

PA 055
POTENCIAL VIRULENTO DE ISOLADOS BRASILEIROS DE *Metarhizium anisopliae* s.l. SOBRE LARVAS DE *Rhicephalus microplus*

Simone Quinelato¹; Wendell Marcelo de Souza Perinotto¹; Isabele da Costa Angelo¹; Patricia Silva Gôlo¹; Mariana Guedes Camargo¹; Fillipe Araujo de Sá¹; Caio Junior Balduino Coutinho Rodrigues¹; Allan Felipe Marciano¹; Aurea Maria Lage de Moraes²; Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt¹
¹IV/DPA/UFRRJ, Seropédica, RJ; ²LTBBF/IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, squinelato@gmail.com

As práticas atuais de controle de carrapatos são baseadas principalmente no uso de agentes químicos, porém a habilidade de *Rhicephalus microplus* de desenvolver resistência aos diferentes acaricidas, seus efeitos ambientais negativos e a demanda cada vez maior por alimentos livres de produtos químicos, vêm acarretando o desenvolvimento de estratégias de controle alternativo. O objetivo deste estudo foi avaliar a virulência de 30 isolados brasileiros de *Metarhizium anisopliae* s.l., provenientes de diferentes regiões geográficas, hospedeiros ou substratos sobre larvas do carrapato, além disso, avaliou-se a quantidade de conídios produzida, para seleção de isolados com maior potencial de produção de conídios em massa, permitindo a seleção de isolados mais virulentos para serem utilizados em futuros programas de controle microbiano. O percentual de mortalidade e a concentração letal foram avaliados. Os grupos foram tratados com as concentrações de 108, 107, 106 e 105 conídios/mL e os tratamentos ocorreram por imersão das larvas em um mL de suspensão, por três minutos. Para quantificação da produção de conídios utilizou-se uma alça de platina com a ponta circular medindo 0,5 cm de diâmetro, cada cultura foi cortada em três diferentes pontos aleatórios e os fragmentos de cultura foram transferidos para tubos tipo falcon contendo um mL de solução de Tween 80 (0,1% v/v), homogeneizados e a suspensão foi quantificada em câmara de Neubauer. O presente estudo confirmou a ação letal dos isolados brasileiros de *M. anisopliae* s.l. sobre larvas do carrapato *R. microplus*, com elevado nível de mortalidade entre os isolados, geralmente ocorrendo de forma diretamente proporcional a concentração dos tratamentos. A maioria dos isolados ocasionou a morte de metade da população de larvas com a concentração de 107 conídios/mL, com os isolados mais virulentos apresentando concentração letal de 106 conídios/mL e percentuais médios de praticamente de 100% já ao 20^o dia após tratamento das larvas. O potencial de produção de conídios foi variável, com isolados com elevados potenciais, com média superior a 15000 x 104 conídios em 0, 589 cm² de cultura, porém tanto o tamanho dos conídios quanto o diâmetro das colônias não influenciaram a produção de conídios, pois isolados com baixo potencial de produção de conídios apresentaram tamanho da colônia semelhante a isolados de alto potencial. O presente estudo possibilitou a detecção de isolados brasileiros de *M. anisopliae* s.l. com elevada virulência para larvas de *R. microplus*, podendo ser considerados potenciais agentes no biocontrole desta espécie de carrapato.

Órgão de financiamento: CAPES; FAPERJ; CNPq.

Anotações _____

PA056
PATOGENICIDADE DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS ASSOCIADOS COM *Metarhizium anisopliae* SOBRE FÊMEAS INGURGITADAS DE *Rhicephalus microplus*

Caio Márcio de Oliveira Monteiro¹, Renata da Silva Matos², Laryssa Xavier Araújo², Wendell Marcelo de Souza Perinotto¹, Patricia Gôlo¹, Márcia Cristina de Azevedo Prata³, Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt¹, Claudia Dolinski⁴, John Furlong²
¹ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ. caiosat@gmail.com ² - Universidade Federal de Juiz de Fora, MG. ³ - Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁴ - Universidade Estadual Norte Fluminense - RJ.

