

ACÇÃO DE *Heterorhabditis bacteriophora* (RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE), ISOLADO HP88 NO CONTROLE DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (ACARI: IXODIDAE).

Caio Márcio de Oliveira Monteiro¹², Livia Cestaro²³, Aline Pasqualini Faza², Márcia Cristina de Azevedo Prata², Cláudia Dolinski⁴, John Furlong².

1 - Programa de Pós-Graduação em Comportamento e Biologia Animal, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus

Universitário, Martelos, 36033-330, Juiz de Fora, MG. E-mail - caiosat@gmail.com

2 - Embrapa Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento, 610, Bairro Dom Bosco, 36038-330 Juiz de Fora, MG.

3 - Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora, Rua Halfeld, 1179, Juiz de Fora, MG.

4 - Universidades Estadual Norte Fluminense – UENF.

* - Estudo desenvolvido com apoio financeiro da CAPES e CNPq.

Palavras-chave – Carrapato dos bovinos, controle biológico, nematóides entomopatogênicos.

INTRODUÇÃO

Dentre as várias espécies de carrapatos existentes na região neotropical *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini: 1887) (Acari: Ixodidae), conhecido vulgarmente como carrapato dos bovinos é a espécie que desperta o maior interesse econômico, a ponto de centralizar a atenção de indústrias de carrapaticidas, órgãos governamentais e instituições de pesquisa (MARTINS *et al.*, 2006).

A utilização de acaricidas sintéticos apesar de apresentar uma significativa contribuição no controle de ixodídeos, vem acarretando sérios problemas devido ao uso indiscriminado e sem critérios técnicos. Estes fatos vêm resultando na geração de populações de carrapatos resistentes, e aumentando o risco de poluição do ambiente e alimentos (FURLONG *et al.*, 2007). Com isso é necessária, a busca de novas tecnologias que possam ser empregadas no controle destes artrópodes, de maneira que possam ser utilizadas em programas de manejo integrado, minimizando impactos ambientais e diminuindo os custos de produção.

Uma alternativa promissora é o controle biológico com a utilização de nematóides entomopatogênicos (NEP's) (SAMISH & GLAZER, 2001; FREITAS-RIBEIRO *et al.*, 2005). Estudos em condições de laboratório têm demonstrado que estes nematóides são eficientes no controle do carrapato dos bovinos, causando interferências significativas nos parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* (VASCONCELOS *et al.*, 2005; FREITAS-RIBEIRO *et al.*, 2005, SILVA, 2007). Com isto, o presente trabalho tem como objetivo observar a influência do nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975 (Rhabditida: Heterorhabditidae), isolado HP88 no controle de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Para realização do trabalho foi utilizada uma estirpe resistente de *R. (B.) microplus* proveniente do município de Campina Verde, Minas Gerais.

Os nematóides da espécie *H. bacteriophora* utilizados neste estudo foram cedidos pela professora Cláudia Dolinski, da Universidade Estadual do Norte Fluminense, RJ. Estes nematóides foram multiplicados em lagartas do último instar de *Galleria mellonella* L., 1958 (Pyralidae: Lepidoptera) de acordo com Lindegren *et al.* (1993). Os Juvenis infectantes (JIs) coletados foram estocados em garrafas de cultivo celular de 40 mL e acondicionados em câmara climatizada a $16 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR $>80 \pm 10\%$.

O procedimento experimental foi baseado na metodologia utilizada por Silva (2007). As fêmeas ingurgitadas foram divididas em 6 grupos com pesos previamente homogeneizados com utilização de balança analítica, sendo cada grupo um tratamento contendo 20 carrapatos. Cada grupo foi dividido em 4 subgrupos com cinco fêmeas devidamente identificadas com tinta atóxica e distribuídas em placas de Petri (6 cm) contendo 15g de área esterilizada, sendo cada teleógina uma repetição (cada fêmea = uma unidade experimental).

Formados os grupos, foi feita a aspersão de 4 ml de solução de nematóides nas concentrações 375, 750, 1.500, 3.000 e 6.000 JIs/4 mL por placa. Sendo assim a concentração de NEP's por fêmea em cada

SP 40824
P. 438

tratamento foi de 75, 150, 300, 600 e 1.200 e o controle foi constituído de 4ml de água destilada isenta de nematóides. Os grupos foram mantidos em câmara climatizada a $27 \pm 1^\circ \text{C}$ e UR>80%, durante um período de 72 horas.

Após o tempo de exposição, as fêmeas ainda vivas de cada tratamento foram coladas com fita adesiva com a parte dorsal voltada para baixo em placas de Petri de 12 cm e acondicionadas em estufa climatizada a $27 \pm 1^\circ \text{C}$ e UR>80%, para acompanhamento dos parâmetros biológicos.

Parâmetros analisados

Peso inicial (PI) – Peso inicial da fêmea ingurgitada

Peso da postura (PP) – peso total da massa de ovos de cada fêmea.

Percentual de Ecloração (%EC) – estimativa visual de larvas eclodidas em relação à massa de ovos de cada fêmea.

Reprodução estimada (RE) – obtida pela fórmula: $(PP/PI) \times \%EC \times 20.000$ (DRUMMOND *et al.*, 1973).

