

***Heterorhabditis bacteriophora* (RHABDITIDA, HETERORHABDITIDAE) ISOLADO HP88 COMO CONTROLADOR BIOLÓGICO DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (ACARI, IXODIDAE): EFEITO DE DIFERENTES PERÍODOS DE EXPOSIÇÃO.**

Caio Márcio de Oliveira Monteiro^{1,2}, Ana Elisa Soares^{2,3}, Andressa Mendes Ribeiro Silva^{2,3}, 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

No Brasil um dos principais parasitos de bovinos é o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari, Ixodidae). Em 1984 os danos causados por este carrapato segundo o Ministério da Agricultura eram de um bilhão de dólares, sendo cerca de 260 milhões por causa dos prejuízos causados pela Tristeza Parasitária (BRASIL, 1984 *apud* KESSLER *et al.*, 2004). Em uma estimativa mais atual as perdas econômicas geradas por este carrapato chegam a dois bilhões de dólares anuais (GRISI *et al.*, 2002).

Os carrapaticidas têm sido o principal meio de controle de *R. microplus*, mas a dependência de poucas bases químicas disponíveis no mercado, aliada à sua má utilização, levou à dispersão generalizada da resistência das populações de carrapatos, chegando-se ao ponto em que grande parte dos produtos comercializados no Brasil não apresenta eficiência superior a 75% (FURLONG *et al.*, 2007).

Somado ao problema da resistência existe hoje uma crescente demanda por novas alternativas no controle de pragas, visando à utilização mínima de químicos, com intuito de preservar o ambiente e garantir alimentos livres de resíduos. Com isso têm se buscado novas alternativas que possam ser empregadas no controle deste ixodídeo, 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. microplus* (VASCONCELOS *et al.*, 2005; FREITAS-RIBEIRO *et al.*, 2005; SILVA, 2007). Neste sentido o presente trabalho teve como objetivo observar a influência de diferentes intervalos de exposição de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975 (Rhabditida: Heterorhabditidae), isolado HP88, no controle 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 Silveira Carvalho, Minas Gerais.

Os nematóides 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 Lindgren *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 $> 80 \pm 10\%$.

Para a realização do estudo, 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

S.P.
P. 138

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 na concentração de 1.500 JIs/4 mL por placa, sendo assim a concentração por fêmea foi de 300 NEP's. Após este período os grupos foram acondicionados em câmara climatizada a $27 \pm 1^\circ \text{C}$ e UR>80% e foram expostos aos nematóides respectivamente, durante os seguintes períodos: 3, 12, 24, 48 e 72h e o controle foi exposto a 4 ml de água destilada por 72h.

Após o fim do tempo de exposição de cada grupo, as fêmeas ingurgitadas ainda vivas foram retiradas da placa contendo NEP's e com auxílio de fita adesiva foram coladas com a parte dorsal voltada para baixo em placas de Petri de 12 cm devidamente identificadas de acordo com cada tratamento 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.

Índice de produção de ovos (IPO) - (massa de ovos / peso inicial da fêmea x 100) (BENNETT, 1974).

Percentual de redução de massas de ovos - (peso da massa de ovos do grupo tratado x 100) / peso da massa de ovos do controle.

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 $\sqrt{\arcsin x}$.

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.

Foi observada redução no peso da postura de fêmeas dos grupos tratados em relação ao peso da postura de fêmeas do grupo controle, exceto para o grupo com fêmeas expostas aos nematóides por 3h. Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre o peso da massa de ovos do controle em relação ao peso da massa de ovos do grupo exposto a *H. bacteriophora* por 12h, fato observado nos tratamentos com fêmeas ingurgitadas expostas por 24, 48 e 72h. Freitas-Ribeiro *et al.* (2005) utilizando dois isolados de *Steinernema carpocapsae* com diferentes concentrações e 72h de exposição também observaram diminuição no peso da massa de ovos em todos os tratamentos.

Comportamento idêntico foi observado em relação ao índice de produção de ovos (IPO) uma vez que as fêmeas do grupo exposto por 3h a *H. bacteriophora* apresentaram valor superior ao do grupo controle e não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre o IPO do grupo controle e o IPO de fêmeas expostas aos nematóides por 3 e 12h (Tabela 1). As fêmeas expostas a *H. bacteriophora* 24, 48 e 72h apresentaram uma redução no peso da massa de ovos (%) de 18,5, 72,9, 100,0, 100,0% respectivamente.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que quanto maior o tempo de exposição das fêmeas ingurgitadas ao nematóide menor quantidade de ovos produzida, sendo que nos tratamentos com 48 e 72h de exposição ocorreu redução de 100%. Este fato também foi observado por Hill (1998) utilizando nematóides entomopatogênicos no controle do carrapato *Ixodes scapularis*.