Fungos e nematoides entomopatogênicos (NEPs) são apontados como promissores agentes a serem utilizados no controle biológico do carrapato dos bovinos. Existem relatos tanto de sinergismo como de antagonismo a respeito da interação desses organismos no controle de insetos, entretanto incistem registros dessa associação sobre carrapatos. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* IBCB 116 associado aos nematoides *Heterorhabditis bacteriophora* HP88 e *Heterorhabditis indica* LPP1 sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhicephalus microplus*. Nos grupos tratados apenas com nematoides, dois cadáveres de *Galleria mellonella* infectados por NEPs foram colocados em pote plástico (300 ml) com 150 g de solo e após uma semana foram adicionadas cinco fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*. Nos tratamentos com nematoides e fungos, foi seguida a mesma metodologia, sendo adicionadas aos potes cinco fêmeas previamente imersas por cinco minutos em suspensão de *M. anisopliae* (1 x 10⁸). Nos grupos tratados apenas com o fungo, as fêmeas previamente imersas na suspensão foram colocadas em potes com ausência de nematoides e no grupo controle, foram adicionadas fêmeas sem tratamento prévio com fungos em potes com ausência de nematoides. As unidades experimentais foram mantidas em câmara climatizada (27±1°C e 80±10% UR), sendo feitas 10 repetições por grupo. Os ovos foram coletados diariamente e pesados em balança analítica para avaliação do peso da massa de ovos e do percentual de inibição de postura. O valor referente ao peso da massa de ovos do grupo tratado apenas com o fungo foi de 361,2 mg, sendo estatisticamente semelhante (p>0,05) ao valor obtido para o controle (563,2 mg). Nos grupos tratados com *H. bacteriophora*, *H. indica*, *H. bacteriophora* + *M. anisopliae* e *H. indica* + *M. anisopliae* foram de 24,0; 67,1; 5,1 e 4,2 mg, não apresentando diferenças significativas entre si (p>0,05) e diferindo significativamente (p<0,05) do controle. Os valores para índice de inibição de postura foram de 95,5; 88,1; 35,5; 99,1 e 99,3% para os grupos tratados com *H. bacteriophora*, *H. indica*, *M. anisopliae*, *H. bacteriophora* + *M. anisopliae* e *H. indica* + *M. anisopliae*, respectivamente. Conclui-se que os isolados testados não apresentaram efeito antagonístico no controle do carrapato dos bovinos.

Órgão de financiamento: CNPq; FAPEMIG; EMBRAPA.

Anotações _____

PA 057
ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DE ISOLADOS DE *Metarhizium anisopliae* CULTIVADOS EM MEIO CONTENDO CUTÍCULA DE *Rhicephalus microplus*

Wendell Marcelo de Souza Perinotto¹; Caio Junior Balduino Coutinho Rodrigues¹; Lucélia Santi¹; Marilene Henning Vainstein²; Walter Orlando Beys da Silva¹; Cristiane Martins Cardoso de Salles¹; Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt¹
¹DPA/ UFRRJ, Seropédica, RJ, ²CBIOT/ UFRGS, Porto Alegre, RS, vaniabit@ufrj.br

Rhicephalus microplus é um dos principais ectoparasitas que acometem a pecuária brasileira. Métodos alternativos de controle, como a utilização de fungos acaricidas é cada vez mais viável, quando se almeja uma produção sustentável. Esses microrganismos possuem capacidade de penetração pelo tegumento dos artrópodes, devida ação mecânica da hifa juntamente com hidrólise da cutícula por enzimas, principalmente proteases, quitinases e lipases. Estudos prévios demonstram que a atividade destas enzimas está relacionada com a virulência do fungo, e também que pode haver diferença na eficiência de acordo com o local e tipo de hospedeiro que este foi isolado. Sendo assim, este estudo teve como objetivo verificar a atividade proteolítica de cinco isolados de *Metarhizium anisopliae* cultivados em meio que mimetizasse o ambiente da ação do fungo no carrapato. Os isolados fúngicos CG 112, CG 32, CG 347, CG 148 e CG 629 foram cedidos pelo Centro Nacional de Recursos Genéticos (Embrapa) e cultivados em erlenmeyers contendo 20 mL de meio mínimo (0,6% NaNO₃; 0,05% KH₂PO₄; 0,05% MgSO₄) enriquecidos com 1% de cutícula de *R. microplus* e 1% de colesterol estearato. Como controle foi utilizado meio mínimo acrescido de glicose a 1% e colesterol estearato a 1%. Os erlenmeyers ficaram sob agitação de 150 rpm, à temperatura de 25° C por 24, 48 e 72 horas, todo experimento foi realizado em triplicata. Após esses períodos as amostras foram filtradas em papel Whatman nº1 com auxílio de bomba a vácuo. Para o ensaio proteolítico, 100 µl de amostra, 100 µl de azocaseína e 200 µl de tampão fosfato de sódio 0,05 M, pH 7,9 foram incubados por 15 minutos a 50° C, posteriormente foram adicionados 800 µl de ácido tricloroacético, centrifugados a 10000 rpm por cinco minutos, o sobrenadante foi mensurado em espectrofotômetro a 400 nanômetros. O valor da densidade óptica foi multiplicado por 40 e obteve-se a unidade de protease. Como resultado, observou-se que no meio contendo cutícula e colesterol, a hidrólise do substrato foi maior que no controle, variando de 0,140 a 36,680 e 0,013 a 5,840 unidades de protease, respectivamente. Além disso, houve variação na atividade proteolítica entre os diferentes isolados, cujo aumento da atividade foi proporcional ao tempo de cultivo. A partir deste estudo, pode-se concluir que a presença da cutícula estimula a liberação de proteases, conseqüentemente possibilita a seleção de isolados com maior atividade proteolítica, que teoricamente terão mais virulência quando utilizados no controle de *R. microplus*.

