

**TESTES *IN VITRO* COM CARRAPATOS *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* E *Amblyomma sculptum* UTILIZANDO O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Cordyceps fumosorosea* (IBCB 130)**

Yandra Corrêa Peres **Antonucci**<sup>1</sup>; Fernanda Calvo **Duarte**<sup>2</sup>; Leonardo Costa **Fiorini**<sup>3</sup>; José Eduardo Marcondes de **Almeida**<sup>4</sup>; Marcia Cristina **Mendes**<sup>5</sup>.

Nº 21837

**RESUMO** – Os carrapatos *Amblyomma sculptum* (carrapato-estrela) e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ocorrem em várias regiões neotropicais e subtropicais do mundo; ambos são vetores de diferentes agentes infecciosos gerando prejuízos socioeconômicos em áreas rurais e urbanas. O método mais utilizado para o controle do carrapato é o emprego de produtos químicos, geralmente sem orientações técnicas. Este fato pode causar danos aos animais, ao meio ambiente e ao ser humano. Tendo em conta tais desvantagens, novas estratégias estão sendo empregadas como o controle biológico. Neste projeto, foi avaliada a eficácia *in vitro* do fungo *Cordyceps fumosorosea* (IBCB 130) em larvas e adultos das duas espécies de carrapatos mencionadas. Os testes foram realizados com as seguintes diluições seriadas da suspensão fúngica de *C. fumosorosea* contendo  $2 \times 10^9$  conídios/mL:  $1 \times 10^9$ ;  $5 \times 10^8$ ;  $1 \times 10^8$ ;  $5 \times 10^7$ ;  $1 \times 10^7$  conídios/mL. Os resultados de eficácia para fêmeas adultas com *R. microplus* variaram entre 99,9% na maior concentração ( $2 \times 10^9$  conídios/mL) e 70,8% na menor concentração ( $1 \times 10^7$  conídios/mL). As concentrações letais 50% (CL<sub>50</sub>) e 90% (CL<sub>90</sub>) no teste com larvas de *R. microplus* foram respectivamente de  $1 \times 10^9$  e  $2 \times 10^9$  conídios/ml. A porcentagem de eficácia no 15º dia sobre *A. sculptum* na fase adulta (macho e fêmea) foi de 93,3% na concentração de  $2 \times 10^9$  conídios/mL e 73,3% nas concentrações de  $1 \times 10^9$  e  $5 \times 10^8$  conídios/ha. Em relação aos testes com larvas de *A. sculptum* as concentrações letais de 50% (CL<sub>50</sub>) e 90%(CL<sub>90</sub>) foram de  $1 \times 10^9$  e  $2 \times 10^9$  conídios/ml respectivamente. Este trabalho demonstra que *C. fumosorosea* pode ser mais um agente de controle biológico de ambas as espécies de carrapatos.

**Palavras-chaves:** Controle Biológico, fungo entomopatogênico, carrapatos, ectoparasitas, eficácia.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas – Universidade Anhembi Morumbi – São Paulo; yandraantonucci@gmail.com

2 Pesquisador do Laboratório de Parasitologia Animal do Instituto Biológico, São Paulo -SP.

3 Pesquisador do Laboratório de Parasitologia Animal do Instituto Biológico, São Paulo -SP.

4 Pesquisador do Laboratório de Parasitologia Animal do Instituto Biológico, Campinas -SP

5 Orientadora, Pesquisador do Laboratório de Parasitologia Animal do Instituto Biológico, São Paulo -SP; marcia.mendes@sp.gov.br

