

## EFICIÊNCIA *IN VITRO* DE UMA FORMULAÇÃO COMERCIAL DE *Beauveria bassiana* NO CONTROLE DE *Dermacentor nitens*\*

Wendell Marcelo de Souza Perinotto<sup>1</sup>, Isabele da Costa Angelo<sup>2</sup>, Patrícia Silva Gôlo<sup>1</sup>, Mariana Guedes Camargo<sup>1</sup>, Fillipe Araujo de Sá<sup>3</sup>, Caio Marcio de Oliveira Monteiro<sup>1</sup>, Caio Junior Balduino Coutinho Rodrigues<sup>4</sup>, Simone Quinelato<sup>2</sup>, Jessica Fiorotti de Paulo<sup>4</sup> e Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt<sup>5†</sup>

**ABSTRACT.** Perinotto W.M.S., Angelo I.C., Gôlo P.S., Camargo M.G., de Sá F.A., Monteiro C.M.O., Coutinho-Rodrigues C.J.B., Quinelato S., de Paulo J.F. & Bittencourt V.R.E.P. [**Efficiency *in vitro* of *Beauveria bassiana* commercial formulation in control of *Dermacentor nitens***]. Eficiência *in vitro* de uma formulação comercial de *Beauveria bassiana* no controle de *Dermacentor nitens*. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(Supl. 1):83-88, 2012. Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Estado do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: vaniabit@ufrj.br

The tropical horse tick, *Dermacentor nitens*, is an ectoparasite that causes great economical losses due to the hematophagism, transmission of pathogens and embargoes during the transportation and commercialization of horses. *Beauveria bassiana* is a worldwide distributed entomopathogenic fungus that has been demonstrating propitious results on *in vitro* tests against ticks. Mineral oil-based formulations protect conidia from adverse conditions increasing the fungus virulence on arthropods. The current study aimed to evaluate the effect of a commercial product (Boveril<sup>®</sup>) on *D. nitens* eggs, larvae and engorged females. Two oil concentrations were tested (0.5% or 10%) with different conidia concentrations ( $10^7$  conidia ml<sup>-1</sup> or  $10^8$  conidia ml<sup>-1</sup>). The biological parameters of ticks' engorged females were significantly reduced by the 10% oil formulation containing  $10^7$  or  $10^8$  conidia ml<sup>-1</sup>. The weight of eggs, egg production index and nutritional index were reduced in up to 49.9%, 74.5% and 69% respectively. The control percentage of ticks' females reached 66.8% when Boveril<sup>®</sup> was formulated with 10% mineral oil. Oil-based formulations also were efficient for *D. nitens* eggs and larvae. Accordingly Boveril<sup>®</sup> mineral oil-based formulations were efficient for different *D. nitens* stages. This is the first report of the commercial product Boveril<sup>®</sup> as a promising alternative to control *D. nitens* ticks.

**KEY WORDS.** Ticks, biological control, Boveril.

**RESUMO.** *Dermacentor nitens*, conhecido como carrapato da orelha dos cavalos, é um ectoparasita que causa grandes perdas econômicas devido aos danos diretos causados pelo seu parasitismo,

transmissão de patógenos e embargos durante a comercialização e transporte de equinos. *Beauveria bassiana* é um fungo entomopatogênico cosmopolita, que vem sendo utilizado no controle *in vitro*

\*Recebido em 12 de novembro de 2012.

Aceito para publicação em 27 de dezembro de 2012.

<sup>1</sup> Médico-veterinário, M.Sc. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mails: wendellperinotto@bol.com.br; patricia\_golo@yahoo.com.br; marianagcamargo@hotmail.com; caiosat@gmail.com

<sup>2</sup> Médica-veterinária, D.Sc. Departamento de Parasitologia Animal (DPA), IV, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. Email: isabeleangelo@yahoo.com.br; squinelato@gmail.com

<sup>3</sup> Médico-veterinário. CPGCV, IV, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: llipesa@hotmail.com

<sup>4</sup> Curso de Medicina Veterinária, IV, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: caio-jr@hotmail.com; allan\_sjc@yahoo.com.br

<sup>5</sup> Médica-veterinária, Ph.D. Departamento de Parasitologia Animal (DPA), IV, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil.

