15	27,00	77,30	9,89	51,00	103,03	22,11	120,00
Percentuais de obtenção de dados parciais	Gaiolas	16,67		13,33		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		6,00			
	Tubos	23,33		36,67		3,33		16,67		16,67		16,67		19,33					
	Livres	73,33		30,00		0,00		16,67		0,00		24,00							
	Média total por geração	37,78		26,67		1,11		11,11		5,56		16,44							

Durante os dois anos do estudo foram registrados as seguintes quantidades, por ordem, de espécies potencialmente predadoras de carrapatos: 15 aranhas (Ordem Araneae); sete centopeias e lacraias (Ordem Spirobolida); cinco tesourinhas (Ordem Dermaptera); quatro formigas (Ordem Hymenoptera); seis besouros (Ordem Hemiptera); um escorpião (Ordem Scorpiones); um opilião (Ordem Opiliones); um cupim (Ordem Dictyoptera; responsáveis pelo enterramento dos ovos) e três insetos sem identificação, totalizando 43 artrópodes predadores.

Um roedor não identificado, roedores maiores (gênero *Cavia* spp), lagartos (gênero *Tupinambis* spp) e aves (ordens Passeriformes, Columbiformes, Cuculiformes, Piciformes e Psittaciformes) foram observados. A efetiva predação foi constatada visualmente por aranhas, formigas, escolopendras e forficulídeos.

4. Discussão

O presente estudo focou em comparar três diferentes metodologias utilizadas para avaliar diretamente a fase não parasitária de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. A cepa de carrapatos utilizada para este experimento, denominada cepa CAMPO, é mantida no centro de pesquisas (CPPAR) há pelo menos cinco anos, sendo caracterizada por distintos graus de resistência a diferentes acaricidas, como as lactonas macrocíclicas (LOPES *et al.*, 2013; LOPES *et al.*, 2014; CRUZ *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2015) e o fluazuron (CRUZ *et al.*, 2014; MACIEL *et al.*, 2016).

O período que os carrapatos passam no ambiente é responsável por determinar a duração de seu ciclo e o conseqüente número de gerações anuais (MASTROPAOLO *et al.*, 2017). Nesta fase de vida livre, é possível identificar sinais indicativos da adaptação deste parasito às mudanças climáticas, além de determinar quais fatores ecológicos impactam mais significativamente sua biologia. Este período de seu ciclo também tem se mostrado de extrema relevância quando se considera o manejo da resistência por meio de metodologias variadas, tais como utilização de acaricidas no ambiente, rotação de pastagens, uso de técnicas de refúgio, impedimento da entrada de novos indivíduos resistentes em uma população, entre outras técnicas (ABBAS *et al.*, 2014; GUERRERO *et al.*, 2014).

Considerando o perfil ideal de todas estas variáveis individuais no ciclo completo de vida livre do carrapato, uma pré-postura mais longa, aumentando as chances da teleóquina ser predada antes de começar a oviposição, e uma postura menor, indicando sua potencial interrupção precoce, são fatores prejudiciais à manutenção do mesmo (SANTARÉM & SARTOR, 2003). Os prolongamentos dos períodos de incubação dos ovos e de pré-eclosão como um todo são também deletérios, assim como um maior tempo de maturação larval, ou seja, uma demora até que estas consigam infestar seus hospedeiros. O ideal é a eclosão mais breve das larvas, buscando imediata infestação de novos hospedeiros e formação de uma nova geração de carrapatos (BRIZUELA *et al.*, 1996; PEREIRA, 2008).

A longevidade muito curta das larvas também é decididamente negativa para o ciclo de *R. microplus*. Mesmo que na medida em que as larvas ficam expostas no ambiente suas reservas energéticas vão se esgotando, diminuindo seu poder de fixação, em regiões ou épocas do ano de menor disponibilidade de hospedeiros (taxas de encontro reduzidas), quanto mais as larvas sobrevivem, maior a chance de se efetivamente encontrarem um hospedeiro e se fixarem a ele, dando continuidade ao seu ciclo biológico (FURLONG *et al.*, 2002).

Tanto as gaiolas quanto as fêmeas livres mantiveram as teleóquinas em condições mais próximas ao que estas efetivamente enfrentam em ambientes naturais quando comparadas aos tubos, permitindo o hábito de enterramento das fêmeas, além da possibilidade de se agruparem para realizar a postura. Tais hábitos, já indicados como responsáveis por maior longevidade larval (PANDA *et al.*, 1992), foram amplamente observados no presente estudo, em diversas repetições. Estes pontos podem explicar a oscilação menor nos resultados destas metodologias.

A predação dos carrapatos por artrópodes, aves e roedores é fator conhecido há mais de um século como prejudicial à manutenção do ciclo destes ixodídeos no ambiente, assim como da manutenção de suas populações (HUNTER & HOOKER, 1907). É muito comum que sejam estudada, como forma alternativa de auxiliar o controle de *R. microplus*, a introdução de diversos artrópodes no ambiente, tais como aranhas, formigas, dípteros e forficulídeos (VERÍSSIMO, 2013). Todos estes foram encontrados na pastagem ao longo dos dois anos de avaliação, com alguns deles sendo observados efetivamente predando os carrapatos.

A interferência de predadores na análise da fase de vida livre do carrapato bovino foi registrada também por Pereira (2008). Este autor não conseguiu observar larvas nos canteiros durante boa parte de seu experimento, associando este fato à predação de ovos e fêmeas por formigas, sem ter observado quaisquer vestígios de nenhum outro predador em potencial. Brovini *et al.* (2003) também relataram a presença de predadores em seu estudo, mas identificaram somente um coleóptero da família Lampyridae (vagalume) e uma espécie de forficulídeo.

O maior impacto da predação no presente experimento foi observado ao longo do outono, na primeira geração, sendo mais significativo em canteiros onde as fêmeas eram dispostas livremente. Um perfil diferente de sazonalidade da predação foi registrado por Brovini *et al.* (2003), com índices de predação e mortalidade de fêmeas mais altos registrados ao longo do verão. Nesta repetição, 22 dos 30 canteiros com fêmeas livres e cinco dos 30 canteiros protegidos por gaiolas apresentaram apenas dados parciais, relacionados à ação dos predadores. Nenhum indício de roedores, aves ou répteis foi observado dentro das gaiolas.

Apesar das gaiolas teladas serem fixadas rentes ao solo, em alguns pontos a barra não acompanhava com exatidão a superfície, permitindo a entrada de artrópodes. Ainda assim, a redução da predação nas mesmas foi observada, quando comparadas aos canteiros livres, na 1ª, 2ª e 4ª gerações. Na 3ª e 5ª gerações não foi observada predação de teleóginas ou ovos em nenhum canteiro.

Obviamente, a predação de teleóginas não impactou os resultados obtidos pelos tubos metálicos, onde as fêmeas se encontravam protegidas de quaisquer seres macroscópicos. Nem mesmo formigas menores foram capazes de adentrar os tubos. Em apenas um momento, um roedor carregou um destes para fora de seu canteiro de origem, roendo parcialmente sua tampa. Ainda assim, o tubo permaneceu fechado e sua teleógina continuou a postura normalmente.

Porém, os tubos apresentaram pontos com dados parciais em todas as gerações, ao longo dos dois anos do experimento. Quando a fase de pré-eclosão situou-se na primavera (segunda geração), foram os canteiros desta metodologia que apresentaram o maior número de dados parciais (11 de 30 repetições), possivelmente relacionado ao alto índice pluviométrico apresentado no decorrer desta repetição, que levou a proliferação de diferentes fungos nos tubos.

Colônias de fungos foram efetivamente observadas neste experimento em grande parte dos tubos. Estas nem sempre interferiram no desenvolvimento dos carrapatos e ocorreram em todas as gerações, mas com maior incidência nos períodos chuvosos. Algumas espécies de fungos, predominantemente *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, são reconhecidamente capazes de colonizar os carrapatos, agindo principalmente nas teleóginas (GARCIA *et al.*, 2011).

A observação de algumas variedades de fungos no presente estudo de forma mais intensa e frequente ao longo dos períodos mais chuvosos do ano, está de acordo com o descrito por GARCIA *et al.* (2011), que registrou a alta influência dos fatores abióticos sobre populações fúngicas, principalmente a umidade relativa do ar, diretamente relacionada aos índices de precipitação pluviométrica.

De forma geral, o maior volume de dados parciais, ou seja, repetições onde o carrapato bovino não foi capaz de completar seu ciclo de vida livre, foi registrado para os canteiros com fêmeas livres, seguidos pelos tubos metálicos, com o menor percentual sendo registrado em canteiros protegidos por gaiolas de tela metálica.

Baseando-se nos parâmetros biológicos que foram previamente descritos como ideais para o ciclo biológico do carrapato bovino, foi possível concluir que, de forma geral, os tubos metálicos são melhores para se avaliar a fase dependente das fêmeas no ambiente, ou seja, pré-postura e postura. Isto pode ser explicado principalmente pela prevenção da ação de predadores, ao proteger as teleóginas de forma individual em uma estrutura fechada.

Este fator talvez explique porque tal método de avaliação é o mais utilizado na literatura, seja com tubos metálicos idênticos aos deste estudo (SNOWBALL, 1957; OLIVEIRA *et al.*, 1974; PANDA *et al.*, 1992; BRIZUELA *et al.*, 1996; PEREIRA, 2008; DE BARROS *et al.*, 2017; MASTROPAOLO *et al.*, 2017) ou técnicas similares de proteção individual das teleóginas (PANDA *et al.*, 1992; FURLONG *et al.*, 2002; BROVINI *et al.*, 2003; SANTARÉM & SARTOR, 2003).

Os canteiros com fêmeas de *R. microplus* mantidas livres, apesar de pouco utilizados na literatura (MAGALHÃES & LIMA, 1992; BROVINI *et al.*, 2003; PEREIRA, 2008), geraram os melhores resultados para avaliação dos períodos de incubação e pré-eclosão. No entanto, o efeito deletério da predação sobre estes pontos prejudicou a obtenção de todos os dados referentes ao ciclo deste ixodídeo.

Já as gaiolas de tela metálica proporcionaram os melhores valores na avaliação da fase larval, mais especificamente maturação e longevidade das mesmas. Metodologia idêntica ao que foi empregado nestes pontos do presente estudo não foi encontrada na literatura, mas outras formas de proteger os canteiros sem interferir nos hábitos das teleóginas, permitindo liberdade destas dentro da área experimental, já foram utilizadas (PANDA *et al.*, 1992; PEREIRA, 2008).

Em suma, considerando menor oscilação dos dados obtidos para cada variável e o menor índice de pontos que apresentaram apenas dados parciais, conclui-se que as gaiolas utilizadas, confeccionadas com barras de aço galvanizado e recobertas com telas metálicas do tipo “mosquiteiro”, com 90 centímetros de altura e 60 centímetros em cada lateral, são responsáveis por permitir a avaliação mais fidedigna da fase de vida não parasitária do carrapato bovino no ambiente.

No entanto, independente de qual a melhor metodologia para cada variável biológica avaliada em separado, ou para analisar o ciclo completo de *R. microplus* na sua fase de vida livre, o presente estudo reforça a conclusão de que o ideal é sempre utilizar as três metodologias de forma concomitante. Todas as metodologias em conjunto, com um número considerável de repetições, permite consistência dos dados obtidos, diminuindo o impacto de eventuais dados parciais e obtendo valores médios fidedignos e próximos da realidade observada a campo. Novos estudos devem ser conduzidos reforçando estas inferências ao comparar as três metodologias em diferentes condições climáticas, biomas, pastagens, climas e altitudes.

5. Referências

ABBAS, R. Z.; ZAMAN, M. A.; COLWELL, D. D.; GILLEARD, J.; IQBAL, Z. Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: The state of play. **Veterinary Parasitology**, v. 203, p. 6-20, 2014.

ALI, A.; PARIZI, L. F.; FERREIRA, B. R.; VAZ JUNIOR, I. S. A revision of two distinct species of *Rhipicephalus*: *R. microplus* and *R. australis*. **Ciência Rural**, v. 46, n. 7, p. 1240-1248, 2016.

BRIZUELA, C. M.; ORTELLADO, C. A.; SANCHEZ, T. I.; OSORIO, O.; WALKER, A. R. Formulation of integrated control of *Boophilus microplus* in Paraguay: analysis of natural infestations. **Veterinary Parasitology**, v. 63, p. 95-108, 1996.

BROVINI, C. N.; FURLONG, J.; CHAGAS, A. C. 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.

CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; MACIEL, W. G.; FELIPPELLI, G.; FÁVERO, F. C.; CRUZ, A. C.; BUZZULINI, C.; SOARES, V. E.; GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; OLIVEIRA, G.P.; COSTA, A. J. Effects of fluazuron (2.5 mg/kg) and a combination of fluazuron (3.0 mg/kg) + abamectin (0.5 mg/kg) on the reproductive parameters of a field population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* on experimentally infested cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 97, p. 80-84, 2014.

CRUZ, B. C.; LOPES, W. D. Z.; MACIEL, W. G.; FELIPPELLI, G.; FÁVERO, F. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; CARVALHO, R. S.; RUIVO, M. A.; COLLI, M. H. A.; SAKAMOTO, C. A. M.; DA COSTA, A. J.; DE OLIVEIRA, G. P. Susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin (200, 500 and 630 g/kg) in field studies in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 207, p. 309-317, 2015.

CSORDAS, B. G.; GARCIA, M. V.; CUNHA, R. C.; GIACHETTO, P. F.; BLECHA, I. M. Z.; ANDREOTTI, R. New insights from molecular characterization of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 3, p. 317-326, 2016.

DE BARROS, M. N. D. L.; RIET-CORREA, F.; AZEVEDO, S. S.; LABRUNA, M. B. Off-host development and survival of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the Brazilian semiarid. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 9, p. 17-24, 2017.

ESTRADA-PEÑA, A. Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. **Revue Scientifique et Technique**, v. 34, n. 1, p. 53-65, 2015.

ESTRADA-PEÑA, A.; VENZAL, J. M.; NAVA, S.; MANGOLD, A.; GUGLIELMONE, A. A.; LABRUNA, M. B.; DE LA FUENTE, J. Reinstatement of *Rhipicephalus (Boophilus) australis* (Acari: Ixodidae) with redescription of the adult and larval stages. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 4, p. 794-802, 2012.

FURLONG, J.; CHAGAS, A. C. S.; NASCIMENTO, C. B. Comportamento e ecologia de larvas do carrapato *Boophilus microplus* em pastagem de *Brachiaria decumbens*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 4, p. 213-217, 2002.

GARCIA, M. V.; MONTEIRO, A. C.; SZABÓ, M. P. J.; MOCHI, D. A.; SIMI, L. D.; CARVALHO, W. M.; TSURUTA, S. A.; BARBOSA, J. C. Effect of *Metarhizium anisopliae* fungus on off-host *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* from tick-infested pasture under cattle grazing in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 181, p. 267-273, 2011.

GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; 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. Acaricidal effects of fluazuron (2.5 mg/kg) and a combination of fluazuron (1.6 mg/kg) + ivermectin (0.63 mg/kg), administered at different routes, against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* parasitizing cattle. **Experimental Parasitology**, v. 153, p. 22-28, 2015.

GUERRERO, F. D.; DE LEÓN, A. A. P.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I.; JONSSON, N.; MILLER, R. J.; ANDREOTTI, R. Acaricide research and development, resistance, and resistance monitoring. In: SONENSHINE, D. E.; ROE, R. M. **Biology of Ticks. Volume 2**. Oxford: Oxford University Press, 2014, p. 353-381.

HUNTER, W. D.; HOOKER, W. A. **Information concerning the North American fever tick, with notes on other species**. Washington: Government Printing Office, 1907, p. 14-26.

LABRUNA, M. B.; VERÍSSIMO, C. J. Observações sobre a infestação por *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em bovinos mantidos em rotação de pastagem, sob alta densidade animal. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, n. 2, p. 115-120, 2001.

LABRUNA, M. B.; NARANJO, V.; MANGOLD, A. J.; THOMPSON, C.; ESTRADA-PEÑA, A.; GUGLIELMONE, A. A.; JONGEJAN, F.; DE LA FUENTE, J. Allopatric speciation in ticks: genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **BMC Evolutionary Biology**, v. 9:46, p. 1-12, 2009.

LOPES, W. D. Z.; TEIXEIRA, W. F. P.; DE MATOS, L. V. S.; FELIPPELLI, G.; CRUZ, B. C.; MACIEL, W. G.; BUZZULINI, C.; FÁVERO, F. C.; SOARES, V. E.; DE OLIVEIRA, G. P.; DA COSTA, A. J. Effects of macrocyclic lactones on the reproductive parameters of engorged *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* females detached from experimentally infested cattle. **Experimental Parasitology**, v. 135, p. 72-78, 2013.

LOPES, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; FELIPPELLI, G.; MACIEL, W. G.; BUZZULINI, C.; GOMES, L. V. C.; FÁVERO, F. C.; SOARES, V. E.; BICHUETTE, M.A.; DE OLIVEIRA, G. P.; DA COSTA, A. J. Efficacy of fipronil (1.0 mg/kg) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistant to ivermectin (0.63 mg/kg). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 115, p. 88-93, 2014.

LOW, V. L.; TAY, S. T.; KHO, K. L.; KOH, F.X.; TAN, T. K.; LIM, Y. A. L.; ONG, B. L.; PANCHADCHARAM, C.; NORMA-RASHID, Y.; SOFIAN-AZIRUN, M. Molecular characterization of the tick *Rhipicephalus microplus* in Malaysia: new insights into the cryptic diversity and distinct genetic assemblages throughout the world. **Parasites & Vectors**, v. 8, p. 341, 2015.

MACIEL, W. G.; LOPES, W. D. Z.; GOMES, L. V. C.; CRUZ, B. C.; FELIPPELLI, G.; DOS SANTOS, I. B.; BORGES, F. A.; JUNIOR, W. A. G.; SCARPA, A. B.; NICARETTA, J. E.; BASTOS, T. S. A.; DA COSTA, A. J. 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, p. 74-86, 2016.

MAGALHÃES, F. E. P.; LIMA, J. D. Desenvolvimento e sobrevivência do carrapato em pastagem de *Brachiaria decumbens* no município de Pedro Leopoldo, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 15-25, 1992.

MASTROPAOLO, M.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A.; NAVA, S. Non-parasitic life cycle of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in *Panicum maximum* pastures in northern Argentina. **Research in Veterinary Science**, v. 115, p. 138-145, 2017.

NAVA, S.; MASTROPAOLO, M.; GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A. J. Effect of deforestation and introduction of exotic grasses as livestock forage on population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in northern Argentina. **Research in Veterinary Science**, v. 95, p. 1046-1054, 2013.

OLIVEIRA, G. P.; COSTA, R. P.; MELLO, R. P.; MENEGUELLI, C. A. Estudo ecológico da fase não parasítica do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina, Ixodidae) no estado do Rio de Janeiro. **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, n. 4, v. 1, p. 1-10, 1974.

PANDA, D. N.; ANSARI, M. Z.; SAHAI, B. N. Studies on the development and survival periods of the non-parasitic stages of *Boophilus microplus* (Canestrini), in the climatic conditions of Ranchi (India). **Veterinary Parasitology**, v. 44, p. 275-283, 1992.

PATZ, J. A.; GRACZYK, T. K.; GELLER, N.; VITTOR, A. Y. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1395-1405, 2000.

PEREIRA, A. A. **Aspectos ecológicos de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae) no município de Franca, nordeste de São Paulo**. 2008. 113 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – área de Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2008.

PFÄFFLE, M.; LITWIN, N.; MUDERS, S. V.; PETNEY, T. N. The ecology of tick-borne diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 43, p. 1059-1077, 2013.

POUND, C. J. Notes on the Cattle Tick, its development, life history, habits, and geographical distribution. *Queenslander*, Brisbane, Queensland, p. 901-902, Saturday 5, November 1898.

SANTARÉM, V. A.; SARTOR, I. F. Fase de vida livre e flutuação sazonal do *Boophilus microplus* em Botucatu, São Paulo, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 11-20, 2003.

SNOWBALL, G. J. Ecological observations on the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 8, i. 4, p. 394-413, 1957.

TEEL, P. D.; MARIN, S. L.; GRANT, W. E. Simulation of host-parasite-landscape interactions: influence of season and habitat on cattle fever tick (*Boophilus* sp.) population dynamics. **Ecological modeling**, v. 84, p. 19-30, 1996.

VERÍSSIMO, C. J. Controle biológico do carrapato do boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no Brasil / Biological control of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Brazil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 11, n. 1, p. 14-23. 2013.

CAPÍTULO 4 – Dinâmica populacional, aspectos ecológicos e biológicos do ciclo de vida livre de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae) em uma região de clima tropical com estação seca

Resumo – O objetivo deste estudo foi a observação, ao longo de dois anos consecutivos, das variáveis biológicas envolvidas no ciclo de vida livre do carrapato bovino em uma região de clima tropical de savana (Aw) e bioma de Cerrado. Fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* foram dispostas em 90 canteiros de *Urochloa decumbens* divididos em três metodologias de avaliação: gaiolas teladas, tubos metálicos e teleóginas dispostas livremente na pastagem. Observações diárias destas fêmeas permitiram registrar as suas variáveis biológicas (pré-postura, postura, incubação, pré-eclosão, maturação, longevidade e duração total do ciclo), correlacioná-las com variáveis ambientais (temperatura ambiental e sobre a superfície do solo, umidade relativa do ar e pluviosidade) e definir o número de gerações anuais. Foram observados períodos de pré-postura, incubação dos ovos, tempo até eclosão larval e até o amadurecimento das mesmas, mais curtos no período chuvoso (primavera e verão), enquanto a postura dos ovos e a longevidade das larvas no ambiente foram maiores durante o outono e inverno (período de seca), com a duração total da fase de vida não parasitária deste ixodídeo sendo maior durante a estação seca e com temperaturas amenas deste trabalho. Foram detectadas correlações predominantemente negativas entre as variáveis da fase de vida livre do carrapato bovino com as variáveis climáticas, exceto por uma correlação positiva entre pré-postura e índices pluviométricos. Foi registrada uma média de 5,2 gerações anuais de *R. microplus*, oscilando entre mínimo de 2,6 e máximo de 8,3 gerações, em uma região de Cerrado caracterizada por clima tropical com estação seca (Aw), onde o outono se mostrou como a estação mais propícia ao desenvolvimento de *R. microplus* no ambiente.

Palavras chave: Carrapato bovino; Clima tropical de savana; Fase não parasitária; Gerações anuais; Sazonalidade; Variáveis climáticas.

1. Introdução

Dentre os artrópodes ectoparasitos de bovinos, principalmente dípteros e ácaros, se destaca o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888), responsável por prejuízos anuais estimados em 3,24 bilhões de dólares no Brasil (GRISI *et al.*, 2014). O conhecimento de fatores ecológicos e biológicos deste ixodídeo se torna cada vez mais importante, pois permite definir os pontos vulneráveis de seu ciclo e, assim, estabelecer estratégias eficazes de controle.

