

EFEITO DOS FUNGOS *Beauveria bassiana* (BALSAMO) E *Metarhizium anisopliae* SOROKIN, 1883 NA ECDISE NINFAL DE *Amblyomma cooperi* (NUTTAL; Warburton, 1908) (ACARI: IXODIDAE)*

ROSANA C. S. REIS¹; SAMUEL C. CHACÓN²; VÂNIA RITA E. P. BITTENCOURT³; JOÃO LUIZ H. FACCINI³

ABSTRACT:- REIS, R.C.S.; CHACÓN, S.C.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; FACCINI, J.L.H. [Effect of the fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) and *Metarhizium anisopliae* Sorokin, 1883, on nymphal ecdysis of *Amblyomma cooperi* (Nuttal; Warburton, 1908) (Acari: Ixodidae).] Efeito dos fungos *Beauveria bassiana* (Balsamo) e *Metarhizium anisopliae* Sorokin, 1883 na ecdise ninfal de *Amblyomma cooperi* (Nuttal; Warburton, 1908) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* v. 12, n. 2, p. 68-70, 2003. Depto de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: vaniabit@ufrj.br

The *in vitro* effects of the fungus *Beauveria bassiana* isolate 986 (Bb986) and *Metarhizium anisopliae* isolate 959 (Ma959) in a conidia suspension form were evaluated over the *Amblyomma cooperi* nymphal ecdysis. The bioassays were proceeded in the Microbiological Control Artropods Laboratory in UFRRJ. Each bioassay was made in temperature and humidity controlled conditions (27°C and > 80% RH), with four different treatments in the concentrations 10⁵, 10⁶, 10⁷ e 10⁸ conidia/ml and a control group for each isolated. The biological parameters evaluated were pre-ecdysis and ecdysis periods, ecdysis and nymphal mortality percentages. Except the ecdyses period of the group treated with Ma959, all the other groups were affected by the fungus action. The most evident effect was observed in the nymphal mortality percentage, being 70% in the group treated with Ma959 in the concentration of 10⁸ conidia/ml and 65% in the group treated with Bb986 in the concentration of 10⁷ conidia /ml.

KEY WORDS: Tick, *Amblyomma cooperi*, biological control, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*.

RESUMO

Avaliou-se o efeito *in vitro* dos fungos *Beauveria bassiana* isolado 986 (Bb986) e *Metarhizium anisopliae* isolado 959 (Ma959) na forma de suspensão conidial, sobre a ecdise ninfal do carrapato *Amblyomma cooperi*. Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes da UFRRJ. Cada bioensaio foi realizado em condições controladas de temperatura e umidade (27°C e > 80%UR), com quatro diferentes tratamentos nas concentrações (10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸ conídios/ml), e um grupo controle para cada isolado. Os parâmetros biológicos avaliados foram os períodos de pré ecdise e ecdise, e os percentuais de ecdise e mortalidade de

ninfas não alimentadas. Excetuando-se o parâmetro período de ecdise do grupo tratado com Ma959, todos os outros foram afetados significativamente (P=0,05) pela ação dos fungos. O efeito mais acentuado foi observado no percentual de mortalidade ninfal, atingindo 70% no grupo tratado com Ma 959 na concentração de 10⁸ conídios/ml e 65% no grupo tratado com Bb986 na concentração de 10⁷ conídios/ml.

PALAVRAS-CHAVE: Carrapato, *Amblyomma cooperi*, controle biológico, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*.

INTRODUÇÃO

A espécie de carrapato *Amblyomma cooperi* (Nuttal; Warburton, 1908), encontra-se amplamente distribuída no Brasil e tem como hospedeiro principal as capivaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*), embora a literatura pertinente registre também o parasitismo em morcegos, antas e eventualmente o homem (ALMEIDA et. al., 2001; GUIMARÃES et al., 2001). O isolamento recente de uma riquetsia do grupo de Febre Maculosa de *A. cooperi* parasitando capivaras (LE-

*Sob os auspícios do CNPq.