**ABSTRACT** – The lone star tick and the cattle tick (*Amblyomma sculptum* & *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, respectively) are common pests in numerous tropical and subtropical areas. Both transmit several infective agents and cause significant production losses, as well as public health concerns. The most widely used control measures rely on chemical substances, usually employed without technical guidelines, which in turn may bring unintended consequences upon people, the environment and the livestock itself. New biological control methods have been used as an alternative control strategy to circumvent these disadvantages. In this study, the efficacy of the fungus *Cordyceps fumosorosea* (IBCB 130) was evaluated as a biological control agent against these tick species. Tests were performed in vitro with different life cycle stages with the following serial dilutions of a fungus suspension containing  $2 \times 10^9$  conidia/mL:  $1 \times 10^9$ ;  $5 \times 10^8$ ;  $1 \times 10^8$ ;  $5 \times 10^7$ ;  $1 \times 10^7$  conidia/mL. Efficacy results for *R. microplus* adult engorged females ranged between 70,8 ( $1 \times 10^7$  conidia/mL) to 99,9% ( $2 \times 10^9$  conidia/mL). The fungus concentration enough to kill 50% (CL<sub>50</sub>) and 90% (CL<sub>90</sub>) of the larvae was,  $1 \times 10^9$  and  $2 \times 10^9$  conidia/mL, respectively. Efficacy percentage in the 15<sup>th</sup> test day over adult males and females of *A. sculptum* was 93,3% with the employment of the concentration of  $2 \times 10^9$  conidia/mL and 73,3% with the use of the concentration of  $1 \times 10^9$  and  $5 \times 10^8$  conidia/mL. The CL<sub>50</sub> and CL<sub>90</sub> over *A. sculptum* larvae were, respectively,  $1 \times 10^9$  and  $2 \times 10^9$  conidia/mL. These results confirm the *C. fumosorosea* activity in vitro as a biocontrol agent over both tick species.

**Keywords:** Biological Control, entomopathogenic fungus, ticks, ectoparasites, efficacy.

## 1. INTRODUÇÃO

Os carrapatos pertencem ao Filo Arthropoda, Subfilo Chelicerata, Classe Arachnida, Subclasse Acari. Existem aproximadamente 900 espécies de carrapatos descritas no mundo. A subordem Ixodida abrange três famílias: Argasidae e Ixodidae, amplamente distribuídas em todos os continentes (GUGLIELMONE et al., 2010; GUGLIELMONE e NAVA, 2014), e a família Nuttalliellidae, restrita à região tropical Africana. Eles parasitam vários animais, como répteis, anfíbios e mamíferos. No Brasil, existem cerca de 22 espécies conhecidas de argasídeos e 45 de ixodídeos, totalizando 67 espécies da subordem Ixodida. (BARROS et al., 2015; MORAES, 2015).

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, conhecido como carrapato-do-boi, é um ectoparasita, que requer um único hospedeiro para completar seu ciclo de vida (ROCHA,

1984), que pode ser dividido em duas fases: parasitária e estágio de vida livre. A fase parasitária envolve a fixação das larvas em um hospedeiro até o estágio adulto (macho e fêmea). A fêmea após a fecundação ingurgita-se de sangue e desprende-se do bovino dando início a fase de vida livre. A partir desse momento elas procuram um local adequado na pastagem e começam a postura dos ovos com posterior eclosão das larvas. (CAMPOS PEREIRA *et al.*, 2008).

O clima tropical do Brasil favorece a presença do *R. microplus*, causando enormes prejuízos a pecuária do país, como a diminuição na produção de leite e carne, além das perdas associadas à produção de couro e à propagação de patógenos como a *Babesia bovis* e *B. bigemina* e o *Anaplasma marginale* (MELO *et al.*, 2006; CORDOVÉS, 1997). A perda econômica total associada a *R. microplus* é de aproximadamente US \$ 3,24 bilhões de dólares por ano no Brasil (GRISI *et al.*, 2014).

O *Amblyomma sculptum*, chamado popularmente de carrapato-estrela, tem baixa especificidade parasitária, principalmente nas fases de larva e ninfa, podendo parasitar humanos e várias espécies de animais domésticos e silvestres, embora os equídeos e capivaras sejam os seus principais hospedeiros (MARTINS, 2014; LOPES *et al.*, 1998). Caracteriza-se pela mudança de ciclo de vida realizada apenas no solo, portanto, tem a necessidade de três hospedeiros para atingir a fase adulta. Os estágios de larva, ninfa e adulto acontecem em diferentes estações do ano, apresentando apenas uma geração por ano. Picos fixos para as populações de *A. sculptum* adulto são prevalentes na primavera e no verão, larvas ocorrem com maior frequência no outono e no inverno, e ninfas no inverno e na primavera de acordo com OLIVEIRA *et al.*, (2003).