Neste contexto, ressalta-se o avanço das mudanças climáticas ao redor do planeta, associado à redescoberta de *Rhipicephalus (Boophilus) australis* em variados países da Oceania e Ásia (LABRUNA *et al.*, 2009; ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2012) e à detecção de diversidade genética de *R. microplus* em diversas áreas distintas. Tal diversidade existe inclusive dentro território brasileiro, sendo identificados dez haplótipos distintos, indicando que *R. microplus* pode estar se dividindo em pelo menos duas populações (CSORDAS *et al.*, 2016).

Todos estes fatores ampliam a necessidade de estudos que busquem esclarecer a distribuição destes haplótipos diversos, diferenciar ecologicamente *R. microplus* e *R. australis*, e conhecer o impacto das mudanças climáticas na sua distribuição geográfica (ALI *et al.*, 2016). O comportamento destes ixodídeos é influenciado por fatores ambientais em determinadas situações e áreas específicas, reforçando a necessidade de novas e constantes pesquisas (LABRUNA & VERÍSSIMO, 2001). O dinamismo deste sistema indica que novas variáveis estão constantemente modificando a epidemiologia dos carrapatos (PFÄFFLE *et al.*, 2013).

Os principais fatores de influência na fase de vida não parasitária dos ixodídeos em geral são aqueles relacionados ao ambiente, como a vegetação, altitude e topografia, e principalmente as variáveis climáticas, em especial temperatura e umidade relativa do ar e do solo (NAVA *et al.*, 2013). Modificações no habitat possuem impacto significativo na dinâmica da ecologia dos carrapatos, assim como dos patógenos transmitidos por estes, com características espaciais únicas de cada ambiente ou local assumindo papel essencial na determinação dos padrões de dispersão e crescimento populacional do parasito (TEEL *et al.*, 1996).

Cada alteração ambiental, seja causada por fenômenos naturais ou pela intervenção direta do homem, muda completamente o balanço ecológico e o contexto no qual cada hospedeiro, vetor ou parasito se reproduz, desenvolve e transmite patógenos (OGDEN & LINDSAY, 2016). Um aprofundamento constante das pesquisas focando na biologia e ecologia de determinados parasitos, baseadas nas mudanças climáticas e ambientais, se torna necessário, buscando gerar modelos que possam prever o impacto de tais mudanças no ciclo de vida dos parasitos e das doenças que transmitem (PATZ *et al.*, 2000).

Apesar da ampla gama de modelos disponíveis para prever o impacto das mudanças climáticas sobre o carrapato bovino, ainda são necessárias pesquisas específicas que avaliem cada processo biológico, visando definir a importância de cada variável ambiental em cada etapa do ciclo (ESTRADA-PEÑA, 2015).

Baseado no que foi exposto, o presente estudo teve como objetivo a atualização dos valores das variáveis biológicas do ciclo de vida não parasitária de *R. microplus*. Tais variáveis foram analisadas frente às mudanças climáticas e ambientais presenciadas com o passar dos anos, correlacionando-as com os fatores ambientais. Também teve como objetivo avaliar o desenvolvimento da fase de vida livre deste ixodídeo em condições controladas, visando demonstrar o completo potencial das amostras de teleóginas, agindo como um controle positivo.

Especificamente, objetivou-se: determinar o período de pré-eclosão e de suas etapas (pré-postura, postura e incubação) no campo; conhecer o tempo de amadurecimento larval e a longevidade de larvas em pastagem livre de hospedeiros bovinos; avaliar todas estas variáveis também em condições laboratoriais, ao longo de dois anos consecutivos; traçar correlações entre cada variável biológica e os fatores ambientais; estimar o número de gerações anuais de *R. microplus* na localidade avaliada por meio de cálculos baseados nas variáveis obtidas.

2. Material e Métodos

Este estudo foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/UNESP de Jaboticabal, sendo aprovado (protocolo nº 11511/14) antes do início de quaisquer etapas.

2.1. Local

O trabalho foi realizado no município de Jaboticabal, mesorregião de Ribeirão Preto, São Paulo, mais especificamente na longitude 48° 17' 03" Oeste, latitude 21° 14' 43" Sul, com altitude média de 583 metros (JABOTICABAL, 2010). Este local possui clima pertencente ao tipo Aw (tropical com estação seca, tropical úmido ou tropical de savana), seguindo a classificação climática de Köppen (ANDRÉ & GARCIA, 2015). Caracteriza-se por precipitação média anual de 1405,2 mm³ e temperaturas médias entre 29,7 °C e 16,9 °C (CEPAGRI, 2014).

O estudo foi conduzido no período de dois anos consecutivos, em pastagem de *Urochloa decumbens*, espécie predominante em todo o país, adaptando-se às mais variadas condições de solo e clima (CRISPIM & BRANCO, 2002). O dia inicial do experimento foi 01º de abril de 2015, próximo ao início do outono, definido como dia experimental zero.

O piquete utilizado foi formado especificamente para este projeto, em solo classificado como Latossolo Vermelho-Escuro, com textura argilosa e relevo plano (ANDRIOLI & CENTURION, 1999). O mesmo foi situado dentro do Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR), localizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), campus da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP. Todas as etapas laboratoriais deste experimento foram conduzidas no CPPAR, que possui a infraestrutura e os laboratórios necessários.

2.2. Colônia de carrapatos e manutenção da cepa

A cepa de carrapatos utilizada no estudo foi obtida no Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR), sendo mantida no referido Centro por período superior a cinco anos antes do início deste trabalho. Esta colônia, denominada cepa CAMPO, é caracterizada por distintos graus de resistência a diferentes acaricidas, como as lactonas macrocíclicas (LOPES *et al.*, 2013; LOPES *et al.*, 2014; CRUZ *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2015) e o fluazuron (CRUZ *et al.*, 2014; MACIEL *et al.*, 2016). Foi iniciada a partir de teleóginas obtidas de bovinos mestiços naturalmente infestados, oriundos de propriedades rurais de Formiga, Minas Gerais.

Esta cepa foi utilizada para infestação de dois bovinos mestiços (*Bos taurus* x *Bos indicus*) mantidos em baias do tipo “Stall Test”, com piso frestado de ferro, que permite a lavagem diária das mesmas para colheita das teleóginas. Para a infestação dos animais, cerca de 5.000 larvas, entre 14 e 21 dias de idade, foram distribuídas ao longo do dorso de cada animal, sendo os bovinos previamente contidos com o auxílio de um cabresto de corda durante período de duas horas, para evitar a autolimpeza. As teleóginas desprendidas destes animais foram usadas para avaliação da fase de vida livre deste ixodídeo.

Os bovinos utilizados para manutenção da cepa CAMPO, no presente estudo, eram oriundos de rebanho sabidamente susceptível ao *R. microplus*, com idade entre seis e 12 meses. Estes animais receberam alimentação balanceada (silagem de milho e ração comercial) no cocho, com fornecimento de água mineral *ad libitum*, não sendo previamente tratados contra ectoparasitos por período mínimo de 90 dias antes do início de suas infestações.

Os animais experimentais foram substituídos sempre que se observou considerável queda na produção de teleóginas, um indicativo de aquisição parcial de resistência, ou sempre que, por qualquer motivo, foi detectado algum risco à sua saúde, principalmente devido à alta carga parasitária desencadeada pelas infestações.

2.3. Avaliação da fase de vida livre do carrapato

Todas as teleóginas selecionadas foram previamente pesadas, devendo superar a marca de 150 miligramas (mg), tendo em vista que fêmeas de carrapatos com peso inferior apresentam índices significativamente menores de conversão em ovos (OLIVEIRA, 1979; ROCHA *et al.*, 1985; BORGES *et al.*, 2001).

O piquete de *U. decumbens* utilizado foi cultivado apenas para a realização deste experimento, não recebendo em nenhum momento quaisquer animais. Após a formação da pastagem, toda a área foi cercada, evitando livre acesso de pessoas e animais. O piquete foi então dividido, por meio de arames, em pontos de aproximadamente um metro quadrado cada (1 m²). Estes pontos foram em seguida distribuídos aos grupos de avaliação na forma de três blocos de análises.

Trinta pontos da pastagem (1 a 30) foram demarcados por gaiolas confeccionadas com armação de ferro e tela metálica (60 cm x 60 cm x 90 cm). Cada uma destas gaiolas recebeu 10 teleóginas (n = 300), colocadas diretamente no solo e protegidas da luz solar em meio à vegetação (ESTRADA-PEÑA, 2015).

Os trinta pontos seguintes (31 a 60) receberam tubos confeccionados de tela metálica com mínimo de 39 malhas por centímetro linear, medindo 45 mm de comprimento por 15 mm de diâmetro, fechados em uma das extremidades por uma rolha de cortiça, para visualização de seu conteúdo (OLIVEIRA *et al.*, 1974). Cada tubo recebeu uma única teleógina (n = 30) e foi disposto horizontalmente no solo, sendo protegido da luz solar pela própria gramínea (ESTRADA-PEÑA, 2015).

Os últimos trinta pontos selecionados para as avaliações experimentais (61 a 90) foram infestados livremente com 10 teleóginas cada (n = 300), depositadas no solo próximo a uma estaca que demarcava o ponto central do canteiro. Estas fêmeas de *R. microplus* também foram protegidas da luz solar pela própria vegetação (BROVINI *et al.*, 2003; ESTRADA-PEÑA, 2015).

Dentre os pontos restantes, não utilizados diretamente para as avaliações, aqueles adjacentes à cerca limítrofe do piquete foram mantidos sempre livres de carrapatos, agindo como margem de segurança para evitar possíveis interferências externas. Outros pontos remanescentes foram mantidos para servir como reserva, caso, por algum motivo, os pontos utilizados fossem danificados ao longo das séries consecutivas de avaliações.

O experimento foi iniciado no dia zero, 01º de abril, quando 630 teleóginas foram selecionadas para compor a primeira geração de carrapatos. As observações foram conduzidas com o auxílio de lupa binocular (OLIVEIRA *et al.*, 1974), sendo os canteiros avaliados diariamente até o começo da postura pelas teleóginas. A partir do início da oviposição, os canteiros foram avaliados três vezes por semana, visando à detecção das outras etapas cruciais para determinação da duração de cada variável biológica: observação do fim da postura; início da eclosão das larvas; fim da eclosão; amadurecimento das larvas (geotropismo negativo), sobrevivência das larvas e conclusão do ciclo, com a morte da última larva em cada ponto. Destas avaliações, foram obtidas as variáveis biológicas de toda a fase de vida não parasitária de *R. microplus*, como ilustrado na Figura 1.

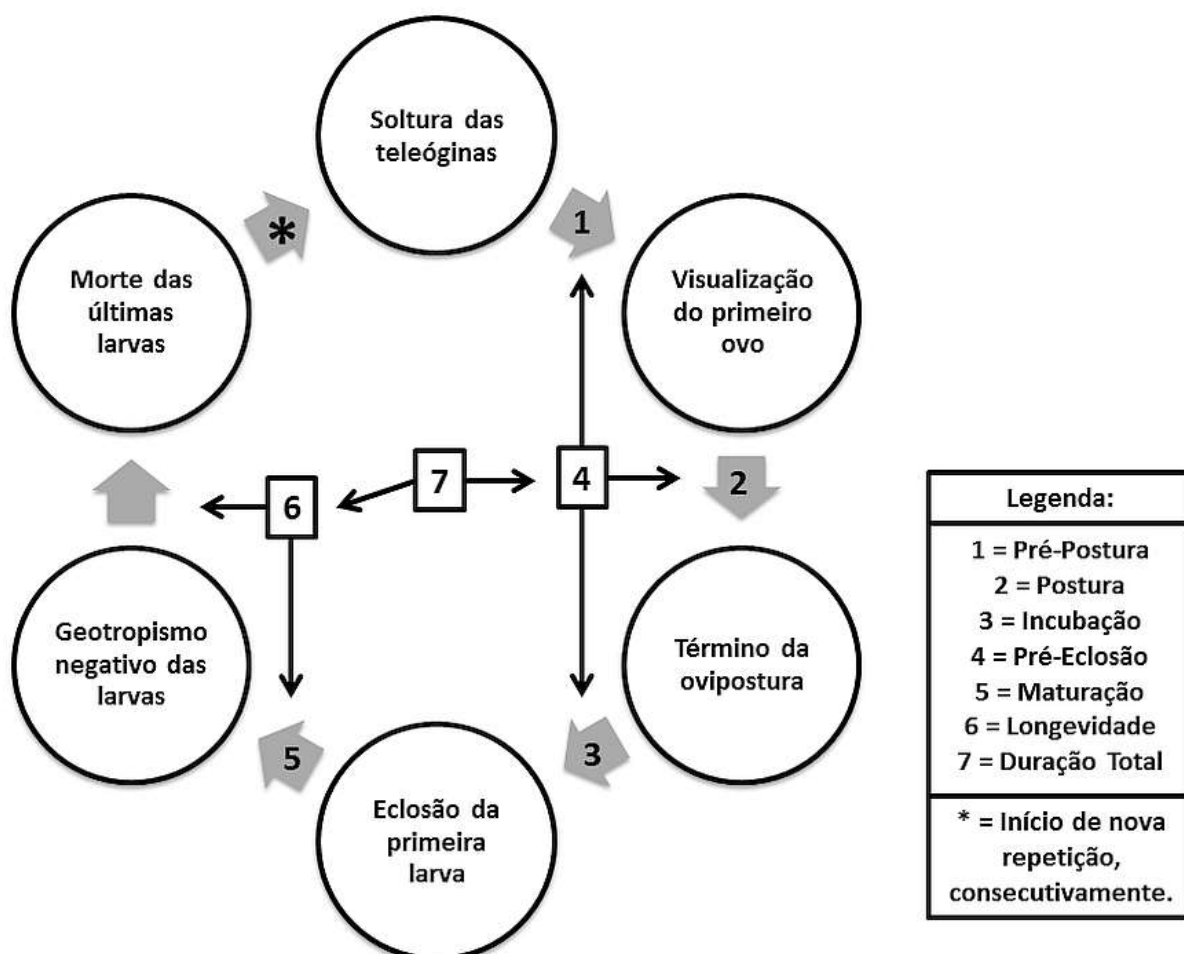


Figura 1. Diagrama do ciclo de vida livre de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, com identificação dos pontos e períodos do ciclo do carrapato utilizados para a determinação das variáveis biológicas.

O presente estudo definiu como pré-eclosão (PE) todo o espaço de tempo compreendido entre a soltura das teleóginas, simulando seu desprendimento do hospedeiro, e a observação das primeiras larvas (PFÄFFLE *et al.*, 2013). Esse período englobou, assim, as fases de pré-postura (PP), postura (PO) e incubação dos ovos (INC).

Pré-postura foi considerada como o tempo decorrido entre a soltura das teleóginas e o início da oviposição. A partir do surgimento do primeiro ovo oriundo de cada fêmea, iniciou-se o período de postura, que se encerrou quando cada fêmea produziu o último ovo e completou sua massa de ovos. Já a incubação foi definida como o tempo transcorrido desde o primeiro dia da postura até a eclosão da primeira larva oriunda de cada massa de ovos (SANTARÉM & SARTOR, 2003).

Para avaliação da longevidade das larvas (LONG), as mesmas foram detectadas nos canteiros através de observações visuais e tácteis, sendo realizada a determinação de sua sobrevivência. Foi definido como longevidade o período compreendido entre a eclosão da primeira larva e o desaparecimento da última larva da extremidade das gramíneas ou de dentro dos tubos (PEREIRA, 2008). Juntamente à longevidade, avaliou-se também o tempo que as larvas de *R. microplus* levaram para estarem maduras e aptas para infestar os hospedeiros, atingindo a extremidade das gramíneas ou a tampa dos tubos em um movimento de geotropismo negativo. Este período foi denominado maturação larval (MAT).

No caso das teleóginas dispostas livremente ou limitadas por gaiolas, a detecção de larvas foi feita por inspeção visual de canteiro, além do auxílio de um pano branco, passado repetidamente pelo ambiente. Larvas detectadas com este método foram posteriormente retornadas à pastagem (PANDA *et al.*, 1992).

Após cálculo de todas as variáveis propostas, em todas as gerações de carrapatos analisadas em canteiros dispostos na pastagem, foram calculadas as durações máximas de cada ciclo de *R. microplus* em cada ponto de cada uma das repetições. Para obter este valor, foram somados os períodos de pré-eclosão, que engloba as variáveis pré-postura, postura e incubação, e de longevidade, que já compreende também a maturação larval.

Em todas as datas de observação, sempre que possível, foi realizada a captura de possíveis predadores presentes nos canteiros onde as teleóginas haviam sido dispostas. Quaisquer artrópodes que de alguma forma pudessem preda os carrapatos, foram capturados e fixados em álcool 70°.

Todo o processo de avaliação foi realizado novamente após a morte das larvas de uma repetição, doravante denominada geração, com a soltura de novas teleóginas consecutivamente. Com isso, buscou-se definir a variação sazonal dos parâmetros reprodutivos de *R. microplus* e o número real de gerações anuais.

Os resultados obtidos em cada ponto a cada data experimental foram registrados em uma planilha diária. No caso das gaiolas e dos tubos, dos valores obtidos pelos 10 carrapatos foi calculado o valor médio diário. As variáveis biológicas médias obtidas para cada um dos 90 pontos de avaliação foram utilizadas para cálculo dos valores médios de cada geração.

2.4. Desenvolvimento da fase de vida livre em laboratório

Para tais observações foram colhidas, a cada 14 dias, dez teleóginas (n = 10), que eram lavadas em água corrente, pesadas e acondicionadas individualmente em frascos plásticos. Estes invólucros foram mantidos em estufa incubadora tipo BOD, com temperatura aproximada de 27 °C, umidade relativa superior a 80% e fotoperíodo controlado de 12 em 12 horas.

As teleóginas que compuseram etapa experimental foram colhidas diretamente dos animais estabulados responsáveis pela manutenção da cepa CAMPO, a mesma origem das fêmeas destinadas à infestação dos canteiros. Os carrapatos da etapa laboratorial foram avaliados diariamente para observação das mesmas variáveis biológicas obtidas nos canteiros com carrapatos em vida livre: pré-postura, postura, incubação, pré-eclosão, maturação e longevidade das larvas, além da duração total da fase de vida não parasitária.

O mesmo processo descrito para as avaliações no ambiente foi repetido para as avaliações realizadas em condições de laboratório (estufas incubadoras tipo BOD). Para a avaliação da fase de vida livre em condições laboratoriais, foram realizadas ao todo 54 repetições, com periodicidade de 14 dias.

2.5. Correlação entre variáveis biológicas e variáveis sazonais

Visando determinar eventuais correlações significativas, foram confrontados os parâmetros biológicos obtidos para os carrapatos no campo e no laboratório com variáveis climáticas: precipitação pluvial, umidade relativa do ar e temperaturas médias, no ambiente e sobre a superfície do solo. Tais elementos climáticos [pluviosidade (mm³), umidade relativa (%) e temperaturas médias do ambiente e do solo (° C)] foram obtidos com o auxílio de termohigrômetros e de um pluviômetro, instalados no local do estudo (OLIVEIRA *et al.*, 1974). O auxílio destes equipamentos visou determinar com maior exatidão a real influência destes fatores ambientais sobre o ciclo de *R. microplus*, sabendo-se que a literatura geralmente considera tais variáveis como responsáveis por modular o ciclo biológico do carrapato bovino e definir sua dinâmica populacional.

Os valores referentes à temperatura máxima e mínima no ambiente, temperatura máxima e mínima ao nível do solo, umidade relativa do ar máxima e mínima e pluviosidade no local do estudo foram registrados diariamente. Com estes dados foram calculados as médias para cada data observacional, utilizados para calcular os valores médios obtidos ao longo de cada repetição realizada no campo.

2.6. Estimativa do número de gerações anuais do carrapato bovino

A partir dos dados obtidos nos canteiros (fase de vida livre a campo), foi calculado o número de gerações do carrapato bovino por ano. Para tanto, utilizaram-se o período de pré-eclosão e o tempo de maturação (fase não parasitária), somados ao período médio de permanência (larva à teleógina) no animal.

Para os cálculos foram utilizados os valores máximos, mínimos e médios obtidos no decorrer do experimento para estas variáveis. Assim, foi possível avaliar seu real desenvolvimento nas condições ambientais vigentes na região em questão, além de definir qual o potencial máximo que este ixodídeo pode atingir quando confrontado com condições climáticas e ambientais ideais ao seu ciclo.

O período médio de duração da fase parasitária foi definido como sendo 22 dias. A partir do 18º dia, as primeiras fêmeas começam a se desprender, depois de fecundadas e ingurgitadas. Esse período pode se estender até o 25º dia, mas a grande maioria das fêmeas tende a cair no 22º dia (GARCIA *et al.*, 2016).

O cálculo para cada geração foi feito pela somatória do período de pré-eclosão, tempo de maturação das larvas e período médio da fase parasitária. O cálculo do período de pré-eclosão (PE) foi realizado em canteiros com fêmeas livres, protegidas por gaiolas e por tubos de tela metálica (condições naturais), a partir da data de sua liberação no canteiro, sendo que cada amostra foi liberada nos canteiros em intervalos consecutivos, assim que concluída a repetição anterior.

O período de PE englobou o tempo a partir da liberação da teleógina, até início da postura (período de pré-postura), período de postura e período de incubação, sendo encerrado com a eclosão. O cálculo de tempo de maturação das larvas considerou o período gasto desde o aparecimento das primeiras larvas, logo após o início da eclosão (visualização imediata), até a detecção das mesmas nas extremidades do capim, nos casos dos canteiros com gaiolas ou com fêmeas livres.

Para os canteiros com teleóginas dispostas em tubos e para àquelas mantidas em estufa tipo BOD (condições laboratoriais), o cálculo considerou a visualização das larvas na parte superior dos recipientes.

2.7. Análise estatística

Os dados referentes à dinâmica populacional de *R. microplus* na fase de vida livre passaram por uma transformação logarítmica (contagem + 1) e foram posteriormente submetidos à pré-testes de normalidade, homocedasticidade e análise de resíduos, sendo então analisados em um delineamento inteiramente casualizado.

As confrontações entre as médias registradas para cada uma das variáveis avaliadas foram aferidas pelo teste T, selecionado com base nos resultados dos pré-testes.

Cada uma das etapas que constituem a fase de vida livre do carrapato bovino na pastagem e cada uma das séries de dados climáticos obtidos foram correlacionadas entre si utilizando o coeficiente de Pearson. Este coeficiente foi selecionado tendo em vista a relação linear investigada entre duas variáveis contínuas. As avaliações estatísticas supracitadas foram feitas utilizando os pacotes estatísticos Statistica, Versão 8.0 (2007) e SAS, Versão 9.0 (2002).

3. Resultados

3.1. Coleta e identificação de predadores

Ao longo de todo o período experimental, a predação de carrapatos, tanto teleóginas quanto massas de ovos, foi observada ocorrendo no presente estudo. Este fenômeno foi constatado visualmente, sendo efetivamente realizado por aranhas, formigas, centopeias e forficulídeos. Além destes artrópodes observados diretamente predando os carrapatos, várias outras espécies foram identificadas na área experimental.

