

Artigo Científico

ISOLADOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DO
***Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE)**

Samir Oliveira Kassab

Biólogo, Doutorando em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, UFGD. Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Caixa Postal 533, Bairro Aeroporto, CEP: 79804-970, Dourados-MS, e-mail: samirkassab@gmail.com

Paulo Rogério Beltramin da Fonseca

Eng. Agrônomo, Doutorando em Agronomia (Produção Vegetal), Faculdade de Ciências Agrárias, UFGD. Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Caixa Postal 533, Bairro Aeroporto, CEP: 79804-970, Dourados-MS, e-mail: prbeltramin@hotmail.com

Camila Rossoni

Bióloga, Mestranda em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, UFGD. Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Caixa Postal 533, Bairro Aeroporto, CEP: 79804-970, Dourados-MS, e-mail: camilarossoni15@hotmail.com

Rogério Hidalgo Barbosa

Eng. Agrônomo, Curso de Pós-graduação em Gestão Ambiental, Anhanguera Educacional SA. Rua Manoel Santiago, 1155, Caixa Postal 112, Vila São Luís, CEP: 79826-210, Dourados-MS, e-mail: hidalgo.barbosa@gmail.com

Elisângela de Souza Loureiro

Professora-adjunta de Patologia de Insetos, Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, UFGD. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS, Caixa Postal 112, CEP: 79560-000, Chapadão do Sul-MS, e-mail: elisangela.loureiro@ufms.br

RESUMO - O objetivo da pesquisa foi avaliar o potencial dos isolados de fungos entomopatogênicos no controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Foram utilizados no bioensaio um delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 5 repetições, com um total de 10 fêmeas ingurgitadas por repetição. Para a infecção, as teleóginas, foram banhadas nas suspensões correspondentes aos tratamentos durante 5 minutos. Os isolados IBCB 66 (*Beauveria bassiana*) e IBCB 425 (*Metarhizium anisopliae*), apresentaram eficiência entre 32,30% e 66,82% na concentração $1,0 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹, para a suspensão de $1,0 \times 10^9$ conídios.mL⁻¹ obteve-se 51,73% e 96,76%, respectivamente. Já os isolados UFGD 03 (*Beauveria bassiana*) e UFGD 10 (*Metarhizium anisopliae*) revelaram-se pouco virulentos com porcentagens de 33,45% e 37,95% na suspensão $1,0 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹, 40,20% e 48,63% com $1,0 \times 10^9$ conídios.mL⁻¹. O isolado IBCB 425 teve a maior eficiência no controle do carrapato bovino, quando comparado ao IBCB 66, UFGD 03 e UFGD 10. Contudo maiores informações sobre as doenças que afetam os carrapatos e a susceptibilidade aos entomopatógenos, são necessárias para a formação de uma base para a utilização eficaz do controle biológico.

Palavras-chave: bovinos, carrapato, entomopatógenos

ISOLATES OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI IN THE CONTROL OF
***Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE)**

ABSTRACT - The purpose of the study was to evaluate the potential of entomopathogenic fungi isolated from the control of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Bioassay were used in a completely randomized design with four treatments and five repetitions, with a total of 10 engorged females per replicate. For infection, the ticks were soaked in suspensions corresponding to treatments for 5 minutes. Isolates IBCB 66 (*Beauveria bassiana*) and IBCB 425 (*Metarhizium anisopliae*), showed efficiencies between 32,30% and 66,82% at a concentration $1,0 \times 10^7$ conidia.mL⁻¹ for the suspension of $1,0 \times 10^9$ conidia.mL⁻¹ was obtained 51,73% and 96,76% respectively. It isolates UFGD 03 (*Beauveria bassiana*) and UFGD 10 (*Metarhizium anisopliae*) proved to be virulent to some percentage of 33,45% and 37,95% suspension in $1,0 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹, 40,20% and 48,63% with $1,0 \times 10^9$ conídios.mL⁻¹. The isolated IBCB 425 had the highest efficiency in the

cattle tick, compared to IBCB 66, UFGD 03 and UFGD 10. However further information on diseases that affect susceptibility to entomopathogenic ticks and are required to form a basis for the effective use of biological control.