†Autor para correspondência. E-mail: vaniabit@ufrj.br - bolsista CNPq.

de carrapatos. O uso de formulações contendo óleo mineral protege os conídios dos fungos entomopatogênicos das condições adversas e potencializa sua virulência para artrópodes em geral. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação do produto comercial Boveril® WP sobre ovos, larvas e fêmeas ingurgitadas de *D. nitens*. Foram testadas duas concentrações de óleo (0,5 e 10%), contendo diferentes concentrações conidiais ( $10^7$  ou  $10^8$  conídios/ml). Os parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas foram significativamente reduzidos pelas formulações oleosas a 10% com  $10^7$  e  $10^8$  conídios/mL. O peso da postura, o índice de produção de ovos e o índice nutricional foram reduzidos em até 49,9%, 74,5% e 69%, respectivamente. O produto Boveril® formulado em 10% de óleo mineral promoveu o percentual de controle de fêmeas ingurgitadas de 66,8%. As formulações contendo óleo mineral também demonstraram eficácia para ovos e larvas de *D. nitens*. Boveril® formulado em óleo mineral apresentou eficácia no controle *in vitro* dos diferentes estágios de desenvolvimento de *D. nitens*. Este é o primeiro relato da eficácia do produto comercial Boveril® para o controle de *D. nitens*.

PALAVRAS-CHAVE. Carrapatos, controle biológico, Boveril.

## INTRODUÇÃO

*Demacentor nitens* (Neumann, 1897) popularmente conhecido como “carrapato da orelha dos cavalos” pode servir como vetor do agente etiológico promotor da *Babesiose equina*, patologia que determina queda do desempenho e pode levar o animal à morte (Borges et al. 2000). Além de promover espoliação sanguínea, lesões no pavilhão auricular e depreciação zootécnica, é responsável por grandes perdas econômicas e embargos durante a comercialização e transporte destes animais (Malheiro 1952, Borges & Leite 1998).

Os equinos são animais utilizados tanto para trabalho como para lazer, por isso a presença de ectoparasitas incomoda não só os animais como também os proprietários, que na maioria das vezes fazem uso indiscriminado de carrapaticidas químicos. Esses produtos possuem a vantagem do controle rápido dos carrapatos, porém o uso errôneo tem trazido diversos problemas como intoxicação de animais e seres humanos, poluição ambiental e, além disso, tem possibilitado a seleção de cepas resistentes a esses produtos. Visando um controle alternativo que possa ser integrado ao método químico, pesquisas

utilizando fungos entomopatogênicos têm demonstrado resultados promissores no controle de diversas espécies de carrapato, inclusive *D. nitens* (Fernandes & Bittencourt 2008).

Dentre os fungos que vem sendo estudados, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912, merece destaque, pois apresenta ação patogênica para diversas pragas, principalmente as agrícolas. Por isso, as pesquisas vêm buscando cada vez mais potencializar a ação destes entomopatógenos, tornando-os capazes de se manter viáveis em condições a campo, cuja influência dos fatores ambientais, principalmente a temperatura, umidade relativa do ar e radiação solar (Peng & Xia 2011), podem influenciar no sucesso do controle. Uma forma de manter os conídios viáveis consiste em acrescentar a eles substâncias que irão melhorar seu desempenho a campo, facilitando seu manuseio, aplicação e principalmente, permitindo o armazenamento sob condições nas quais se minimize os custos, com perda mínima da qualidade do produto (Alves 1998).

Atualmente estão disponíveis no mercado mundial mais de 100 produtos comerciais à base de conídios de fungos entomopatogênicos (Faria & Wraight 2007). No Brasil, alguns agricultores vêm utilizando um produto formulado a base de conídios de *B. bassiana* denominado Boveril® WP, que contém as associações de isolados de *B. bassiana* ESALQ-PL 63 e ESALQ-447, comercializado para o controle de pragas como a mosca branca (*Bemisia tabaci*), gorgulho do eucalipto (*Gonipterus platensis*) e ácaro da ferrugem dos citros (*Phyllocoptruta oleivora*), dentre outras. A empresa fabricante desse produto sugere que se associe 0,5% de óleo à suspensão conidial. Estudos têm demonstrado a importância do óleo na formulação de fungos entomopatogênicos, pois permite melhor adesão dos conídios na cutícula dos artrópodes, favorecendo o processo de infecção fúngica (Polar 2005, Angelo et al. 2010), além de que, alguns óleos podem apresentar toxicidade aos carrapatos, podendo dessa forma serem utilizados sinergicamente com fungos e favorecer o controle biológico (Abdel-Shafy & Soliman 2004). Nesta perspectiva, o presente estudo teve como objetivo testar a eficácia do produto comercial Boveril® WP (pó molhável) sobre ovos, larvas e fêmeas ingurgitadas de *D. nitens*, na forma aquosa e oleosa e em diferentes concentrações conidiais. Este é o primeiro relato da eficácia do produto comercial Boveril® formulados em óleo mineral para o controle do carrapato *D. nitens*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção de *Dermacentor nitens*