Durante dois anos consecutivos, foram coletados e armazenados 15 exemplares diferenciados de aranhas (Ordem Araneae); sete centopeias e lacraias (Ordem Spirobolida); cinco forficulídeos (“tesourinhas”; Ordem Dermaptera); quatro espécies de formigas (Ordem Hymenoptera); seis besouros (Ordem Hemiptera); um escorpião (Ordem Scorpiones); um opilião (Ordem Opiliones); um cupim (Ordem Dictyoptera, possivelmente responsável pelo enterramento dos ovos) e três outros insetos sem identificação, totalizando 43 predadores.

Um roedor de pequeno porte (Ordem Rodentia) foi encontrado morto e parcialmente predado, sendo também armazenado para eventual identificação. Roedores maiores (*Cavia* spp) e grandes lagartos (*Tupinambis* spp) foram observados diversas vezes dentro da área experimental, sem, no entanto, serem capturados em nenhum momento.

As consecutivas repetições, utilizando quantidades significativas de carrapatos (n = 630), foram o suficiente para garantir resultados consistentes, independente da predação de alguns exemplares.

3.2. Avaliação da fase de vida livre (não parasitária) do carrapato bovino

Os resultados finais das variáveis biológicas de cada geração, as médias de todo o ciclo na pastagem, e os valores obtidos em laboratório, estão expressos na Tabela 1. A referida Tabela também contém a análise estatística de todas as variáveis climáticas e biológicas registradas ao longo dos dois anos do experimento.

Analisando as cinco gerações consecutivas a campo, observou-se pré-postura das teleóginas mais curta na quinta geração, (média de 2,08 dias) e mais longa na segunda geração (4,39 dias em média). A diferença foi significativa ($P < 0,05$) quando comparados os valores da quinta geração com os da primeira, segunda e quarta gerações, assim como os da segunda geração, significativamente maiores do que os valores da terceira geração.

A postura média mais longa foi de 23,43 dias na primeira geração, enquanto a menor postura foi registrada na segunda geração, com média de 9,77 dias. Apenas a média registrada na primeira geração diferiu de forma significativa ($P < 0,05$), sendo mais longa do que as posturas de todas as outras gerações.

Tabela 1. Médias e desvios padrão, em dias, obtidos para as variáveis ambientais e biológicas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* nas cinco repetições em condições de campo e na avaliação laboratorial. Análise estatística realizada pelo Teste T a 95% de significância.

Parâmetros	Tratamentos / Médias e Desvios Padrões ¹													
	Geração 1		Geração 2		Geração 3		Geração 4		Geração 5		BOD			
Pré-postura	3,45	± 0,80 AB	4,39	± 0,28 A	2,84	± 0,15 BC	3,60	± 0,75 AB	2,08	± 0,44 C	2,88	± 0,51 BC		
Postura	23,43	± 3,62 A	9,77	± 3,36 B	12,00	± 4,71 B	14,88	± 3,90 B	11,21	± 2,85 B	9,89	± 1,55 B		
Incubação	45,02	± 1,51 B	32,88	± 4,54 C	27,30	± 0,76 C	59,78	± 9,44 A	27,81	± 3,18 C	23,36	± 0,44 C		
Pré-Eclosão	49,11	± 1,35 B	37,88	± 4,53 C	30,14	± 0,62 CD	63,29	± 9,86 A	29,90	± 3,40 CD	26,72	± 1,38 D		
Maturação	7,72	± 1,65 A	4,36	± 1,91 AB	3,95	± 1,38 B	8,28	± 2,61 A	6,40	± 2,19 AB	4,19	± 0,51 B		
Longevidade	100,03	± 7,19 A	53,83	± 16,56 CD	85,05	± 10,08 AB	60,79	± 17,21 BCD	43,83	± 6,66 D	71,59	± 11,33 BC		
Duração total	149,13	± 7,69 A	91,21	± 13,76 DE	115,18	± 9,73 BC	123,50	± 11,63 B	72,90	± 4,40 E	98,33	± 11,14 CD		
T°C Ambiente	24,63	± 2,24 B	28,49	± 0,48 A	25,72	± 3,43 AB	24,13	± 2,82 B	28,43	± 0,97 A	-	-	-	-
UR Média	60,25	± 4,13 A	66,13	± 5,59 A	62,78	± 5,12 A	50,42	± 3,42 B	61,21	± 3,30 A	-	-	-	-
Pluviosidade	2,04	± 1,71 B	10,76	± 4,15 A	3,92	± 2,41 B	2,92	± 3,55 B	5,47	± 2,02 B	-	-	-	-
T°C Solo	22,08	± 2,38 C	26,35	± 1,11 AB	24,68	± 3,04 AB	23,62	± 1,07 BC	26,90	± 1,02 A	-	-	-	-

1: Valores seguidos pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste T ($P \geq 0,05$).

O período de incubação dos ovos teve duração média máxima de 59,78 dias na quarta geração e mínima de 27,3 dias na geração anterior. O período até a eclosão da primeira larva (pré-eclosão), que engloba as três variáveis anteriores, teve média inferior de duração na quinta geração (29,9 dias), enquanto o período mais longo foi registrado na quarta geração, com 63,29 dias. Tanto para incubação quanto para pré-eclosão, os valores da quarta geração superaram significativamente ($P < 0,05$) os demais, enquanto que a primeira geração também superou de forma significativa os valores da segunda, terceira e quinta gerações. A pré-eclosão da segunda geração também foi significativamente mais longa do que aquela observada em laboratório.

A maturação larval, até que as mesmas atingissem plena capacidade infestante, durou em média menos tempo na terceira geração (3,95 dias), sendo prolongada na geração seguinte (média de 8,28 dias na quarta geração). As maturações da primeira e da quarta gerações foram estatisticamente ($P < 0,05$) mais longas do que a da terceira geração.

A longevidade das larvas apresentou valores médios extremos na primeira e quinta gerações, com a maior duração (100,03 dias) e menor duração (43,83 dias) sendo registradas, respectivamente. Os valores da primeira geração foram significativamente maiores ($P < 0,05$) do que os da segunda, quarta e quinta gerações, além dos obtidos em laboratório, enquanto os da terceira geração foram mais longos quando comparados aos da segunda e quarta gerações.

A duração total do ciclo de vida não parasitária dos carrapatos avaliados foi superior às demais também na primeira geração (média de 149,13 dias), obtendo ciclos médios mais curtos na quinta geração (média de 72,90 dias). A duração total da primeira geração superou de forma significativa ($P < 0,05$) todos os demais valores obtidos, enquanto os da quarta geração superaram significativamente os da terceira e quinta gerações. A duração da terceira geração também foi estatisticamente superior àquela registrada na segunda geração.

Ainda na Tabela 1 estão expressos os dados médios das 54 repetições conduzidas em condições laboratoriais. Com relação à pré-postura, postura, maturação, longevidade e duração total, os valores registrados em estufa BOD não se destacaram, seja com máximas ou mínimas, quando comparados ao campo.

Já a incubação dos ovos e o período total de pré-eclosão registradas no laboratório foram as mais curtas, em média, quando comparadas às cinco gerações no campo, obtendo os valores respectivos de 23,36 e 26,72 dias.

3.3. Correlação entre variáveis biológicas e dados climatológicos

Por fim, as correlações entre as variáveis, climáticas, biológicas e entre ambas, foram calculadas utilizando o método de coeficiente de correlação de Pearson, tendo em vista a relação linear investigada entre duas variáveis contínuas. Foram consideradas correlações significativas àquelas onde o valor de P foi inferior a 0,05. Correlações negativas são representadas por um sinal negativo antes do valor da correlação. Valores de correlação sem sinal indicativo representam correlações positivas. Os resultados destas correlações se encontram na Tabela 2.

Nesta Tabela, os tons azuis indicam correlações positivas, com valores entre zero e um. A intensidade da cor representa também a intensidade da correlação. As correlações foram classificadas em fortes, com coeficientes superiores a 0,7, moderadas, estando entre 0,5 e 0,7, e fracas, abaixo de 0,5. As correlações negativas, indicadas na referida Tabela pela cor vermelha, também foram classificadas da mesma forma, porém com sinal invertido (entre -1 e zero). Independente da classificação, apenas correlações com valor de P inferior a 0,05 podem ser consideradas significativas, sendo que os demais valores indicam apenas uma tendência observada.

Comparando as variáveis ambientais entre si, a temperatura registrada na superfície do solo apresentou coeficientes positivos significativos ($P < 0,05$), sendo fortemente correlacionada com a temperatura ambiente e fracamente com a umidade relativa do ar. De forma geral, os dados demonstraram uma tendência de correlações positivas quando comparadas as variáveis climáticas entre si.

As comparações entre variáveis biológicas apresentaram predominância de correlações positivas entre a maioria delas. As exceções foram a longevidade, que apresentou tendência de orientação negativa com maturação, incubação e pré-eclosão, e o tempo de maturação larval, que apresentou tendência de correlação negativa com a pré-postura.

Tabela 2. Correlações entre variáveis biológicas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e variáveis climáticas (coeficiente de Pearson). Correlações significativas (em negrito) foram coloridas de acordo com a direção (azul para positivas e vermelho para negativas). A intensidade da cor indica a força da correlação.

	Pré-postura	Postura	Incubação	Pré-Eclosão	Maturação	Longevidade	Duração total	T°C Ambiente	UR Média	Pluviosidade	T°C Solo
Pré-postura	1,0000 p= ---	,0288 p=,910	,4295 p=,075	,5000 p=,035	-,0332 p=,896	,0460 p=,856	,2934 p=,237	,0137 p=,957	-,0753 p=,766	,5041 p=,033	-,0601 p=,813
Postura		1,0000 p= ---	,4947 p=,037	,4902 p=,039	,7127 p=,001	,3453 p=,161	,5501 p=,018	-,3061 p=,217	-,3459 p=,160	-,3687 p=,132	-,5346 p=,022
Incubação			1,0000 p= ---	,9958 p=,000	,5928 p=,010	-,0389 p=,878	,4749 p=,046	-,3572 p=,146	-,6574 p=,003	,1016 p=,688	-,5354 p=,022
Pré-Eclosão				1,0000 p= ---	,5689 p=,014	-,0171 p=,946	,4959 p=,036	-,3399 p=,168	-,6448 p=,004	,1205 p=,634	-,5163 p=,028
Maturação					1,0000 p= ---	-,1497 p=,553	,1586 p=,530	-,2093 p=,404	-,4481 p=,062	-,2408 p=,336	-,3399 p=,168
Longevidade						1,0000 p= ---	,8595 p=,000	-,4819 p=,043	-,0090 p=,972	-,4143 p=,087	-,4359 p=,071
Duração total							1,0000 p= ---	-,5968 p=,009	-,3401 p=,167	-,2985 p=,229	-,6445 p=,004
T°C Ambiente								1,0000 p= ---	,3692 p=,132	,3871 p=,113	,8443 p=,000
UR Média									1,0000 p= ---	-,0505 p=,842	,4688 p=,050
Pluviosidade										1,0000 p= ---	,1484 p=,557
T°C Solo											1,0000 p= ---

As correlações significativas ($P < 0,05$) entre variáveis biológicas foram observadas relacionando incubação e pré-eclosão (correlação forte), maturação (correlação moderada), postura e duração total (correlações fracas). A duração total do ciclo correlacionou-se significativamente de forma forte com longevidade e de forma moderada com postura e pré-eclosão. O período de pré-eclosão apresentou correlações significativas, moderada com maturação e fracas com pré-eclosão e postura. A postura correlacionou-se fortemente, de forma significativa, com o período de maturação larval.

Ao analisar as correlações obtidas entre fatores climáticos e variáveis biológicas da fase de vida não parasitária de *R. microplus*, observou-se uma tendência de correlações predominantemente negativas. Para auxiliar a compreensão destas correlações, as mesmas foram representadas graficamente nas Figuras 2 a 8, de forma separada para cada variável biológica analisada.

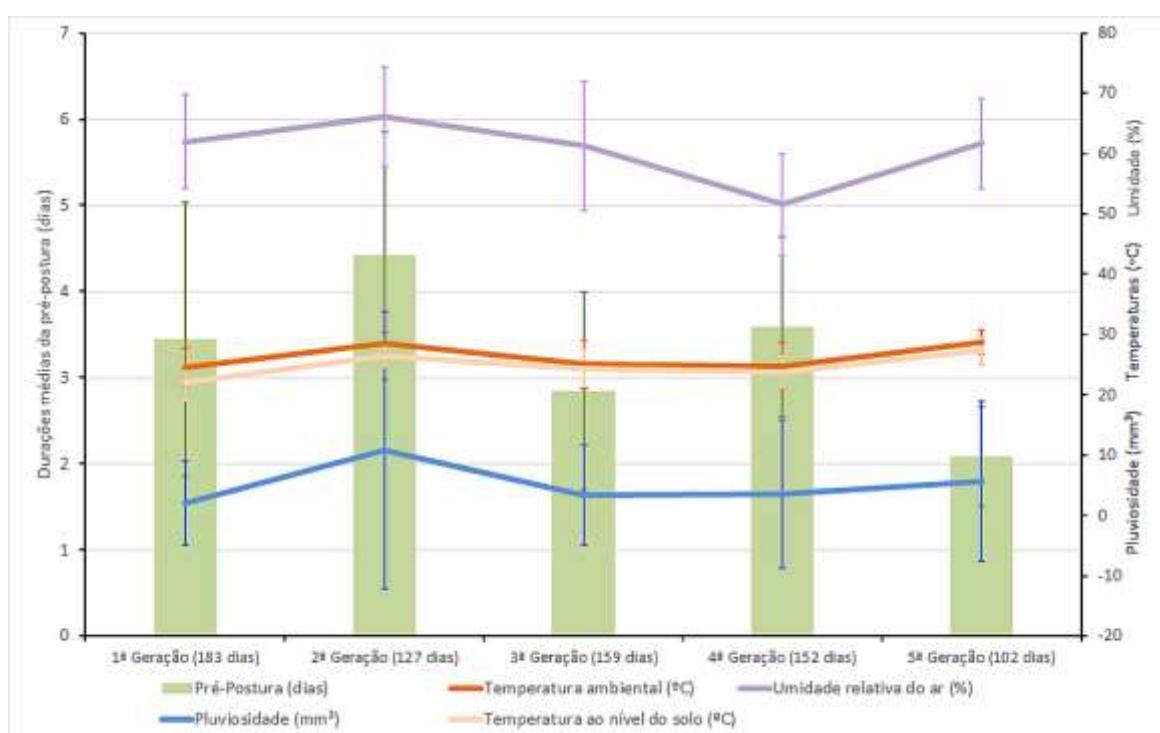


Figura 2. Médias e desvios padrão das variáveis climáticas avaliadas e dos períodos de pré-postura de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para cada geração consecutiva. Comparações para cada variável obtida ao longo do experimento. Dados em escala original.

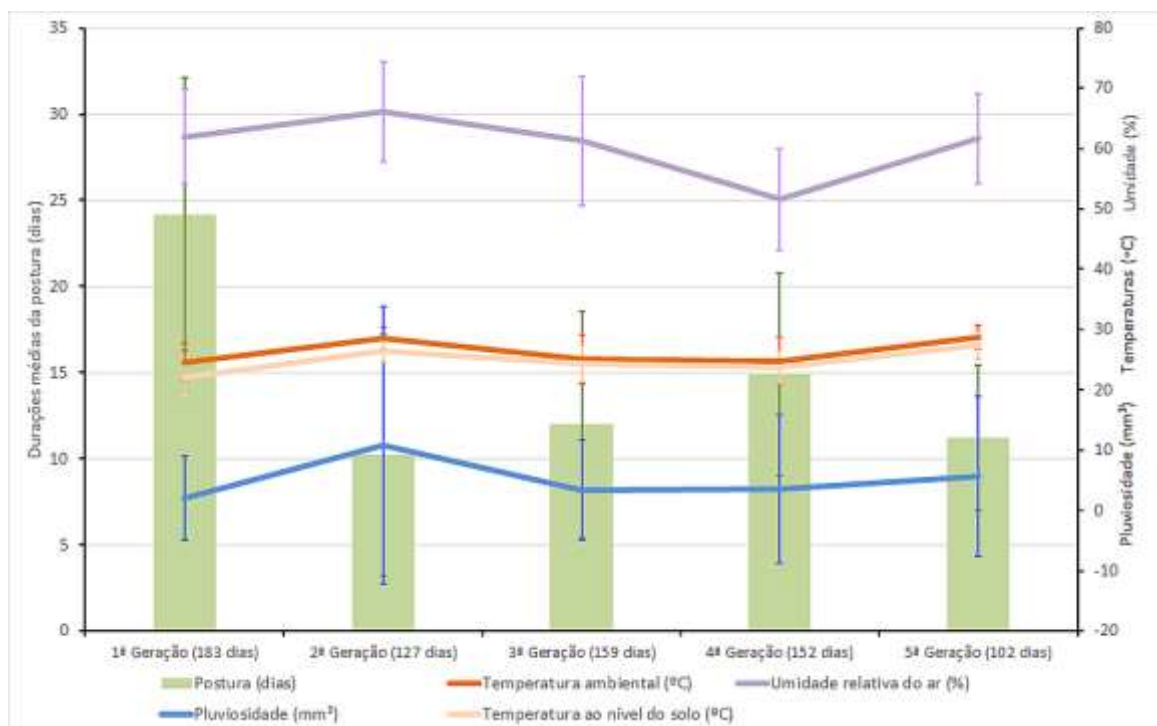


Figura 3. Médias e desvios padrão das variáveis climáticas avaliadas e dos períodos de postura de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para cada geração consecutiva. Comparações para cada variável obtida ao longo do experimento. Dados em escala original.

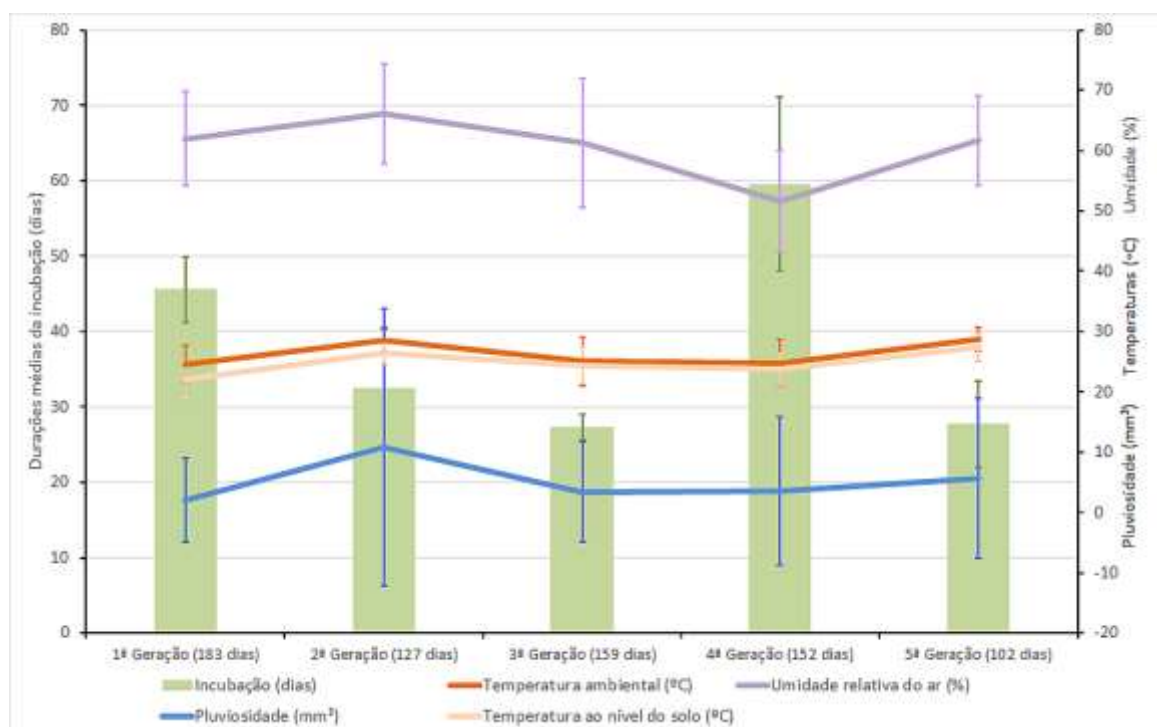


Figura 4. Médias e desvios padrão das variáveis climáticas avaliadas e dos períodos de incubação de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para cada geração consecutiva. Comparações para cada variável obtida ao longo do experimento. Dados em escala original.

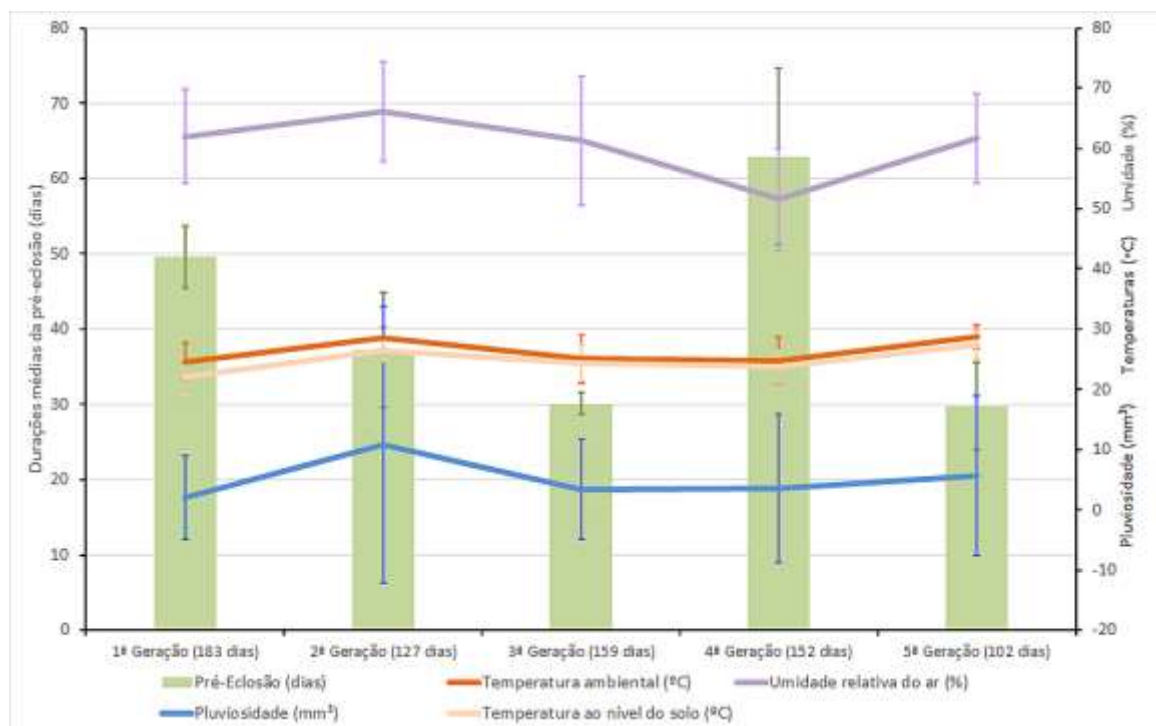


Figura 5. Médias e desvios padrão das variáveis climáticas avaliadas e dos períodos de pré-eclosão de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para cada geração consecutiva. Comparações para cada variável obtida ao longo do experimento. Dados em escala original.

