

Bioensaio com fêmeas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* utilizando fungos entomopatogênicos

Aleana da Silva de Souza¹; Caio Junior Balduino Coutinho Rodrigues²; Patrícia Silva Gôlo³; Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt⁴.

1.Bolsista de iniciação científica CNPq; 2.Doutorando do Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da UFRuralRJ; 3.Professora adjunta do Departamento de Parasitologia Animal da UFRuralRJ; 4.Professora Associado do Departamento de Parasitologia Animal da UFRuralRJ.

Palavras-chaves: carrapato, fungos entomopatogênicos, bioensaio, fêmea ingurgitada

Introdução

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) possui grande importância na pecuária nacional por ocasionar grandes perdas econômicas. A utilização indiscriminada de carrapaticidas tem acarretado sérios problemas no que se refere à poluição do ambiente, e ao aparecimento de resistência (BITTENCOURT et al., 1992). Neste contexto, o controle biológico tem sido uma alternativa bastante relevante para manter os níveis desses parasitos aceitáveis nos bovinos. Um dos métodos de controle biológico é a utilização de fungos entomopatogênicos como o *Metarhizium anisopliaes*. O potencial desses fungos como agentes de controle de carrapato é devido a vários fatores, como a sua capacidade de penetração via cutícula do carrapato, habilidade em atingir diferentes estádios de desenvolvimento nos hospedeiros e variabilidade genética. Nesta concepção, o presente estudo teve como objetivo determinar a eficácia de controle do fungo *Metarhizium anisopliaes*. através de um bioensaio com fêmeas de *R. B. microplus*.

Metodologia

Fêmeas ingurgitadas do carrapato *R. B. microplus*, foram coletadas de uma infestação natural de bezerros com 60 dias sem contato com carrapaticidas. Estas foram devidamente higienizadas e colocadas em placas de Petri e acondicionadas em temperatura de 27 ± 1 °C e umidade relativa (UR) >80%. Os isolados fúngicos CG 148 e CG 153 de *Metarhizium anisopliaes*. utilizados para preparo da suspensão, foram cultivados em meio batata dextroseagar (BDA) e acondicionados em 28 ± 1 °C por 15 dias. Para o preparo da suspensão, utilizou-se solução de Tween 80® a 0,01% (Sigma Chem., Co., Saint Louis, MO, USA) (0.01% v/v) e com o auxílio de uma lâmina de bisturi, os conídios do fungo foram raspados da superfície do meio. As suspensões conidiais foram quantificadas e ajustadas nas concentrações 10^7 e 10^8 conídios mL⁻¹ e analisadas numa Câmara de Neubauer e microscópio óptico. No mesmo dia do preparo da suspensão fúngica foi feito o tratamento das fêmeas do carrapato e o teste de viabilidade dos conídios conforme descrito por ALVES (1998).

As fêmeas foram pesadas individualmente e separadas em grupos de 10 indivíduos homogêneos quanto ao peso. O tratamento foi feito a partir da imersão de cada fêmea em 1mL de suspensão fúngica e/ou controle durante 3 minutos. Posteriormente, as fêmeas foram identificadas e fixadas numa placa de Petri através de uma fita adesiva e mantidas em câmara climatizada 27 ± 1 °C e UR > 80%. Foram analisados os seguintes parâmetros biológicos: os índices de produção de ovos (IPO) e nutricional (IN), que foram calculados conforme metodologia de Bennett (1974). A reprodução estimada (RE) e o percentual de controle foram calculados conforme metodologia descrita por Drummond et al. (1971).

Resultados e Discussão

Após teste de viabilidade, observou-se que o fungo que foi utilizado no experimento estava viável, demonstrando percentual de germinação de maior que 99% após 24 horas.

Tabela 1: Índice de produção de ovos, índice nutricional, eficiência reprodutiva e percentual de controle de fêmeas ingurgitadas de *R. B. microplus* tratadas por imersão em suspensão aquosa e Tween 80® a 0,01% ou suspensões fúngicas dos isolados CG 148 e CG 153 nas concentrações 10^7 e 10^8 .