Keywords: cattle, tick, entomopathogenic

INTRODUÇÃO

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) vem provocando significativos prejuízos na bovinocultura, em áreas tropicais e subtropicais, causando um impacto econômico de dezenas de bilhões de dólares por ano, em todo o mundo (GASPARIN et al., 2007). No Brasil, as condições climáticas são favoráveis ao desenvolvimento do ectoparasita permitindo que populações de carrapatos se estabelecessem em praticamente todo o território nacional.

Os prejuízos são ocasionados principalmente pelo hematofagismo do parasita, que pode comprometer a produção de carne e leite, pela inoculação de toxinas nos hospedeiros, pelos custos diretos para seu controle e pela transmissão de agentes infecciosos (GHOSH et al., 2006; PIVOTO et al., 2010).

No controle do *R. (B.) microplus*, compostos químicos são comumente utilizados. No entanto, a resistência de populações de carrapato a alguns princípios ativos dos acaricidas reduziu a eficiência no combate a praga. No controle alternativo do carrapato bovino, destaca-se o emprego do controle microbiano que na área agrícola, já vem sendo utilizado há muito tempo, individualmente ou em programas de manejo integrado de pragas (BARCI et al., 2009). Estirpes de fungos mostraram que a variabilidade genética dos isolados, principalmente quanto a parâmetros moleculares e de patogenicidade, determinam diferenças no grau de virulência do patógeno, interferindo, dessa maneira, nos percentuais de eficiência do controle de insetos e ácaros (FERNANDES et al., 2006).

O uso de suspensões fúngicas de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Ascomycetes: Clavicipitaceae) em ovos e em larvas de *R. (B.) microplus*, diminuiu o percentual de eclosão e sobrevivência de larvas conforme se aumentava a concentração dos conídios (MONTEIRO et al., 1998). Outros trabalhos demonstraram, por meio de microscopia eletrônica de varredura, a adesão, germinação e formação do apressório, confirmando a hipótese de que *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) penetra no carrapato pela cutícula (GARCIA et al., 2004). E primordial que se desenvolvam pesquisas direcionadas a avaliação do potencial dos fungos entomopatogênicos para que se conheça a eficiência de diferentes isolados e se possa eleger

o mais adequado para sua utilização em programas de controle biológico de carrapatos (BARCI et al., 2009).

Este trabalho objetivou avaliar a patogenicidade dos isolados de *B. bassiana* (IBCB 66 e UFGD 10) e *M. anisopliae* (UFGD 03 e IBCB 425) nas concentrações de 1×10^7 e 1×10^9 conídios.mL⁻¹, sobres fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* in vitro.

MATERIAL E MÉTODOS

Os testes foram desenvolvidos no laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), durante os meses de março, abril, maio e junho do ano de 2011. As suspensões de conídios, utilizadas no experimento, foram obtidas a partir de colônias jovens dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Para a montagem do experimento, foi preparado 10 ml de uma suspensão em solução de Tween 80[®] a 0,1% nas concentrações de 1×10^7 e 1×10^9 conídios.mL⁻¹. O ensaio experimental foi composto por um delineamento inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 5 repetições, com 10 fêmeas padronizadas por tamanho em cada repetição. Para a infecção do patógeno, as teleóginas foram banhadas nas suspensões correspondentes durante 5 minutos.

As fêmeas de *R. (B.) microplus*, foram acondicionadas em placas de Petri e transferidas para BOD à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $70 \pm 10\%$ de umidade relativa (U.R) e fotoperíodo de 12 horas durante 16 dias. As massas de ovos das fêmeas do *R. (B.) microplus* foram pesadas em balança analítica, transferidas para seringas plásticas de 10 mL e mantidas em BOD por 24 dias para possibilitar a eclosão das larvas. Após a eclosão dos ovos viáveis às seringas foram condicionadas em freezer a uma temperatura média de -4°C por 48 horas para matar as larvas do ectoparasita.

A contagem dos ovos eclodidos e não eclodidos foi realizada, em placa de Petri, contendo álcool 70%. Os grupos de 100 ovos foram quantificados, obtendo-se a porcentagem de eclosão com o auxílio do microscópio estereoscópico. As porcentagens de eficiência foram calculadas seguindo as fórmulas de contagem reprodutiva (ER) e eficiência do produto (EP) de acordo com Drumond et al. (1973) e Abbott (1925), respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados amostrados (Tabela 1), houve uma menor eficiência reprodutiva das fêmeas, com o aumento das concentrações dos entomopatógenos,

ocorrendo diferenças significativas entre as concentrações utilizadas nos bioensaios quando comparadas com a testemunha. Pode-se constatar que a infecção com as diferentes concentrações foi capaz de alterar o ciclo reprodutivo das fêmeas de *R. (B.) microplus*.