Para realização dos bioensaios, foram coletadas fêmeas ingurgitadas diretamente do conduto auditivo de equídeos naturalmente infestados e sem contato recente com carrapaticidas químicos, em uma propriedade rural situada no município de Seropédica - RJ, Brasil. Essas fêmeas foram levadas ao Laboratório de Controle Microbiano da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde foi realizada a assepsia da cutícula utilizando hipoclorito de sódio a 1%. Posteriormente, parte das fêmeas foi pesada e separada homogeneamente por peso para realização dos bioensaios. Outra parte foi acondicionada em placas de Petri (100 x 15 mm, Fisherbrand) e mantida em câmaras climatizadas, sob temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e umidade relativa  $\geq 80\%$ , para realizarem postura para obtenção de ovos e larvas.

### Obtenção e preparo da formulação fúngica

Para o preparo das suspensões de Boveril® WP (pó molhável) (MAPA nº 6605), foram seguidas as recomendações do fabricante, cuja indicação é de uma parte de fungo para oito de água (p:v), proporcionando uma suspensão aquosa com aproximadamente  $10^7$  conídios/mL (Bb  $10^7$  Aquoso); uma segunda suspensão foi preparada na concentração de  $10^8$  conídios/mL (Bb  $10^8$  Aquoso). Para testar a eficácia da formulação oleosa, foram utilizadas duas concentrações de óleo mineral (Vetec Química Fina Ltda., Brasil): 0,5% (concentração indicada pelo fabricante) ou 10% (concentração estabelecida pelos autores), bem como duas concentrações conidiais  $10^7$  ou  $10^8$  conídios/mL determinando os seguintes grupos: Bb  $10^7$  OL 0,5%, Bb  $10^7$  OL 10%, Bb  $10^8$  OL 0,5% e Bb  $10^8$  OL 10%. Os grupos controle foram: água destilada estéril e Tween 80 a 0,01% (CTR Aquoso) e água destilada estéril com Tween 80 a 0,01% acrescida de óleo mineral a 0,5 ou 10% (CTR OL 0,5% e CTR OL 10% respectivamente).

A quantificação das suspensões foi realizada com o auxílio de câmara de Neubauer e microscópio óptico segundo Alves (1998). Para avaliação da viabilidade dos conídios uma alíquota contendo  $10\mu\text{L}$  de cada concentração conidial foi incubada em placas de Petri contendo meio BDA (Difco, Detroit, MI, USA) a temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e umidade relativa  $\geq 80\%$ . O cálculo da germinação foi realizado segundo Alves (1998).

### Ensaio biológico com fêmeas ingurgitadas

Cada grupo foi formado por dez fêmeas ingurgitadas de peso homogêneo. A metodologia utilizada para o tratamento foi descrita por Camargo et al. (2012). A massa de ovos foi coletada e armazenada em pequenos frascos de vidro vedados com algodão hidrófilo, mantidos em câmara climatizada ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e U.R.  $\geq 80\%$ ). Posteriormente, o percentual de eclosão das larvas foi acompanhado diariamente.

Os parâmetros biológicos avaliados foram peso da massa de ovos (PP), percentual de eclosão das larvas (PEL), índices de produção de ovos (IPO) e nutricional (IN) (Bennett 1974). O percentual de controle de *D. nitens* exercido pelo fungo *B. bassiana* s.l. foi calculado de acordo com a fórmula de Drummond et al. (1971).

### Ensaio biológico com ovos

Alíquotas de 50 mg de ovos separados ao 10º dia de postura foram acondicionadas em tubos de ensaio vedados com algodão hidrófilo. A metodologia de tratamento de ovos foi a mesma utilizada para fêmeas ingurgitadas. O percentual de eclosão das larvas foi avaliado diariamente.