Este ixodídeo é responsável pela propagação de patógenos aos animais, representando também riscos à saúde pública, destacando-se a transmissão do agente etiológico da febre maculosa (*Rickettsia rickettsii*), uma das principais zoonoses transmitida por carrapatos nas Américas (FONSECA, 1997).

Devido esse carrapato parasitar os animais de produção e também transmitir doenças ao homem, tem-se empregado o tratamento dos hospedeiros primários com carrapaticidas químicos para o seu controle. Segundo Bittencourt (1997), o controle químico dos carrapatos leva a um possível aparecimento de populações resistentes e impactando o meio ambiente. Sendo assim o uso exclusivo é pouco viável em termos práticos e econômicos, sendo indicado o emprego de métodos alternativos dentro de um sistema de controle integrado (BARROS; EVANS, 1989).

O controle do *R. microplus* é realizado tradicionalmente com o uso de substâncias químicas, frequentemente sem qualquer orientação técnica, levando à possibilidade do surgimento de cepas resistentes e presença de resíduos químicos indesejáveis nos produtos de origem animal (KOLLER *et al.*, 2019).

Essas desvantagens levam, portanto, à busca de métodos de controle alternativos

para auxiliar técnicas já utilizadas. Dentre elas, destaca-se a utilização de fungos, considerada uma alternativa promissora no controle de carrapatos (SAMISH *et al.*, 2004; BEYS-DA-SILVA *et al.*, 2012; FERNANDES *et al.*, 2012).

A aplicação de fungos nas pastagens apresenta benefícios como uma grande variabilidade genética como agente biológico, capacidade de agir em estágios diferentes da vida do hospedeiro, especificidade diante de organismos diferentes e por ser um inimigo natural, podendo reduzir o impacto ambiental. (ALVES, 1998; SAMISH *et al.*, 2004; ORLANDELLI; PAMPHILE, 2011).

Um dos primeiros estudos utilizando fungos entomopatogênicos no controle de carrapatos nos bovinos foi realizado por Bittencourt (2006) com o fungo *M. anisopliae*, que demonstrou a seu potencial atividade para o controle biológico desta praga. Anos depois, esses estudos foram corroborados por Camargo *et al.* (2016), que realizaram testes *in vitro* e *in vivo* com *M. anisopliae* e obtiveram eficácia no controle de *R. microplus* com a concentração de  $10^8$  conídios/ml.

Além de *M. anisopliae*, estudos comprovam que os fungos *Beauveria bassiana*, *Cordyceps fumosorosea*, *I. farinosa* e *Lecanicillium* spp. também possuem patogenicidade contra carrapatos. (FERNANDES *et al.* 2006, PIRALI-KHEIRABADI *et al.* 2007, FERNANDES E BITTENCOURT 2008, REN *et al.* ET AL. 2011). A primeira revisão monográfica sobre a biologia, ecologia e uso de *C. fumosorosea* como agente de biocontrole relata dados sobre sua identidade, ocorrência natural e distribuição geográfica. O *C. fumosorosea* foi listado em 27 países diferentes na América do Norte, América Central, América do Sul, Europa, África, Austrália e Ásia.

A temperatura, umidade relativa, incluindo água e radiação solar, são os fatores ambientais abióticos mais importantes que afetam a germinação, o crescimento vegetativo e a viabilidade de fungos entomopatogênicos. Porém, as radiações visíveis e próximas do infravermelho são menos prejudiciais que os raios ultravioletas. Ao estudar a suscetibilidade dos conídios de vários fungos entomopatogênicos à luz solar simulada, demonstrou-se que conídios de *C. fumosorosea* são altamente sensíveis à radiação solar e ainda mais vulneráveis em comparação com conídios de *M. flavoviride*, *M. anisopliae* e *B. bassiana*. (ZIMMERMANN; 2008).

