

**AÇÃO DE *Heterorhabditis indica* (RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE), ISOLADO LPP30, EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES, NO CONTROLE BIOLÓGICO DE *Rhipicephalus microplus* (ACARI: IXODIDAE).**

Laryssa Xavier Araújo<sup>1</sup>, Caio Márcio de Oliveira Monteiro<sup>2</sup>, Camila Aparecida Coelho Rodrigues<sup>4</sup>, Claudia Dolinski<sup>5</sup>, Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt<sup>2</sup>, Márcia Cristina de Azevedo Prata<sup>3</sup>, John Furlong<sup>3</sup>

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.; 5 – Universidade Estadual Norte Fluminense  
Apoio financeiro: Fapemig, CNPq

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi verificar a ação do nematoide *Heterorhabditis indica* LPP30 sobre os parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus* tratadas com diferentes concentrações. Para isso, fêmeas ingurgitadas foram divididas em sete grupos com pesos previamente homogêneos ( $p > 0.05$ ), sendo cada grupo, um tratamento contendo 10 carrapatos. As fêmeas de cada grupo foram colocadas em placas de petri forradas com papel filtro de forma individualizada (cada fêmea em uma placa), tendo sido feita a aspersão de 3 ml de solução de nematoides nas concentrações de 0, 75, 150, 300, 600, 1.200 e 2.400 NEPs em cada placa. Os grupos foram mantidos em câmara climatizada a 27° C e UR > 80%. A observação das fêmeas para verificar a mortalidade foi realizada diariamente até a morte do último carrapato e as massas de ovos foram coletadas e a partir desses ovos foi feita a avaliação do percentual de eclosão das larvas. Todos os tratamentos reduziram significativamente ( $p < 0.05$ ) o peso da massa de ovos e o percentual de eclosão em relação ao grupo controle. A eficácia dos tratamentos foi superior a 95% em todas as concentrações, assim é possível concluir que *H. indica* LPP30 a partir da concentração de 75 NEPs/carrapato foi altamente virulento para fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, sendo indicado como promissor agente de controle biológico para esse ixodídeo.

**Palavras-chave:** carrapato dos bovinos, controle microbiano, nematoides entomopatogênicos.

## INTRODUÇÃO

*Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) é um ixodídeo que apresenta ampla distribuição geográfica, sendo um dos principais problemas para pecuária em países tropicais e subtropicais. Esse ectoparasito acarreta perda de sangue, danos no couro e irritação nos animais além de transmitir patógenos. Existe grande preocupação atualmente sobre a resistência desses carrapatos à maioria dos produtos químicos utilizados para seu controle (FURLONG *et al.* 2007). Assim, é evidente a necessidade imediata do desenvolvimento de novas formas de controle, que causem menos impactos negativos ao ambiente, ao homem e animais.

Nematoides entomopatogênicos são conhecidos por infectar diferentes ordens de insetos. Essa propriedade vem sendo explorada recentemente como uma possível alternativa no controle biológico de pragas (DOLINSKI *et al.* 2006). Esses nematoides possuem bactérias entéricas simbiotes que causam a morte do hospedeiro e criam um ambiente favorável para o crescimento e desenvolvimento destes (DOLINSKI *et al.* 2006).

Estudos em laboratório demonstraram que fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* são susceptíveis a infecção por NEPs (MONTEIRO *et al.* 2010a). Considerando a demanda atual por novas alternativas de controle do carrapato dos bovinos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes concentrações de juvenis infectantes (JIs) de *Heterorhabditis indica* Poinar *et al.*, 1992 (RHABDITIDA, HETERORHABDITIDAE), isolado LPP30 sobre os parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Para realização do estudo foi utilizada uma estirpe de *R. microplus* proveniente do município de Lima Duarte, Minas Gerais obtidos através de coleta em animais naturalmente infestados. Os nematoides foram cedidos pelo Laboratório de Nematologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), RJ e mantidos no banco de nematoides da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais, através de infecções em larvas de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758.

Para o desenvolvimento do experimento, fêmeas ingurgitadas foram divididas em sete grupos com pesos previamente homogêneos ( $p > 0,05$ ), sendo cada grupo, um tratamento contendo 10 carrapatos. As fêmeas de cada grupo foram colocadas em placa de Petri (6 cm) contendo duas folhas de papel filtro, previamente esterilizada (cada carrapato = uma repetição) e após esse processo, foi feita a aspersão de 3 ml de solução de nematoides nas concentrações de 0, 75, 150, 300, 600, 1.200 e 2.400 NEPs em cada placa. O controle foi constituído de 3 ml de água destilada isenta de nematoides.

Os grupos foram mantidos em câmara climatizada a 27° C e UR > 80%. Após 72h de exposição aos NEPs, os papéis foram retirados das placas, onde as fêmeas permaneceram até a sua morte, acondicionadas nas mesmas condições citadas acima. A observação das fêmeas para coleta de postura foi realizada diariamente até a morte do último carrapato. As massas de ovos foram acondicionadas individualmente em seringas de 10 ml devidamente identificadas, com a parte distal cortada, vedadas com algodão hidrófilo e mantidas em câmara climatizada nas mesmas condições de temperatura e umidade citadas anteriormente.

Foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: peso inicial das fêmeas (mg); peso da massa de ovos (mg); percentual de eclosão (%) e percentual de controle (%) (DRUMMOND *et al.*, 1973).

