SP 5933 P.192
2012
SP-PP-5933

PA 063

DETECÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA NA HEMOLINFA DE *Rhipicephalus microplus* INFECTADO COM FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS

Isabele C. Angelo[1]; Patricia S. Gôlo[1]; Wendell M. S. Perinotto[1]; Mariana G. Camargo[1]; Simone Quinelato[1]; Fillipe A. Sa[1]; Allan F. Marciano[1]; Márcia R. Soares[2]; Vânia R.E.P. Bittencourt[1]
[1] IV/DPA/UFRRJ, Seropédica, RJ [2] IQ/CT/UFRJ, Fundão, RJ

O trabalho avaliou alterações na resposta imune de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* após o desafio microbiano com os entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e com *Fusarium oxysporum*. Os fungos foram cultivados em meio BDA, incubados (25°C e UR ≥ 80%) e após 14 dias os conídios foram suspensos em água destilada estéril e Tween 80 0,1%. Os tratamentos utilizados foram imersão (fêmeas imersas em suspensão conidial durante três minutos) ou inoculação da suspensão conidial no forame localizado entre o capitulo e o escudo. Para cada tratamento formou-se o grupo controle constituído por água destilada estéril e Tween 80 0,1%. A hemolinfa foi coletada do dorso das fêmeas 24 e 48 horas após os tratamentos. O plasma foi separado dos hemócitos por centrifugação e os hemócitos resuspensos em tampão fosfato pH 7,2. A quantidade de proteína total foi determinada em ambas as frações da hemolinfa e os hemócitos quantificados. O plasma da hemolinfa foi filtrado em membrana de 100 kDa e em membranas de 10 kDa, sendo analisados por eletroforese (condições nativas e SDS-PAGE) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Foram observadas variações na quantidade de proteína total de ambas as frações da hemolinfa, tanto na quantidade de hemócitos bem quanto na intensidade de proteínas/peptídeos expressos no plasma da hemolinfa. O plasma da hemolinfa teve sua atividade antimicrobiana testada contra as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e contra o fungo utilizado no respectivo tratamento das fêmeas ingurgitadas. A hemolinfa coletada 48 horas após o tratamento de imersão com *B. bassiana* apresentou atividade anti-*B. bassiana* com 48 horas de avaliação. Esta hemolinfa foi submetida à coluna Superose de CLAE e o pico coletado foi analisado na coluna analítica C18. As frações coletadas da C18 apresentaram atividade anti-*B. bassiana*, porém não apresentaram atividade contra *Candida albicans*. As frações que apresentaram atividade antimicrobiana foram analisadas diretamente por espectrometria de massas em um MALDI-Tof. Entre os íons detectados nas frações, o íon m/z 1195,5 destacou-se por estar presente na maioria das frações. As análises seguintes de espectrometria de massas em série (MS/MS) confirmaram a origem protéica e o sequenciamento destes possíveis peptídeos antimicrobianos está em andamento. No entanto, maiores estudos são necessários para a identificação deste peptídeo com atividade antimicrobiana bem como para o entendimento da resposta imune do carrapato, o que contribuiria para o sucesso do controle de *R. microplus*.

Órgão de financiamento: CAPES, FAPERJ, CNPq

Anotações

PA 064

ASSOCIAÇÃO DE *Heterorhabditis bacteriophora* HP88 COM CARRAPATICIDAS NO CONTROLE DE FÊMEAS INGURGITADAS DE *Rhipicephalus microplus*

Caio Márcio de Oliveira Monteiro[1]; Laryssa Xavier Araújo[2]; Camila Aparecida Coelho Rodrigues[5]; Wendell Marcelo de Souza Perinotto[1]; Márcia Cristina de Azevedo Prata[3]; Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt[1]; Claudia Dolinski[4]; John Furlong[3]
[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.; [5]Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora, MG.