O fungo entomopatogênico *C. fumosorosea*, é encontrado em quase todo o mundo, infectando naturalmente diversas espécies de insetos da ordem *Diptera*, *Hemiptera* e *Hymenoptera* (ZIMMERMANN, 2008). Diversos estudos têm demonstrado que *C. fumosorosea* é patógeno da mosca-branca (*Bemisia tabaci*). O processo de infecção do fungo *C. fumosorosea* começa quando as estruturas reprodutivas do fungo (conídios) entram em contato com a cutícula do inseto, durante este processo ocorre a formação do apressório e os conídios germinam, e por pressão e produção de compostos químicos

(enzimas) degradam a cutícula e penetram no interior do inseto. (SMITH, 1993; DUNLAP *et al.*, 2007; HOY *et al.*, 2010). Dentro do hospedeiro, ocorre a formação das hifas (blastosporos), que possuem um papel importante na degradação da hemolinfa do inseto. (BEYS- DA-SILVA, 2009).

Há pouca informação sobre a especificidade do fungo *C. fumosorosea*, porém pode-se observar alterações na especificidade e em outros parâmetros de três isolados deste fungo em testes contra o pulgão *Diuraphis noxia* e traça-das- crucíferas *Plutella xylostella* (VANDENBERG *et al.*, 2004). Descobriu-se também que cinco diferentes linhagens isoladas de *C. fumosorosea* foram letais às estirpes de *Ceratothripoides claratris* (mortalidade de 80 a 93%), moderadamente eficaz contra *B. tabaci* (mortalidade de 37 a 77%) e pouco eficaz para *Pseudococcus cryptus* (mortalidade de 10 a 43%) (PANYASIRI *et al.*, 2007). Estudos filogenéticos mostraram que os isolados testados e identificados como *C. fumosorosea* contêm complexos de espécies (ROJAS, 2015).

O objetivo deste trabalho foi verificar a eficácia *in vitro* do fungo *C. fumosorosea* (IBCB 130) nos carrapatos *R. microplus* e *A. sculptum*.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Amostras de Carrapatos**

As fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* de *A. sculptum* foram coletadas na Fazenda do Polo Regional da APTA de Pindamonhangaba diretamente dos bovinos. *A. sculptum* nos estágios adultos não ingurgitados e larvas foram capturados no Centro de Automação do Instituto de Engenharia de Jundiaí-SP - (IAC) através de armadilhas segundo a técnica de Gray adaptada (1985). As armadilhas são confeccionadas em tecidos sintéticos à base de polipropileno e viscose, conhecidos como “tnt”, com cortes quadrados com 0,81m<sup>2</sup>. No centro dos panos coloca-se 100g de gelo seco para que o CO<sub>2</sub> liberado durante a sublimação atraia os carrapatos. Após 40 minutos as armadilhas são recolhidas e acondicionadas em sacos plásticos lacrados e encaminhados ao laboratório onde são feitas as triagens para separação dos 3 estágios, ninfas, larvas e adultos.

### **2.2. Obtenção dos fungos**

O fungo *C. fumosorosea* (IBCB 130) foi cedido pelo Pesquisador José Eduardo M. Almeida, da Unidade Laboratorial de Referência em Controle Biológico, do Centro Avançado de Pesquisa em Proteção de Plantas e Saúde Animal do Instituto Biológico, no município de Campinas, estado de São Paulo. Os fungos são armazenados em refrigerador à temperatura de -20°C, por um período de no 6 meses

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Parasitologia Animal do Instituto

Biológico de São Paulo.