Para realização da análise estatística foi utilizado o software Biostat versão 5.0. Os dados adquiridos em porcentagem foram transformados em  $\sqrt{\text{arco seno } x}$  e analisados por teste não paramétrico de Kruskal Wallis e Student Newman Keulls ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A infecção por *H. indica* LPP30 levou a redução significativa ( $p < 0,05$ ) do peso da massa de ovos das fêmeas dos grupos tratados, com redução mais acentuada no grupo tratado 2.400 NEPs/fêmea. O mesmo foi observado para o percentual de eclosão, que apresentou valores nos grupos tratados estatisticamente diferentes do controle ( $p < 0,05$ ) (Tabela 1), demonstrando que houve interferência dos diferentes tratamentos nestas duas fases do ciclo do carrapato.

O percentual de controle foi superior a 95% em todas as concentrações testadas (Tabela 1). Comparando com outros trabalhos é possível observar que os valores obtidos para *H. indica* LPP30 são superiores aos verificados para *Heterorhabditis amazonensis* ANDALÓ, NGUYEN & MOINO-JR, 2006 (RHABDITIDA, HETERORHABDITIDAE), isolado RSC-5 (MONTEIRO *et al.* 2010b), *Steinernema glaseri* STEINER, 1929 (RHABDITIDA, STEINERNEMATIDAE), isolado Santa Rosa e *Heterorhabditis bacteriophora* POINAR, 1975 (RHABDITIDA, HETERORHABDITIDAE), isolado CCA (Vasconcelos *et al.* 2004), sendo que apenas *S. glaseri* a partir da concentração de 5.000 NEPs/fêmea resultou em percentual de controle superior a 90%.

Até o momento, *H. bacteriophora* HP88 (Monteiro *et al.* 2010a) e *Heterorhabditis indica* LPP1 (SILVA *et al.* 2012) eram apontados como isolados mais virulentos para fêmeas de *R. microplus*, uma vez que apenas esses isolados apresentaram eficácia superior a 90% a partir das concentrações de 75 NEPs/fêmea. Entretanto, resultados similares foram observados no presente trabalho, permitindo incluir *H. indica* LPP30 na lista dos isolados mais virulentos para *R. microplus*.

Tabela 1 - Peso médio da massa de ovos de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* percentual de eclosão larval e eficácias dos tratamentos com diferentes concentrações de juvenis infectantes de *Heterorhabditis indica* LPP30.

Tratamentos	Peso da massa de ovos (mg)	Percentual de eclosão (%)	Eficácias dos tratamentos (%)
Controle	143,7 <sup>a</sup> ±21,3	89,0 <sup>a</sup> ±11,6	
75	13,0 <sup>b</sup> ±28,5	30,0 <sup>b</sup> ±34,8	97,2
150	2,2 <sup>bc</sup> ±7,0	17,5*±24,7	99,7
300	0,7 <sup>bc</sup> ±2,3	45,0*±63,6	99,7
600	0,8 <sup>bc</sup> ±2,5	38,5*±54,4	99,7
1.200	1,6 <sup>bc</sup> ±5,1	90,0*±0,0	98,8
2.400	0,0 <sup>c</sup> ±0,0	...	100,0

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem entre si em nível de significância de 5%.

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

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DOLINSKI, C. 2006. Uso de nematoides entomopatogenicos para o controle de pragas. *In*: MADELAINE VENZON; TRAZILBO JOSE DE PAULA JR.; ANGELO PALLINI. (Org.). **Tecnologias Alternativas para o Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa, p. 261-289.
- DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GRADNEY, W. J. & GRAHAM, O. H. 1973. *Boophilus anulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, **66**: 30-133.
- FURLONG J.; MARTINS, J. R. & PRATA, M. C. A. 2007. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? **A Hora Veterinária**, **27**: 1-7.
- MONTEIRO, C. M. O.; FURLONG, J.; PRATA, M. C. A.; SOARES, A. E.; BATISTA, E. S. P. & DOLINSKI, C. 2010a. Evaluation of the action of *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) isolate HP88 on the biology of engorged females of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, **170**: 355-358.
- MONTEIRO, C. M. O.; PRATA, M. C. A.; FURLONG, J.; FAZA, A. P.; MENDES, A. S.; ANDALO, V. & MOINO, A. 2010b. *Heterorhabditis amazonensis* (Rhabditidae: Heterorhabditidae), strain RSC-5, for biological control of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, **106**: 821-826.
- SILVA, E. R.; MONTEIRO, C. M. O.; REIS-MENINE, C.; PRATA, M. C. A.; DOLINSKI, C.; & FURLONG, J. 2012. Action of *Heterorhabditis indica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) strain LPP1 on the reproductive biology of engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Biological Control. Acessado em: Agosto de 2012. **Disponível em: 10.1016/j.biocontrol.2012.05.007**
- VASCONCELOS, V. O.; FURLONG, J.; FREITAS, G. M.; DOLINSKI, C.; AGUILLERA, M. M.; RODRIGUES, R. C. D. & PRATA, M. C. A. 2004. *Steinernema glaseri* Santa Rosa strain (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora* CCA strain (Rhabditida: Heterorhabditidae) as biological control agents of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, **94**: 201-206.