¹Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/UFRRJ, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-000. Bolsista CAPES.

²Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/UFRRJ. Bolsista CNPq.

³Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária/UFRRJ. Bolsista Produtividade em Pesquisa CNPq 1C.

MOS et al., 1997), colocou esta espécie na lista de prováveis transmissores desta enfermidade para o homem. Embora a relação parasito-hospedeiro de *A. cooperi* não esteja esclarecida no Brasil, é indispensável ressaltar a importância das modificações no meio ambiente causadas pelo homem, obrigando as diferentes espécies de parasitas e seus hospedeiros a se adaptarem às novas condições, podendo, deste modo tornarem-se vetores de enfermidades para o homem e/ou seus animais de produção e companhia. Visando auxiliar o estabelecimento de estratégias racionais e eficazes de controle, pesquisas têm sido realizadas objetivando o emprego de patógenos como controladores biológicos de parasitas. Neste cenário, destacam-se os fungos entomopatogênicos, importantes inimigos naturais de artrópodes (CHANDLER et al., 2000). Segundo Alves (1998), estes bioagentes apresentam grande potencial de dispersão, podem parasitar vários hospedeiros e possuem a habilidade de colonização via cutícula. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* do fungo *Beauveria bassiana* isolado 986 e o fungo *Metarhizium anisopliae* isolado 959 na forma de suspensão conidial, sobre a ecdise ninfal de *A. cooperi*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Estação Experimental para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz (EPPWON) da UFRJ, situada no município de Seropédica, RJ. Fêmeas ingurgitadas de *A. cooperi*, alimentadas em capivaras e com peso médio de 894,5mg, foram mantidas em câmara climatizada regulada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa = 80% e escotofase, para oviposição e obtenção das larvas (BELLATO; DAEMON, 1997). Larvas com 20 a 30 dias de jejum foram alimentadas artificialmente em coelhos domésticos através da técnica do saco de pano utilizada por Neitz et al., (1971). Foram utilizadas 1600 larvas por coelho, num grupo de 24 coelhos. A fase parasitária de larvas foi acompanhada e foram coletados diariamente os exemplares ingurgitados naturalmente desprendidos. A partir das larvas recuperadas no quarto dia após a infestação, um grupo de 1000 larvas ingurgitadas foi dividido em grupos de 10 indivíduos, colocados em tubos de ensaio que foram tampados com algodão, totalizando 100 tubos que foram divididos em dez tratamentos com 10 tubos cada. Os tubos foram mantidos a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR = 80% e escotofase.

Os fungos entomopatogênicos foram produzidos a partir de meio de arroz acondicionado em sacos de polipropileno, do qual originaram-se as suspensões conidiais. Cada bioensaio foi constituído de quatro diferentes tratamentos com as suspensões de 10^8 , 10^7 , 10^6 e 10^5 conídios/ml e um grupo controle, sendo que para cada tratamento foram feitas dez repetições. Foram preparadas suspensões na concentração de aproximadamente $1,74 \times 10^8$ conídios/ml de *M. anisopliae* (Ma959) e $1,09 \times 10^8$ conídios/ml de *B. bassiana* (Bb986), onde a partir destas foram feitas diluições seriadas para obtenção das quatro concentrações de cada fungo. Cada tubo recebeu um mililitro da suspensão testada, sendo as larvas mantidas imersas duran-

te cinco minutos. Após esse período, o excesso da suspensão foi eliminado, através da inversão dos tubos de ensaio, sendo mantidos nas condições de temperatura e umidade descritas acima. A fase não parasitária de larva ingurgitada foi acompanhada após seu desprendimento dos hospedeiros e após a ecdise avaliou-se a longevidade ninfal durante 30 dias. Os testes estatísticos empregados foram a Análise de Variância (ANOVA), Teste de Tukey e o teste não paramétrico Kruskal-Wallis. Em todos os testes estatísticos empregados o nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados expressos na Tabela 1 são os primeiros a serem publicados envolvendo uma espécie de carrapato de animais silvestres na região neotropical. Houve aumento significativo no período de pré-ecdise em todos os grupos tratados com Ma 959 quando comparado com esse período no grupo controle. No entanto, as diferenças encontradas entre os períodos médios de pré-ecdise nos grupos tratados não foram estatisticamente significativas. Estes resultados sugerem que o efeito de Ma 959 sobre este parâmetro já se faz presente mesmo na concentração mais baixa. Com relação