### Ensaio biológico com larvas

Alíquotas de 50 mg de ovos foram acondicionadas em tubos de ensaio e incubadas a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e U.R.  $\geq 80\%$  até a completa eclosão das larvas. Os tubos que não apresentaram eclosão superior a 95% foram descartados. A metodologia para o tratamento de larvas foi descrita por Camargo et al. (2012). O percentual de mortalidade das larvas foi observado a cada cinco dias após o tratamento.

### Reisolamento de *Beauveria bassiana*

Três dias após o término da oviposição, amostras de fêmeas de todos os grupos foram colocadas em câmara úmida e incubadas a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e U.R.  $\geq 80\%$  para facilitar o crescimento dos fungos e posterior confirmação de suas características (Samson & Evans 1982).

### Análise Estatística

Para análise dos dados paramétricos (PP, IPO e IN) foi realizada a análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey para comparação entre as médias, com nível de significância de 5%. Os dados não paramétricos (percentuais de eclosão e de mortalidade das larvas) foram submetidos à análise de Kruskal Wallis, seguida pelo teste Student-New-

Tabela 1. Média  $\pm$  desvio padrão do peso da postura (PP); percentual de eclosão das larvas (PEL), índice de produção de ovos (IPO) e índice nutricional (IN), além do percentual de controle (% Controle) de fêmeas ingurgitadas de *Dermacentor nitens* no após tratamento com diferentes formulações aquosas e oleosas ( $10^7$  e  $10^8$  conídios/mL acrescidas ou não de 0,5 e 10% de óleo mineral). Os experimentos foram conduzidos a  $27 \pm 1^\circ$  C e U.R.  $\geq 80\%$ . Média e desvio padrão de 10 repetições por bioensaio (\*).

Tratamento	PP (mg)	PEL (%)	IPO (%)	IN (%)	% Controle
CTR Aquoso	0,1376 $\pm$ 0,02a	93,60 $\pm$ 4,50 a	64,14 $\pm$ 3,74a	78,08 $\pm$ 4,97a	-
CTR OL 0,5%	0,1272 $\pm$ 0,04a	86,72 $\pm$ 10,99 a	58,56 $\pm$ 15,09a	68,24 $\pm$ 18,13a	-
CTR OL 10%	0,1104 $\pm$ 0,03ab	86,90 $\pm$ 17,04 a	54,05 $\pm$ 16,26ab	67,31 $\pm$ 14,02ab	-
Bb $10^7$ Aquoso	0,1210 $\pm$ 0,03ab	92,40 $\pm$ 9,14 a	56,90 $\pm$ 12,80ab	65,30 $\pm$ 15,03ab	12,6
Bb $10^7$ OL 0,5%	0,1097 $\pm$ 0,03ab	89,80 $\pm$ 8,54 a	52,30 $\pm$ 19,31ab	61,30 $\pm$ 24,73ab	22,1
Bb $10^7$ OL 10%	0,0595 $\pm$ 0,04b	71,70 $\pm$ 26,20 a	28,58 $\pm$ 25,20b	33,58 $\pm$ 28,91b	64,2
Bb $10^8$ Aquoso	0,1097 $\pm$ 0,04ab	96,70 $\pm$ 2,43 a	52,34 $\pm$ 21,49ab	60,29 $\pm$ 24,75ab	15,2
Bb $10^8$ OL 0,5%	0,1060 $\pm$ 0,03ab	77,30 $\pm$ 25,13 a	51,33 $\pm$ 16,74ab	59,70 $\pm$ 18,04ab	31,7
Bb $10^8$ OL 10%	0,0551 $\pm$ 0,06b	67,50 $\pm$ 42,13 a	25,50 $\pm$ 29,53b	31,0 $\pm$ 35,35b	66,8

(\*) Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ( $P \geq 0,05$ )

Tabela 2. Percentual de eclosão de larvas de *Dermacentor nitens* após o tratamento de ovos com diferentes formulações aquosas e oleosas ( $10^7$  e  $10^8$  conídios/mL acrescidas ou não de 0,5 e 10% de óleo mineral). Os experimentos foram conduzidos a  $27 \pm 1^\circ$  C e U.R.  $\geq 80\%$ . Média e desvio padrão de 10 repetições por ensaio biológico (\*).