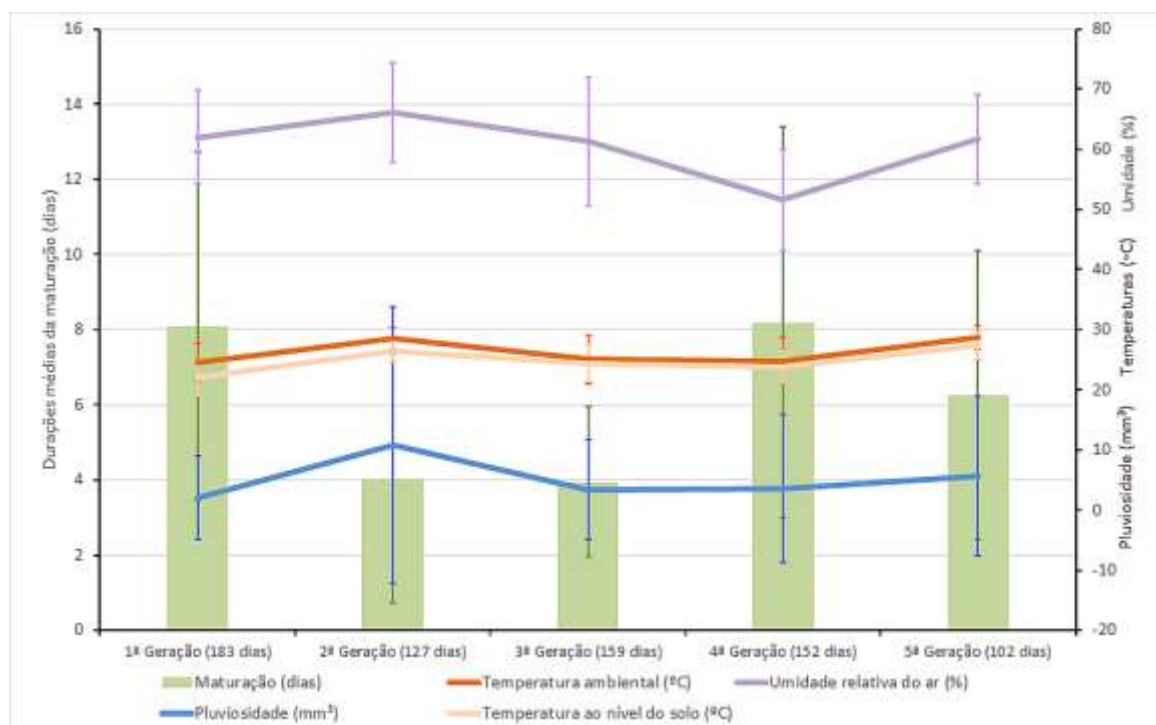


Figura 6. Médias e desvios padrão das variáveis climáticas avaliadas e dos períodos de maturação de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para cada geração consecutiva. Comparações para cada variável obtida ao longo do experimento. Dados em escala original.

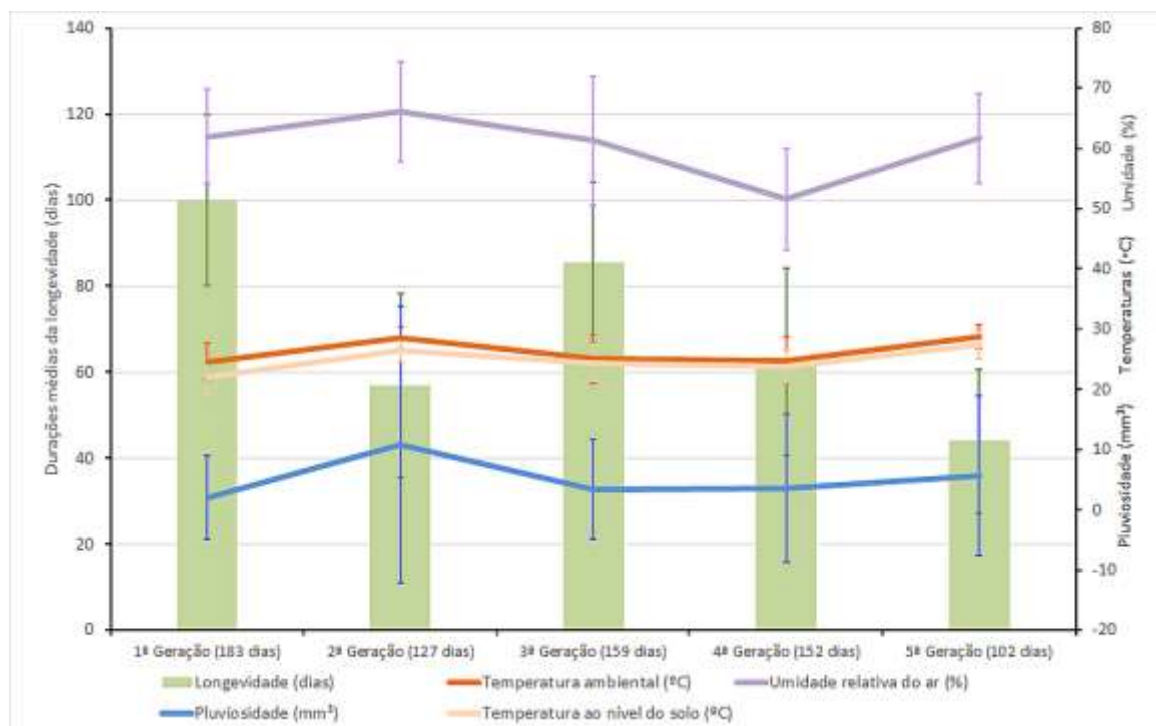


Figura 7. Médias e desvios padrão das variáveis climáticas avaliadas e dos períodos de longevidade de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para cada geração consecutiva. Comparações para cada variável obtida ao longo do experimento. Dados em escala original.

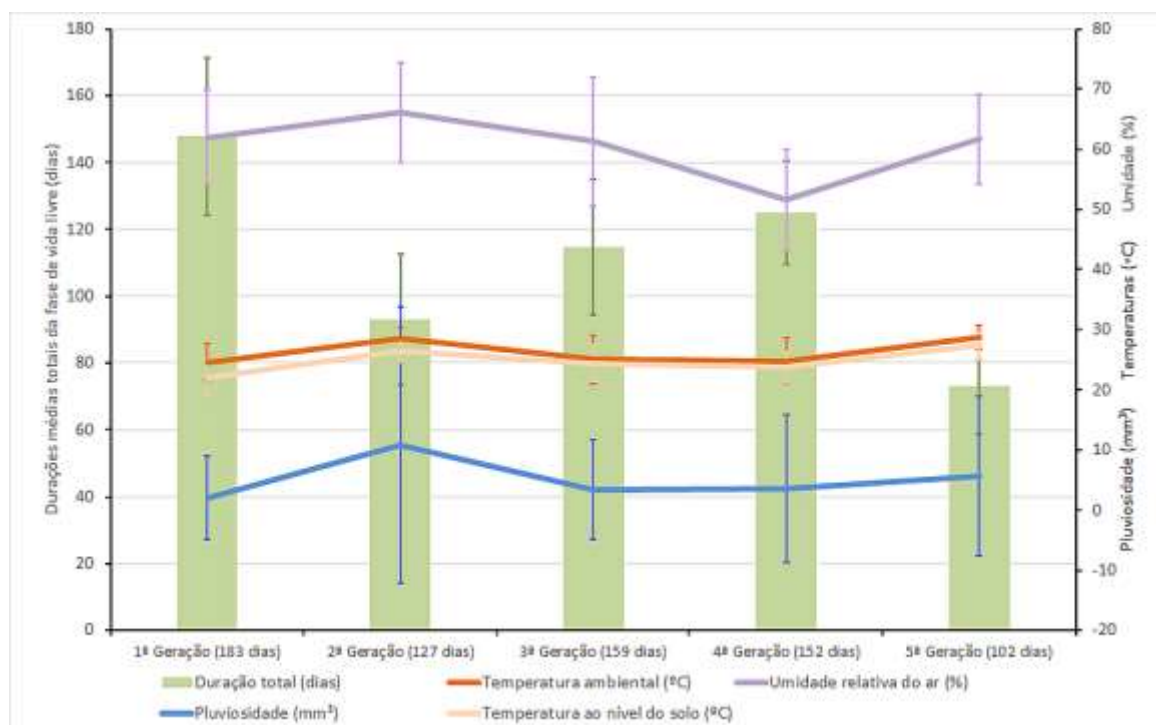


Figura 8. Médias e desvios padrão das variáveis climáticas avaliadas e dos períodos de duração do ciclo de vida livre de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para cada geração consecutiva. Comparações para cada variável obtida ao longo do experimento. Dados em escala original.

As únicas correlações positivas foram detectadas entre pluviosidade e os períodos de pré-postura, pré-eclosão e incubação, e entre o período de pré-postura e a temperatura do ambiente. Destas, a correlação moderada entre pluviosidade e o período de pré-postura foi estatisticamente significativa ($P < 0,05$). As demais correlações significativas foram negativas, observadas de forma moderada entre temperatura ao nível do solo com incubação, postura, pré-eclosão e duração total do ciclo; umidade relativa do ar com incubação e pré-eclosão; e temperatura ambiental com duração total do ciclo e longevidade, sendo esta última correlação apresentada de forma fraca.

3.4. Estimativa do número de gerações anuais

A média dos períodos de pré-eclosão das cinco gerações foi de 41,93 dias, e a maturação média foi de 6,10 dias. Estes dois valores, somados aos 22 dias da fase de vida parasitária, totalizam 70,04 dias. Ao dividir os 365 dias do ano por este valor, obtivemos uma estimativa média de 5,212 gerações.

Foi possível também estimar um número mínimo de gerações, utilizando os maiores períodos de pré-eclosão (89 dias) e maturação (28 dias) obtidos. Estes valores, somados aos 22 dias da fase parasitária totalizam 139 dias, levando a um cálculo de 2,626 gerações por ano.

Considerando as consecutivas gerações de observações nos canteiros, foi possível estimar de forma empírica o que seria a duração máxima de cada geração no ambiente até que as larvas pudessem encontrar um hospedeiro, frente a uma situação onde os mesmos não estiveram disponíveis. Foram feitas cinco repetições a campo, divididas de forma quase idêntica em 2,5 gerações de *R. microplus* para cada ano de avaliação, corroborando com o valor calculado.

Seguindo o raciocínio inverso, utilizando a pré-eclosão (21 dias) e a maturação (um dia) mais curtas observadas, somadas à fase parasitária (22 dias), obtemos 44 dias, que permitem uma estimativa de um máximo hipotético de 8,29 gerações de carrapatos por ano, o que seria praticamente impossível de se observar em qualquer lugar, devido à interferência constante e inevitável de diversas variáveis ambientais sobre o ciclo biológico de *R. microplus*.

4. Discussão

É essencial o conhecimento da fase de vida livre do carrapato bovino, *R. microplus*, não só porque ela concentra cerca de 95% das populações, mas também tendo em vista que a etapa parasitária tem duração relativamente constante, enquanto o período que os carrapatos passam no ambiente é responsável por determinar a duração de seu ciclo e o conseqüente número de gerações anuais (MASTROPAOLO *et al.*, 2017). Observando sua fase de vida no ambiente é possível avaliar a presença de sinais indicativos da adaptação deste parasito às mudanças climáticas, estimar o número real e possível de gerações anuais do carrapato em determinadas condições climáticas e biomas, além de determinar quais fatores ecológicos impactam mais significativamente sua biologia.

Mesmo uma mudança mínima no clima ou ambiente pode ter grandes efeitos na distribuição de parasitos (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2005), predominantemente na temperatura e umidade, considerados os principais fatores abióticos que regulam o desenvolvimento dos carrapatos (DE BARROS *et al.*, 2017), com diferentes espécies apresentando tolerância a variações limitadas dos mesmos para que consigam se desenvolver e sobreviver.

Umidades relativas baixas geralmente levam a morte por dessecação; altas temperaturas e umidade relativa interferem negativamente na eclosão dos ovos e aumentam a mortalidade larval; temperatura ao nível do solo interfere na evaporação, afetando diretamente a capacidade de reidratação e conseqüente sobrevivência dos carrapatos (PFÄFFLE *et al.*, 2013).

Quaisquer alterações nos fatores climáticos, mesmo que restritas ao nível de microclima irão, eventualmente, gerar um impacto imprevisível no ciclo deste ixodídeo. Neste contexto, tornam-se essenciais as análises permanentes e atualizadas deste impacto, considerando as severas e frequentes mudanças climáticas observadas de forma gradualmente mais significativa com o passar dos anos ao redor do planeta (ESTRADA-PEÑA, 2015).

Para avaliar a vida livre deste ixodídeo, vale ressaltar que a fase de vida não parasitária de *R. microplus* pode ser dividida em duas grandes parcelas, de forma similar ao que ocorre com todos os ixodídeos (ESTRADA-PEÑA, 2015).

O período de pré-eclosão (fase de ovos) compreende o tempo até início da postura (pré-postura), até que esta se encerre (postura) e o período até eclosão larval (incubação). O período larval inicia-se neste momento, com o tempo até que as larvas atinjam plena capacidade infestante, demonstrada por meio do geotropismo negativo (maturação), e até que a última larva de uma progênie (massa de ovos) morra (longevidade). Ao longo do presente estudo, foi possível enquadrar estas etapas das consecutivas gerações de carrapatos avaliadas a campo em diferentes perfis climáticos e sazonais.

A primeira geração teve toda sua fase de ovos no outono, com as larvas eclodindo nesta estação e se mantendo no ambiente até o fim do inverno. Os ovos da segunda geração enfrentaram as condições da primavera, quando as larvas eclodiram, sobrevivendo até meados do verão. O período pré-eclosão da terceira geração se situou no verão, com as larvas sobrevivendo ao longo do verão e outono. A quarta geração teve sua fase de ovos no inverno, quando as larvas eclodiram, sobrevivendo até meados da primavera. Nesta estação se incluiu o período pré-eclosão da quinta geração, com sua fase larval ao longo de todo o verão.

Em alguns pontos de avaliação, variando de forma inespecífica ao longo das estações do ano em diferentes gerações, determinadas variáveis biológicas não puderam ser calculadas. Isso foi causado, na maioria das vezes, pela predação ou morte das teleóginas, ou predação das massas de ovos. Apesar da ocorrência destes eventos ao longo do estudo, o grande número de repetições, com 630 teleóginas dispostas em 90 pontos de avaliação, divididos em três formas diferentes de manutenção dos carrapatos (gaiolas, tubos e fêmeas livres) garantiu a consistência e manutenção dos dados.

A interferência de predadores na análise da fase de vida livre do carrapato bovino foi registrada por Pereira (2008), que não conseguiu observar larvas nos seus canteiros durante boa parte de seu período experimental. Alguns estudos têm buscado, como forma alternativa de auxiliar o controle dos carrapatos, a introdução de diversos artrópodes no ambiente, tais como aranhas, formigas, dípteros, e “tesourinhas”, da família Forficulidae, ordem Dermaptera (VERÍSSIMO, 2013). Todos estes foram encontrados na pastagem ao longo dos dois anos de avaliação.

No presente estudo, o maior impacto da predação na perda de resultados foi observado efetivamente ao longo da primeira geração, no outono. Na segunda geração, cuja fase de pré-eclosão situou-se na primavera, foram os tubos que apresentaram o maior número de dados parciais. Isto pôde ser creditado ao alto índice pluviométrico apresentado ao longo desta geração, que levou a proliferação de diferentes fungos nos tubos.

Algumas espécies, predominantemente *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, são reconhecidamente capazes de infectar os carrapatos (GARCIA *et al.*, 2011). A observação de fungos no presente estudo tendo ocorrido de forma significativa apenas ao longo dos períodos mais chuvosos está de acordo com o descrito por Garcia (2008), que registrou a alta influência dos fatores abióticos sobre populações fúngicas.

De forma geral, o momento inicial da fase de vida livre de *R. microplus*, até que a teleógina inicie o processo de oviposição (pré-postura), apresentou média a campo de 3,27 dias, similar ao observado por Oliveira *et al.* (1974), em uma área de Mata Atlântica próxima ao nível do mar, com clima similar ao do presente estudo (3,3 dias). A pré-postura do presente estudo foi mais longa na primavera (segunda geração), quando a pluviosidade também se destacou como superior aos demais, correlação que foi confirmada como significativa pelo coeficiente de Pearson.

Altos índices de pluviosidade também demonstraram influência positiva na postura de *R. microplus* em uma análise conduzida na Caatinga, com clima semiárido e estação chuvosa restrita, onde a pré-postura foi, no entanto, mais longa, durando em torno de uma semana (DE BARROS *et al.*, 2017).

Pré-postura predominantemente mais curta nos meses mais quentes do ano e significativamente mais longa no período de meses mais frios foi registrada no Paraguai, em uma área caracterizada por clima subtropical (BRIZUELA *et al.*, 1996), com médias anuais de temperatura e umidade relativamente similares às registradas no local do presente estudo. Isto ocorreu também em uma região de transição entre Cerrado e Mata Atlântica, caracterizada por clima temperado úmido (SANTARÉM & SARTOR, 2003). Em uma área de Cerrado, com clima similar ao do presente estudo, o mesmo padrão foi registrado, com maior pré-postura em períodos de menor temperatura (PEREIRA, 2008).

O período mais curto de postura observado no presente estudo também foi registrado entre a primavera e o verão. Apenas a postura da primeira geração, que ocorreu durante o outono, diferiu de forma considerável das demais, sendo significativamente mais longa (23,43 dias), corroborando com os resultados obtidos por Oliveira *et al.* (1974), onde a postura média foi de 25,1 dias. Nas demais gerações, as posturas não ultrapassaram os 15 dias de duração, permanecendo inferiores a 10 dias na segunda geração (primavera) e em condições laboratoriais. Posturas mais curtas também foram registradas nos meses mais quentes do ano por Santarém & Sartor (2003), em uma zona de clima temperado e transição entre os biomas de Cerrado e Mata Atlântica.

Tanto uma pré-postura mais longa (aumentando as chances da teleógina ser predada antes de iniciar a oviposição) quanto uma postura menor (indicando sua potencial interrupção precoce), observadas no período chuvoso do ano, são prejudiciais à manutenção do ciclo biológico, indicando tendência de influência negativa da alta pluviosidade observada na primavera e no verão. Este perfil pode ser confirmado por um estudo conduzido em uma área de transição entre Cerrado e Mata Atlântica com clima temperado úmido, também observando efeitos deletérios dos meses mais quentes e úmidos do ano (SANTARÉM & SARTOR, 2003).

Correlação negativa significativa foi registrada no presente estudo apenas entre postura e temperatura. Brovini *et al.* (2003), no bioma Mata Atlântica, em uma localidade com semelhança climática a Jaboticabal (Aw), também registraram pré-postura, postura e incubação dos ovos mais curtas no verão do que no inverno. No entanto, todos os valores destas variáveis registrados pelos referidos autores foram superiores aos obtidos no presente estudo, para ambas as estações.

A incubação dos ovos e o período total do ciclo de *R. microplus* que precedeu a eclosão larval (pré-eclosão) foram consideravelmente mais longos no inverno (quarta geração), quando comparados às demais estações. As principais variáveis climáticas que diferiram nesta estação foram a menor temperatura e umidade relativa do ar, cujos coeficientes de correlação com a incubação foram estatisticamente significativos. Segundo Oliveira *et al.* (1974), no mês de abril (outono) foi observado período de incubação de 45,3 dias, similar ao que foi registrado durante o outono do presente estudo (45,02 dias).

Incubação das larvas mais duradoura na época mais fria do ano também foi registrada no Paraguai, em condições climáticas similares às registradas neste experimento (BRIZUELA *et al.*, 1996). No semiárido brasileiro, em bioma de Caatinga, a incubação dos ovos também se correlacionou de forma negativa com as temperaturas registradas (DE BARROS *et al.*, 2017).

Um perfil oposto referente ao tempo de incubação larval foi registrado no norte da Argentina, em um ecossistema denominado Chaco Seco, com clima subtropical úmido, onde as incubações mais longas foram registradas no verão e primavera (MASTROPAOLO *et al.*, 2017). No entanto, a altitude média nesta localidade ultrapassa os 1100 metros, quase o dobro da altitude do presente estudo, com valores médios de pluviosidade e temperatura consideravelmente inferiores, o que possivelmente justifica a diferença observada na direção das correlações.

O período completo que antecedeu a eclosão das larvas, denominado pré-eclosão, correlacionou-se de forma altamente significativa com a incubação dos ovos, com suas durações variando da mesma forma entre as diferentes estações. Em uma área de Mata Atlântica próxima ao nível do mar, em janeiro, com temperaturas mais altas, a duração média do período de pré-eclosão foi de 32,6 dias (OLIVEIRA *et al.*, 1974), similar ao obtido no verão do presente estudo (30,14 dias na terceira geração). No entanto, em uma região de Cerrado com altitudes próximas a 1000 metros, Pereira (2008) observou períodos de pré-eclosão médios muito superiores, de 83,6 dias, para fêmeas dispostas em canteiros de *U. decumbens*.

Entende-se, pensando no ciclo biológico da espécie de ixodídeo em questão, que o ideal seria a eclosão mais rápida possível das larvas, buscando imediatamente a infestação de novos hospedeiros e formação de uma nova geração de carrapatos. Portanto o prolongamento dos períodos de incubação dos ovos ou do tempo de pré-eclosão como um todo é definitivamente deletério à fase não parasitária de *R. microplus*.

No presente estudo, correlações negativas foram significativas ($P < 0,05$) entre estas duas variáveis biológicas e a temperatura ao nível do solo, reforçando as inferências previamente descritas. Sutherst & Bourne (2006) observaram que a posterior sobrevivência das larvas no ambiente é diretamente relacionada ao estresse sofrido pelos ovos em condições de baixa temperatura e dissecação.

Correlações negativas de toda a fase de fêmeas e ovos no ambiente (pré-eclosão) com temperatura e pluviosidade também foram registradas em uma área do bioma de Cerrado, cuja altitude era superior aos 1000 metros (PEREIRA, 2008).

O tempo de maturação larval, caracterizado pelo movimento de geotropismo negativo das larvas, com estas subindo até a extremidade das gramíneas, oscilou entre valores médios de 2,95 a 8,28 dias neste estudo. Tais durações são consideravelmente menores do que aquelas observadas no ambiente por Pereira (2008), que definiu valor médio de 11 dias para o amadurecimento das larvas em uma área de Cerrado caracterizada por clima tropical de altitude e altitudes médias superiores a 1000 metros.