## 2.3. Bioensaios

### 2.3.1. Suspensões fúngicas e solução controle

Os testes são realizados com as suspensões fúngicas  $2 \times 10^9$ ;  $1 \times 10^9$ ;  $5 \times 10^8$ ;  $1 \times 10^8$ ;  $5 \times 10^7$ ;  $1 \times 10^7$  conídios/mL. Cada 1g do fungo *C. Fumoso rosea* contém  $9,6 \times 10^9$  conídios. As diferentes concentrações aplicadas são preparadas utilizando a suspensão fúngica e tween 80 em quantidade suficiente para torná-la solúvel em água, posteriormente adicionada em um volume de 10mL. Em um béquer com uma colher descartável é misturado o tween 80 à massa fúngica até a formação de uma espécie de pasta, à qual se adiciona água, posteriormente homogeneizada de forma exaustiva em agitador. Para a solução controle utiliza-se apenas 10mL de água e tween 80. Essas concentrações e solução controle são utilizadas tanto em teste com fêmeas ingurgitadas quanto em testes de larvas, e adultos não ingurgitados.

#### 2.3.1.1. Teste de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*

Para cada amostra foram separadas 3 fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, pesadas em balança de precisão e colocadas em placas de Petri descartáveis de 60x15mm devidamente identificadas, nelas foram colocadas 2 folhas de papel filtro em formato circular com o mesmo diametro da placa. Em seguida é aplicado 1ml de suspensão fúngica ou solução controle sobre toda a superfície do papel. As placas são fechadas e vedadas com parafilm e armazenadas em B.O.D. a 28°C, após 3 dias retira-se o papel filtro e o parafilm retornando-as a B.O.D. nas mesmas condições para que as fêmeas façam postura. Após 15 dias realiza-se a pesagem dos ovos em uma balança de precisão, estes em seguida são transferidos para tubos identificados e fechados com algodão umedecido. Após 15 dias avalia-se a porcentagem de eclosão das larvas por estimativa visual (0 a 100%). Foram realizadas 6 repetições para cada concentração e para a solução controle.

#### 2.3.1.2. Teste de imersão de larvas *R. microplus* e *A. sculptum*

Fêmeas ingurgitadas de *A. sculptum* são colocadas em placas de Petri por um período de 20 dias em temperatura ambiente até o término do período de postura. Os ovos são separados em frascos de vidro identificados e tampados com algodão umedecido, passados 35 dias as larvas estão na idade ideal para se realizar o teste (OLIVEIRA *et al.*, 2003). O mesmo processo é feito com fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, porém com períodos de postura de 15 dias e de incubação de 14 a 21. As larvas testadas são



provenientes de fêmeas e ovos que não foram expostos às suspensões fúngicas.

As larvas de ambas as espécies de carrapatos foram submetidas ao teste de Shaw (1966) adaptado no qual é colocado, em placas de Petri descartáveis, um papel filtro em formato circular preenchendo toda a superfície da placa, sobre este é adicionado aproximadamente 100 larvas com o auxílio de um pincel, e em seguida pipeta-se 1 mL de suspensão fúngica ou solução controle de forma homogênea sobre toda a superfície do papel. Sobre as larvas coloca-se outro papel do mesmo tamanho e formato e novamente aplica-se 1ml da mesma solução. Após 10 minutos, retiram-se da placa os papéis filtros contendo as larvas e retira-se o excesso de líquido. Em seguida, cada papel contendo as larvas, é inserido, com auxílio de uma pinça, em um tubo de ensaio identificado, este é fechado com algodão umedecido e acondicionamento em estufa B.O.D. à temperatura de 28°C e 80% U.R.A. Avalia-se a taxa de mortalidade das larvas e o desenvolvimento de infecções fúngicas em intervalos de 5, 10 e 15 dias utilizando uma lupa LEICA EZ4W. Foram realizadas 6 repetições para cada concentração e para a solução controle nos testes com larvas de *R. microplus*, e 2 repetições nos com larvas de *A. sculptum*.

#### **2.3.1.3. Teste de adultos *Amblyomma sculptum***

No teste com adultos de *A. sculptum* utiliza-se a mesma técnica de Shaw (1966) adaptada utilizada no teste com larvas, porém nas placas são colocados dois indivíduos. Foram realizadas apenas uma repetição para cada concentração e para solução controle.