Percentual de Eclosão	
CTR Aquoso	99,4 $\pm$ 0,52a
CTR ol 0,5%	98,7 $\pm$ 1,06ab
CTR ol 10%	93,1 $\pm$ 4,91b
Bb $10^7$ Aquoso	92,3 $\pm$ 12,30ab
Bb $10^7$ ol 0,5%	21,5 $\pm$ 17,02c
Bb $10^7$ ol 10%	20,0 $\pm$ 7,64c
Bb $10^8$ aquoso	90,3 $\pm$ 23,11ab
Bb $10^8$ ol 0,5%	21,0 $\pm$ 19,40c
Bb $10^8$ ol 10%	4,6 $\pm$ 4,66c

(\*) Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ( $P \geq 0,05$ ).

man-Keuls (SNK) para comparação entre as ordenações médias, com nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

Os conídios das suspensões aquosas e das formulações oleosas utilizadas nos bioensaios apresentaram germinação acima de 99% em até 24 horas de incubação a  $25 \pm 1^\circ$  C e umidade relativa  $\geq 80\%$ .

O peso da postura, o IPO e o IN de fêmeas ingurgitadas foram significativamente reduzidos pelas formulações de Boveril<sup>®</sup> contendo 10% de óleo mineral nas concentrações  $10^7$  e  $10^8$  conídios/mL. Essa redução foi de até 49,9% no peso da postura, 74,5% no IPO e 69% no IN (Tabela 1). As suspensões aquosas e oleosas de Boveril<sup>®</sup> contendo 0,5% de óleo mineral não causaram alteração significativa nestes parâmetros (Tabela 1). A formulação comercial Boveril<sup>®</sup> não causou redução significativa no percentual de eclosão das larvas oriundas dos tratamentos das fêmeas ingurgitadas, independente do tipo de formulação (aquosa ou oleosa), do percentual de óleo da formulação ou concentração conidial utilizada (Tabela 1).

O percentual de controle de fêmeas ingurgitadas promovido pelas suspensões aquosas de Boveril<sup>®</sup> foi de 12,6% e 15,2%, sendo proporcional 'a concentração de conídios presentes na suspensão (Tabela 1). Já as formulações oleosas promoveram um maior percentual de controle, variando entre 22,1% a 66,8% (Tabela 1).

As formulações contendo óleo mineral reduziram significativamente o percentual de eclosão das larvas, quando ovos de *D. nitens* foram submetidos ao tratamento. Essa redução variou de 78,5% a 95,4% e foi proporcional a concentração de óleo e conídios presentes em cada tratamento (Tabela 2). As suspensões aquosas de Boveril<sup>®</sup> não reduziram significativamente este parâmetro quando comparado com os grupos controles (Tabela 2).

No tratamento com larvas, a formulação comercial de Boveril<sup>®</sup> causou mortalidade significativa em todos os grupos testados (Tabela 3). No entanto, os maiores percentuais de mortalidade (aproximadamente 100%) foram obtidos com a formulação

Tabela 3. Percentual de mortalidade de larvas de *Dermacentor nitens* após o tratamento de larvas com diferentes formulações aquosas e oleosas ( $10^7$  e  $10^8$  conídios/mL acrescidas ou não de 0,5 e 10% de óleo mineral). Os experimentos foram conduzidos a  $27 \pm 1^\circ$  C e U.R.  $\geq 80\%$ . Média e desvio padrão de 10 repetições por ensaio biológico (\*).

Tratamentos	Percentual de Mortalidade		
	Dia 5	Dia 10	Dia 15
CTR Aquoso	1,0 $\pm$ 0,00a	1,1 $\pm$ 0,32a	1,2 $\pm$ 0,42a
CTR ol 0,5%	1,88 $\pm$ 1,76a	5,6 $\pm$ 2,63a	13,33 $\pm$ 7,07a
CTR ol 10%	4,8 $\pm$ 2,15ab	9,9 $\pm$ 3,98ab	23,0 $\pm$ 7,53ab
Bb $10^7$ Aquoso	69,16 $\pm$ 14,97c	71,66 $\pm$ 12,11c	80,0 $\pm$ 15,17c
Bb $10^7$ ol 0,5%	73,33 $\pm$ 9,68c	78,5 $\pm$ 11,07c	85,5 $\pm$ 12,12c
Bb $10^7$ ol 10%	99,0 $\pm$ 2,11d	99,0 $\pm$ 2,11d	99,0 $\pm$ 2,11d
Bb $10^8$ aquoso	68,5 $\pm$ 14,20c	76,0 $\pm$ 11,74c	84,62 $\pm$ 9,01c
Bb $10^8$ ol 0,5%	73,75 $\pm$ 4,43c	80,0 $\pm$ 5,00c	87,5 $\pm$ 3,78c
Bb $10^8$ ol 10%	99,88 $\pm$ 0,33d	99,88 $\pm$ 0,33d	99,88 $\pm$ 0,33d

(\*) Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ( $P \geq 0,05$ ).

contendo o maior percentual de óleo, independente da concentração conidial utilizada, no 5º dia após tratamento (Tabela 3).

