

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

MÉTODO PARA AVALIAÇÃO DE MORTALIDADE DE LARVAS DE
BOOPHILUS MICROPLUS (CANESTRINI, 1887) SUBMETIDAS
A TRATAMENTOS COM PRODUTOS CARRAPATICIDASL.A.G. Barci¹ & A.H.C. Nogueira²

¹Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04010-002, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: barci@biologico.sp.gov.br

RESUMO

O presente estudo descreve metodologia para avaliação de mortalidade de larvas *Boophilus microplus* submetidas a tratamentos com produtos carrapaticidas. A técnica apresentada permite a observação diária de indivíduos de um mesmo tratamento por, pelo menos, 20 dias, sem que haja alteração significativa nos percentuais de mortalidade do grupo controle. Pode ser utilizada em qualquer experimento conduzido com o objetivo de se observar a mortalidade total ou acumulada de larvas tratadas com produtos químicos, extratos vegetais ou agentes entomopatogênicos.

PALAVRAS-CHAVE: Metodologia, carrapato, eficácia, controle alternativo, fungos entomopatogênicos.

ABSTRACT

METHOD FOR EVALUATING THE MORTALITY OF *BOOPHILUS MICROPLUS* (CANESTRINI, 1887) LARVAE SUBMITTED TO TREATMENTS WITH ACARICIDES. The present study describes the methodology used for evaluating the mortality of *Boophilus microplus* larvae submitted to treatments with acaricide products. The technique presented allows for the daily observation of individuals of the same treatment, for at least 20 days, without any significant change in the mortality percentages of the control group. It can be used in any experiment made to observe the total or cumulative mortality of larvae treated with chemical products, plant extracts or entomopathogenic agents.

KEY WORDS: Methodology, ticks, effectiveness, alternative control, entomopathogenic fungi

O carrapato comum dos bovinos *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) apresenta grande importância à pecuária nacional em virtude das perdas econômicas que causa aos produtores (GRESI, 2002). O controle deste carrapato em nosso país é realizado principalmente na fase parasitária, através do emprego de diferentes grupos químicos. A má utilização dos carrapaticidas associada à questão da resistência, contaminação do homem e meio ambiente e resíduos nos produtos a serem comercializados, contribuem sobremaneira com o aumento dos problemas relacionados a estes ectoparasitas (FRANCO, 2000). Como consequência, o número de pesquisas realizadas em busca de métodos alternativos para o controle deste carrapato tem crescido em larga escala. As publicações mais numerosas neste campo relatam a utilização de isolados de fungos entomopatogênicos nas diferentes fases do *B. microplus* em condições de laboratório. Uma das maiores dificul-

dades em conduzir trabalhos nesse sentido é a constatação quanto à escassez de literaturas referentes a metodologias para experimentação.

A partir da necessidade de se conduzir bioensaios visando a seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *B. microplus*, onde a avaliação diária dos indivíduos de um mesmo tratamento é indispensável, elaborou-se a metodologia descrita abaixo, a qual pode ser utilizada em qualquer experimento conduzido com o objetivo de se observar a mortalidade total ou acumulada de larvas tratadas com produtos carrapaticidas.

A técnica, que constou de uma adaptação dos testes de SHAW (1966) e FOUK & MATHISSE (1964), consiste na execução dos seguintes procedimentos:

Posturas das teleóginas após serem retiradas das placas, são pesadas, separadas em alíquotas de 500 mg e colocadas em frascos de penicilina.

²Pólo Regional de Desenvolvimento do Agronegócios do Extremo Oeste, Unidade de Pesquisa de Desenvolvimento de Araçatuba, Araçatuba, SP, Brasil.

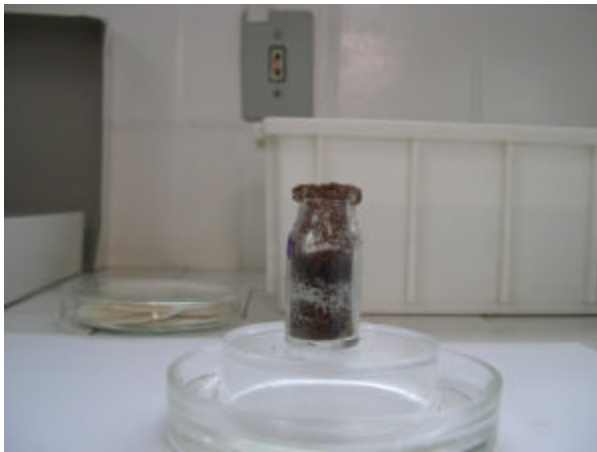


Fig. 1 - Larvas ativas agrupadas na borda do frasco de Penicilina.

