

## Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var *acridum* em Fêmeas Ingurgitadas de *Boophilus microplus*

### Patogenicity of *Metarhizium anisopliae* var *acridum* on Engorged Females of the *Boophilus microplus*

Ana Célia Rodrigues Athayde<sup>1</sup>,  
Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva<sup>2</sup>,  
Ubirany Lopes Ferreira<sup>3</sup>,  
Elza Áurea Luna-Alves Lima<sup>4</sup>

#### Resumo

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito *in vitro* do fungo *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* sobre fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, coletadas de bovinos naturalmente infestados do semi-árido paraibano. Foram realizados três bioensaios para avaliar a patogenicidade de *M. anisopliae* var. *acridum*, no controle de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*. Os bioensaios foram constituídos de cinco grupos com diferentes níveis de concentração ( $10^8$ ;  $10^7$ ;  $10^6$ ;  $10^5$  e  $10^4$ ) e um grupo controle, sendo cinco repetições por grupo. Após a infecção foram observados os seguintes parâmetros: período de postura; peso da massa de ovos; índice de produção de ovos; percentual de controle; índice de eficiência reprodutiva e o percentual de eclodibilidade. O período médio de postura e o peso médio da massa de ovos observado nos grupos tratados diminuíram à proporção que se aumentava a concentração utilizada em relação aos grupos controle. O índice médio de produção de ovos diminuiu nos grupos tratados e esta variação foi de 41,74 a 66,91%. A eficiência reprodutiva média nos grupos tratados diminuiu à medida que aumentava a concentração. O percentual médio de controle aumentou à proporção que se elevavam as concentrações, apresentando-se em 93,27%. Observou-se uma significativa diminuição no percentual médio de eclodibilidade das larvas de ovos de teleóginas tratadas. A utilização do *M. anisopliae* var. *acridum*, no controle de *B. microplus* poderá contribuir com a redução dos prejuízos a exploração pecuária.

**Palavra-chave:** Bovinos, Fungos entomopatogênicos, Controle biológico.

#### Abstract

The present work objectified to evaluate fungi *in vitro* effect of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* on engorged females of *Boophilus microplus*, collected from semi-arid paraibano naturally infested flocks bovine. Laboratory bioassay was accomplished to evaluate the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*, on *B. microplus* engorged females control. Three bioassays were accomplished each being constituted by five groups with different conidia concentration levels ( $10^8$ ;  $10^7$ ;  $10^6$ ;  $10^5$  and  $10^4$ ) and control group, being five replications per group. After infection was analyzed the following parameters: oviposition period; weigh of eggs mass; eggs production index, control percent; reproductive efficiency index and eclosion percent. Oviposition mean period and eggs weight mass mean observed in treated groups decreased as the conidia concentration increased, in comparison to control groups. The eggs production index mean decreased in the treated groups and this variation varied from 41,74 to 66,91%. The efficiency reproductive mean in treated groups decreased as the conidia concentration increased. The control percent mean increased as the

<sup>1</sup> Professor Adjunto, Doutora em Ciências Biológicas, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária – PPGZ/CSTR, UFCG, Campus de Patos-PB, Cx. 064, 58708 110, Avenida Universitária, Bairro Santa Cecília, Patos-PB; E-mail: [athayde@ctr.ufcg.edu.br](mailto:athayde@ctr.ufcg.edu.br).

<sup>2</sup> Bolsista PIBIC/UFCG/CNPQ

<sup>3</sup> Bióloga, Doutora, Professora do Curso Enfermagem, Faculdades Integradas de Patos (FIP), Patos, PB.

<sup>4</sup> Professor Adjunto, Departamento de Micologia - CCB, UFPE, 50460-420, Recife, Pernambuco

conidia concentration increased, with mean value of 93,27%. A significant decrease was observed in larval eclosion mean percent in oviposited eggs by treated engorged females. The use of *M. anisopliae* var. *acridum*, in the control of *B. microplus* can contribute with the reduction of the damages in production cattle.

