

***Heterorhabditis amazonensis* (RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE) ISOLADO RSC-5, NO CONTROLE FÊMEAS INGURGITADAS DE *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (ACARI: IXODIDAE).**

Caio Márcio de Oliveira Monteiro^{1,2}, Andressa Mendes Ribeiro Silva^{2,3}, Ana Elisa Soares^{2,3}, Márcia Cristina de Azevedo Prata², Vanessa Andaló⁴, Alcides Moino Junior⁴, 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 - Universidade Federal de Lavras, MG - UFLA.

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

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

INTRODUÇÃO

Rhipicephalus (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini, 1887) (Acari, Ixodidae) é um ectoparasito preferencial de bovinos que está distribuído pelo mundo entre os Paralelos 30° S e 40° N, (CORDOVÉS, 1980). O parasitismo deste carrapato pode causar prejuízos diretos devido à espoliação sanguínea e suas conseqüências (anemia, prurido, irritação, queda de peso e produção e desvalorização do couro) e indiretos como transmissão de agentes patogênicos, gastos com medicamentos e mão-de-obra especializada (FURLONG, 2004). Estima-se que as perdas econômicas causadas por este ixodídeo chegam a dois bilhões de dólares anuais (GRISI *et al.*, 2002).

O controle deste carrapato é feito na fase parasitária, através da utilização de produtos químicos. O uso indiscriminado e a má utilização dos carrapaticidas vêm acarretando sérios problemas de resistência, além de resíduos na carne, leite e ambiente (GUIMARÃES *et al.*, 2004). Para minimizar tais problemas novas tecnologias e estratégias têm sido buscadas para um controle mais eficiente e com menor impacto ambiental.

Uma alternativa promissora é 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. 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 amazonensis* Andaló, Nguyen & Moino-Jr, 2006 (Rhabditida: Heterorhabditidae), isolado RSC-5 no controle "in vitro" de fêmeas ingurgitadas de *R. 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. microplus* proveniente do município de Campina Verde, Minas Gerais.

Os nematóides da espécie *H. amazonensis* utilizados neste estudo foram cedidos pelo professor Alcides Moino, da Universidade Federal de Lavras, MG. 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 ± 1°C e UR > 80 ± 10%.

O procedimento experimental foi baseado na metodologia utilizada por Silva (2007). As fêmeas ingurgitadas foram divididas em 6 grupos com pesos previamente homogêneos 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).

SP4086
P. 138

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 tratamento foi de 75, 150, 300, 600 e 1.200 por tratamento. O controle foi constituído de 4 ml 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, com auxílio de fita adesiva as fêmeas ainda vivas de cada tratamento foram coladas 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 a 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 $\sqrt{\text{arco seno } x}$.

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 estão relacionadas à ação dos nematóides.

As médias do peso da massa de ovos dos grupos tratados apresentaram diferenças significativas ($p < 0,01$) em relação ao peso da massa de ovos do grupo controle, exceto no tratamento com 1.200 NEP's/fêmea. Entretanto não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) entre os percentuais de ecloração entre os grupos tratados e o controle (Tabela - 1). A redução no peso da massa de ovos também foi observada nos estudos realizados por Freitas-Ribeiro *et al.* (2005) e Silva (2007) e este fato pode significar uma diminuição de milhares de ixodídeos na próxima geração, uma vez que uma fêmea ingurgitada de *R. microplus* coloca em média 3.000 ovos (GUIMARÃES, 2001).

O tratamento com 300 NEP's/fêmea foi o que apresentou melhor eficácia (67,80) (Figura 1). Esta eficiência é inferior a os resultados obtidos por outros autores, como Vasconcelos *et al.* (2005) que observaram eficiência de acima 80% para *H. bacteriophora* CCA na concentração de 300 NEP's/fêmeas e superior a 90% para *Steinernema glaseri* em concentrações de 1.000 e 5.000 NEP's/fêmea. Silva (2007) também relatou eficiências de controle superiores as demonstradas neste estudo, conseguindo eficácias acima de 90% utilizando o nematóide *H. indica*.

Não foi observado aumento da eficiência de controle à medida que as dosagens foram aumentando. O tratamento com 300 NEP's/fêmea apresentou melhor eficiência e nos tratamentos seguintes foi observado queda nesta percentual à medida que as concentrações aumentaram fato também foi observado por Vasconcelos *et al.* (2005), que utilizando *H. bacteriophora* CCA conseguiram melhor eficácia no tratamento com 300 NEP's/fêmea e observaram uma diminuição neste percentual nos grupos tratados com dosagens superiores. Este fato pode ocorrer devido à competição intraespecífica entre Juvenis infectantes deste nematóide.