Tratamento	Índice (%)		Eficiência	Percentual de	
	Produção de Ovos	Nutricional		Reprodutiva	Controle
CTR	64,69a ± 3,1	80,05a ± 4,82	47,43a ± 19,86	-----	
CG 148 10^7	51,35a ± 18,53	69,94a ± 26,02	39,42a ± 17,69	16,88	
CG 148 10^8	49,53a ± 14,43	68,63a ± 18,90	38,32a ± 13,50	19,20	
CG 153 10^7	54,30a ± 3,76	72,45a ± 88,54	41,56a ± 5,48	12,38	
CG 153 10^8	50,67a ± 20,47	72,57a ± 25,52	34,42a ± 20,08	17,42	

Os resultados expostos no presente experimento foram obtidos de um único ensaio biológico, pois nossos resultados são parciais. Os resultados apresentados no experimento demonstram que as formulações não obtiveram percentual de controle suficiente para fêmeas de *R. B. microplus*, mesmo quando em suspensões fúngicas com maior concentração.

Segundo FERNANDES et al, (2007) existem evidências que indicam que além das características genéticas de cada isolado, existem fatores que podem estabelecer a condição de virulência de determinado isolado fúngico, promovendo aumento ou diminuição deste potencial. Neste sentido, FARGUES; ROBERT (1983) e FRAZZON et al., (2000) observaram aumento significativo da virulência de um isolado de *M. anisopliae* após passagem pelo hospedeiro. Em contrapartida, a diminuição da virulência em isolados de *M. anisopliae* (FARGUES; ROBERT, 1983) também já foi relatada após cultivos sucessivos in vitro. Isolados fúngicos foram avaliados por BITTENCOURT et al. (1997) quanto à ação sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* e observaram uma tendência à diminuição dos índices de eficiência reprodutiva e nutricional de acordo com o aumento na concentração de conídios.

A cutícula dos carrapatos possui característica hidrofóbica conferida por sua constituição, que apresenta quitina, proteína e lipídeo (PRIOR et al. 1988, SONENSHINE 1991, JENKINS et al. 1998). Com isso, os conídios que são suspensos somente em meio aquoso têm maior dificuldade na adesão ao hospedeiro.

Conclusão

Os resultados obtidos neste primeiro bioensaio ainda não são considerados suficientes para obtermos uma conclusão sobre o tema. Os resultados obtidos até o momento demonstram que estes isolados não foram eficientes no controle de fêmeas de *R.B. microplus*. Acreditamos que com mais repetições poderemos chegar a resultados mais confiáveis. Entretanto, estas suspensões podem ser consideradas ferramentas importantes no controle biológico destes carrapatos.

Referências Bibliográficas

- ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.
- ANGELO, I.C., FERNANDES, E.K.K., BAHIANSE, T.C., PERINOTTO, W.M.S., MORAES, A.P.R., TERRA, A.L.M., BITTENCOURT, V.R.E.P. Efficiency of *Lecanicillium lecanii* to control the tick *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 172, 317-322, 2010.
- BITTENCOURT, V.R.E.P.; MASSARD, C.L.; VIEGAS, E.C.; LIMA, A. F. Isolamento e cultivo do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883, a partir do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) artificialmente infectado. **Revista Universidade Rural**, Série Ciência da Vida, v.17, p.55-60, 1995.
- FARGUES, J.F.; ROBERT, P.H. Effects of passaging through scarabeid hosts on virulence and host specificity of two strains of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 29, p. 576-583, 1983.
- FERNANDES, E. K. K. Caracterização e seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle microbiano do carrapato *Boophilus microplus*. 2007. 130p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária. Seropédica. 2007.
- FRAZZON, A.P.G.; JUNIOR, I.S.V.; MASUDA, A.; SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M.H. In vitro assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.94, p.117-125, 2000.
- MARCIANO, A. F. Eficiência in vitro de uma formulação oleosa de *Metarhizium anisopliae sensulato* no controle de *Rhipicephalus microplus*. 2013. 34p. 2013.
- PRIOR C., Jollands P. & Le Patourel G. infectivity of oil and water formulation of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hiphomycetes) to the cocoa weevil pest *Panttorhytes plutus* (coleopteran: Curculionidae). *J. invertebr. Pathol*, 52:66 – 72, 1988.
- SONENSHINE D. E. *Biology of ticks*. Oxford University Press, Norfolk, 1991. 447p.