#### **2.4. Avaliação da ação fúngica**

Tanto os testes com a espécie *A. sculptum* quanto com *R. microplus* foram avaliados em relação à ação fúngica. Para os testes com *A. sculptum* a mortalidade dos grupos tratados e dos grupos controle foram apresentadas em números absolutos. Para os testes com larvas de *R. microplus* foram estabelecidas as concentrações letais fúngicas de 50% (CL<sub>50</sub>) e 90%(CL<sub>90</sub>) utilizando o programa PoloPlus (LeOra Software, 2003). Com relação os testes com fêmeas ingurgitadas a avaliação da ação fúngica foi realizada através da comparação de inibição de postura e eficácia do tratamento segundo Drummond et al. (1973).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Angelo *et al.* (2016) descreve que o fungo *C. fumosorosea* reduz a porcentagem de incubação de larvas quando os ovos são tratados com as duas maiores concentrações de conídio de 10<sup>7</sup> e 10<sup>8</sup> mL, e que são capazes de reduzir significativamente a porcentagem de

eclosão. Melhores resultados foi verificado com as fêmeas ingurgitadas, pois a porcentagem de infecção fúngica foi maior em aproximadamente 10 dias.

Os dados obtidos neste experimento realizados com fêmeas ingurgitadas mostram que o fungo *C. fumosorosea* colonizou facilmente nas seis repetições de todas as concentrações. A eficácia do fungo foi acima de 90% para as 4 maiores concentrações ( $2 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^9$ ,  $5 \times 10^8$  e  $1 \times 10^8$  conídios/ml), e nas concentrações  $5 \times 10^7$  e  $1 \times 10^7$  conídios/mL, mesmo tendo sido abaixo de 90%, a eficácia foi de aproximadamente 70% o que também é um valor considerável.

Em 4 dias após aplicação do fungo, as fêmeas ingurgitadas testadas com a maior concentração tiveram a postura comprometida devido a proliferação do fungo na placa havendo ou não esporulação, comprovada através do método BDA (batata dextrose Ágar). As quatro concentrações com maior eficácia ou inibiram totalmente a postura ou a eclosão, demonstrando a eficiência do fungo na inibição do ciclo de vida de *R. microplus*. Em relação as larvas de *R. microplus* as concentrações letais fúngicas de 50% (CL<sub>50</sub>) e 90% (CL<sub>90</sub>) foram de  $1 \times 10^9$  e  $2 \times 10^9$  conídios / mL respectivamente.

No teste com *A. sculptum* adultos, a eficácia variou entre 50% a 100%, à exceção da obtida na concentração de  $5 \times 10^8$  conídios/mL, que não apresentou eficácia, porém, este resultado foi obtido em apenas uma repetição. Portanto, estes dados ainda podem ser confirmados ou refutados realizando repetições adicionais. Em relação ao teste de larvas de *A. sculptum* observou-se que as três maiores concentrações ( $2 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^9$  e  $5 \times 10^8$  conídios/mL) foram as mais eficazes, com um valor médio de 55,53%.

#### **4. CONCLUSÕES**

- ❖ O fungo *C. fumosorosea* mostrou-se eficaz para o controle das fêmeas ingurgitadas e das larvas de *R. microplus*.
- ❖ Com base nestes resultados, pode-se sugerir a aplicação deste fungo no pasto para controle biológico dos carrapatos.
- ❖ O fungo *C. fumosorosea* é um promissor agente no controle de larvas e adultos de *A. sculptum*.

#### **5. REFERÊNCIAS**

ALTRE, J., VANDENBERG, J.; CANTONE, F. **Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates to diamondback moth, *Plutella xylostella*: Correlation with spore size, germination speed, and attachment to cuticle.** *Journal of Invertebrate Pathology*.



San Diego, v. 73, p. 332-338. 1999.