Tabela 1. Média do peso das fêmeas, média do peso dos ovos, porcentagem de eclosão, média da eficiência reprodutiva (ER) do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* banhados com diferentes fungos entomopatogênicos e média da eficiência do produto (EP), em laboratório. Dourados, MS. 2011.

Tratamentos	Concentração (conídios.mL ⁻¹)	Massa de fêmeas (g)	Massa de ovos (g)	Eclosão (%)	Eficiência reprodutiva	Eficiência do produto (%)
IBCB 66*	1,0 x 10 ⁷	1,10412 a	0,80902 b	33,60 b	487.974,6759 b	32,30
	1,0 x 10 ⁹	1,10476 a	0,77142 b	25,00 a	347.897,0917 b	51,73
UFGD 10*	1,0 x 10 ⁷	1,10836 a	0,67940 b	36,00 b	447.289,9868 b	37,95
	1,0 x 10 ⁹	1,15900 b	0,62838 b	33,00 b	370.294,7589 b	48,63
IBCB 425**	1,0 x 10 ⁷	1,13834 b	0,12988 a	29,20 b	70.099,8395 a	66,82
	1,0 x 10 ⁹	1,13656 b	0,06128 a	21,40 a	23.321,4590 a	96,76
UFGD 03**	1,0 x 10 ⁷	1,13274 b	0,72508 b	35,00 b	479.682,7691 b	33,45
	1,0 x 10 ⁹	1,14478 b	0,76210 b	32,00 b	431.064,1015 b	40,20
Testemunha	-	1,13572*** b	0,59661 b	68,56 c	720.813,2707 c	-

* Fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*

** Fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*

*** Dados originais.

Nos tratamentos com os isolados IBCB 66 e UFGD 10 ocorreram diferenças significativas nas taxas de eficiência dos patógenos testados, em relação às concentrações utilizadas. O isolado de Mato Grosso do Sul (UFGD 10), obteve melhor desempenho que o isolado do Instituto Biológico (IBCB 66) na concentração 1 x 10⁷, diminuindo a massa de ovos por fêmeas. O isolado IBCB 66, na concentração de 1 x 10⁹, apresentou comportamento similar ao observado por Barci et al. (2009); Campos et al. (2010), ao selecionar isolados *B. bassiana* para o controle do *R. (B.) microplus*, concluiu que o fungo é patogênico para as fases larvais do carrapato bovino. O isolado IBCB 66 influenciou a taxa de eclosão das larvas e apenas 25% dos ovos eclodiram (Tabela 1). O fungo entomopatogênico IBCB 425 com a concentração de 1 x 10⁹, obteve a maior eficiência com (96,76%).

Pesquisas conduzidas por (KAAYA; HASSAN, 2000; GARCIA et al., 2005) evidenciaram, que suspensões de *M. anisopliae* em altas concentrações, proporcionou reduções significativas na taxa de eclosão dos ovos de fêmeas ingurgitadas de carrapato, se comparado a testemunha. Essas observações vão ao encontro dos relatos da literatura nacional e internacional, onde se observa excelentes

resultados em experimentos conduzidos em condições de laboratório (FERNANDES; BITTENCOURT, 2008).

Outros trabalhos demonstraram que o fungo *M. anisopliae* apresentou atividade patogênica a espécie *R. (B.) microplus* em condições de campo, sendo sugerida a utilização deste entomopatógeno em *Brachiaria decumbens* Stapf (Poaceae: Gramineae), contribuindo com o controle do ectoparasita em ambientes com ocorrência natural do acáro (GARCIA et al., 2011). Ressalta-se ainda que os países de clima quente e úmido são propícios ao desenvolvimento não apenas de fungos, como também de outros entomopatógenos, sugerindo um aumento do potencial dos fungos entomopatogênicos no controle desta praga. Nos tratamentos com a espécie *M. anisopliae* observa-se que os isolados podem ser utilizados para o controle do carrapato, sendo o entomopatógeno IBCB 425 o mais indicado para contribuir com o Manejo integrado do *R. (B.) microplus*.

CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que os isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* demonstraram ser

Artigo Científico

patogênicos as fêmeas do *R. (B.) microplus*, assim os fungos entomopatogênicos são promissores agentes de controle do carrapato bovino.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.18, p.265-267, 1925.

BARCI, L.A.G.; ALMEIDA, J.E.M.; NOGUEIRA, A.H.C.; ZAPPELINI, L.O.; PRADO, A.P.; Selection of isolates of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Ascomycetes: Clavicipitaceae) for control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.18, n. 1, p.7-13, 2009.

CAMPOS, R.A.; BOLDO, J.T.; PIMENTEL, I.C.; DALFOVO, V.; ARAÚJO, W.L.; AZEVEDO, J.L.; VAINSTEIN, M.H.; BARROS, N.M. Endophytic and entomopathogenic strains of *Beauveria* sp to control the bovine tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Genetics and Molecular Research**, v.9, n.3, p.1421-1430 2010.

DRUMOND, R.O. ERNST, S.E.; TREVINO, J.L.; GLADNEY, W.J.; GRAHAN, O.H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory Tests of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.66, n.1, p.130-133, 1973.

FERNANDES, E.K.K.; COSTA, G.L.; MORAES, A.M.L.; ZAHNER, V.; BITTENCOURT, V.R.E.P. Study on morphology, pathogenicity, and genetic variability of *Beauveria bassiana* isolates obtained from *Boophilus microplus* tick. **Parasitology Research**, v.98, n.4, p.324-332, 2006.

FERNANDES, E.K.K.; BITTENCOURT, V.R.E.P. Entomopathogenic fungi against South American tick species. **Experimental and Applied Acarology**, v.46, n.4, p.61-86, 2008.

GARCIA, M.V.; MONTEIRO, A.C.; SZABO, M.P.J. Colonização e lesão em fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* causadas pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.5, p.1513-1518, 2004.

GARCIA, M.V.; MONTEIRO, A.C.; SZABÓ, M.P.J.; Mechanism of infection and colonization of *Rhipicephalus sanguineus* eggs by *Metarhizium anisopliae* as revealed by

scanning electron microscopy and histopathology. **Brazilian Journal Microbiology**. v.36, n.3, p.368-372, 2005.

GARCIA, M. V.; MONTEIRO, A. C.; SZABÓ, M. P. J.; MOCHI, D. A.; SIMI, L. D.; CARVALHO, W. M.; TSURUTA, S. A.; BARBOSA, J. C. Effect of *Metarhizium anisopliae* fungus on off-host *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* from tick-infested pasture under cattle grazing in Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 01, n.03, p. 10-16, 2011.

GASPARIN, G.; MIYATA, M.; COUTINHO, L.L.; MARTINEZ, M.L.; TEODORO, R.L.; FURLONG, J.; MACHADO, M.A.; SILVA, M.V.; SONSTEGARD, T.S.; REGITANO, L.C. Mapping of quantitative trait loci controlling tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistance on bovine chromosomes 5, 7 and 14. **Animal Genetics**, v.37, n.02 p.1-7, 2007.

GHOSH, S.; AZHAIANAMBI, P.; DE LA FUENTE, J. Control of ticks of ruminants with special emphasis on livestock farming system in India - present and future possibilities for integrated control. **Experimental and Applied Acarology**, v.40, n.1, p.49-66, 2006.

KAAYA, G.P.; HASSAN, S; Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. **Experimental and Applied Acarology**, v.24, n.03, p.913-926, 2000.

MONTEIRO, S.G.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H. Pathogenicity under laboratory conditions of the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on larvae of the tick *Rhipicephalus sanguineus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.7, n.2, p.113-116, 1998.

PIVOTO, F.L.; BUZATTI, A.; KRAWCZAK, F.S.; CAMILLO, G.; SANGIONI, L.A.; ZANETTI, G.D.; MANFRON, M.P.; VOGEL, F.S.F. Ação acaricida *in vitro* de *Tropaeolum majus* sob teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Ciência Rural**. v.40, n.10, p.2141-2145, 2010.

Recebido em 16/05/2011

Aceito em 29/09/2011