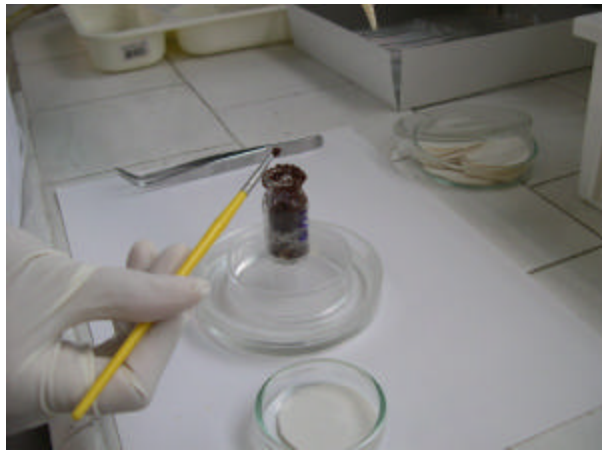


Fig. 2 - Remoção das larvas de *B. microplus* da borda do frasco de Penicilina.



Fig. 3 - Larvas de *B. microplus* sendo depositadas no papel de filtro.



Fig. 4 - Aspiração da suspensão de conídios de *B. microplus* a ser testada.



Fig. 5 - Suspensão do isolado de *B. bassiana* sendo depositada sobre larvas de *B. microplus*.



Fig. 6 - Larvas de *B. microplus* imersas em suspensão de conídios de *B. bassiana*.



Fig. 7 - Composição do "sanduíche" de larvas de *B. microplus*.

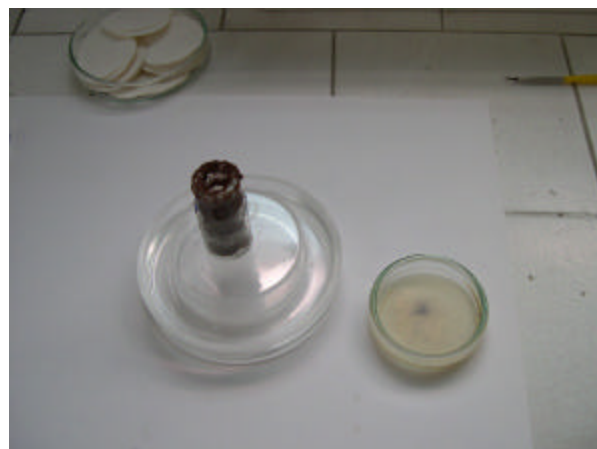


Fig. 8 - Sanduíche de larvas de *B. microplus* em contato com suspensão de conídios de *B. bassiana*.



Fig. 9 - Tempo de imersão utilizado.



Fig. 10 - Sanduíche de larvas de *B. microplus* após imersão, sobre papel de filtro seco.



Fig. 11 - Sanduíche de larvas aberto logo após o tratamento.



Fig. 12 - Larvas em movimento após o tratamento.



Fig. 13 - Pipetas de Pasteur utilizadas nos bioensaios.

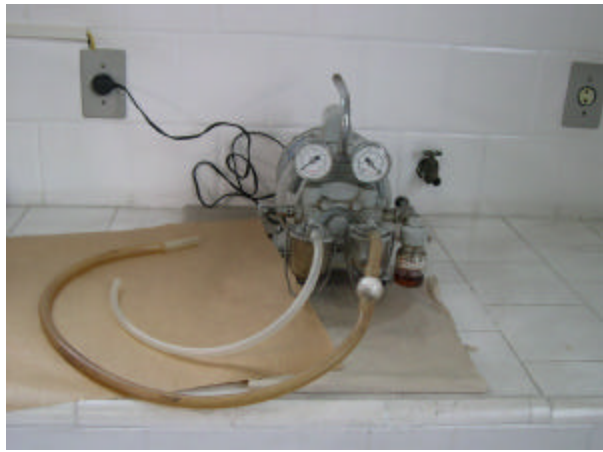


Fig. 14 - Bomba de vácuo utilizada para aspiração das larvas tratadas.



Fig. 15 - Aspiração de larvas tratadas de *B. microplus* para dentro da Pipeta de Pasteur.



Fig. 16 - Pipetas de Pasteur com larvas de *B. microplus* lacradas em bico de Bunsen.



Fig. 17 - Tratamento a ser avaliado.