## DISCUSSÃO

O uso de formulações de fungos entomopatogênicos para o controle de carrapatos tem sido estudado mundialmente (Leemon & Jonsson 2008, Ángel-Sahagún et al. 2010, Angelo et al. 2010, Jackson et al. 2010, Peng & Xia 2011, Camargo et al. 2012). No presente estudo, o produto comercial Boveril® apresentou maior virulência para *D. nitens* quando formulado em óleo mineral. O óleo apresenta propriedade quitinofílica, conferindo maior aderência dos conídios (que apresentam característica hidrofóbica) na cutícula dos artrópodes e conseqüentemente aumentando a infectividade e a virulência do entomopatógeno (Prior 1988). Angelo et al. (2010) também demonstraram que conídios de *Lecanicillium lecanii* formulados em 15% de óleo mineral apresentaram maior virulência para *R. microplus* quando comparado com a suspensão aquosa.

Camargo et al. (2012) ao avaliar o efeito de *B. bassiana* sobre os estágios de desenvolvimento de *R. microplus* e observaram 27% de eclosão de larvas quando os ovos foram submetidos ao tratamento com formulação oleosa a 10%, em quanto nossos resultados demonstram que Boveril® foi capaz de reduzir 2,2 vezes esta porcentagem.

Todas as formulações de Boveril® testadas causaram elevado percentual de mortalidade de larvas no quinto dia após o tratamento, chegando a quase 100% com a formulação contendo maior percentual de óleo mineral e maior concentração conidial. Camargo et al. (2012) observaram percentuais de mortalidade inferiores aos observados no presente estudo quando o mesmo período após o tratamento foi comparado. Provavelmente se deve ao fato dos isolados testados serem diferentes, já que existe variação genética e de virulência entre isolados da mesma espécie fúngica (Fernandes et al. 2006, Scrank & Vanstein 2010), além das espécies de carrapatos utilizadas em ambos os estudos serem diferentes.

As formulações de Boveril® interferiram significativamente em todos os estágios de desenvolvimento de *D. nitens*, no entanto os melhores resultados foram obtidos com as maiores concentrações conidiais. Resultados semelhantes foram observados por Castro et al. (1997), que relataram aumento da mortalidade de ninfas e adultos de *R. microplus*

com o aumento da concentração de conídios. Posteriormente, Reis et al. (2001) também observaram tal efeito para *A. cajennense* inoculados com *M. anisopliae* ou *B. bassiana*.

Poucos estudos demonstram a utilização de formulações para o controle de *D. nitens*. Souza et al. (2009) demonstraram que *B. bassiana* foi mais virulenta para larvas e ninfas de *D. nitens* quando associada a gel polimerizado de celulose, garantindo a atuação do bioacaricida em testes de campo. Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram a eficácia *in vitro* do produto comercial Boveril® formulado em óleo mineral para ovos, larvas e fêmeas ingurgitadas de *D. nitens*, sugerindo a utilização destas formulações no programa de controle a campo deste carrapato.

## CONCLUSÃO

A formulação comercial de Boveril® WP apresenta eficácia para o controle *in vitro* de *D. nitens*. No entanto, os melhores resultados foram obtidos quando o produto foi formulado em óleo mineral.

**Agradecimentos.** Esta pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ). Agradecemos também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por fornecer bolsas de estudo para M.Sc. e Doutorado. Agradecemos também a empresa Itaforte Industrial Bio-Produtos Agro-Florestais LTDA por fornecer o fungo utilizado neste estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Shafy S. & Soliman M.M.M. Toxicity of some essential oils on eggs, larvae and females of *Boophilus annulatus* (Acari: Ixodida: Amblyommidae) infesting cattle in Egypt. *Acarologia*, 44:23-30, 2004.
- Alves S.B. *Controle microbiano de insetos*. 2ª ed. FEALQ, Piracicaba, 1998. 1163p.
- Ángel-Sahagún C.A., Lezama-Gutiérrez B.R., Molina-Ochoa B.J., Pescador-Rubio C.A., Skodah S.R., Cruz-Vázquez D.C., Lorenzoni A.G., Galindo-Velasco F.E., Fragosos-Sánchez G.H. & Foster J.E. Virulence of Mexican isolates of entomopathogenic fungi (Hypocreales: Clavicipitaceae) upon *Rhipicephalus = Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) larvae and the efficacy of conidia formulations to reduce larval tick density under field conditions. *Vet. Parasitol.*, 170:278-286, 2010.
- Angelo I.C., Fernandes E.K.K., Bahiense T.C., Perinotto W.M.S., Moraes A.P.R., Terra A.L.M. & Bittencourt