Percentual de controle (%C) - obtida pela fórmula: $\%C = [(RE \text{ do grupo controle} - RE \text{ do grupo tratado}) \times 100] / RE \text{ do grupo controle}$ (DRUMMOND *et al.*, 1973).

Análise estatística

O valor referente às médias de cada tratamento foi analisado por ANOVA e Teste de Tukey ($P < 0,05$). No caso de distribuição não normal, os parâmetros foram comparados por teste não paramétricos de Kruskal Wallis e Student Newman Keulls ($P < 0,05$). Os dados adquiridos em porcentagem foram transformados em $2\sqrt{\text{arco seno } x}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os pesos iniciais das fêmeas dos diferentes grupos não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) entre si (Tabela - 1). O fato de não terem sido encontradas diferenças entre os grupos sugere que as alterações nos demais parâmetros biológicos provavelmente estão relacionadas à ação dos nematóides entomopatogênicos.

As médias do peso da massa de ovos e do percentual de ecloração dos grupos tratados apresentaram diferenças significativas ($p < 0,001$) em relação ao peso da massa de ovos e percentual de ecloração do grupo controle (Tabela - 1). Ribeiro-Freitas *et al.* (2005) utilizando dois isolados de *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) em diferentes concentrações também relataram diferenças significativas entre todos os tratamentos em relação ao grupo controle para o peso da massa de ovos e percentual de controle, enquanto Silva (2007) relata a diferença significativa entre todos os tratamentos e o grupo controle apenas para o percentual de ecloração.

Os percentuais de controle em todos os tratamentos foram superiores a 90% e o tratamento com 1.200 NEP's / fêmea alcançou eficiência de 99.92% (Figura - 1). A eficiência de 90.28% no tratamento com 75 NEP's/fêmea, supera os resultados obtidos por outros autores, como Vasconcelos *et al.* (2005) que observaram eficiência acima 80% para *H. bacteriophora* CCA na concentração de 300 NEP's/fêmeas e superior a 90% para *S. glaseri* (Steiner, 1929) apenas em concentrações de 1.000 e 5.000 NEP's/fêmea..

Os resultados encontrados neste trabalho foram semelhantes ao obtidos por Silva (2007), que utilizando o nematóide *H. indica* observou eficiência superior a 90% a partir de concentrações de 75 NEP's/fêmea no controle de *R. (B.) microplus*. De modo geral estudos têm demonstrado que nematóides da família Heterorhabditidae são mais patogênicos para ixodídeos do que nematóides da família Stenemematidae.

Tabela 1 - Peso inicial de fêmeas ingurgitadas (mg), peso (mg) e percentual de eclosão da massa de ovos do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratados com diferentes concentrações de juvenis infectantes de *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, em condições de laboratório (27±1°C e UR>80±10%). Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

| Grupo | Peso Inicial (mg) | Peso da massa de ovos (mg) | Percentual de eclosão - %EC |
|--------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 0 [†] | 223.15 ^a ±30.18 (15) | 111.43 ^a ±22.44 (15) | 92.60 ^a ±6.95 (15) |
| 75 [†] | 228.82 ^a ±25.14 (17) | 15.41 ^b ±24.55 (17) | 66.73 ^b ±31.61 (15) |
| 150 [†] | 228.45 ^a ±34.73 (17) | 9.40 ^b ±14.99 (17) | 63.43 ^b ±32.65 (14) |
| 300 [†] | 225.29 ^a ±29.75 (17) | 6.54 ^b ±7.60 (17) | 61.85 ^b ±37.68 (13) |
| 600 [†] | 226.12 ^a ±29.83 (17) | 8.73 ^{bc} ±20.79 (17) | 58.50 ^b ±32.06 (8) |
| 1.200 [†] | 226.69 ^a ±29.48 (17) | 0.16 ^c ±0.33 (17) | 55.00 [*] ±49.50 (2) |
| Teste estatístico | Anova | Kruskal-Wallis/Student-Newman-Keuls | Kruskal-Wallis/Student-Newman-Keuls |

(n) - Tamanho da amostra.

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância de 5%.

[†] - Concentração de nematóides (*H. bacteriophora* HP88) por fêmea ingurgitada de *R. microplus* em cada tratamento.

* - Análise estatística não realizada devido ao tamanho reduzido da amostra.