**Key word:** Bovine, Entomopathogenic fungus, Biological control

## Introdução

Os carrapatos são os mais importantes ectoparasitos dos animais domésticos, em regiões tropicais e subtropicais do mundo e são responsáveis pela transmissão de patógenos e toxinas aos animais, agindo como vetores potenciais. Apesar do progresso alcançado pelos programas de controle de artrópodes, através de agentes químicos, estes ainda representam na atualidade um risco constante e grave para homens e animais, sendo fundamental o conhecimento da inter-relação “artrópode - agente patogênico - hospedeiro” dentro do ambiente total para se pensar em controle efetivamente viável (NARI, 1995).

Existem vários métodos para o controle do carrapato Fernandez-Ruvalcaba *et al.*, (1999); Khalaf-Allah, (1999), no entanto, nem todos são capazes de resolver o problema Frisch, (1999), cuja solução sempre fora o uso de substâncias acaricidas que determinaram, em diferentes épocas, o aparecimento de populações de carrapatos resistentes a elas, além da permanência de resíduos em produtos de origem animal e no meio ambiente, tornando assim, a busca de alternativas para o controle do carrapato, uma questão fundamental (Garcia; Ozaki, 1993).

O controle das populações de artrópodes deve ser realizado, respeitando a integridade do ecossistema Kunz; Kemp, (1994) e para isto, vem se efetivando o controle biológico como medida alternativa e promissora Hogsette, (1999); Samish; Rehacek, (1999). Vários pesquisadores do Brasil têm se dedicado ao estudo de infecções experimentais de carrapatos com fungos (ATHAYDE *et al.*, 2001; MONTEIRO *et al.*, 2003; ALBUQUERQUE *et al.*, 2005; BASSO *et al.*, 2005).

Dentre os fungos entomopatogênicos de comprovado sucesso no controle de insetos-praga, com alto grau de infectividade e patogenicidade, ressalta-se o *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e o *M. anisopliae* var. *acridum* (= *M. flavoviride*) (LUNA; AZEVEDO, 1985). O *M. anisopliae*, tem sido recentemente usado no controle biológico de carrapatos (Athayde *et al.*, 2001).

A necessidade de se controlar os carrapatos tem levado os pesquisadores a buscarem formas alternativas para o seu controle. Embora os estudos tenham se intensificado no sentido do controle imunológico (VAZ JÚNIOR *et al.*, 2000), trabalhos utilizando microrganismos indicam o Controle Biológico como uma técnica promissora (ALVES, 1998a; BASSO *et al.*, 2005).

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito *in vitro* do fungo *M. anisopliae* var. *acridum* sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*, coletadas de bovinos naturalmente infestados de rebanhos do semi-árido paraibano.

## Material e Métodos

### Local de Realização do Experimento

Os testes experimentais *in vitro* foram realizados no Laboratório de Controle Biológico do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco (DM-UFPE).

### Linhagem de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*

A linhagem BR<sub>1</sub> foi isolada de *Schistocerca pallens* do estado do Rio Grande do Norte e obtida da Coleção de Cultura de Fungos da Micoteca – URM, do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, sob número de acesso URM-3800. As suspensões de conídios foram preparadas a partir de culturas monospóricas, e constavam de diversas concentrações, quantificadas em câmara de Newbaer (Alves, 1998b).

*Obtenção e Manutenção das Fêmeas Ingurgitadas de Boophilus microplus.* As fêmeas do carrapato foram coletadas diretamente do corpo dos bovinos naturalmente infestados, de propriedades agropecuárias do Município de Patos - PB. Os exemplares colhidos foram mantidos em placas de Petri, à temperatura ambiente ( $\pm 30^{\circ}\text{C}$ ) e umidade relativa ( $\pm 60\%$ ), até serem infectadas.

#### *Meios de Cultura e Soluções Usadas*

Os meios de cultura utilizados foram: o Batata-dextrose-ágar (Oxoid) e o Batata-dextrose-ágar (Oxoid) mais antibiótico. Foi utilizada a solução de Tween 80 (0,1% v/v).