Nematoides entomopatogênicos podem apresentar tolerância a produtos químicos como herbicidas inseticidas e carrapaticidas. Além da tolerância, a associação dos nematoides com inseticidas e carrapaticidas pode resultar em sinergismo no controle da praga alvo. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia de *Heterorhabditis bacteriophora* HP88 associado com amitraz e clorfenvinfós no controle de *Rhipicephalus microplus*. Para realização do estudo 60 fêmeas ingurgitadas foram separadas em seis grupos com pesos previamente homogeneizados (p>0,05). Cada grupo foi dividido em dois subgrupos com cinco fêmeas devidamente identificadas com tinta atóxica e distribuídas em placas de Petri (6 cm) contendo 15g de areia esterilizada, sendo cada teleógina uma repetição. No grupo tratado apenas com o nematoide, em cada placa foi feita a aspersão de 4 ml de juvenis infectantes de *H. bacteriophora* HP88 na concentração de 150 NEPs/fêmea. Nos grupos tratados com nematoides e carrapaticidas, as fêmeas foram imersas por cinco minutos na dose comercial de cada produto para depois serem colocadas nas placas com nematoides. Para os tratamentos apenas com os carrapaticidas, após a imersão as fêmeas foram colocadas em placas isentas de nematoides. Também foi formado um grupo controle onde os carrapatos não receberam nenhum tratamento e foram colocados em placas isentas de nematoides. Os grupos foram mantidos em câmara climatizada a 27±1°C e UR>80% durante 72 horas e após esse período, as fêmeas ainda vivas foram fixadas em decúbito dorsal em placas de Petri (12 cm) e mantidas em câmara climatizada nas mesmas condições anteriormente citadas. A postura foi coletada diariamente e com os valores do peso da fêmea e peso da massa de ovos foi feito o cálculo de inibição de postura. Os valores referentes ao índice inibição de postura observados para os grupos tratados com amitraz, clorfenvinfós, *H. bacteriophora* HP88, *H. bacteriophora* HP88 + amitraz e *H. bacteriophora* HP88 + clorfenvinfós foram de 37,1; 38,2; 83,0; 98,1 e 91,9%, respectivamente, evidenciando que a utilização do nematoide associado ao amitraz e ao clorfenvinfós resultou em efeito aditivo no controle de *R. microplus*.

Órgão de financiamento: CNPq; FAPEMIG; EMBRAPA.

Anotações

PA 065

PATOGENICIDADE DE *Heterorhabditis indica*, COM DIFERENTES PERÍODOS DE ARMAZENAMENTO SOBRE FÊMEAS INGURGITADAS DE *Rhipicephalus microplus*

Laryssa Xavier Araújo[1]; Caio Márcio de Oliveira Monteiro[2]; Camila Aparecida Coelho Rodrigues[4]; Márcia Cristina de Azevedo Prata[3]; John Furlong[3]
[1]Universidade Federal de Juiz de Fora, MG.. laryssa_xa@hotmail.com; [2]Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ.[3] Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.[4]Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora, MG.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a patogenicidade do nematoide entomopatogênico (NEP) *Heterorhabditis indica* LPP1 com diferentes períodos de armazenamento sobre a biologia reprodutiva do carrapato dos bovinos, *Rhipicephalus microplus*. Fêmeas ingurgitadas foram divididas em seis grupos com pesos previamente homogeneizados, sendo esses grupos um tratamento contendo 10 carrapatos. Cada grupo foi dividido em dois subgrupos com cinco fêmeas devidamente identificadas com tinta atóxica e distribuídas em placas de Petri (6 cm) contendo 15g de areia esterilizada, sendo cada teleógina uma repetição. Formados os subgrupos, foi feita a aspersão de 4 ml de solução de nematoides em água destilada, na concentração de 300 NEPS/carrapato com períodos de armazenamento de 42, 35, 28, 21 e 15 dias em câmara climatizada (18±1°C). O controle foi constituído de 4 ml de água destilada isenta de nematoides. Os grupos foram mantidos em câmara climatizada a 27±1°C e UR>80% durante um período de 72 horas. Após esse período, as fêmeas ainda vivas foram afixadas com a parte dorsal voltada para baixo em placas de Petri (12 cm) e mantidas em câmara climatizada nas mesmas condições anteriormente citadas, para o acompanhamento dos parâmetros reprodutivos. Os valores referentes ao peso das fêmeas, peso da massa de ovos e percentual de eclosão foram utilizados para cálculo do percentual de controle. As médias dos tratamentos foram comparadas por teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e Student-Newman-Keuls. Os pesos das massas de ovos dos grupos tratados variaram entre 24,3 e 0,8 mg, evidenciando que a ação dos nematoides resultou na redução significativa (p<0,05) da postura, em relação ao controle (129,0 mg). O percentual de eclosão de larvas foi de 66,3% para o grupo tratado com nematoides com 42 dias de acondicionamento, sendo semelhante (p>0,05) ao observado para o controle (88%). Nos demais grupos os percentuais de eclosão larval variaram entre 36,9% e 30% (p<0,05). A eficácia dos tratamentos foi superior a 95% para todos os tratamentos, com exceção do grupo tratado com nematoides com 42 dias de acondicionamento (85%). Conclui-se que o período de acondicionamento a partir de 42 dias leva a redução da virulência de H. indica LPP1 sobre *R. microplus*.