Tabela 1. Parâmetros biológicos referentes à fase não parasitária de larvas ingurgitadas de *Amblyomma cooperi*, alimentadas artificialmente em coelhos domésticos e tratadas com quatro concentrações conidiais dos fungos *Beauveria bassiana* (isolado Bb986) e *Metarhizium anisopliae* (isolado Ma959).

Parâmetros	Conídios/ml*	Ma959	Bb986
Período de Pré-ecdise (dias)	Controle	$15,5 \pm 1,06^a$	$15,7 \pm 1,06^a$
	10^5	$19,7 \pm 1,41^b$	$20,2 \pm 1,03^{bcd}$
	10^6	$20,6 \pm 2,37^b$	$19,1 \pm 0,88^{bd}$
	10^7	$19,75 \pm 1,67^b$	$19,3 \pm 0,95^{bd}$
	10^8	$18,9 \pm 1,37^b$	$11,6 \pm 8,2^b$
Período de Ecdise (dias)	Controle	$5,4 \pm 1,35^a$	$5,4 \pm 1,35^a$
	10^5	$6,2 \pm 1,72^a$	$2,25 \pm 1,58^{ab}$
	10^6	$4,8 \pm 2,78^a$	$5,3 \pm 0,82^{acd}$
	10^7	$5,0 \pm 2,07^a$	$3,5 \pm 2,17^{abd}$
	10^8	$4,7 \pm 2,11^a$	$4,5 \pm 1,51^{acd}$
Percentual de Ecdise (%)	Controle	$72 \pm 18,74^a$	$72 \pm 18,74^a$
	10^5	$33,33 \pm 14,14^b$	$12,5 \pm 4,63^b$
	10^6	$34 \pm 11,74^b$	$24 \pm 8,43^b$
	10^7	$36,25 \pm 14,08^b$	$20 \pm 10,54^b$
	10^8	$30 \pm 14,14^b$	$34 \pm 12,65^b$
Mortalidade de ninfas não alimentadas (%)	Controle	$1,39 \pm 0,07^a$	$1,39 \pm 0,07^a$
	10^5	$46,66 \pm 18,06^b$	$50 \pm 15,34^b$
	10^6	$58,82 \pm 21,03^b$	$58,33 \pm 20,34^b$
	10^7	$51,72 \pm 17,06^b$	$65 \pm 23,56^b$
	10^8	$70 \pm 34,52^b$	$61,76 \pm 19,58^b$

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 0,05 pelo teste de Tukey.

aos tratamentos com Bb986, esta tendência não foi observada, apesar de haver diferença significativa entre o grupo controle e os tratados, pois no tratamento com a concentração de 10^8 conídios/ml o período de pré-ecdise não aumentou em relação ao grupo controle.

O período médio de ecdise dos grupos tratados variou de $5,3 \pm 0,82$ a $2,25 \pm 1,58$ (isolado Bb 986) e $6,2 \pm 1,72$ a $4,7 \pm 2,11$ (isolado Ma 959), resultados estatisticamente semelhantes ao do grupo controle o qual apresentou a média de $5,4 \pm 1,35$ dias. Dos 50 tubos utilizados no experimento com o fungo *B. bassiana*, dois tubos procedentes da concentração de 10^5 apresentaram 100 % de mortalidade de larvas ingurgitadas, sem realizar ecdise. Os períodos aumentaram ou diminuíram em relação ao grupo controle, porém estas diferenças não foram estatisticamente significativas entre os grupos tratados e entre estes e o grupo controle. Com relação ao grupo tratado com o isolado Bb986, observa-se uma certa semelhança entre os períodos encontrados para este parâmetro e o período de pré-ecdise.