A longevidade mais curta das larvas é fator decididamente negativo para a manutenção do ciclo de *R. microplus*, pois quanto maior sua sobrevivência, igualmente maior é a possibilidade de se fixarem a um hospedeiro em regiões ou épocas do ano de baixa disponibilidade dos mesmos (ESTRADA-PEÑA, 2015). A menor longevidade ao longo deste estudo foi observada nos verões de ambos os anos (quinta geração, sendo seguida pela segunda geração) que, juntamente com as primaveras, demonstraram maiores índices médios de pluviosidade e temperaturas, corroborando com revisões recentes sobre os impactos climáticos no ciclo biológico dos ixodídeos (OGDEN & LINDSAY, 2016).

Volumes de chuva superiores já foram apontados há mais de um século como responsáveis por menor longevidade (HUNTER & HOOKER, 1907). Chuvas intensas agem removendo as larvas da extremidade das gramíneas, impedindo que concluam seu ciclo. Este fenômeno já foi registrado anteriormente em pastagens de *U. decumbens*, em uma região de Mata Atlântica com clima tropical de altitude (FURLONG *et al.*, 2002). Tal correlação não foi estatisticamente significativa no presente estudo, apesar de ser observada uma evidente tendência de correlações negativas entre longevidade larval e todas as variáveis climáticas.

Por outro lado, correlação oposta, com maiores longevidades em períodos mais chuvosos, foi registrada em área de Cerrado com altitudes superiores a 1000 metros (PEREIRA, 2008). Em clima temperado, a baixa umidade relativa do ar também é deletéria à sobrevivência larval no ambiente (ESTRADA-PEÑA, 2015).

Os dados obtidos por Santarém & Sartor (2003), em clima tropical de altitude, e Magalhães & Lima (1992), em uma área de clima tropical úmido, corroboram com os obtidos no presente estudo, com longevidade das larvas sendo menor nos meses mais quentes do ano e maior no período mais frio, com um coeficiente negativo alto de correlação entre estes fatores.

Labruna & Veríssimo (2001), a apenas 70 quilômetros de onde o presente estudo foi conduzido, em condições climáticas e ambientais quase idênticas, observaram que as larvas apresentam tendência a viver menos no verão, em decorrência das temperaturas mais altas. Uma longevidade inferior para larvas que estavam ativas no início do verão também foi registrada no norte da Argentina (MASTROPAOLO *et al.*, 2017). Estes dados são corroborados pelo presente estudo, onde as larvas que enfrentaram condições de verão no ambiente (segunda e quinta gerações) apresentaram menores longevidades (53,83 e 43,83 dias em média, respectivamente) do que todas as demais gerações avaliadas.

A duração total da fase de vida livre é determinada predominantemente pelo período de incubação dos ovos, taxa de eclosão larval e sobrevivência das larvas (NAVA *et al.*, 2013). No presente estudo, esta variável se correlacionou fortemente com a longevidade larval, com as menores durações de toda a fase de vida livre registradas na quinta e segunda gerações, quando as fêmeas foram expostas na primavera e as larvas enfrentaram as condições ambientais do verão.

Em estudos conduzidos na Argentina tal padrão foi reforçado, com duração maior do período de vida livre quando as larvas se encontravam ativas no ambiente durante o outono e inverno, sendo originadas de teleóginas expostas no verão ou primavera (NAVA *et al.*, 2013; MASTROPAOLO *et al.*, 2017).

As variáveis biológicas envolvidas até o momento em que as larvas sejam capazes de infestar um hospedeiro, pré-eclosão (que engloba pré-postura, postura e incubação) e maturação larval, apresentaram correlações predominantemente positivas entre si. Já a tendência foi de que todas estas variáveis apresentem correlação negativa com a longevidade larval. Estes dados suportam a conclusão de que as condições ideais para o ciclo de vida não parasitária de *R. microplus* devem envolver períodos de pré-eclosão e maturação mais curtos, associados à longevidade mais longa destas larvas no ambiente.

O presente estudo observou uma tendência significativa de correlações predominantemente negativas entre variáveis climáticas e biológicas, previamente registrada para espécies do subgênero *Boophilus* ao redor do mundo por mais de um século (POUND, 1898; HUNTER & HOOKER, 1907; LEGG, 1930; HITCHCOCK, 1955; SNOWBALL, 1957; OLIVEIRA *et al.*, 1974; OLIVEIRA, 1978; OUHELLI *et al.*, 1982; PANDA *et al.*, 1992; SINGH *et al.*, 2000; ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2005). Apesar do grande número de estudos suportando esta tendência de correlações, poucos avaliaram todas as etapas do ciclo deste ixodídeo ao longo de pelo menos dois anos consecutivos, correlacionando estatisticamente estas etapas com as variáveis climáticas registradas no local do estudo durante o mesmo período.

Considerando que o presente estudo reforça e confirma esta tendência, é possível afirmar que o ideal para o ciclo do carrapato bovino, em uma área de Cerrado e clima tropical com estação seca (Aw), é que a teleógina seja exposta ao ambiente em um momento de maior temperatura e umidade relativa do ar, onde a fase até o amadurecimento das larvas se completaria em menos tempo, e que as larvas eclodam em épocas de temperatura e umidade mais baixas, permitindo sua máxima longevidade no ambiente.

Tal perfil aqui proposto pode ser confirmado como benéfico a este ixodídeo ao avaliarmos os resultados obtidos pela quinta geração, cujo período de pré-eclosão se situou na primavera (maior temperatura e umidade), sendo o mais curto de todas as gerações (média de 29,9 dias), e pela primeira geração, cujas larvas permaneceram no ambiente durante o outono e inverno (menor temperatura e umidade), registrando a maior longevidade de todo o estudo (média de 100,02 dias).

A avaliação do impacto de mudanças climáticas sobre a aptidão de áreas para o carrapato bovino corroborou com o apontado neste experimento, indicando que o estabelecimento de populações duradouras de *R. microplus* tem maior índice de sucesso quando as fêmeas são introduzidas ao ambiente no meio do verão, com as larvas presentes no ambiente ao longo do outono (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2006). Em uma área de transição entre Cerrado e Mata Atlântica, com clima temperado e altitudes pouco superiores às do presente estudo, Santarém & Sartor (2003) também observaram que meses frios proporcionaram melhores condições para a sobrevivência das larvas de carrapato.

Em um local do bioma Cerrado com clima tropical úmido, maior sobrevivência das larvas também foi registrada entre os meses da estação seca do ano (MAGALHÃES & LIMA, 1992). Furlong *et al.* (2002) associaram a longevidade das larvas com o comportamento de agrupamento que elas apresentam no ambiente, observando que no inverno os agrupamentos formados são maiores e mais significativos do que no verão, o que pode ter influenciado também na diferenciação observada entre estação seca e estação chuvosa no presente estudo.

Avaliando apenas dados referentes à fase de vida livre desta espécie de carrapato, foco deste experimento, e não considerando a sobreposição de gerações que com frequência ocorre em condições naturais, foram efetivamente observadas menos de três gerações de *R. microplus* por ano de avaliações em condições adversas, onde as larvas passaram todo seu ciclo no ambiente sem qualquer contato com hospedeiros. Este valor mínimo de gerações/ano foi reforçado ao calcular o seu número com base nos maiores tempos de pré-eclosão e maturação larval registrados (2,6 gerações/ano).

No entanto, calculando o número de gerações anuais do carrapato bovino com base nos valores médios registrados para cada variável biológica, o presente estudo indicou a ocorrência de pouco mais de cinco gerações anuais (média de 5,2 gerações/ano). A existência de cinco gerações anuais deste ixodídeo, apesar de apontada como uma possibilidade em simulações com condições climáticas perfeitas (EVANS, 1992; HERNÁNDEZ-A *et al.*, 2000), só foi efetivamente registrada recentemente em regiões de Cerrado: com clima subtropical com estação seca (GOMES *et al.*, 2016) e com clima tropical de savana (CRUZ, 2017 – dados não publicados). Ambos os trabalhos que registraram cinco gerações anuais deste ixodídeos foram conduzidos concomitantemente ao presente estudo.

Com a confirmação, tanto na literatura quanto por dados obtidos ao longo deste experimento, dos valores mínimos (2,6) e médios (5,2) calculados para o número de gerações anuais de *R. microplus*, cresce a relevância do terceiro cálculo conduzido. Tal cálculo considerou as menores durações de pré-eclosão e maturação, determinando a possibilidade de ocorrência máxima de 8,3 gerações por ano em uma área de clima tropical com estação seca (Aw), frente a condições climáticas e ambientais consideradas ideais para o desenvolvimento deste ixodídeo.

É possível concluir que os fatores climáticos afetam a fase de vida não parasitária do carrapato bovino, com correlação positiva significativa observada entre pluviosidade e o período de pré-postura, enquanto a teleógina se encontra no ambiente. Com relação aos ovos e larvas de *R. microplus*, foi observada uma tendência de correlações negativas significativas entre temperatura e os períodos de pré-postura, incubação e pré-eclosão, e entre umidade relativa do ar e os períodos de incubação e pré-eclosão.

Foram observados pré-postura, incubação dos ovos, tempo até eclosão larval e tempo para amadurecimento das larvas mais curtos na estação chuvosa do ano (primavera e verão). Já a postura dos ovos e a longevidade das larvas no ambiente foram maiores durante o outono e inverno (estação seca), com a duração total da fase de vida não parasitária deste ixodídeo sendo mais longa durante a estação seca e amena observada neste estudo.

Conclui-se que períodos com menor temperatura e umidade são favoráveis à sobrevivência das larvas de *R. microplus* nas pastagens. Em uma área de Cerrado e clima tropical com estação seca, ou tropical de savana (Aw), o período seco do ano, que compreende outono e inverno, pode ser considerado mais favorável à manutenção do carrapato bovino no ambiente. O maior sucesso para a fase de vida não parasitária deste carrapato é conseqüentemente observado em fêmeas que se desprendem dos bovinos no meio do verão, concluindo nesta estação o período que precede a eclosão larval, com as larvas se mantendo no ambiente no outono.

Nas condições climáticas, ambientais e de bioma observadas, o presente estudo permitiu a conclusão de que *R. microplus* é capaz de apresentar cinco gerações consecutivas por ano. Este número oscila entre 2,6 gerações em condições adversas e um potencial de 8,3 gerações nas melhores condições. Estes achados reforçam o fato do carrapato bovino estar se adaptando às mudanças climáticas e se tornando cada vez mais um entrave significativo à pecuária.

5. Referências

ANDRÉ, R. G. B.; GARCIA, A. Alguns aspectos climáticos do município de Jaboticabal – SP. **Nucleus**, v. 12, n. 2, p. 263-270, 2015.

ANDRIOLI, I.; CENTURION, J. F. Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 27, Brasília, 1999. **Anais**. Brasília, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999, 32 p. (CD-Rom).

ANUALPEC. **Anualpec 2016: Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: IEG / FNP, 2016.

ALI, A.; PARIZI, L. F.; FERREIRA, B. R.; VAZ JUNIOR, I. S. A revision of two distinct species of *Rhipicephalus*: *R. microplus* and *R. australis*. **Ciência Rural**, v. 46, n. 7, p. 1240-1248, 2016.

BORGES, L. M. F.; CARNEIRO, J. R.; GOMES, A. G.; MOREIRA, P. C. Influência do peso inicial e da estação do ano na conversão em ovos de fêmeas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Ciência Animal Brasileira**, v. 2, n. 2, p. 127-131, 2001.

BRIZUELA, C. M.; ORTELLADO, C. A.; SANCHEZ, T. I.; OSORIO, O.; WALKER, A. R. Formulation of integrated control of *Boophilus microplus* in Paraguay: analysis of natural infestations. **Veterinary Parasitology**, v. 63, p. 95-108, 1996.

BROVINI, C. N.; FURLONG, J.; CHAGAS, A. C. 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.

CEPAGRI – Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas à Agricultura. **Clima dos Municípios Paulistas – Jaboticabal**. Disponível em: <http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima_muni_279.html>. Acesso em: 18 fev. 2014.

CRISPIM, S. M. A.; BRANCO, O. D. **Aspectos gerais das braquiárias e suas características na sub-região da Nhecolândia, Pantanal, MS**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2002. 26 p. (Embrapa-CPAP. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 33).

CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; MACIEL, W. G.; FELIPPELLI, G.; FÁVERO, F. C.; CRUZ, A. C.; BUZZULINI, C.; SOARES, V. E.; GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; OLIVEIRA, G.P.; COSTA, A. J. Effects of fluazuron (2.5 mg/kg) and a combination of fluazuron (3.0 mg/kg) + abamectin (0.5 mg/kg) on the reproductive parameters of a field population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* on experimentally infested cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 97, p. 80-84, 2014.

CRUZ, B. C.; LOPES, W. D. Z.; MACIEL, W. G.; FELIPPELLI, G.; FÁVERO, F. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; CARVALHO, R. S.; RUIVO, M. A.; COLLI, M. H. A.; SAKAMOTO, C. A. M.; DA COSTA, A. J.; DE OLIVEIRA, G. P. Susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin (200, 500 and 630 g/kg) in field studies in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 207, p. 309-317, 2015.

CSORDAS, B. G.; GARCIA, M. V.; CUNHA, R. C.; GIACHETTO, P. F.; BLECHA, I. M. Z.; ANDREOTTI, R. New insights from molecular characterization of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 3, p. 317-326, 2016.

DE BARROS, M. N. D. L.; RIET-CORREA, F.; AZEVEDO, S. S.; LABRUNA, M. B. Off-host development and survival of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the Brazilian semiarid. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 9, p. 17-24, 2017.

ESTRADA-PEÑA, A. Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v. 34, n. 1, p. 53-65, 2015.

ESTRADA-PEÑA, A.; CORSON, M.; VENZAL, J. M.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. Changes in climate and habitat suitability for the cattle tick *Boophilus microplus* in its southern Neotropical distribution range. **Journal of Vector Ecology**, v. 31, n. 1, p. 158-167, 2006.

ESTRADA-PEÑA, A.; SÁNCHEZ-ACEDO, C.; QUILEZ, J.; DEL CACHO, E. A retrospective study of climatic suitability for the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the Americas. **Global Ecology Biogeography**, v. 14, p. 565-573, 2005.

ESTRADA-PEÑA, A.; VENZAL, J. M.; NAVA, S.; MANGOLD, A.; GUGLIELMONE, A. A.; LABRUNA, M. B.; DE LA FUENTE, J. Reinstatement of *Rhipicephalus (Boophilus) australis* (Acari: Ixodidae) with redescription of the adult and larval stages. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 4, p. 794-802, 2012.

EVANS, D. E. Tick infestation of livestock and tick control methods in Brazil: A situation report. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 13, i. 4, p. 629-643, 1992.

FURLONG, J.; CHAGAS, A. C. S.; NASCIMENTO, C. B. Comportamento e ecologia de larvas do carrapato *Boophilus microplus* em pastagens de *Brachiaria decumbens*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Sciences**, v. 39, n. 4, p. 213-217, 2002.

GARCIA, M. V. **Aplicação do fungo *Metarhizium anisopliae* em pastagem visando o controle do carrapato *Boophilus microplus* em bovinos**. 2008. 58 f. Tese (Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, São Paulo, 2008.

GARCIA, M. V.; MONTEIRO, A. C.; SZABÓ, M. P. J.; MOCHI, D. A.; SIMI, L. D.; CARVALHO, W. M.; TSURUTA, S. A.; BARBOSA, J. C. Effect of *Metarhizium anisopliae* fungus on off-host *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* from tick-infested pasture under cattle grazing in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 181, p. 267-273, 2011.

GARCIA, M. V.; HIGA, L. O. S.; BARROS, J. C.; ANDREOTTI, A. Protocolos sobre bioensaios para diagnóstico da resistência de *Rhipicephalus microplus* aos acaricidas. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. **Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 179-194.

GEARY, T. G.; THOMPSON, D. P. Development of antiparasitic drugs in the 21st Century. **Veterinary Parasitology**, v. 11, p. 167-184, 2003.

GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; 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. Acaricidal effects of fluazuron (2.5 mg/kg) and a combination of fluazuron (1.6 mg/kg) + ivermectin (0.63 mg/kg), administered at different routes, against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* parasitizing cattle. **Experimental Parasitology**, v. 153, p. 22-28, 2015.

GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; TEIXEIRA, W. F. P.; MACIEL, W. G.; CRUZ, B. C.; FELIPPELLI, G.; BUZZULINI, C.; SOARES, V. E.; DE MELO, D. P.; BICHUETTE, M. A.; JUNIOR, G. G.; DA COSTA, A. J. Population dynamics and evaluation of 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, p. 72-76, 2016.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEÓN, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.

HERNÁNDEZ-A, F.; TEEL, P. D.; CORSON, M. S.; GRANT, W. E. Simulation of rotational grazing to evaluate integrated pest management strategies for *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in Venezuela. **Veterinary Parasitology**, v. 92, p. 139-149, 2000.

HITCHCOCK, L. F. Studies of the non-parasitic stages on the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 3, p. 295-311, 1955.

HUNTER, W. D.; HOOKER, W. A. **Information concerning the North American fever tick, with notes on other species**. Washington: Government Printing Office, 1907, p. 14-26.

JABOTICABAL – Prefeitura Municipal de Jaboticabal. **Estatísticas – 07/06/2010**. Jaboticabal, SP, 2010. Disponível em: <<http://www.jaboticabal.sp.gov.br/2010/index.php/conteudo/visualizar/estatisticas>>. Acesso em: 11 abr. 2014.

LABRUNA, M. B.; VERÍSSIMO, C. J. Observações sobre a infestação por *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em bovinos mantidos em rotação de pastagem, sob alta densidade animal. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, n. 2, p. 115-120, 2001.

LABRUNA, M. B.; NARANJO, V.; MANGOLD, A. J.; THOMPSON, C.; ESTRADA-PEÑA, A.; GUGLIELMONE, A. A.; JONGEJAN, F.; DE LA FUENTE, J. Allopatric speciation in ticks: genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **BMC Evolutionary Biology**, v. 9:46, p. 1-12, 2009.

LEGG, J. Some observations on the life history of the cattle tick (*Boophilus australis*). **Proceedings of the Royal Society of Queensland**, v. 41, n. 8, p. 121-132, 1930.

LOPES, W. D. Z.; TEIXEIRA, W. F. P.; DE MATOS, L. V. S.; FELIPPELLI, G.; CRUZ, B. C.; MACIEL, W. G.; BUZZULINI, C.; FÁVERO, F. C.; SOARES, V. E.; DE OLIVEIRA, G. P.; DA COSTA, A. J. Effects of macrocyclic lactones on the reproductive parameters of engorged *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* females detached from experimentally infested cattle. **Experimental Parasitology**, v. 135, p. 72-78, 2013.

LOPES, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; FELIPPELLI, G.; MACIEL, W. G.; BUZZULINI, C.; GOMES, L. V. C.; FÁVERO, F. C.; SOARES, V. E.; BICHUETTE, M.A.; DE OLIVEIRA, G. P.; DA COSTA, A. J. Efficacy of fipronil (1.0 mg/kg) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistant to ivermectin (0.63 mg/kg). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 115, p. 88-93, 2014.

MACIEL, W. G.; LOPES, W. D. Z.; GOMES, L. V. C.; CRUZ, B. C.; FELIPPELLI, G.; DOS SANTOS, I. B.; BORGES, F. A.; JUNIOR, W. A. G.; SCARPA, A. B.; NICARETTA, J. E.; BASTOS, T. S. A.; DA COSTA, A. J. 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, p. 74-86, 2016.

MAGALHÃES, F. E. P.; LIMA, J. D. Desenvolvimento e sobrevivência do carrapato em pastagem de *Brachiaria decumbens* no município de Pedro Leopoldo, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 15-25, 1992.

MASTROPAOLO, M.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A.; NAVA, S. Non-parasitic life cycle of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in *Panicum maximum* pastures in northern Argentina. **Research in Veterinary Science**, v. 115, p. 138-145, 2017.

NAVA, S.; MASTROPAOLO, M.; GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A. J. Effect of deforestation and introduction of exotic grasses as livestock forage on population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in northern Argentina. **Research in Veterinary Science**, v. 95, p. 1046-1054, 2013.

OGDEN, N. H.; LINDSAY, L. R. Effects of climate and climate change on vectors and vector-borne diseases: ticks are different. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 8, p. 646-656, 2016.

OLIVEIRA, G. P.; COSTA, R. P.; MELLO, R. P.; MENEGUELLI, C. A. Estudo ecológico da fase não parasítica do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina, Ixodidae) no estado do Rio de Janeiro. **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, n. 4, v. 1, p. 1-10, 1974.

OLIVEIRA, G. P. Comportamento de ovos e larvas de *Boophilus microplus* (Can.) (Acarina: Ixodidae) em condições de imersão e de ambiente. **Científica**, ano V, v. 6, nº 2, p. 295-305, 1978.

OLIVEIRA, G. P. Relação entre o peso da postura e o peso da fêmea ingurgitada de *Boophilus microplus* (Can.) (Acarina: Ixodidae). **Científica**, ano VII, v. 7, nº 2, p. 273-276, 1979.

OUHELLI, H.; PANDEY, V. S.; CHOUKRI, M. The effects of temperature, humidity, photoperiod and weight of the engorged female on oviposition of *Boophilus annulatus* (Say, 1821). **Veterinary Parasitology**, v. 11, p. 231-239, 1982.

PANDA, D. N.; ANSARI, M. Z.; SAHAI, B. N. Studies on the development and survival periods of the non-parasitic stages of *Boophilus microplus* (Canestrini), in the climatic conditions of Ranchi (India). **Veterinary Parasitology**, v. 44, p. 275-283, 1992.

PATZ, J. A.; GRACZYK, T. K.; GELLER, N.; VITTOR, A. Y. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1395-1405, 2000.

PEREIRA, A. A. **Aspectos ecológicos de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae) no município de Franca, nordeste de São Paulo**. 2008. 113 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – área de Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2008.

PFÄFFLE, M.; LITTWIN, N.; MUDERS, S. V.; PETNEY, T. N. The ecology of tick-borne diseases. **International Journal for Parasitology**, v. 43, p. 1059-1077, 2013.

POUND, C. J. Notes on the Cattle Tick, its development, life history, habits, and geographical distribution. *Queenslander*, Brisbane, Queensland, p. 901-902, Saturday 5, November 1898.

ROCHA, U. F.; BANZATTO, D. A.; DA COSTA, A. J.; GALLUZZI, F. D.; GARCIA, M. C. C.; FALEIROS, R. B.; VIDOTTO, O. Nova técnica de cubagem para estudo de correlações entre volume e peso de carrapatos e sua longevidade e prolificidade. **Semina**, v. 6, n. 2, p. 69-74, 1985.

SANTARÉM, V. A.; SARTOR, I. F. Fase de vida livre e flutuação sazonal do *Boophilus microplus* em Botucatu, São Paulo, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 11-20, 2003.