Órgão de financiamento: CNPq; FAPEMIG; EMBRAPA

Anotações

PA 066

AÇÃO DE *Heterorhabditis indica* LPP1 NO CONTROLE DE FÊMEAS PARCIALMENTE INGURGITADAS DE *Dermacentor nitens*

Caio Márcio de Oliveira Monteiro[1]; Renata da Silva Matos[3]; Laryssa Xavier Araújo[2]; Wendell Marcelo de Souza Perinotto[1]; Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt[1]; Cláudia Dolinski[4]; Márcia Cristina de Azevedo Prata[3]; John Furlong[3]
[1]Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ. [2]Universidade Federal de Juiz de Fora, MG. renata.matosjf@gmail.com. [3]Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. [4]Universidade Estadual Norte Fluminense, RJ.

O parasitismo por *Dermacentor nitens*, conhecido como carrapato-da-orelha-do-cavalo, determina inúmeras perdas devido ao estresse dos animais, espoliação sanguínea, predisposição a miíases e infecções bacterianas, transmissão de patógenos e gastos com tratamento de animais. Um aspecto negativo no controle de carrapatos é a dependência quase que exclusiva da utilização de carrapaticidas químicos, sendo necessário o desenvolvimento de novas estratégias que possam ser empregadas no manejo integrado, como alternativas de controle biológico. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações do nematoide entomopatogênico *Heterorhabditis indica* LPP1, sobre a biologia reprodutiva de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *D. nitens*. Fêmeas foram divididas em quatro grupos com pesos previamente homogeneizados (p>0.05) (10 carrapatos por grupo). Em seguida esses grupos foram divididos em dois subgrupos com cinco fêmeas devidamente identificadas com tinta atóxica e distribuídas em placas de Petri (6 cm) contendo 15g de areia esterilizada (cada carrapato uma repetição). Formados os subgrupos, foi feita a aspersão de 4 ml de solução de nematoides nas concentrações de 0, 75, 300 e 1200 nematoides por fêmea. Os grupos foram mantidos em câmara climatizada (27 ± 1° C e UR>80%) durante todo o experimento. Após 48h de exposição aos nematoides as fêmeas ainda vivas foram coladas em decúbito dorsal em placas de Petri (12 cm) para o acompanhamento da postura. Os ovos foram coletados diariamente e acondicionados individualmente em seringas, com a parte distal cortada, vedadas com algodão e mantidas em câmara climatizada (27 ± 1° C e UR>80%) para avaliação do percentual de eclosão. Os valores referentes ao peso das fêmeas, peso da massa de ovos e percentual de eclosão foram utilizados para calculo do percentual de controle. As médias dos tratamentos foram comparadas por teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e Student-Newman-Keuls. Os pesos das massas de ovos das fêmeas dos grupos tratados com as concentrações de 75, 300 e 1200 nematoides por fêmea foram de 14,2; 14,1 e 3,2 mg, respectivamente, diferindo significativamente (p<0,05) do grupo controle (39.9 mg). O mesmo foi observado em relação ao percentual de eclosão, onde os valores dos grupos tratados variaram entre 55 e 44%, valores significativamente inferiores (p<0,05) ao do grupo controle (89,0%). O percentual de controle nas duas menores concentrações foi de aproximadamente 77%, chegando a 95% na maior concentração. H. indica LPP1 apresentou patogenicidade para fêmeas parcialmente ingurgitas de *D. nitens*, entretanto, apenas a maior concentração resultou em percentual de controle acima de 90%.

Órgão de financiamento: CNPq; FAPEMIG; EMBRAPA

Anotações

SP 5933 P.192

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.

Anais

CBPV
Colégio Brasileiro de
Parasitologia Veterinária