O percentual médio de ecdise foi sempre menor nos grupos tratados do que os controle. Resultados similares também foram descritos por Souza et al. (1999) que citam em seu trabalho que os percentuais médios de ecdise de larvas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* com diversas concentrações do fungo *B. bassiana* foram inferiores aos observados nos grupos controle, corroborando com os resultados apresentados.

O percentual médio de mortalidade ninfal após trinta dias de exposição aos isolados foi sempre muito maior do que o do grupo controle. O percentual médio de mortalidade mais elevado, observado no grupo tratado com Ma 959, ocorreu no grupo tratado com a maior concentração (10^8), enquanto que no grupo tratado com Bb 986, o percentual de mortalidade mais elevado ocorreu com o grupo tratado com 10^7 . Os dados da tabela 1 demonstram que este parâmetro foi o mais afetado pelos tratamentos fúngicos quando comparado com os demais. Dados semelhantes aos citados neste experimento foram relatados por Barbosa et al. (1997), onde os autores, avaliando a ação de *B. bassiana* sobre larvas alimentadas de *Rhipicephalus sanguineus*, observaram um percentual de mortalidade das larvas do grupo controle de 24%, e para os grupos tratados com as concentrações 10^4 , 10^6 , e 10^8 os percentuais de 67%, 94% e 100%, respectivamente.

Dos 50 tubos utilizados no experimento com o fungo *B. bassiana*, dois tubos procedentes da concentração de 10^5 apresentaram 100 % de mortalidade de larvas ingurgitadas, sem realizar ecdise.

Os resultados obtidos nos bioensaios com os isolados dos fungos *B. bassiana* 986 e *M. anisopliae* 959 sobre *A. cooperi*, comprovam o potencial entomopatogênico destes isolados fúngicos sobre esta espécie de carrapato em questão, com destaque para o percentual de mortalidade ninfal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A.T.S.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H. Life cycle of female ticks *Amblyomma cooperi* Nuttall & Warbuton, 1908 (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 53, n. 4, p. 316-320, 2001.
- ALVES, S. B. *Controle Microbiano de Artrópodes*. Piracicaba: Fealq, 1998, 1163p.
- BARBOSA, J.V.; DAEMON, E.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; FACCINI, J.L.H. Efeitos de dois isolados do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre a muda larval e a sobrevivência de ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 6, n. 1, p. 53-56, 1997.
- BELLATO, V.; DAEMON, E. Efeitos de três temperaturas sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 6, n. 1, p. 21-27, 1997.
- CHANDLER, D.; DAVIDSON, G.; PELL, J.K.; BALL, B.V.; SHAW, K. and SUNDERLAND, K.D. Fungal biocontrol of acari. *Biocontrol Science and Technology*, v. 10, n. 4, p. 357-384, 2000.
- GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. *Ectoparasitos de Importância Veterinária*. São Paulo: Plêidade Ltda M.E./FAPESP. 2001, 218p.
- LEMO, E.R.S.; MACHADO, R.D.; PIRES, F.D.A. Rickettsiae-infected Ticks in an Endemic Area of Spotted Fever in the State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92, n. 3, p. 477-481, 1997.
- NEITZ, W.O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H.S. Laboratory investigations on the life cycle paralysis tick *Ixodes rubidicundus* (Neumann, 1904). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 38, n. 3, p. 215-224, 1971.
- SOUZA, E.J.; REIS, R.C.S.; BITTENCOURT, V.R.E.P. Efeito do contato dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* na ecdise ninfal de *Amblyomma cajennense*. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 6, n. 2, p. 84-87, 1999.

Recebido em 15 de maio de 2003.

Aceito para publicação em 3 de setembro de 2003.