SAS Institute Inc. **Statistical Analysis System user's guide**. Version 9.0. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2002. 513 p.

SINGH, A. P.; SINGLA, L. D.; SINGH, A. A study on the effects of macroclimatic factors on the seasonal population dynamics of *Boophilus microplus* (Canes, 1888) infesting the crossbred cattle of Ludhiana district. **International Journal of Animal Science**, v. 15, i. 1, p. 29-31, 2000.

SNOWBALL, G. J. Ecological observations on the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 4, p. 394-413, 1957.

STATSOFT, INC. **STATISTICA (data analysis software system)**, version 8.0. 2007. www.statsoft.com.

SUTHERST, R. W.; BOURNE, A. S. The effect of desiccation and low temperature on the viability of eggs and emerging larvae of the tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (canestrini) (ixodidae). **International Journal for Parasitology**, v. 36,p. 193-200, 2006.

TEEL, P. D.; MARIN, S. L.; GRANT, W. E. Simulation of host-parasite-landscape interactions: influence of season and habitat on cattle fever tick (*Boophilus* sp.) population dynamics. **Ecological modeling**, v. 84, p. 19-30, 1996.

VERÍSSIMO, C. J. Controle biológico do carrapato do boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no Brasil / Biological control of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Brazil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 11, n. 1, p. 14-23. 2013.

CAPÍTULO 5 – Sensibilidade de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae) a acaricidas tópicos e proposta de um programa atualizado de controle estratégico

Resumo – Considerando a alarmante disseminação da resistência do carrapato bovino à maioria dos fármacos disponíveis para seu controle, e a necessidade do conhecimento deste fenômeno a um nível local, para cada cepa ou população, este estudo avaliou a eficácia de piretróides sintéticos, organofosforados e amidinas sobre duas cepas de carrapatos, utilizando o Teste de Pacotes de Larvas (TPL). Tal avaliação foi conduzida ao longo de dois anos consecutivos, nos quais estas cepas não tiveram contato com qualquer ativo químico sintético. Adicionalmente, tendo por base a busca por novos e eficazes esquemas de controle deste ixodídeo, baseado nos resultados dos TPL, propôs-se uma atualizada metodologia de controle estratégico aplicável à região do estudo. Os resultados demonstraram algum grau de mortalidade nos controles negativos e altos valores de eficácia obtidos pelos fármacos avaliados, indicando a possibilidade de que o TPL eventualmente superestime os valores observados. Mesmo sem que seus hospedeiros tenham sido submetidos a quaisquer tratamentos acaricidas ao longo do período experimental, os índices de eficácia obtidos pelo amitraz decresceram com o decorrer das avaliações. Tais resultados reforçam a potencial ineficácia do TPL convencional para avaliação das amidinas. Os resultados obtidos levaram a uma proposta de controle estratégico concentrando os tratamentos dos animais na estação chuvosa do ano, prevenindo novos picos de infestação na estação seca do ano, conseqüentemente reduzindo a frequência e o número de tratamentos, diminuindo assim os gastos com o seu controle. Novos estudos devem ser conduzidos, comparando diferentes metodologias e cepas de *R. microplus* por períodos de tempo mais expressivos, em condições controladas, buscando definir se existe qualquer alteração no perfil de resistência ou susceptibilidade deste ixodídeo aos fármacos utilizados em seu controle após períodos de ausência de contato com os princípios ativos.

Palavras chave: Amidinas; Carrapato bovino; Controle estratégico; Organofosforados; Piretróides sintéticos; Susceptibilidade.

1. Introdução

O carrapato bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, é responsável por prejuízos anuais de 3,24 bilhões de dólares apenas no Brasil, sendo o mais relevante ectoparasito para a indústria pecuária nacional (GRISI *et al.*, 2014). Para seu adequado manejo, o estudo de sua biologia é ferramenta essencial, buscando a criação de tratamentos estratégicos, nos momentos mais desfavoráveis de seu ciclo (FURLONG *et al.*, 2002). Infelizmente, as alternativas disponíveis atualmente não são capazes de substituir completamente os fármacos (FAO, 2003; FAO, 2004).

As principais desvantagens no uso de compostos químicos são o desenvolvimento de resistência, poluição ambiental, toxicidade inerente e poder acumulativo de resíduo nos produtos provenientes de animais medicados (DE CASTRO, 1997; CATTO *et al.*, 2010). Dentre estes empecilhos, a preocupação com os resíduos de fármacos, principalmente na carne e no leite, tem aumentado de forma constante, levando até a implantação temporária do banimento das lactonas macrocíclicas de longa ação do mercado (MAPA, 2014).

Devido ao uso incorreto por parte da maioria dos produtores, a resistência aos acaricidas tem avançando progressivamente sobre os grupos químicos, com a seleção de populações resistentes a múltiplos antiparasitários. Considerando o cenário atual, onde é cada vez mais improvável o desenvolvimento de novas moléculas, tal fenômeno assume imensa relevância (KLAFKE *et al.*, 2006; ABBAS *et al.*, 2014; SIQUEIRA *et al.*, 2016; KLAFKE *et al.* 2017).

A resistência geralmente ocorre em um determinado organismo por meio de alterações genéticas que modificam o sítio de ação, aumentam o metabolismo ou o sequestro do acaricida, ou ainda reduzem sua capacidade de penetração no corpo do parasito (GUERRERO *et al.*, 2012). Para os produtores em geral, a resistência é a perda total ou parcial de eficácia de um produto (NARI, 2005), derivada da habilidade dos ixodídeos sobreviverem à pressão de seleção (ANDREOTTI, 2010). Este é um sério problema, documentado no mundo todo para diversos parasitos, principalmente o *R. microplus* (DAVEY *et al.*, 2006). Assume importância ainda maior, pois o controle de carrapatos também tem o objetivo de controlar doenças que estes transmitem (LONDERSHAUSEN, 1996; SANGSTER, 2001).

Tal fenômeno é conhecido há mais de seis décadas, sendo hoje confirmado contra organoclorados, organofosforados, piretrinas, piretróides sintéticos, amidinas, lactonas macrocíclicas, fenilpirazóis e fluazuron (CATTO *et al.*, 2010; LOPES *et al.*, 2013; CRUZ *et al.*, 2014b; LOPES *et al.*, 2014; RECK *et al.*, 2014; CRUZ *et al.*, 2015b; GOMES *et al.*, 2015; MACIEL *et al.*, 2016; KLAFKE *et al.*, 2017).

O fato do Brasil não possuir políticas públicas específicas para controle e venda de acaricidas e endectocidas facilita o aumento da resistência no país, sendo comprovada a existência de populações resistentes a vários compostos com mecanismos de ação diversos. Em alguns estados foi registrada resistência a até oito classes de acaricidas (GARCIA *et al.*, 2016). Por ser monoxeno, a resistência ocorre de forma mais rápida, pois gerações mais curtas e maior exposição das formas imaturas aos fármacos geram maior pressão de seleção (SABATINI, 2001).

O manejo da resistência geralmente incide na menor frequência de uso dos compostos químicos, uso racional dos acaricidas, alteração de dosagens ou concentrações, utilização de fármacos com mecanismos de ação diversos, associação de sinergistas, rotação de diferentes mecanismos de ação, uso de refúgia, impedimento da entrada de novos indivíduos resistentes nas populações e o monitoramento de sua evolução (ABBAS *et al.*, 2014; GUERRERO *et al.*, 2014).

O diagnóstico precoce da resistência é essencial para escolha das bases químicas mais efetivas em uma população alvo (ANDREOTTI, 2010), elaboração de estratégias de controle deste fenômeno, prevenção de sua emergência e disseminação de parasitos resistentes, além da diminuição de despesas (KLAFKE, 2011). No entanto, um diagnóstico concreto ainda é dificultado pela falta de provas padronizadas, impossibilitando monitoramento adequado (NARI, 2005).

Com base no exposto, objetivou-se estudar o perfil de susceptibilidade de duas cepas distintas de *R. microplus* frente a alguns dos principais acaricidas disponíveis no mercado. Objetivou-se também avaliar a evolução deste fenômeno com o transcorrer de dois anos sem contato com compostos químicos. Adicionalmente, propôs-se uma metodologia de controle estratégico, tratando os animais em momentos onde os parasitos se encontrem mais susceptíveis ao controle, visando diminuição efetiva de infestação do rebanho e menor pressão de seleção para o desenvolvimento da resistência.

2. Material e Métodos

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/UNESP (protocolo nº 11511/14). O experimento foi iniciado em 01º de abril de 2015, no início do outono, sendo esta data definida como o dia experimental zero.

O presente estudo acompanhou quatro tipos de formulações: (a) piretróides sintéticos, (b) organofosforados, (c) associações de piretróides e organofosforados e (d) amidinas. Estas classes de acaricidas são as mais utilizadas por produtores rurais no Brasil contra artrópodes ectoparasitos de bovinos (MENDES *et al.*, 2007) e para o controle desta e de outras espécies de carrapatos no ambiente ao redor do mundo (OSTFELD *et al.*, 2006).

Foram selecionados produtos utilizados por via tópica, através da pulverização corporal dos bovinos. Esta metodologia de tratamento dos animais exige atenção maior no momento da aplicação dos fármacos, focando em diluições corretas dos mesmos e pulverizações sobre toda a superfície corporal dos animais. Ainda assim, é a mais indicada e comumente utilizada para animais em lactação (FURLONG & SALES, 2007).

2.1. Cepas de carrapato utilizadas

Para a realização do experimento, foram utilizadas duas cepas de *R. microplus* mantidas no Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR), FCAV/UNESP, localizado em Jaboticabal, São Paulo (21º 14' 43" S, 48º 17' 03" O).

A cepa principal cuja evolução do perfil de sensibilidade foi avaliada (cepa CAMPO) foi iniciada a partir de fêmeas (teleóginas) obtidas de bovinos mestiços, naturalmente infestados, oriundos de propriedades rurais de Minas Gerais. Esta cepa era mantida no referido centro por pelo menos cinco anos antes do início deste trabalho, em bovinos que não recebiam quaisquer tratamentos acaricidas e/ou endectocidas. Diversas pesquisas envolvendo esta cepa de carrapatos específica detectaram, por meio de metodologias diversas, distintos graus de resistência a variados fármacos aplicados por via tópica (CRUZ *et al.*, 2014a; CRUZ *et al.*, 2015a).

Além das pulverizações, perfis de resistência desta cepa de *R. microplus* também foram diagnosticados para classes acaricidas mais recentes, como as lactonas macrocíclicas (LOPES *et al.*, 2013; LOPES *et al.*, 2014; CRUZ *et al.*, 2015b; GOMES *et al.*, 2015) e o fluazuron (CRUZ *et al.*, 2014b; MACIEL *et al.*, 2016).

Os bovinos que mantiveram esta cepa foram mantidos a pasto, se reinfestando de forma natural, sem receber quaisquer tratamentos e sem que novos animais ou carrapatos de outras origens fossem introduzidos nesta área. Em um primeiro momento, larvas desta cepa com idades entre 14 e 21 dias foram utilizadas para infestação de uma pastagem formada por *Urochloa decumbens* e *Cynodon dactylon* que permaneceu por mais de um ano sem introdução de bovinos. No mesmo dia da infestação da pastagem, seis bovinos com idades entre seis e 12 meses, livres de carrapatos e sem histórico de quaisquer tratamentos acaricidas, foram introduzidos no referido piquete. Os próprios bovinos passaram a manter a população de carrapatos na pastagem após a infestação inicial, sendo os carrapatos provenientes destes animais utilizados para as avaliações.

Além da cepa CAMPO, uma cepa sensível à maioria dos acaricidas utilizados no país foi testada comparativamente. Tal cepa, denominada MOZO, também mantida continuamente por mais de cinco anos, foi originada da cepa Mozo obtida do Uruguai. Ao longo do estudo, esta cepa foi mantida no Instituto de Pesquisas em Sanidade Animal Ltda. (IPESA), localizado em Formiga, Minas Gerais (20° 31' 04" S, 45° 28' 28" O), por bovinos alocados em baias individuais, com piso frestado, lavadas diariamente para recolhimento dos carrapatos. Estes foram enviados semanalmente ao CPPAR para serem utilizados neste estudo.

2.2. Fármacos utilizados

Foram priorizados produtos administrados por via tópica (pulverização) disponíveis no mercado veterinário brasileiro, representando as principais classes químicas ainda amplamente utilizadas no controle deste ectoparasito:

- Cipermetrina 15% + clorpirifós 25% + citronelal 1% (associação entre um piretróide, um organofosforado e um monoterpênóide com propriedades repelentes): Colosso® (Ourofino Saúde Animal Ltda.);
- Cipermetrina 15% + clorpirifós 25% + butóxido de piperonila 15% + citronelal 1% (associação entre um piretróide, um organofosforado, um sinergista, potencializador dos piretróides e um repelente): Cyperclor Plus® (Ceva Saúde Animal Ltda.);
- Cipermetrina 5% + diclorvós 45% (associação simples entre um piretróide e um organofosforado): Cypermil Plus® (Ourofino Saúde Animal Ltda.);
- Amitraz 12,5% (formamidina): Clipatic® (Fagra – Farmagrícola S.A.);
- Cipermetrina 15% (piretróide sintético): Flytick® (Vallée S. A.);
- Diclorvós 60% + clorpirifós 20% (organofosforados): Ectofós® (Vallée S. A.).

2.3. Avaliação do perfil de mortalidade larval (ação anti-ixodídica)

Cerca de 10 fêmeas foram selecionadas de cada cepa em cada data experimental, colhidas diretamente dos bovinos. O objetivo destas análises foi avaliar se existiu qualquer alteração no perfil de mortalidade larval que pudesse ser indicativo de susceptibilidade ou resistência das cepas CAMPO e MOZO, após estas passarem dois anos consecutivos sem qualquer contato com antiparasitários. Pela média dos valores de larvas mortas obtidos em cada repetição, calculou-se o percentual de mortalidade de *R. microplus* alcançado pelo fármaco em questão.

Para tanto, fêmeas deste ixodídeo foram colhidas diretamente dos animais experimentais em intervalos mínimos de 56 dias. Ao longo dos dois anos de duração do estudo, foram realizadas sete coletas de carrapatos para condução dos Testes de Pacotes de Larvas, nos dias experimentais zero, 126, 294, 350, 406, 518 e 686.

No primeiro momento, intervalos maiores (126 e 168 dias entre as três primeiras coletas) foram mantidos, tendo em vista a baixa probabilidade de alteração imediata no perfil de mortalidade larval da cepa analisada. A partir do dia 294, objetivou-se realizar coletas em intervalos fixos de 56 dias. No entanto, em algumas datas experimentais as análises não puderam ser feitas, pois o número de fêmeas de carrapato obtidas não foi suficiente (dias 462, 518 e 574).

Para a realização desta análise utilizou-se o Teste de Pacote de Larvas (TPL). As soluções acaricidas foram diluídas de acordo com as recomendações técnicas, sendo em seguida confeccionados os pacotes de papel-filtro impregnados com 700 microlitros (μl) das diluições, mantidos durante 24 horas em temperatura ambiente para secagem. Cerca de 100 larvas com idade média de 14 dias foram então colocadas em cada pacote com o auxílio de um pincel. Em seguida, os pacotes foram fechados e incubados em estufa tipo BOD a 27 ± 1 °C, UR > 80%, fotoperíodo de 12 horas. Os pacotes foram abertos 24 horas depois e o número de larvas vivas e mortas foi contabilizado. No caso do grupo controle, o mesmo foi exposto aos papéis-filtro impregnados sem acaricida (GARCIA *et al.*, 2016).

A avaliação dos percentuais de mortalidade larval obtidos pelos fármacos analisados frente às cepas selecionadas, ao longo dos dois anos do presente estudo, foi conduzida em parceria com a Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, onde foram feitos os Testes de Pacote de Larvas. O percentual de mortalidade foi determinado com base na relação entre larvas vivas e mortas. Seu resultado compôs um dos itens a serem considerados no cálculo da eficácia do respectivo produto, que utilizou a seguinte fórmula: mortalidade corrigida (%) = $[(\% \text{ mortalidade do tratamento} - \% \text{ mortalidade do grupo controle}) / (100 - \% \text{ mortalidade do grupo controle})] \times 100$ (GARCIA *et al.*, 2016).

2.4. Proposta de controle estratégico

Adicionalmente, para desenvolvimento de uma metodologia de controle estratégico, utilizou-se o número de gerações de *R. microplus* disponível para a região do estudo (CRUZ, 2017 – dados não publicados), considerando o momento ideal para tratamentos estratégicos contra este parasito, quando as populações não se encontram tão altas e as condições climáticas são desfavoráveis aos carrapatos.

Neste delineamento de controle estratégico, os períodos residuais de ação dos potenciais fármacos a serem utilizados não foram considerados, simulando um esquema de tratamento mais intenso e com menor periodicidade, geralmente aplicado contra cepas de carrapatos altamente resistentes.

3. Resultados

Os valores de mortalidade larval, indicativos da susceptibilidade de cada cepa a cada um dos acaricidas testados, ao longo dos dois anos de estudo, estão expressos nas Tabelas 1 (cepa CAMPO) e 2 (cepa MOZO).

Tabela 1. Índices percentuais de mortalidade larval obtidos pelas seis formulações avaliadas, ao longo de todo o estudo, referentes à cepa CAMPO de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Grupo	Dia Zero	Dia 126	Dia 294	Dia 350	Dia 406	Dia 518	Dia 686
Cipermetrina 15% + clorpirifós 25% + citronelal 1%	100,00	100,00	100,00	100,00	94,52	98,33	100,00
Cipermetrina 15% + clorpirifós 25% + but. piperonila 15% + citronelal 1%	100,00	100,00	100,00	100,00	97,34	98,87	99,63
Cipermetrina 5% + diclorvós 45%	99,08	96,54	100,00	100,00	100,00	100,00	99,48
Amitraz 12,5%	73,57	99,05	75,18	83,89	55,63	57,66	26,55
Cipermetrina 15%	94,99	98,30	100,00	99,47	100,00	100,00	100,00
Diclorvós 60% + clorpirifós 20%	99,69	100,00	99,75	100,00	100,00	99,38	100,00

Tabela 2. Índices percentuais de mortalidade larval obtidos pelas seis formulações avaliadas, ao longo de todo o estudo, referentes à cepa MOZO de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Grupo	Dia Zero	Dia 126	Dia 294	Dia 350	Dia 406	Dia 518	Dia 686
Cipermetrina 15% + clorpirifós 25% + citronelal 1%	100,00	99,70	100,00	95,89	100,00	83,90	100,00
Cipermetrina 15% + clorpirifós 25% + but. piperonila 15% + citronelal 1%	100,00	100,00	100,00	98,21	99,28	84,39	100,00
Cipermetrina 5% + diclorvós 45%	100,00	99,67	100,00	100,00	100,00	98,00	97,06
Amitraz 12,5%	95,04	90,78	86,62	20,42	75,54	0,00	0,00
Cipermetrina 15%	100,00	94,33	100,00	98,95	100,00	99,18	100,00
Diclorvós 60% + clorpirifós 20%	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	99,51

Na análise de todas as repetições conduzidas dos Testes de Pacote de Larvas, foi possível notar a presença de mortalidade nas larvas do grupo Controle, não medicado, em todas as datas experimentais. Estes índices de mortalidade foram inferiores a 1,5% nos dias zero, 128 e 294, e próximos a 5% no dia 350. Nos dias 406, 518 e 686 a mortalidade nos controles atingiu valores mais consideráveis, superando os 30%, 55% e 24%, respectivamente. No entanto, ao aplicar a fórmula de correção para cálculo da eficácia, estes valores não impactaram os dados obtidos em todas as datas experimentais.

Com relação a todas as formulações testadas, não foi possível observar variações significativas nos níveis de eficácia obtidos pelos cinco produtos contendo piretróides sintéticos e/ou organofosforados contra as duas cepas avaliadas.

Em todas as datas, as eficácias das associações de organofosforados e piretróides, assim como apenas de organofosforados ou piretróides sintéticos, mantiveram-se superiores a 94% tanto para a cepa CAMPO quanto para a cepa MOZO. As formulações destes cinco grupos atingiram eficácia máxima (100%) em pelo menos quatro datas distintas, para ambas as cepas avaliadas.

A única distinção foi observada no dia 518, para a cepa MOZO, quando as associações cipermetrina 15% + clorpirifós 25% + citronelal 1% e cipermetrina 15% + clorpirifós 25% + butóxido de piperonila 15% + citronelal 1% atingiram eficácias de 83,9% e 84,4%, respectivamente.

Apenas um ingrediente ativo avaliado apresentou alteração considerável no perfil de mortalidade larval registrado: amitraz 12,5%. Em ambas as cepas, esta formulação apresentou, desde o dia experimental zero, percentuais de eficácia inferiores aos dos demais compostos.

Na cepa CAMPO, reconhecidamente resistente a diversos compostos de variados grupos químicos, este percentual oscilou de forma considerável ao longo dos dois anos de avaliação, atingindo mortalidade máxima de 99,05%, no dia 126. Desconsiderando este pico de eficácia, os índices de mortalidade obtidos pelo amitraz contra esta cepa nas demais datas foram insatisfatórios, atingindo valor mínimo de 26,55% no dia 686.

Com relação à cepa MOZO, definida como sensível à maioria dos fármacos utilizados, os resultados iniciais do amitraz reforçaram esta inferência, obtendo um percentual de 95,04% de eficácia no dia zero e 90,78% de eficácia no dia 126. Nos dias 294 e 406 a eficácia do amitraz 12,5% contra esta cepa foi superior à obtida contra a cepa CAMPO. Porém, nos dias 126 e 350 foi observado o perfil inverso. Nos dias experimentais 518 e 686, este princípio ativo não demonstrou nenhuma eficácia (0,0%) contra as larvas da cepa MOZO.

Após avaliação dos índices de mortalidade larval obtidos por diferentes formulações contra as cepas CAMPO e MOZO de *R. microplus*, Um programa de controle estratégico padrão, usando seis banhos acaricidas com intervalos de 21 dias, foi proposto. Para definir as datas nas quais os tratamentos devem ser realizados, este estudo utilizou dados de dinâmica populacional de *R. microplus* no local do estudo durante dois anos (CRUZ, 2017 – dados não publicados).

Com base na dinâmica populacional aplicável a esta área de Cerrado e clima tropical com estação seca (Aw), um programa de controle estratégico foi proposto, medicando os animais entre a segunda metade da primavera e a primeira metade do verão (outubro a fevereiro), conforme ilustrado na Figura 1.