ANGELO I.C; FERNANDES E.K; BAHIANSE T.C; PERINOTTO W.M.S; MORAES A.P.R; TERRA A.L.M; BITTENCOURT V.R.E.P; (2010) **Efficiency Of *Lecanicillium Lecanii* To Control The Tick *Rhipicephalus Microplus*. *Vet Parasito*** (2012) 172:317–322.

BITTENCOURT, E.P.V.R, MELO, R.D, REIS, C.S.R, **Patogenicidade in vitro *Metarhizium anisopliae*** (METSCHNIKOFF, 1879) SOROKIN, 1883, *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887). Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Seropédica – RJ.Ver. Bras. Parasitol. Vet. V.15, n4, p. 158-159,2006.

BEYS-DA-SILVA, W. O. **O complexo lipolítico de *Metarhizium anisopliae* e sua relação com o processo de infecção de hospedeiros artrópodes**. 2009. 165p. (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

CAMARGO, M. G.; NOGUEIRA, M.R.S.; MARCIANO, A.F.; PERINOTTO, W.M.S.; COUTINHO-RODRIGUES C.J.B.; SCOTT, F.B.; ANGELO, I.C.; PRATA, M.C.A.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; ***Metarhizium anisopliae* para controle de carrapatos *Rhipicephalus microplus* em condições de campo**. Veterinario. Parasitol. 223 (2016) , pp. 38 - 42 , 10.1016 / j.vetpar.2016.04.014 Artigobaixar PDFVer registro no ScopusGoogle Scholar

LeOra Software, 2003. Polo Plus Probit and Logit Analyses. In: Robertson, J.L., Preisler, H.K., Russel, R.M. (Eds.), User's Guide, Berkeley, 36 pp.

MONTEIRO.C. M. O. CONTROLE DE *Rhipicephalus microplus* (ACARI: IXODIDAE) COM NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS: APLICAÇÃO EM FORMULAÇÃO INSETO CADÁVER E COMPATIBILIDADE COM OUTROS AGENTES DE CONTROLE. Rio de Janeiro, 2014.

CAMPOS PEREIRA, M.; LABRUNA, M.B. ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus***. Chapter 3. In: CAMPOS PEREIRA, M.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J.; KLAFFKE, G. M. (Eds.). ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência***. Medicina Veterinária, São Paulo, 2008.169 p.

CORDOVÉS, C. O. **Carrapato: controle ou erradicação**. 2 ed. Guaíba: Agropecuária, p. 176, 1997

DEL FIOLE, F.S.; JUNQUEIRA, F.M.; ROCHA, M.C.P.; TOLEDO, M.I.; Filho, S.B.

Febre maculosa no Brasil. *Rev. Panam. Salud Publ*, v.27, p. 461–466, 2010. DUNLAP, C.; JACKSON, M.; WRIGHT, M. **A foam formulation of *Paecilomyces fumosoroseus*, an entomopathogenic biocontrol agent**. Biocontrol Science and Technology, Oxford, v. 17, n. 5/6, p. 513-523, 2007.

GRAY, J.S. A carbon dioxide trap for prolonged sampling of *Ixodes ricinus* L. populations. *Experimental and Applied Acarology*, v. 1, p. 35-44, 1985.

