

PATOGENICIDADE DE *Heterorhabditis bacteriophora* (RHABDITIDA, HETERORHABDITIDAE) HP88 COM DIFERENTES PERÍODOS DE ARMAZENAMENTO SOBRE FÊMEAS INGURGITADAS DE *Rhipicephalus microplus* (ACARI, IXODIDAE).

Laryssa Xavier Araújo¹, Caio Márcio de Oliveira Monteiro², Camila Aparecida Coelho Rodrigues⁴, Claudia Dolinski⁵, Erik Daemon¹, Márcia Cristina de Azevedo Prata³, John Furlong³

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 presente estudo teve como objetivo avaliar a patogenicidade do nematoide entomopatogênico (NEP) *Heterorhabditis bacteriophora* HP88 com diferentes períodos de armazenamento a 18°C sobre a biologia reprodutiva do carrapato dos bovinos, *Rhipicephalus microplus*. Fêmeas ingurgitadas foram divididas em seis grupos com pesos previamente homogeneizados ($p > 0,05$), sendo cada grupo um tratamento contendo 10 carrapatos. Foi feita a aspersão de 3 ml de solução de nematoides em água destilada, na concentração de 300 NEPs/carrapato com períodos de armazenamento a $18 \pm 1^\circ\text{C}$ por 15, 21, 28, 35 e 42 dias em câmara climatizada. Após os tratamentos os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR > 80%). Foram observados os seguintes parâmetros biológicos: peso da massa de ovos, percentual de eclosão das larvas e percentual de controle. 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 de 99,41; 99,19; 98,42; 98,00 e 97,25% para grupos contendo, respectivamente, nematoides com tempo de armazenamento de 15, 21, 28, 35 e 42 dias. Esses resultados permitem concluir que o armazenamento de *H. bacteriophora* HP88 até 42 dias na temperatura de 18°C não reduziu sua patogenicidade sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

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

INTRODUÇÃO

Rhipicephalus microplus, o carrapato dos bovinos, é um dos maiores entraves para o desenvolvimento da pecuária em países tropicais. Esses ectoparasitos agem como vetores de agentes de doenças para os animais, levando a diminuição na produção, alto investimento em tratamentos ou medidas profiláticas e ainda, a perda de animais, devido à morte (MAULEON *et. al.*, 1993).

Produtos químicos são a principal forma utilizada atualmente para o controle desses ectoparasitos e, são, na maioria das vezes, aplicados de maneira incorreta. Com isso, vem-se observando o desenvolvimento de resistência nas populações de carrapatos e a consequente contaminação do ambiente. Agentes de controle biológico vêm sendo estudados como uma das alternativas para o controle desses ectoparasitos. A viabilização desse método alternativo poderá contribuir para a diminuição dos resíduos deixados pelos produtos químicos, no ambiente e nos alimentos e ainda, retardar processos de seleção e proliferação de populações resistentes de carrapatos (REIS-MENINI *et. al.*, 2008).

Um dos principais agentes apontados como potenciais controladores desses carrapatos são os nematoides entomopatogênicos (NEPs). Esses nematoides são capazes de localizar o hospedeiro, penetrar no seu organismo e levá-lo à morte pela ação de bactérias simbiotas (GREWAL *et. al.*, 2001). Durante a manutenção e multiplicação de NEPs em laboratório, um dos principais entraves é a diminuição da viabilidade e infectividade desses nematoides devido a competição por oxigênio e diminuição da reserva lipídica (ANDALÓ, 2006) e estudos sobre o tempo de armazenamento podem

fornecer informações sobre o período viável para estocagem e posterior aplicação de determinada espécie de nematoide sobre diferentes artrópodes para testes em laboratório e em condições de campo.

Considerando a crescente demanda por formas alternativas de controle do carrapato dos bovinos, este estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a influência de diferentes períodos de armazenamento de juvenis infectantes (JIs) de *H. bacteriophora* HP88 sobre os parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento 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 obtida 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, Brasil.

Para esta avaliação foram formados seis grupos, contendo 10 fêmeas ingurgitadas cada, com pesos homogeneizados ($p>0,05$) previamente, com utilização de balança analítica. Em seguida cada grupo foi dividido em dois subgrupos com cinco fêmeas devidamente identificadas com tinta atóxica (cada fêmea = uma repetição) e distribuídas em placas de Petri de 6 cm de diâmetro, com 15 g de areia esterilizada.