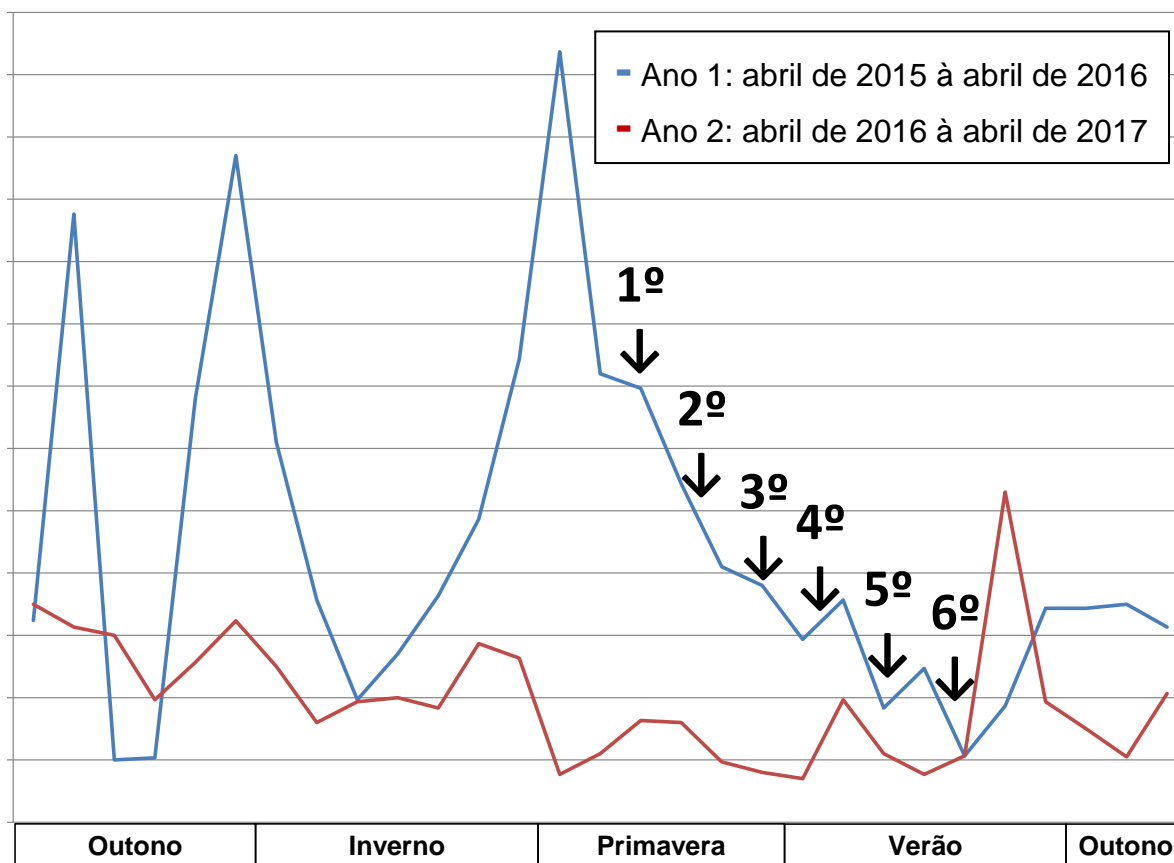


Figura 1. Controle estratégico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, em uma área de Cerrado com clima tropical com estação seca (Aw), utilizando seis tratamentos acaricidas, com intervalos de 21 dias, na estação chuvosa.

4. Discussão

No presente experimento foi possível detectar percentuais variados de mortalidade do grupo controle. Estes geralmente são causados por concentrações inadequadas dos diluentes utilizados (MILLER *et al.*, 2002). Esta mortalidade causada pela técnica em si, no entanto, é corrigida pela própria fórmula de eficácia empregada (GARCIA *et al.*, 2016), não impactando significativamente os demais resultados observados.

As eficácias obtidas ao longo deste experimento por piretróides sintéticos, organofosforados e suas associações (alta susceptibilidade, com eficácias acima de 94% durante praticamente todo o estudo) não permitiram análises sobre a resistência contra os mesmos. Para a detecção da resistência, o ideal é utilizar testes que avaliem o controle dos carrapatos nos hospedeiros, em condições de campo, obtendo resultados que consideram todos os fatores passíveis de interferir na eficácia dos fármacos avaliados.

Testes laboratoriais são amplamente utilizados devido à praticidade e fácil replicação, mas podem superestimar as eficácias, ao desconsiderar a interferência de variações ambientais e fatores comportamentais (GUERRERO *et al.*, 2014; CRUZ *et al.*, 2015a; CRUZ *et al.*, 2015b). Um estudo recente comparou testes *in vitro* e *in vivo* na avaliação da susceptibilidade do carrapato bovino a acaricidas tópicos. Os autores registraram eficácias máximas em laboratório, que não foram alcançadas a campo pelos mesmos fármacos contra a mesma cepa de carrapatos. Esta diferença em valores pode ser o suficiente para erroneamente classificar uma população como sensível ou resistente (CORRÊA *et al.*, 2015).

A resistência aos piretróides é amplamente disseminada no mundo todo, sendo diagnosticada em todas as regiões do Brasil com prevalências de até 98%, com a resistência aos organofosforados também atingindo prevalências alarmantes (PEREIRA *et al.*, 2002; KLAFKE *et al.*, 2017).

Cruz *et al.* (2015a), avaliaram a eficácia de duas associações contendo organofosforados e piretróides sintéticos (cipermetrina 15% + clorpirifós 25% + citronelal 1% e cipermetrina 8% + ethion 60%) sobre a mesma cepa CAMPO que foi testada no presente estudo, por meio de testes de estábulo (*in vivo*). Estes autores encontraram valores de eficácia relativamente baixos para ambas as associações, tanto sobre as cargas parasitárias quanto sobre os parâmetros reprodutivos das fêmeas de *R. microplus* desprendidas destes animais. Isto contrasta com os resultados obtidos nos TPL (*in vitro*) conduzidos neste experimento, onde as eficácias de organofosforados, piretróides e suas associações foram altamente satisfatórias. Este fator assume relevância do ponto de vista científico ao considerar que a grande maioria dos trabalhos disponíveis sobre a resistência do carrapato bovino só utiliza metodologias *in vitro* (CRUZ *et al.*, 2014a).

Amitraz foi o único princípio ativo avaliado cuja ineficácia poderia ser indicada em ambas as cepas experimentais. A resistência ao amitraz é também amplamente disseminada em populações brasileiras de *R. microplus*, diagnosticada em até 70% das cepas de determinadas regiões (MENDES *et al.*, 2013). Existem, no entanto, poucos estudos que focam na elucidação dos mecanismos de resistência às amidinas (GUERRERO *et al.*, 2014).

Estudos apontam a ação significativa de esterases, e possivelmente monooxigenases, na resistência de variados ácaros ao amitraz (MILLER *et al.*, 2001; VAN LEEUWEN *et al.*, 2004; MENDES *et al.*, 2013). Mais recentemente, pesquisadores apontaram a possibilidade de que a resistência a este fármaco envolva mutações nos receptores de octopamina, ou seja, alterações no local de ação do princípio ativo (VAN LEEUWEN *et al.*, 2010; ABBAS *et al.*, 2014).

A resistência ao amitraz é herdada como uma característica recessiva incompleta, com envolvimento de mais de um gene, que aparentemente ocorre de forma mais lenta do que para os demais acaricidas (LI *et al.*, 2005). Mendes *et al.* (2013) observaram que nenhum efeito de sinergistas foi identificado em uma cepa resistente ao amitraz, indicando que um aumento na detoxificação não está envolvido em sua resistência.

Pesquisas na última década demonstraram a reversão da resistência de determinadas cepas do carrapato bovino ao amitraz. Jonsson *et al.* (2010) observaram, utilizando Testes de Pacotes de Larvas na Austrália, que carrapatos de uma cepa resistente ao amitraz parasitando bovinos tratados ao longo de quatro anos com spinosad, ou com a rotação entre spinosad e amitraz, demonstraram diminuição nos níveis de resistência, ao passo que este fenômeno avançou quando os bovinos eram medicados com amitraz. Estes autores também identificaram uma variação sazonal da resistência, aumentando durante primavera, verão e outono e decrescendo no inverno.

Não obstante, é essencial ressaltar que o carrapato bovino da região onde o referido estudo de Jonsson *et al.* (2010) foi conduzido não é mais classificado como *R. microplus*, tendo sido recentemente redescrito como *Rhipicephalus (Boophilus) australis* (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2012). Isto impede a extrapolação de dados, por se tratarem de espécies diferentes de ixodídeos.

No Brasil, um estudo conduzido por Maciel *et al.* (2015), ao longo de 10 anos, demonstrou que aproximadamente 40 gerações de *R. microplus* sem nenhum contato com amitraz não foram suficientes para reversão no quadro de resistência, enquanto apenas três anos foram suficientes para seu desenvolvimento.

A rápida evolução da resistência ao amitraz também foi registrada no México, onde os seus índices aumentaram em até dez vezes durante um período de 15 meses (ROSADO-AGUILAR *et al.*, 2008). Isto corrobora com o observado no presente estudo, onde os níveis de mortalidade pelo amitraz das duas cepas avaliadas decresceram de forma muito intensa ao longo dos dois anos de avaliação.

No entanto, a forma como os testes foram conduzidos neste experimento não permitem relacionar este fenômeno fidedignamente a um aumento da resistência. Nenhum dos animais responsáveis por manter ambas as cepas experimentais teve contato direto com quaisquer amidinas ao longo dos dois anos. Um fator considerado como provável responsável por este fenômeno é a ineficácia da técnica utilizada na avaliação do perfil de susceptibilidade ou resistência de larvas de *R. microplus* às amidinas.

Miller *et al.* (2002) já haviam proposto modificações no Teste de Pacote de Larvas convencional para a obtenção de resultados mais fidedignos ao avaliar o amitraz. Estes autores observaram, por meio de múltiplas comparações, que a utilização de formulações comerciais é melhor do que o uso do amitraz técnico, pois este princípio ativo é muito instável, podendo ser degradado durante o teste.

Apesar de o presente estudo ter utilizado amitraz 12,5% formulado comercialmente, os testes foram conduzidos em pacotes de papel filtro impregnados. O estudo de Miller *et al.* (2002), todavia, demonstrou que o papel filtro, em testes com amitraz, produz resultados muito variáveis dependendo do tempo de exposição das larvas. Ao utilizar o papel filtro, o ideal seria uma exposição de 72 horas (mínimo de 48 h), enquanto este experimento utilizou exposição de 24 horas.

Para atingir resultados fidedignos em um Teste de Pacote de Larvas com amitraz em um período de 24 horas de exposição, recomenda-se a substituição do papel filtro por tecido de nylon. Este tipo de tecido, por não ser um substrato poroso como o papel, permite maior disponibilidade do princípio ativo em contato com as larvas (MILLER *et al.*, 2002).

Outra possibilidade que não pode ser totalmente descartada é o risco de impacto dos acaricidas agrícolas sobre a resistência de *R. microplus*, já levantado anteriormente na literatura por Guerrero *et al.* (2014) e Lopes *et al.* (2014), sendo o amitraz amplamente utilizado no Brasil como acaricida agrícola (ANVISA, 2017). Também existe a possibilidade de resistência cruzada, definida como o compartilhamento de resistência entre acaricidas com mecanismos similares de ação (ABBAS *et al.*, 2014). Esta pode ser negativa, quando a resistência a um composto acaba tornando esta população mais susceptível a outros fármacos (NICASTRO *et al.*, 2013). Tal possibilidade já foi levantada com relação ao amitraz no estado de São Paulo (MENDES *et al.*, 2013).

Resistência cruzada positiva, com o aumento da resistência a um princípio levando ao mesmo aumento para princípios distintos, já foi detectada para o amitraz em *Tetranychus urticae* resistente à clorfenapir, um análogo de pirazol (VAN LEEUWEN *et al.*, 2004). Clorfenapir age nos parasitos impedindo a conversão de ADP em ATP (SATO *et al.*, 2007), sendo usado em grande diversidade de lavouras, tais como frutas, algodão, feijão, eucalipto, milho e soja (ANVISA, 2017). No local onde foi mantida a cepa MOZO existe plantio de eucaliptos, enquanto lavouras de soja existem dentro do Campus da Universidade, onde foi mantida a cepa CAMPO. Não foram informados quais os pesticidas ou as técnicas de pulverização utilizados em ambas as culturas. A área do presente estudo se encontra próxima ao aeroporto de Jaboticabal, onde operam empresas de aviação agrícola. No entanto, não foi possível confirmar se as mesmas operaram próximas ao local onde o experimento foi conduzido.

Adicionalmente, este projeto propôs uma metodologia de controle estratégico específica ao local do estudo. Esta proposta se baseou na dinâmica populacional observada em outro experimento concomitante nesta área de Cerrado e clima tropical com estação seca (Aw). Este experimento observou cinco gerações anuais do carrapato bovino, com picos de infestação concentrados no outono, fim do inverno e começo da primavera (“spring rise”) e ao longo do verão. Neste estudo foram observadas, ao longo de dois anos consecutivos, cargas parasitárias médias mais significativas concentradas no período seco do ano, entre outono e inverno (CRUZ, 2017 – dados não publicados).

O controle estratégico padrão deste carrapato geralmente recomenda cinco ou seis tratamentos com intervalos de 21 dias, somados ao período de carência do fármaco utilizado. Deve ser focado no momento mais deletério ao desenvolvimento do parasito no ambiente, pois é neste instante que os tratamentos vão obter melhor eficácia, evitando populações elevadas de *R. microplus* nas estações do ano mais favoráveis ao mesmo (ANDREOTTI *et al.*, 2016).

Este programa geralmente busca uma redução em longo prazo na frequência e número de tratamentos necessários, conseqüentemente reduzindo os custos (MOREL *et al.*, 2017). De forma geral, acaricidas aplicados via pulverização são os mais baratos disponíveis no mercado. Considerando sua alta eficácia contra ambas as cepas testadas no presente estudo, recomenda-se a utilização dos mesmos no programa de controle estratégico proposto, com exceção do amitraz 12,5%, cuja eficácia foi insatisfatória.

Historicamente, no Brasil, os tratamentos se concentram no período chuvoso do ano, predominantemente no verão (FURLONG *et al.*, 2003; CHIEBAO *et al.*, 2006; FURLONG & SALES, 2007; PEREIRA *et al.*, 2008; FURLONG & PRATA, 2013; ANDREOTTI *et al.*, 2016; GARCIA *et al.*, 2016). Os dados do presente estudo indicam que o controle estratégico deve seguir padrão similar nesta localidade, onde maiores cargas parasitárias se concentram no período seco e ameno.

Um estudo anterior, conduzido em uma área de Cerrado com altitudes significativamente maiores (cerca de 1040 metros), reportou esta mesma hipótese, recomendando o tratamento dos animais na estação chuvosa, entre a primavera e o verão (PEREIRA, 2008). Tratamentos na primavera também foram recomendados na Argentina, em uma área de clima subtropical semiárido (MOREL *et al.*, 2017).

Em conclusão, o presente estudo corroborou com a possibilidade de que testes *in vitro* para avaliar a resistência de *R. microplus* a variados fármacos possam superestimar a eficácia dos compostos avaliados, principalmente por não considerar variáveis ambientais, tais como chuva ou luz solar, e relacionadas ao hospedeiro que interfiram na eficácia dos produtos. No entanto, futuros estudos conduzidos com as mais variadas metodologias disponíveis, analisadas em paralelo, são necessários para que esta afirmação possa ser confirmada ou descartada, permanecendo então como hipótese.

Além disso, os resultados deste experimento evidenciaram um rápido decréscimo dos níveis de mortalidade larval obtidos pelo amitraz em apenas dois anos, para ambas as cepas avaliadas. O contato direto de ambas as cepas a quaisquer acaricidas não ocorreu nos dois anos do estudo. Conclui-se que a mais provável causa destes valores discrepantes tenha sido a ineficácia do Teste de Pacote de Larvas convencional para avaliação da susceptibilidade ou resistência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ao amitraz.

Independente de eventuais interferências da técnica empregada sobre os valores finais obtidos, este estudo observou considerável eficácia de organofosforados, piretróides sintéticos e suas associações contra duas cepas de *R. microplus*. No entanto, resultados discrepantes e não satisfatórios foram registrados quando se observou o amitraz 12,5%, uma das formulações mais amplamente utilizadas no país. Tais resultados permitem concluir que, mesmo que testes específicos para cepa ou população devam ser feitos para orientar a escolha dos acaricidas, fármacos administrados via pulverização não devem ser totalmente descartados, mantendo-se como uma alternativa economicamente viável.

Por fim, considerando a dinâmica populacional de *R. microplus* em uma área de Cerrado e clima tropical com estação seca (Aw), este estudo concluiu que um programa de controle estratégico similar ao geralmente recomendado no país deve ser aplicado. Este programa específico recomenda o tratamento dos bovinos entre os meses de outubro e fevereiro, na estação chuvosa e quente, diminuindo os picos de infestação subsequentes, que iriam ocorrer no outono.

5. Referências

ABBAS, R. Z.; ZAMAN, M. A.; COLWELL, D. D.; GILLEARD, J.; IQBAL, Z. Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: The state of play. **Veterinary Parasitology**, v. 203, p. 6-20, 2014.

ANDREOTTI, R. **Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil**. Campo Grande: Embrapa: CNPGC, 2010. 36 p. (Embrapa-CNPGC. Documentos, 180).

ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. Procedimentos para o controle do carrapato-do-boi em dez passos. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. **Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 201-202.

ANVISA. **Regularização de produtos agrotóxicos. Monografias autorizadas**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>>. Acesso em: 18 ago. 2017.

CATTO, J. B.; ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W. **Atualização sobre o controle estratégico do carrapato-do-boi**. Campo Grande: Embrapa: CNPGC, 2010. 6 p. (Embrapa-CNPGC. Comunicado técnico, 123).

CHIEBAO, D. P.; NOGUEIRA, A. H. C.; GABRIEL, F. H. L. Controle do carrapato dos bovinos. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 32, n. 2, p. 79-82, 2006.

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

CRUZ, B. C.; LOPES, W. D. Z.; MACIEL, W. G.; FELIPPELLI, G.; TEIXEIRA, W. F. P.; FÁVERO, F. C.; PRANDO, L.; BUZZULINI, C.; SOARES, V. E.; GOMES, L. V. C.; BICHUETE, M. A.; COSTA, A. J. Effect of a spray formulations on the reproductive parameters of a susceptible population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 4, p. 421-427, 2014a.

CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; MACIEL, W. G.; FELIPPELLI, G.; FÁVERO, F. C.; CRUZ, A. C.; BUZZULINI, C.; SOARES, V. E.; GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; OLIVEIRA, G.P.; COSTA, A. J. Effects of fluazuron (2.5 mg/kg) and a combination of fluazuron (3.0 mg/kg) + abamectin (0.5 mg/kg) on the reproductive parameters of a field population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* on experimentally infested cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 97, p. 80-84, 2014b.

CRUZ, B. C.; BUZZULINI, 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.; DA COSTA, A. J. 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, p. 70-75, 2015a.

CRUZ, B. C.; LOPES, W. D. Z.; MACIEL, W. G.; FELIPPELLI, G.; FÁVERO, F. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; CARVALHO, R. S.; RUIVO, M. A.; COLLI, M. H. A.; SAKAMOTO, C. A. M.; DA COSTA, A. J.; DE OLIVEIRA, G. P. Susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin (200, 500 and 630 g/kg) in field studies in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 207, p. 309-317, 2015b.

DAVEY, R. B.; GEORGE, J. E.; MILLER, R. J. Comparison of the reproductive biology between acaricide-resistant and acaricide-susceptible *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 139, p. 211-220, 2006.

DE CASTRO, J. J. Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. **Vet Parasitol**, v. 71, p. 77-97, 1997.

ESTRADA-PEÑA, A.; VENZAL, J. M.; NAVA, S.; MANGOLD, A.; GUGLIELMONE, A. A.; LABRUNA, M. B.; DE LA FUENTE, J. Reinstatement of *Rhipicephalus (Boophilus) australis* (Acari: Ixodidae) with redescription of the adult and larval stages. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 4, p. 794-802, 2012.

FAO. **Resistencia a los antiparasitarios: Estado actual com énfasis em América Latina**. Roma: Food and Agriculture Organization, 2003. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/006/y4813s/y4813s03.htm>>. Acesso em: 10 ago. 2017.

FAO. **Guidelines: Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants**. Roma: Food and Agriculture Organization, 2004. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/ag014e>>. Acesso em: 18 ago. 2017.

FURLONG, J.; CHAGAS, A. C. S.; NASCIMENTO, C. B. Comportamento e ecologia de larvas do carrapato *Boophilus microplus* em pastagem de *Brachiaria decumbens*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 4, p. 213-217, 2002.

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

FURLONG, J.; PRATA, M. C. A. Carrapato-dos-bovinos: ações simples permitem convivência em harmonia. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W. **Carrapatos no Brasil. Biologia, Controle e Doenças Transmitidas**. Brasília, DF: Embrapa, 2013. P. 173-187.

FURLONG, J.; SALES, R. O. Controle estratégico de carrapatos no bovino de leite: uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 2, p. 44-72, 2007.

GARCIA, M. V.; HIGA, L. O. S.; BARROS, J. C.; ANDREOTTI, A. Protocolos sobre bioensaios para diagnóstico da resistência de *Rhipicephalus microplus* aos acaricidas. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. **Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 179-194.

GOMES, L. V. C.; LOPES, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; 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. Acaricidal effects of fluazuron (2.5 mg/kg) and a combination of fluazuron (1.6 mg/kg) + ivermectin (0.63 mg/kg), administered at different routes, against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* parasitizing cattle. **Experimental Parasitology**, v. 153, p. 22-28, 2015.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEÓN, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.

GUERRERO, F. D.; DE LEÓN, A. A. P.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I.; JONSSON, N.; MILLER, R. J.; ANDREOTTI, R. Acaricide research and development, resistance, and resistance monitoring. In: SONENSHINE, D. E.; ROE, R. M. **Biology of Ticks. Volume 2**. Oxford: Oxford University Press, 2014, p. 353-381.

GUERRERO, F. D.; LOVIS, L.; MARTINS, J. R. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, p. 1-6, 2012.

JONSSON, N. N.; MILLER, R. J.; KEMP, D. H.; KNOWLES, A.; ARDILA, A. E.; VERRALL, R. G.; ROTHWELL, J. T. Rotation of treatments between spinosad and amitraz for the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* populations with amitraz resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 169, p. 157-164, 2010.

KLAFKE, G. M.; SABATINI, G. A.; ALBUQUERQUE, T. A.; MARTINS, J. R.; KEMP, D. H.; MILLER, R. J.; SCHUMAKER, T. T. S. Larval immersion tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from State of Sao Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 386-390, 2006.

KLAFKE, G. M. **Diagnóstico e mecanismos de resistência a ivermectina em *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae)**. 2011. 120 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

KLAFKE, G.; WEBSTER, A.; DALL'AGNOL, B.; PRADEL, E.; SILVA, J.; DE LA CANAL, L. H.; BECKER, M.; OSÓRIO, M. F.; MANSSON, M.; BARRETO, R.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSINI, V. B.; DOS SANTOS, J.; 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, p. 73-80, 2017.