Órgão de financiamento: FAPERJ; CNPq; CAPES

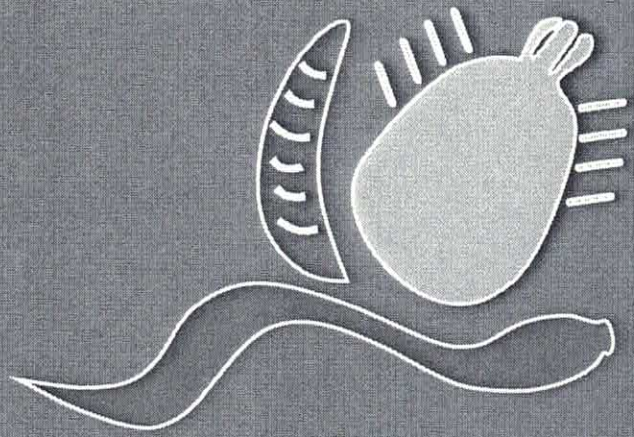
Anotações _____

PA 058
AÇÃO DE *Metarhizium anisopliae* SENSU LATO SOBRE LARVAS E NINFAS DE *Ornithodoros mimon* (ACARI: ARGASIDAE)

Gabriel Alves Landolfo¹; Wendell Marcelo de Souza Perinotto¹; Mariana Guedes Camargo¹; Patricia da Silva Gôlo¹; Isabele da Costa Angelo¹; Darci Moraes Barros-Battesti¹; Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt¹
¹CPGCV, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. ²Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan, São Paulo, SP

Ornithodoros mimon é um carrapato argasídeo parasita de Chiroptera que ocorre em alguns países da América do Sul. No Brasil, há relatos de parasitismo em humanos, ocasionando intensas lesões inflamatórias decorrentes da picada. O papel de *O. mimon* como transmissor de patógenos ainda é desconhecido, porém trata-se de um carrapato agressivo a humanos, que vive em ambiente domiciliar. Métodos de controle para essa espécie ainda não foram realizados. Todavia, com o intuito de utilizar tratamentos que causem menos danos ao ambiente, o controle biológico se torna uma ferramenta viável. Assim, o presente estudo teve como objetivo verificar a suscetibilidade de *O. mimon* a *Metarhizium anisopliae* sensu lato. Para realização dos bioensaios foram formados três grupos com dez espécimes cada. Os estágios de *O. mimon* utilizados no experimento foram larvas e ninfas de primeiro instar ingurgitadas e não ingurgitadas. Os tratamentos testados foram: suspensões de *M. anisopliae* a 107 e 108 conídios/mL e solução controle a base de água destilada e Tween 80 a 0,01%. O fungo utilizado foi crescido em Batata, Dextrose e Ágar e mantido à temperatura de 25°C 1° C e umidade relativa (UR) ≥ 80% por 15 dias. Para o preparo das suspensões fúngicas, os conídios foram suspensos em solução de água destilada estéril e Tween 80 a 0,01%, quantificados em câmara de Neubauer em microscópio óptico e ajustadas nas concentrações de 107 e 108 conídios/mL. Para o tratamento, as larvas e ninfas foram acondicionadas em frascos de vidro vedados com algodão hidrofílico e imersas em um mL de suspensão e/ou solução controle por três minutos. Posteriormente, os espécimes tratados foram acondicionados em estufas B.O.D. à 27°C 1° C e 90% 10% de UR. O parâmetro avaliado foi o percentual de mortalidade das larvas e ninfas. Como resultado, observou-se 80% de mortalidade do estágio larval na concentração de 107 conídios/mL e 91,4% para larvas submetidas à concentração de 108 conídios/mL. As ninfas ingurgitadas imersas a concentração 107 conídios/mL foram mais susceptíveis ao fungo que as ninfas não ingurgitadas. Na concentração 108 conídios/mL a mesma diferença não foi observada, uma vez que se obteve um percentual médio de mortalidade acima de 95% tanto para as ninfas alimentadas como para as não alimentadas. Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que os estágios de *O. mimon* estudados são susceptíveis a *M. anisopliae*.