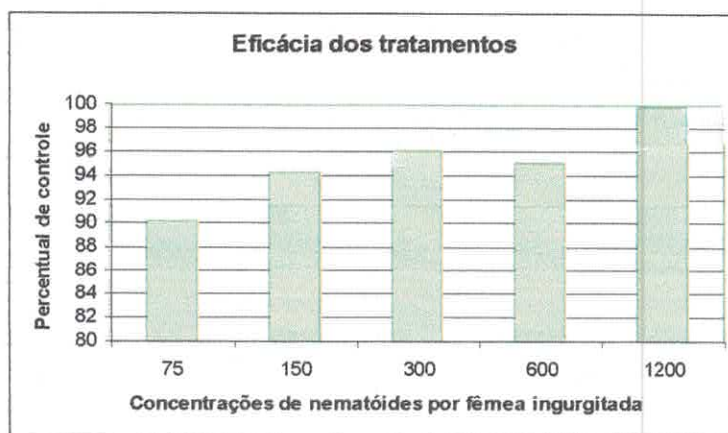


Figura 1 - Percentual de controle de fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratadas com diferentes concentrações de juvenis infectantes do nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, em condições de laboratório a 27 ± 1°C e UR > 80%. Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

CONCLUSÃO

- *Heterorhabditis bacteriophora* HP88 em condições de laboratório demonstrou ser eficiente no controle de *R. (B.) microplus*.
- Os parâmetros; peso da postura e o percentual de eclosão foram afetados pela ação do nematóide.
- Todas as concentrações de nematóides utilizadas neste trabalho apresentaram eficácia de controle superior a 90%.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DRUMMOND, R.O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GRADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus anulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory test of insecticides, *Journal of Economic Entomology*, Lanham, v. 66, p.130-133, 1973.
- FREITAS-RIBEIRO, G. M.; FURLONG, J.; VASCONCELOS, V. O.; DOLINSKI, C.; LOURES-RIBEIRO, A. Analysis of biological parameters of *Boophilus microplus* Canestrini, 1887 exposed to entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* Santa Rosa and All strains (Steinernema: Rhabditida). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 48, n. 6, p. 911-919, 2005.
- FURLONG, J.; J.R.S. MARTINS & M.C.A. PRATA. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar?, Controle estratégico do carrapato dos bovinos. *A Hora Veterinária*, v. 27, n. 159, p. 1-7, 2007.
- LINDGREN, J. E.; VARELO, K. A.; MACKAY, B. E. Simple in vivo production and storage methods for *Steinernema carpocapsae* infective juvenile. *Journal of Nematology*, v. 5, n. 2, p. 193-197, 1993.
- MARTINS, J. R. S.; FURLONG, J.; LEITE, R. C. Controle de carrapatos. p. 145-153. In: BARROS-BATTESTI, D.M.B.; M. ARZUA; G. H. BECHARA. (Org.). *Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical. Um guia ilustrado para a identificação de espécies*. São Paulo: Instituto Butantan, 2006. 223p.
- SAMISH, M.; GLAZER, I. Entomopatogenic nematodos for the bioncontrol of ticks. *Trends in parasitology*, v. 17, n. 8, p. 368-371, 2001.
- SILVA, E. Ação do nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis indica* LPP1 (POINAR, KRANUKAR & DAVID, 1992) (RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE) sobre a biologia reprodutiva de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE). 2007. 45p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, 2007.
- VASCONCELOS, V.O.; FURLONG, J.; FREITAS, G.M.; DOLINSKI, C.; AGUILLERA, M.M.; RODRIGUES, R.C.D.; PRATA, M.C.A. *Steinernema glaseri* Santa Rosa strain (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora* CCA strain (Rabditida:Heterorhabditidae) as biological control agents of *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae). *Parasitology Research*, v. 94, p. 201-206, 2004.



A cura está na consciência de
quem faz da Terra o seu laboratório



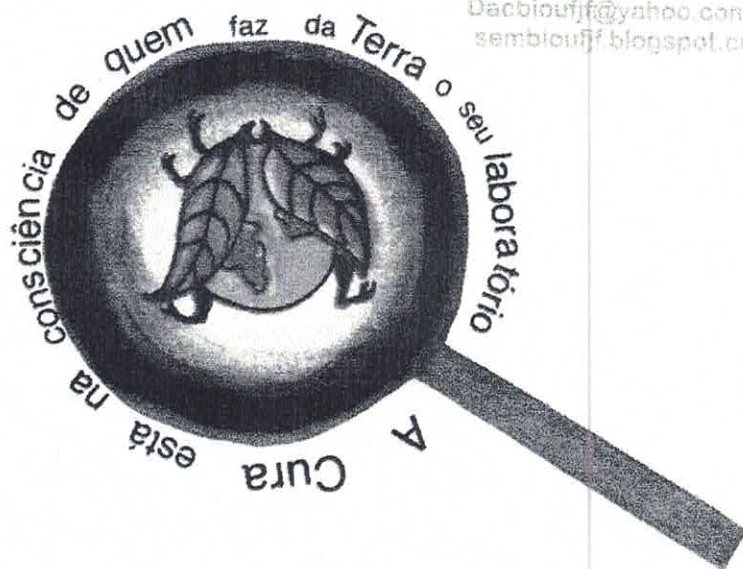
ANAIS
XXXI SEMANA DE BIOLOGIA
XIV MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA
6 a 10 de outubro de 2008

dacbio

XXXI SEMANA DE BIOLOGIA

6 a 10 de Outubro

Biologia e Saúde
Biologia e Saúde



Realização

dacbio****

Dacbioujf@yahoo.com.br
sembioujf.blogspot.com

XIV Mostra de Produção Científica
III Concurso de Fotografias Biológicas
Mini-Cursos Ciclo de Palestras
Mesa Redonda Assembléia



Design gráfico: www.filmagem.com.br 01475507