LI, A. Y.; DAVEY, R. B.; MILLER, R. J.; GEORGE, J. E. Mode of inheritance of amitraz resistance in a Brazilian strain of the southern cattle tick, *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 37, p. 183-198, 2005.

LONDERSHAUSEN, M. Approaches to new parasiticides. **Pesticide Science**, v. 48, p. 269-292, 1996.

LOPES, W. D. Z.; TEIXEIRA, W. F. P.; DE MATOS, L. V. S.; FELIPPELLI, G.; CRUZ, B. C.; MACIEL, W. G.; BUZZULINI, C.; FÁVERO, F. C.; SOARES, V. E.; DE OLIVEIRA, G. P.; DA COSTA, A. J. Effects of macrocyclic lactones on the reproductive parameters of engorged *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* females detached from experimentally infested cattle. **Experimental Parasitology**, v. 135, p. 72-78, 2013.

LOPES, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; FELIPPELLI, G.; MACIEL, W. G.; BUZZULINI, C.; GOMES, L. V. C.; FÁVERO, F. C.; SOARES, V. E.; BICHUETTE, M.A.; DE OLIVEIRA, G. P.; DA COSTA, A. J. Efficacy of fipronil (1.0 mg/kg) against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistant to ivermectin (0.63 mg/kg). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 115, p. 88-93, 2014.

MACIEL, W. G.; LOPES, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; GOMES, L. V. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; BUZZULINI, C.; BICHUETTE, M. A.; CAMPOS, G. P.; FELIPPELLI, G.; SOARES, V. E.; DE OLIVEIRA, G. P.; DA COSTA, A. J. Ten years later: Evaluation of the effectiveness of 12.5% amitraz against a field population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* using field studies, artificial infestation (Stall tests) and adult immersion tests. **Veterinary Parasitology**, v. 214, p. 233-241, 2015.

MACIEL, W. G.; LOPES, W. D. Z.; GOMES, L. V. C.; CRUZ, B. C.; FELIPPELLI, G.; DOS SANTOS, I. B.; BORGES, F. A.; JUNIOR, W. A. G.; SCARPA, A. B.; NICARETTA, J. E.; BASTOS, T. S. A.; DA COSTA, A. J. 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, p. 74-86, 2016.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 13, de 29 de maio de 2014**. Brasília: DOU, 2014, nº 102, p. 55, 30 mai. 2014.

MENDES, E. C.; MENDES, M. C.; SATO, M. E. Diagnosis of amitraz resistance in Brazilian populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) with larval immersion test. **Experimental and Applied Acarology**, v. 61, p. 357-369, 2013.

MENDES, M. C.; PEREIRA, J. R.; PRADO, A. P. Sensitivity of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) to pyrethroids and organophosphates in farms in the Vale do Paraíba region, São Paulo, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 2, p. 81-85, 2007.

MILLER, R. J.; GEORGE, J. E.; GUERRERO, F.; CARPENTER, L. WELCH, J. B. Characterization of acaricide resistance in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae) collected from the Corozal Army Veterinary Quarantine Center, Panama. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n.2, p. 298-302, 2001.

MILLER, R. J.; DAVEY, R. B.; GEORGE, J. E. modification of the Food and Agriculture Organization Larval Packet Test to measure amitraz-susceptibility against Ixodidae. **Journal of Medical Entomology**, v. 39, n. 4, p. 645-651, 2002.

MOREL, N.; SIGNORINI, M. L.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A.; NAVA, S. Strategic control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation on beef cattle grazed in *Panicum maximum* grasses in a subtropical semi-arid region of Argentina. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 144, p. 179-183, 2017.

NARI, A. Estado actual de la resistencia de *Boophilus microplus* en America Latina y el Caribe. Perspectivas de aplicacion del control integrado. In: "30 Años Al Servicio De La Ganaderia Nacional, 1975-2005", 2005, Jiutepec, Morelos, México.

NICASTRO, R. L.; SATO, M. E.; ARTHUR, V.; DA SILVA, M. Z. Chlorfenapyr resistance in the spider mite *Tetranychus urticae*: stability, cross-resistance and monitoring of resistance. **Phytoparasitica**, v. 41, p. 503-513, 2013.

OLIVEIRA, G. P.; MAPELI, E. B.; FREITAS, A. R.; FURLONG, J. Diagnóstico da resistência do *Boophilus microplus*, Canestrini, 1888 (Acarina: Ixodidae) em bovinos leiteiros na região de São Carlos, São Paulo. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, p. 57-66, 2002.

OSTFELD, R. S.; PRICE, A.; HORNBOSTEL, V. L.; BENJAMIN, M. A.; KEESING, F. Controlling ticks and tick-borne zoonoses with biological and chemical agents. **Bioscience**, v. 56, n. 5, p. 383-394, 2006.

PEREIRA, A. A. **Aspectos ecológicos de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae) no município de Franca, nordeste de São Paulo**. 2008. 113 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – área de Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2008.

RECK, J.; KLAFKE, G. M.; WEBSTER, A.; DALL'AGNOL, B.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSINI, V. B.; VARGAS, R.; SANTOS, J. S.; MARTINS, J. R. S. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: A field tick population resistant to six classes of acaricides. **Veterinary Parasitology**, v. 201, p. 128-136, 2014.

ROSADO-AGUILAR, J. A.; RODRIGUEZ-VIVAS, R.I.; GARCIA-VAZQUEZ, Z.; FRAGOSO-SANCHEZ, H.; ORTIZ-NAJERA, A.; ROSARIO-CRUZ, R. Development of amitraz resistance in field populations of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) undergoing typical amitraz exposure in the Mexican tropics. **Veterinary Parasitology**, v. 152, p. 349-353, 2008.

SABATINI, G. A. **Eficácia do Spinosad no tratamento de bovinos experimentalmente e naturalmente infestados por *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887)**. 2001. 64 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, São Paulo, 2001.

SANGSTER, N. C. Managing parasiticide resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 98, p. 89-109, 2001.

SATO, M. E.; DA SILVA, M. Z.; CANGANI, K. G.; RAGA, A. Seleções para resistência e susceptibilidade, detecção e monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* ao acaricida clorfenpir. **Bragantia, Campinas**, v. 66, n. 1, p. 89-95, 2007.

SIQUEIRA, F.; BLECHA, I. M. Z.; MACHADO, M. A.; COUTINHO, L. L.. Uso de técnicas de biologia molecular em estudos de avaliação da resistência genética de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus microplus*. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. **Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. p. 99-114.

VAN LEEUWEN, T.; STILLATUS, V.; TIRRY, L. Genetic analysis and cross-resistance spectrum of a laboratory-selected chlorfenapyr resistant strain of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 32, p. 249-261, 2004.

VAN LEEUWEN, T.; VONTAS, J.; TSAGKARAKOU, A.; DERMAUW, W.; TIRRY, L. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: A review. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 40, p. 563-572, 2010.

CAPÍTULO 6 – Considerações finais

1. Introdução

O planeta Terra tem enfrentado de forma constante, com o passar dos anos, mudanças climáticas severas e gradativas, alterando de forma significativa climas, ambientes e biomas. O real impacto destas mudanças no ciclo de relevantes parasitos, em especial o carrapato bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae), é foco de atuais pesquisas em diversos países. Tal fenômeno, no entanto, ainda não foi completamente elucidado.

Um profundo conhecimento da ecologia e biologia deste ixodídeo ao nível local, em cada diferente habitat ou microclima, se torna cada vez mais relevante, buscando definir os pontos vulneráveis de seu ciclo e estabelecer estratégias eficazes de controle, que também exigem conhecimento dos perfis de resistência apresentados por cada população.

Na busca por suprir esta carência de informações, delineou-se o presente estudo, focado na ecologia e biologia de *R. microplus* durante todo seu ciclo biológico, tanto na fase de vida livre (nas pastagens) como na fase parasitária (em bovinos), investigando de forma concreta os dados frente às mudanças climáticas e ambientais presenciadas. Também objetivou-se obter informações sobre o perfil de susceptibilidade ou resistência de duas cepas da região onde o estudo foi conduzido, frente aos quimioterápicos mais rotineiramente utilizados no mercado. Adicionalmente, este trabalho comparou diferentes metodologias disponíveis para a avaliação da fase de vida não parasitária do carrapato bovino.

O experimento que originou os capítulos desta Tese de Doutorado, focando nos questionamentos acima descritos, foi conduzido dentro do campus da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, em Jaboticabal, São Paulo, no CPPAR, Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (21° 14' 43" Sul, 48° 17' 03" Oeste). O dia zero de todas as etapas experimentais foi definido como 01° de abril de 2015, próximo ao início do outono. Todas as etapas foram encerradas no dia 731, 01° de abril de 2017, contemplando dois anos consecutivos e ininterruptos.

As conclusões apresentadas ao longo deste trabalho se aplicam diretamente ao bioma de Cerrado e clima tropical com estação seca ou tropical de savana (Aw), pluviosidade média anual de 1405,2 mm³ e temperaturas médias entre 29,7 °C e 16,9 °C. Não obstante, em todos os capítulos buscou-se a contextualização destas informações, comparando-as a outros biomas, climas, altitudes e habitats.

2. Conclusões obtidas

Analisando o que foi disposto ao longo dos capítulos anteriores, ficou clara a relevância do conhecimento biológico e ecológico concernente à *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, em especial frente ao potencial crescente dos riscos e prejuízos ocasionados de forma cada vez mais intensa por este ixodídeo à indústria pecuária em geral.

Tal quadro é agravado pelo fenômeno da resistência do carrapato bovino aos acaricidas, que tem se disseminado em ritmo alarmante nos cinco continentes sem que seus mecanismos tenham sido totalmente elucidados, impossibilitando seu efetivo controle. O principal teste utilizado e preconizado para o monitoramento e diagnóstico da resistência, Teste de Pacote de Larvas (TPL), pode estar sendo empregado de forma incorreta, eventualmente superestimando os valores de eficácia obtidos, principalmente ao desconsiderar o efeito de variáveis ambientais (pluviosidade ou radiação solar) e o efeito direto do hospedeiro, que interfiram no funcionamento e na eficácia dos produtos.

No presente estudo também foram observados valores discrepantes nos TPL conduzidos com o amitraz, reforçando a ineficácia do Teste de Pacote de Larvas convencional, já descrita na literatura, para avaliação da susceptibilidade ou resistência de *R. microplus* às amidinas.

Adicionando estas implicações ao cenário alarmante da disseminação da resistência, com cepas apresentando resistência múltipla à quase todos os fármacos disponíveis no mercado de forma concomitante, amplia-se a relevância dos dados obtidos pelo presente experimento, expostos nos capítulos 2 e 4, concernentes à biologia e ecologia deste ectoparasito, buscando melhorias nas metodologias atuais de controle deste ixodídeo e diminuição dos prejuízos por ele causados à pecuária.

Antes de expor as principais conclusões relativas às variáveis biológicas das duas etapas do ciclo de vida de *R. microplus*, vale ressaltar os resultados obtidos ao comparar diferentes metodologias para a análise de sua etapa não parasitária. Os tubos metálicos geraram melhores resultados para pré-postura e postura. A avaliação de fêmeas livres definiu melhor os períodos de incubação e pré-eclosão. As gaiolas teladas proporcionaram melhor avaliação da maturação e longevidade.

No entanto, os tubos individuais, amplamente utilizados na literatura há mais de 60 anos, apresentaram considerável proliferação fúngica, enquanto nos canteiros com fêmeas livres houve grande predação das mesmas e de seus ovos por artrópodes, levando à impossibilidade de avaliação completa das variáveis em um grande percentual das repetições destas metodologias.

Assim, considerando menor oscilação dos valores de cada variável e menor presença de dados parciais, conclui-se que as gaiolas propostas neste trabalho, confeccionadas com barras de aço galvanizado e telas metálicas do tipo “mosquiteiro”, com 90 centímetros de altura e 60 centímetros em cada lateral, permitem a avaliação mais fidedigna da fase não parasitária deste ixodídeo.

Não obstante, o ideal é utilizar as três metodologias concomitantemente, com um número considerável de repetições. Isto visa proporcionar maior robustez dos resultados obtidos, diminuindo o impacto de dados parciais e obtendo valores fidedignos e próximos da realidade enfrentada pelas fêmeas e larvas deste ectoparasito em condições reais de campo.

Observando a fase de vida parasitária do carrapato bovino, foco prioritário quando se pensa no controle do mesmo, foi possível perceber ampla gama de informações conflitantes referentes a esta etapa do ciclo de *R. microplus* em diferentes regiões do Brasil, o que já deveria ser esperado de um país denominado continental, com uma incrível diversificação de ambientes, biomas e climas.

Porém, destaca-se a observação com o passar do tempo, mesmo em locais próximos com padrão climático similar, ou até em uma mesma localidade, de uma significativa mudança na dinâmica populacional, reforçando o fato deste ixodídeo estar se adaptando com sucesso às mudanças climáticas, se tornando ainda mais significativo o seu impacto negativo na pecuária.

O aumento no número de gerações anuais do carrapato bovino, com cinco gerações registradas em dois anos consecutivos pela primeira vez na literatura, se torna mais alarmante quando aliado à ausência de correlações significativas entre seu ciclo biológico parasitando bovinos e as principais variáveis climáticas apontadas como mediadoras de sua dinâmica, não sendo o período de seu ciclo sobre o hospedeiro efetivamente afetado por índices de precipitação pluviométrica, temperatura ambiental, temperaturas registradas na superfície do solo e percentual de umidade relativa do ar.

Ao focar as análises na fase de vida livre, não parasitária, do carrapato bovino, onde é estimado se encontrar mais de 95% de uma população, foi possível identificar influências relevantes dos fatores climáticos, destacadas principalmente pela correlação positiva significativa observada entre pluviosidade e o período de pré-postura, enquanto a teleógina se encontra no ambiente, e no caso de ovos e larvas de *R. microplus*, que apresentam tendência de correlações negativas significativas entre temperatura e os períodos de pré-postura, incubação e pré-eclosão, e entre umidade relativa do ar e os períodos de incubação e pré-eclosão.

Correlacionando os valores das variáveis biológicas obtidos por cada repetição a campo com as estações do ano nas quais as mesmas se situaram, foram observados pré-postura, incubação dos ovos, tempo até eclosão larval e tempo para amadurecimento das larvas mais curtos na estação chuvosa do ano (primavera e verão)

Já a postura dos ovos e a longevidade das larvas no ambiente foram maiores durante o outono e inverno (estação seca), com a duração total da fase de vida não parasitária deste ixodídeo sendo maior durante a estação seca e amena observada neste estudo. Assim, conclui-se com segurança que, em uma área de Cerrado com clima tropical de savana (Aw), períodos de menor temperatura e umidade são favoráveis à sobrevivência das larvas nas pastagens.

Os dados obtidos por esta etapa do experimento indicaram que o período seco do ano, que compreende outono e inverno, pode ser considerado mais favorável à manutenção do carrapato bovino no ambiente, assim como responsável por albergar maiores cargas deste ixodídeo nos hospedeiros.

O maior sucesso para a fase de vida não parasitária deste carrapato é consequentemente observado em fêmeas que se desprendem dos bovinos no meio do verão, concluindo o período que precede a eclosão larval ainda nesta estação, com as larvas se mantendo no ambiente ao longo do outono.

No outono, estas larvas infestam os hospedeiros com maior sucesso, levando a consideráveis picos de infestação que se prolongam até a primavera, configurando o fenômeno conhecido como “spring rise”. O alto número de teleóginas desprendidas dos bovinos no início desta estação auxilia na manutenção das populações ambientais na estação chuvosa, que se mostra menos favorável ao desenvolvimento das mesmas.

Ainda que a fase de vida livre de *R. microplus* seja negativamente afetada por temperatura e pluviosidade mais elevadas, a não interferência destes fatores sobre a sua fase de vida parasitária e a dinâmica populacional observada, conforme previamente descrito, demonstram indícios da adaptação deste ixodídeo às mudanças climáticas recentes, culminando na existência de cinco gerações do carrapato bovino por ano, o que, mesmo levantado como uma possibilidade por diferentes autores, em variadas simulações que consideraram condições ideais para o parasito em questão, não havia sido efetivamente registrado até recentemente.

As cinco gerações anuais deste parasito foram efetivamente observadas em bovinos parasitados, ao longo de dois anos consecutivos com condições climáticas e ambientais distintas. A estimativa do número de gerações por ano, calculada com dados obtidos na fase de vida livre (mais especificamente os períodos de pré-eclosão e tempo de amadurecimento das larvas), reforça este valor, obtendo média de 5,212 gerações anuais do carrapato bovino.

Esta média obtida oscilou entre um mínimo, nas mais adversas condições registradas, de 2,626 gerações/ano, e um máximo possível, quando as condições ambientais e climáticas forem mais favoráveis ao desenvolvimento de *R. microplus*, de 8,29 gerações/ano, um número até então inédito na literatura consultada.

Os valores mínimos e médios calculados para o número de gerações anuais do carrapato bovino foram confirmados, nos capítulos 2 e 4, tanto por dados obtidos ao longo deste experimento como por extensas discussões com a literatura científica.

Reforça-se, assim, a relevância do terceiro cálculo conduzido, que considerou as menores durações de pré-eclosão e maturação, determinando a possibilidade alarmante de ocorrência de mais de oito gerações por ano em uma área de clima tropical com estação seca (Aw), quando as condições climáticas atingirem perfis considerados ideais.

Por fim, baseando-se em tudo o que foi até aqui exposto, este experimento buscou propor uma metodologia efetiva de controle estratégico de *R. microplus*, focando em tratar os animais nos momentos onde as condições climáticas se apresentem desfavoráveis aos mesmos, maximizando a eficácia dos produtos e diminuindo as populações ambientais, retardando também o desenvolvimento da resistência acaricida ao diminuir a pressão de seleção.

Esta proposta concentrou os tratamentos na segunda metade da primavera e primeira metade do verão, mais especificamente nos meses de outubro a fevereiro. Neste delineamento de controle estratégico, os períodos residuais de ação dos potenciais fármacos a serem utilizados não foram considerados.

No caso de pulverizações, geralmente adicionam-se uma ou duas semanas entre um tratamento e outro, dependendo do princípio ativo e concentrações utilizadas. Neste caso, seria possível inclusive dividir os intervalos entre tratamentos, aplicando cinco banhos em intervalos maiores, desde que concentrados no mesmo período do ano. Estes tratamentos na estação chuvosa levariam a populações menores, tanto nos animais quanto no ambiente, durante outono e inverno, a estação seca, reduzindo também o pico de início de primavera, “spring rise”. Em caso de infestações mais severas, existe a opção de um novo tratamento conduzido na primeira metade do inverno, antes do “spring rise”, reduzindo tal pico ainda mais significativamente.

3. Perspectivas futuras

Como diversas vezes reforçado ao longo de todos os capítulos anteriores, o dinamismo do ciclo de vida de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, associado às constantes mudanças climáticas, demanda que pesquisas sempre sejam conduzidas buscando a atualização das informações concernentes à ecologia e biologia deste ectoparasito.

Recomenda-se que estudos similares sejam conduzidos em outros biomas, altitudes, climas, pastagens, de forma constante, acompanhando assim as eventuais variações que tais fatores podem representar no ciclo de vida deste ixodídeo.

É essencial recomendar também que novo estudo seja conduzido buscando a avaliação da real eficácia dos Testes de Pacote de Larvas (TPL) no monitoramento e diagnóstico da resistência de *R. microplus* aos acaricidas.

O ideal é que o delineamento desta avaliação compare, em uma mesma cepa, ao mesmo tempo e para os mesmos princípios ativos, diferentes metodologias *in vivo* e *in vitro*, predominantemente comparando contagens de carrapatos parasitando bovinos naturalmente infestados, contagens de carrapatos obtidos de bovinos artificialmente infestados em testes de estábulo, eficiência reprodutiva das fêmeas obtidas destes bovinos estabulados, Testes de Pacote de Larvas (TPL), Testes de Imersão de Adultos (TIA) e Testes de Imersão de Larvas (TIL). Esta comparação permitiria observar a real influência dos fatores ambientais sobre a eficácia dos fármacos testados, assim como considerar qual a influência do hospedeiro sobre estes valores obtidos.

Ainda focando no Teste de Pacote de Larvas, seria vantajoso comparar em diferentes localidades e variadas cepas a alteração proposta desta metodologia, substituindo o papel filtro por tecido de nylon. Apesar dos fortes indícios de que esta alteração é necessária para obtenção de resultados sólidos com o amitraz, novas confrontações entre técnicas solidificariam esta proposta.

Novos estudos também devem ser orientados buscando reforçar a real aplicabilidade das diferentes metodologias de avaliação da fase de vida não parasitária do carrapato bovino, comparando as três técnicas aqui propostas, além da associação das mesmas, em diferentes condições climáticas e ambientais, buscando a padronização da melhor metodologia para replicação futura dos estudos concernentes à ecologia e biologia deste ixodídeo.

Com relação à fase de vida parasitária do carrapato bovino, considerando a não influência dos fatores climáticos (temperaturas, ambiental e diretamente sobre a superfície do solo, umidade relativa do ar e índices de pluviosidade) sobre a mesma, a principal questão que permanece é a identificação dos fatores responsáveis por mediá-la.

Estudos mais amplos devem ser propostos, comparando a dinâmica populacional deste ixodídeo em diferentes pastagens, formas de manejo, taxas de lotação, altitudes e, eventualmente, biomas. O mesmo esforço de pesquisa pode e deve ser dedicado à fase de vida livre deste relevante ectoparasito.

Futuros estudos são recomendados também para confirmar a eficácia da metodologia de controle estratégico aqui proposta. O ideal é que este teste seja feito, em um primeiro momento, no mesmo local onde o experimento desta Tese foi conduzido, extrapolando esta metodologia, em caso de sucesso, para outras regiões, climas e ambientes.

O dado mais alarmante levantado pelo presente estudo foi a possibilidade de observarem-se mais de oito gerações de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* por ano em condições climáticas ideais, sendo essencial que esta possibilidade seja confirmada. Um estudo a campo, em condições climáticas e ambientais que favoreçam o desenvolvimento do carrapato bovino, deve ser conduzido.

Cinco gerações anuais deste ixodídeo é o maior número registrado na literatura até o momento, mas um aumento de sua dinâmica populacional é fator de extrema importância, devendo ser investigado com afinco.

O grande potencial para novas pesquisas aqui descritas, apenas focadas nos aspectos ecológicos, biológicos e de resistência de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae), prova que permanecem atuais as palavras proferidas em 1898 pelo Dr. Charles Joseph Pound, apresentando um trabalho sobre este ixodídeo para a Royal Society of Queensland, muito antes de qualquer conhecimento sobre diferenciação de espécies ou diferentes grupos genéticos atualmente observados.

“Apesar de conhecermos mais sobre o carrapato bovino do que qualquer outro carrapato, ou mesmo qualquer inseto, no hemisfério Sul, a cada dia fazemos novas descobertas. De fato, este tema aparenta ser praticamente inextinguível”.

“As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do(s) autor(es) e não necessariamente refletem a visão da FAPESP e da CAPES”.