Anotações _____

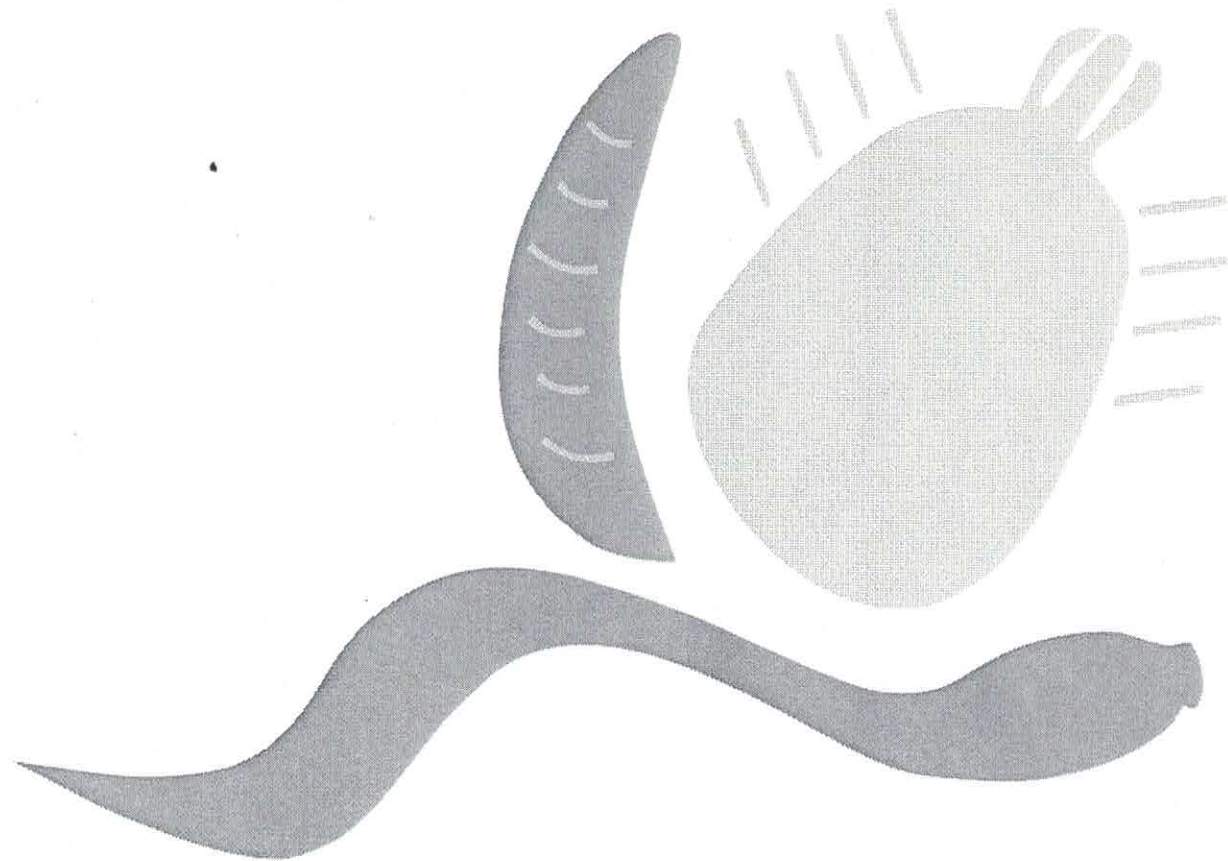


XVII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária

“Parasitologia Veterinária, Bem Estar e Produção Animal.”



03 a 06 de Setembro de 2012 | Rio Poty Hotel - São Luis - MA - Brasil.



CBPV
Colégio Brasileiro de
Parasitologia Veterinária

Anais