- FONSECA, A.H.; PEREIRA, M.J.S.; GÓES M.H.B.; SILVA J.X. **Distribuição espaço-temporal de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae)**, analisada por geoprocessamento, no município de Seropédica, estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2005;14(4):167.
- GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. D.; LEON, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. **Reassessment of the potencial economic impact of cattle parasites in Brazil.** *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, v. 23, p. 150-156, 2014.
- GUGLIELMONE, A. A., NAVA, S. **Names for Ixodidae (acari:Ixodoidea):valid,synonyms,incertae sedis,nomina dúbia,nomina nuda,lapsus,incorrect and suppressed names-with notes on confusions and misidentifications.***Zootaxa*,3767,1-256.2014.
- HOY, M.; RAGHUWINDER, S.; ROGERS, M. **Evaluations of a novel isolate of *Isaria fumosorosea* for control of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina Citri* (Hemiptera: Psyllidae).** *Florida Entomologist*, Gainesville, v. 93, n. 1, p. 24-32.2010.
- INGLIS, G.D.; GOETTEL, T.M.; STRASSER, B. **Use of hyphomycetous fungi for managing insect pest.** In: BUTT, T.M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. (Ed.). *Fungi as biocontrol agentes.* Wallingford: CAB International, 2001. p. 23-69.
- KOLLER, W. W.; MATIAS, J. **Carrapatos, protocolos e técnicas para estudo** EMBRAPA; 2016, Capítulo 1, p. 8.
- MARTINS, T. F. **Estudo do complexo *Amblyomma cajennense* no Brasil.** 2014. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- MONTEIRO, C. M.O. **Controle de *Rhipicephalus microplus* (acari: ixodidae) com nematoides entomopatogênicos: aplicação em formulação inseto cadáver e compatibilidade com outros agentes de controle,** UFRRJ Instituto de Veterinária curso de pós-graduação em ciências veterinárias; 2014, p.62.
- OLIVEIRA P.R.; BORGES, L.M.F.; LOPES, C.M.L.; LEITE, R.C. **Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1987) (Acari: Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil.** *Veterinary Parasitology*, v.92, n.4, p.295- 301, 2000.
- OLIVEIRA, P.R.; BORGES, L.M.F.; LEITE, R.C.; FREITAS, C.MV. **Seasonal Dynamics of the Cayenne tick. *Amblyomma cajennense* on Horses in Brazil.** *Medical and Veterinary Entomology*, v.17, n.4, p.412-416, 2003.
- ORLANDELLI, R. C.; PAMPHILE, J. A. **Fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* como agente de controle biológico de insetos pragas.** *SaBios: Rev. Saúde e Biol.*, v.6,

n.2, p.79-82, mai. /Ago. Maringá, 2011.

Pirali-Kheirabadi K, Haddadzadeh H, Razzaghi-Abyaneh M, Bokaie S, Zare R, Ghazavi M, Shams-Ghahfarokhi M (2007) **Biological control of *Rhipicephalus***

**(*Boophilus*) *annulatus* by different strains of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium psalliotae* fungi.** Parasitol Res 100:1297–1302 PANYASIRI.; T.

ATTATHOM.; H.- M. POEHLING. **Pathogenicity of entomopathogenic fungi-potential candidates to control insect pests on tomato under protected cultivation in Thailand, 2007.**

ROJAS, V., M., A., **Caracterização do fungo entomopatogênico *Isaria fumosorosea* quanto à produção de conídios, efeitos da radiação ultravioleta- B, temperatura alta e persistência em formulações do tipo dispersão oleosa.** Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

ROCHA, U. R. **Biologia e controle biológico do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini).** Boletim Técnico da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, n. 3, 1984. 1-32 p.

SHAW, R. D. **Culture of an organophosphorus resistant strain of *Boophilus microplus* (Canestrini) and assessment of its resistance spectrum.** Bulletin of Entomological Research, v.56, n. 3, p. 398-405, 1966.

SMITH, P. **Control of *Benisia tabaci* and the potential of *Paecilomyces fumosoreseus* as a biopesticide.** Biocontrol News and Information, Wallingford, v. 14, p. 71-78, 1993.

ZIMMERMANN, G. Effect of high temperatures and artificial sunlight on the viability of conidia of *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology.** New York, v.40, n. 1, p. 36-40, 1982

ZIMMERMANN, G. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosoresea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoreseus*): biology, ecology, and use in biological control. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 18, p.865-891, 2008.

ZIMMERMANN, G. et al. **Biocontrol Science and Technology: The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosoresea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoreseus*): biology, ecology and use in biological control.** **Biology, ecology and use in biological control, Biocontrol Science and Technology**, Germany, p. 39, 2008. DOI <http://dx.doi.org/10.1080/09583150802471812>. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/loi/cbst20>. Acesso em: 5 jun. 2020.