- V.R.E.P. Efficiency of *Lecanicillium lecanii* to control the tick *Rhipicephalus microplus*. *Vet. Parasitol.*, 172:317-322, 2010.
- Bennett G.F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarida: Ixodidae) I. Influence of tick size on egg production. *Acarologia*, 16:52-61, 1974.
- Borges L.M.F. & Leite R.C. Fauna Ixodológica do pavilhão auricular de eqüinos em municípios de Minas Gerais e da Bahia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 50:87-89, 1998.
- Borges L.M.F., Oliveira P.R. & Ribeiro M.F.B. Seasonal dynamics of *Anocentor nitens* on horses in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 89:165-171, 2000.
- Camargo M.G., Golo P.S., Angelo I.C., Perinotto W.M.S., Sa F.A., Quinelato S. & Bittencourt V.R.E.P. Effect of oil-based formulations of entomopathogenic fungi to control *Rhipicephalus microplus* ticks. *Vet. Parasitol.*, 188:140-147, 2012.
- Castro A.B.A., Bittencourt V.R.E.P., Daemon E. & Viegas E.C. Eficácia in vivo do fungo *Metarhizium anisopliae* (isolado 959) sobre o carrapato *Boophilus microplus* em teste de estábulo. *Rev. Univ. Rur.: Cienc. Vida.*, 19:73-82, 1997.
- Faria M.R. & Wraight S.P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Control.*, 43:237-256, 2007.
- 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. *Parasitol. Res.*, 98:324-332, 2006.
- Fernandes E.K.K. & Bittencourt V.R.E.P. Entomopathogenic fungi against South American tick species. *Exp. Appl. Acarol.*, 46:71-93, 2008.
- Jackson M.A., Dunlap C.A. & Jaronski S.T. Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. *Bio. Control.*, 55:129-145, 2010.
- Leemon D.M. & Jonsson N.N. Laboratory studies on Australian isolates of *Metarhizium anisopliae* as a biopesticide for the cattle tick *Boophilus microplus*. *J. Invertebr. Pathol.*, 97:40-49, 2008.
- Malheiro D.M. Sobre a ocorrência de *Otocentor nitens* (Neumann, 1897) Cooley, 1938, Acari – Ixodoidea - Ixodidae, em cavalos dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso, Brasil. *Rev.Fac. Med. Vet. S. Paulo*, 4:533-535, 1952.
- Peng G. & Xia Y. The mechanism of the mycoinsecticide diluents on the efficacy of the oil formulation of insecticidal fungus. *Bio. Control.*, 56:893-902, 2011.
- Polar P., Kairo M.T.K., Moore D., Pegram R. & John S. Comparison of water, oils and emulsifiable adjuvant oils as formulating agents for *Metarhizium anisopliae* for use in control of *Boophilus microplus*. *Mycopathologia*, 160:151-157, 2005.
- Reis R.C.S., Melo D.R., Souza E.J. & Bittencourt V.R.E.P. Ação in vitro dos fungos *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill e *Metarhizium anisopliae* (Metsc) Sorok sobre ninfas e adultos de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 53:544-547, 2001.
- Schrank A. & Vainstein M.H. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon*, 56:1267-1274, 2010.
- Sampaio I.B.M. Estatística Aplicada à Experimentação Animal. 2ª ed. FEPMVZ, Belo Horizonte, 2002. 265p.
- Samson R.A. & Evans H.C. Two new *Beauveria* spp. from South America. *J. Invertebr. Pathol.*, 39:93-97, 1982.
- Souza E.J., Costa G.L., Bittencourt V.R.E.P. & Fagundes A.S. Ação do fungo *Beauveria bassiana* associado a gel polimerizado de celulose no controle do carrapato *Anocentor nitens* em teste de campo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 61:163-169, 2009.