Tabela 1 - Peso médio de fêmeas ingurgitadas (mg), peso médio (mg) e percentual de eclosão da massa do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratados com diferentes concentrações de juvenis infectantes de *Heterorhabditis amazonensis* RSC-5, em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ 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*	310.76 ^a ±45.88 (19)	182.41 ^a ±31.86 (19)	91.55 ^a ±7.73 (19)
75*	308.44 ^a ±34.45 (20)	101.33 ^b ±70.01 (20)	78.30 ^a ±25.76 (19)
150*	309.63 ^a ±29.26 (20)	101.57 ^b ±69.96 (20)	80.70 ^a ±25.14 (19)
300*	305.91 ^a ±45.73 (19)	66.37 ^b ±68.75 (19)	79.73 ^a ±17.93 (19)
600*	308.45 ^a ±46.10 (19)	84.98 ^b ±64.16 (19)	80.15 ^a ±23.43 (19)
1.200*	311.18 ^a ±31.70 (19)	155.31 ^a ±55.07 (19)	71.84 ^a ±25.61 (18)
Teste estatístico	Anova	Kruskal-Wallis/Student-Newman-Keuls	Anova

(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. amazonensis* RSC-5) por fêmea ingurgitada de *R. microplus* em cada tratamento

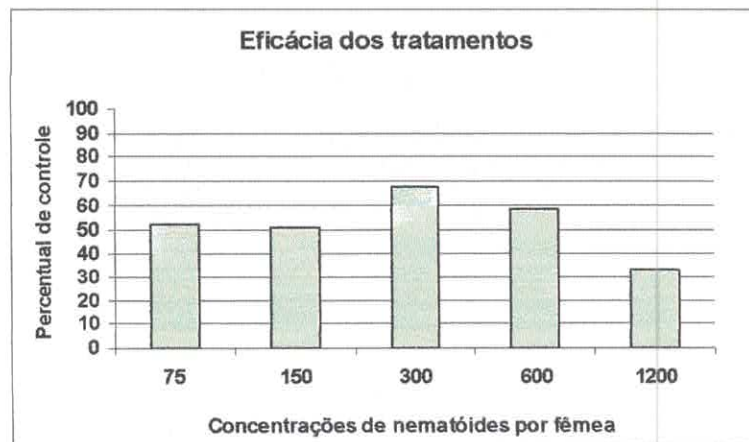


Figura 2 – Percentual de controle de fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratadas com diferentes concentrações de juvenis infectantes de *Heterorhabditis amazonensis* RSC-5, em condições de laboratório a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR >80%. Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

CONCLUSÃO

- *Heterorhabditis amazonensis* exerce ação deletéria no processo de ovoposição de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*
- A viabilidade dos ovos *Rhipicephalus microplus* não foram afetadas pela ação do nematóide.
- A concentração de 300 NEP's/Fêmea demonstrou melhor eficácia de controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORDOVÉS, C. O.; TAMAYO, S.; FLEITE, R.; MESEJO, J.; APON, J. *Pérdidas económicas producidas por las garrapatas en Cuba*. Inf. Tec. Dir. Nac. Inst. Medicina Veterinária, 1980, 17p.
- 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. Controle estratégico do carrapato dos bovinos. *A Hora Veterinária*, v. 23, n. 137, p. 53-56, 2004.
- GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E. PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária*, v. 21, p. 8-10, 2002.
- GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATESTI, D. M. *Ectoparasitos de Importância Médico Veterinária*. São Paulo: Plêiade/FAPESP, 2001. 213p.
- LINDGREN, J. E.; VARELO, K. A.; MACKEY, 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.
- ROVESTI, L.; DESÊO, K.V. Compatibility of chemical pesticides with the entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* Weiser and *Steinernema feltiae* Filipjev (Nematoda: Steinernematidae). *Nematology*, v. 36, p. 237-245, 1990.
- 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

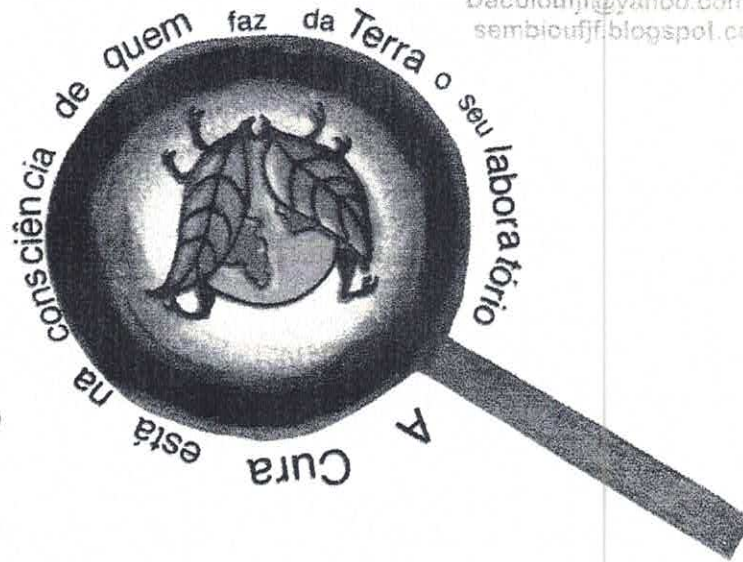
6 a 10 de Outubro

Realização

dacbio

Dacbioufff@yahoo.com.br
sembioufff.blogspot.com

Biologia e Saúde
Biologia e Saúde



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



Design gráfico: www.fineartphoto.com 00474810