Formados os subgrupos, foi feita a aspersão de 3 ml de solução de nematoides, na concentração de 3000 NEPs/ml (300 NEPs/fêmea), com períodos de armazenamento de 42, 35, 28, 21 e 15 dias sob 18°C. O controle foi constituído de 3 ml de água destilada isenta de nematoides.

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 aos NEPs, as fêmeas ainda vivas foram fixadas em decúbito dorsal, com auxílio de fita adesiva, em placas de Petri de 12 cm de diâmetro e mantidas em câmara climatizada nas mesmas condições anteriormente citadas, para o acompanhamento dos parâmetros reprodutivos.

A observação das fêmeas para coleta de postura foi realizada diariamente até a morte do último carrapato. As massas de ovos foram pesadas e 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 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

As médias de peso inicial dos diferentes grupos foram estatisticamente semelhantes ($p>0,05$), em função da metodologia de distribuição homogênea de carrapatos. Com isso, pode-se inferir que as alterações observadas nos demais parâmetros biológicos foram devidas à ação dos nematoides entomopatogênicos (Tabela 1).

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 de 99,41; 99,19; 98,42; 98,00 e 97,25% para grupos tratados com nematoides com períodos de armazenamento de 15, 21, 28, 35 e 42 dias, respectivamente (Tabela 1).

Em todos os grupos tratados o percentual de controle foi superior a 95%. Resultado similar foi observado por Monteiro *et al.* (2010) que utilizando *H. bacteriophora* HP88 com menos de 15 dias de armazenamento na concentração de 300 NEPs/fêmea constataram percentual de controle de 96%.

Assim, é possível concluir que o armazenamento de *H. bacteriophora* HP88 até 42 dias a 18°C não reduziu a viabilidade e infectividade dos JIs sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

Tabela 1 - Média de peso das fêmeas antes da oviposição, peso da massa de ovos e percentual de eclosão larval de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tratadas com *Heterorhabditis bacteriophora* HP88 em diferentes períodos de armazenamento, sob condições de laboratório (27 ± 1 °C e UR > 80 ± 10%)

| Períodos de armazenamento a 18°C (dias) | Peso da massa de ovos (mg) | Percentual de eclosão (%) | Percentual de controle (%) |
|---|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 0 | 98,8 ^a ±6,4 | 94,6 ^a ±4,8 | |
| 15 | 3,1 ^b ±6,0 | 17,5 ^b ±21,4 | 99,41 |
| 21 | 3,6 ^{bc} ±6,8 | 20,8 ^b ±32,9 | 99,19 |
| 28 | 7,5 ^{bc} ±9,4 | 19,5 ^b ±29,6 | 98,42 |
| 35 | 5,9 ^c ±6,7 | 32,0 ^b ±35,7 | 98,00 |
| 42 | 6,3 ^{bc} ±5,3 | 40,6 ^b ±35,9 | 97,25 |

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDALÓ, V. 2006. Estudos taxonômicos e armazenamento de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). **Tese de Doutorado**, Universidade Federal de Lavras. 182p.
- DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GRADNEY, W. J. & GRAHAM, O. H. 1973. *Boophilus anulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory test of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, **66**: 30-133.
- GREWAL, P. S.; NARDO, E. A. B. & AGUILLERA, M. M. 2001. Entomopathogenic nematodes: potential for exploration and use in South America. **Neotropical Entomology**, **30**: 91-205.
- MAULEON, H.; BARRE, N.; PANOMA, S. 1993. Pathogenicity of 17 isolates of entomophagous nematodes (Steinemematidae and Heterorhabditidae) for the ticks *Amblyomma variegatum* (Fabricius), *Boophilus microplus* (Canestrini) and *Boophilus annulatus* (Say). **Experimental & Applied Acarology**, **17**: 831-833.
- MONTEIRO, C. M. O.; FURLONG, J.; PRATA, M. C. A.; SOARES, A. E.; BATISTA, E. S. P. & DOLINSKI, C. 2010. 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**, **24**: 355-8.
- REIS-MENINI, C. M. R.; PRATA, M. C. A.; FURLONG, J. & SILVA, E. R. 2008. Compatibility between the entomopatogenic nematode *Steinernema glaseri* (Rhabditida: Steinernematidae) and acaricide in the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, **103**:1391-1396.