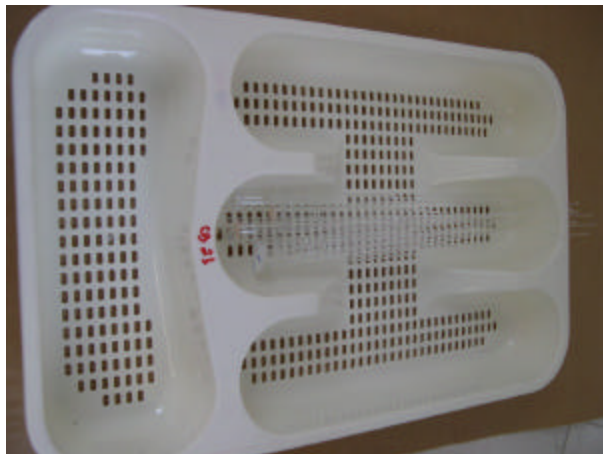


Fig. 18 - Bandejas utilizadas para acondicionar larvas tratadas em BOD.



Fig.19 - Larvas de *B. microplus* vivas e mortas observadas através da pipeta de Pasteur (Aumento 63X).

Os ovos e as larvas eclodidas são acondicionados em frascos de penicilina em câmara BOD a $27 \pm 0,5^\circ \text{C}$, umidade relativa superior a 80% e sem controle de luz. As larvas utilizadas nos bioensaios devem ter idade entre 15 e 18 dias.

Antes de iniciar o bioensaio, frascos de penicilina são abertos e as larvas ativas, potencialmente infestantes, sobem e ficam agrupadas na borda do vidro (Fig. 1). Com auxílio de um pincel de cerdas macias, as larvas são coletadas (Fig. 2), colocadas em placa de Petri contendo disco de papel de filtro (Fig. 3), imersas em 3 mL da suspensão a ser testada (Figs. 4, 5 e 6), cobertas novamente com disco de papel de filtro (Figs. 7 e 8).

Decorridos 10 min (Figs. 9), o "sanduíche" de papel de filtro é retirado da placa, colocado em papel de filtro seco (Fig. 10) e aberto para que o excesso de suspensão seja absorvido (Fig. 11). Em seguida, as larvas começam a se mover e, aquelas que se dispersam ativamente (Fig. 12) são aspiradas para dentro de uma pipeta, tipo Pasteur, fechada com tela de organza (malha de $50 \mu\text{m}$) na extremidade mais larga (Fig. 13). A aspiração é realizada com auxílio de bomba de vácuo utilizando-se pressão de 1 Lb/Po \ddot{f} (Figs. 14 e 15). Após a aspiração as pipetas são seladas na extremidade oposta à tela, com o auxílio de bico de Bunsen (Fig. 16). Para cada tratamento são feitas 10 pipetas (repetições) com 20 larvas totalizando 200 indivíduos por grupo teste

(Fig. 17). Após o bioensaio, as pipetas contendo larvas tratadas são acondicionadas em bandejas do tipo "porta-talher" com fundo perfurado (Fig. 18) e mantidas em câmara climatizada a $27 \pm 0,5^\circ \text{C}$ e 80% de UR.

A leitura dos tratamentos pode ser realizada macroscopicamente ou por meio de microscópio estereoscópico (menor aumento).

O estabelecimento de metodologia desenvolvida permite a observação diária de larvas de *B. microplus* através de pipetas de Pasteur, conforme registro nas Figuras 1 a 18.

No decorrer das observações é possível estabelecer um padrão de diferenciação para as larvas vivas e mortas. Visualmente, as larvas mortas apresentam-se encarquilhadas, opacas e aderidas à parede do vidro; as vivas, independentemente de estarem ou não em movimento, mostram-se brilhantes e não retorcidas (Fig. 19). Permite, também, o acompanhamento do processo de colonização de larvas tratadas pelos entomopatógenos.

As avaliações podem ser realizadas durante, pelo menos, 20 dias, sem que haja alteração significativa nos percentuais de mortalidade do grupo controle. A metodologia descrita pode ser utilizada em experimentações conduzidas com o objetivo de avaliar a eficácia de produtos químicos, extratos vegetais e agentes entomopatogênicos sobre larvas de outros carrapatos.

REFERÊNCIAS

- FRANCO, M. Vem aí a vacina contra o carrapato. São Paulo: DBO Rural, 2000. Ano 19, n.235, p.114-116.
- FOULK, J.D. & MATTHYSSE, J.G. A new toxicological test method for haematothogous mites. *Journal of Economic Entomology*, v.57, p.602-603, 1964.
- GRISI, L.; MASSARD, C.L.; MOYA, B.G.E.; PEREIRA, J.B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária*, v.21, p.8-10, 2002.
- SHAW, R.D. Culture of an organophosphorus resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. *Bulletin Of Entomological Research*, v.56, p.389-405, 1966.

Recebido em 31/12/05

Aceito em 13/3/06