Tabela 1 - Peso inicial de fêmeas ingurgitadas (mg), peso da massa de ovos (mg) e índice de produção de ovos (%) do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em diferentes tempos de exposição (3, 12, 24, 48 e 72h) a juvenis infectantes (300/fêmea) do nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, 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.

Tempo de exposição	Peso inicial	Peso postura	Índice de produção de ovos - IPO
Controle*	258.78 ^a ±32.56	141.81 ^a ±26.01	54.61 ^a ±5.67

	(19)	(19)	(19)
3h	256.51 ^a ±41.28 (20)	146.72 ^a ±31.92 (20)	57.04 ^a ±6.63 (20)
12h	256.79 ^a ±32.93 (20)	109.78 ^a ±62.64 (20)	42.60 ^a ±24.16 (20)
24h	257.26±35.88 (20)	36.52 ^b ±61.09 (20)	15.90 ^b ±26.72 (20)
48h	256.59 ^a ±42.18 (20)	0.0 ^b ±0.0 (20)	0.0 ^c ±0.0 (20)
72h	256.43 ^a ±39.27 (20)	0.0 ^b ±0.0 (20)	0.0 ^c ±0.0 (20)
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%.

* - Grupo controle – Fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* expostas por 72h à água destilada.



Figura 1 – Redução do peso total da massa de ovos do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em diferentes tempos de exposição (3, 12, 24, 48 e 72h) a juvenis infectantes (300/fêmea) do nematóide entomopatogênico *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.

CONCLUSÃO

- 1 O período de 3e 12h de exposição de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* ao nematóide *H. bacteriophora* não foi suficiente para exercer ação deletéria no processo de ovoposição deste ixodídeo.
- 2 Exposições de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* por 24, 48 e 72h ao nematóide entomopatogênico *H. bacteriophora* levaram a uma redução significativa no peso da massa de ovos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENNETT, G. F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarida: Ixodidae). III. Oviposition pattern of acaricide resistant strain. *Acarologia*, v. 16, n.3, p. 394-396, 1974.

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.

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.

HILL, D.E. Entomopathogenic nematodes as control agents of developmental stages of the black legged tick, *Ixodes scapularis*. *Journal of Parasitology*, v.84, n.6, p.1124-1127, 1998.

KESSLER, R.H.; C.O. SOARES; C.R. MADRUGA & F.R. ARÁUJO. Tristeza parasitária dos bovinos: quando vacinar é preciso. *A Hora Veterinária*, v. 23, n. 137, p. 26-30, 2004.

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.

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

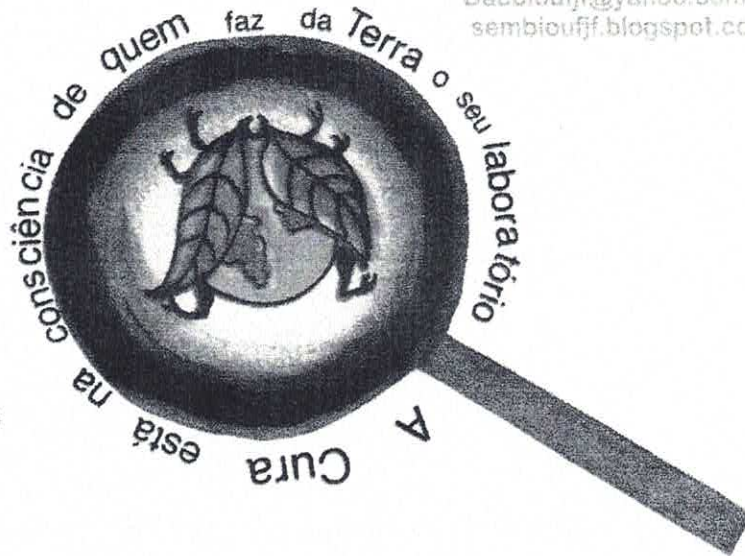


Realização



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.fineartsonline.com 014744922