#### *Preparo das Suspensões e Quantificação do Inoculo*

As suspensões foram preparadas a partir de colônias de fungos com 14 dias de crescimento. A partir de uma suspensão na concentração de  $10^8$  conídios/mL, foram feitas diluições sucessivas para a obtenção dos níveis de concentrações ( $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$  e  $10^4$ ), que corresponderam aos inóculos.

#### *Bioensaios em Laboratório*

Foram realizados três bioensaios, cada um constituído de cinco grupos com os diferentes níveis de concentração e um grupo controle, sendo cinco repetições por grupo.

#### *Infecção das Fêmeas Ingurgitadas de Boophilus microplus*

As fêmeas coletadas do campo foram observadas sob microscópio estereoscópico para confirmação da sua integridade biológica e morfológica; e desinfestadas, com uma passagem em solução de hipoclorito de sódio a 4% por três minutos, em álcool a 70% por três minutos e depois imersas em água deionizada auto-clavada por três minutos e o excesso foi retirado com papel filtro. Foram separadas em grupos de cinco, para serem pesadas em balança analítica e posteriormente infectadas.

A infecção seguiu metodologia de trabalhos de Oba *et al.*, (1976) e Stendel (1980). Para cada suspensão testada foram utilizadas cinco teleóginas e após a infecção foram colocadas em placa de Petri aderida em fita adesiva à temperatura ambiente de  $\pm 30^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $\pm 60\%$ . Os ovos, de fêmeas infectadas, foram pesados e acondicionados em seringas plásticas adaptadas, de 10 mL, com 200 mg de ovos cada, para posterior determinação do percentual de eclodibilidade.

Os parâmetros analisados foram: a) período de postura; b) peso da massa de ovos; c) índice de produção de ovos (IPO); d) percentual de controle; e) índice de eficiência reprodutiva (IER) (HITCHCOCK, 1955; BENNETT, 1974; DRUMMOND *et al.*, 1971).

Para os cálculos do IPO, do percentual de controle e ER usaram-se as seguintes equações:

$$\text{IPO} = \frac{\text{Peso dos ovos (g)} \times 100}{\text{Peso inicial das Fêmeas (g)}}$$

$$\text{ER} = \frac{\text{Peso dos ovos (g)} \times \% \text{ eclosão} \times 20000}{\text{Peso das fêmeas (g)}}$$

$$\% \text{ Controle} = \frac{\text{ER (controle)} - \text{ER (tratados)} \times 100}{\text{ER (controle)}}$$

Foi estimado visualmente ainda, o percentual de eclodibilidade, referente aos ovos oriundos de fêmeas infectadas (DAVEY *et al.*, 1984).

Quando se constatou a morte das fêmeas em cada repetição, o material foi tratado seguindo-se a mesma metodologia usada na desinfestação, para então ser inoculado em placas de Petri contendo o meio BDA mais antibiótico, e colocado em câmara úmida climatizada. Após a conidiogênese do fungo, foi realizado o reisolamento para posterior análise.

### Re-isolamento e Cultivo de *M. anisopliae* var. *acidum*

O carrapato infectado foi examinado ao microscópio estereoscópico, retirando-se os conídios através da utilização de uma alça de platina e transferindo-os para tubos de ensaio e placas de Petri contendo meio BDA mais antibiótico. Estes tubos e placas foram transferidos para BOD a  $28 \pm 2^\circ \text{C}$  com umidade relativa de 80%, onde foram examinados diariamente até a complementação da conidiogênese dos fungos. Após o término do trabalho, procedeu-se análise da linhagem envolvida nos bioensaios.

### Análise Estatística e Próbites

Para o estudo de patogenicidade a distribuição experimental consistiu em um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial ( $3 \times 6$ ), três bioensaios e seis concentrações de *M. anisopliae* var. *acidum*, com cinco repetições. Para cada parâmetro estudado, aplicou-se a análise de variância e para a comparação das médias o teste de Tukey.

## Resultados e Discussão

### Período de Postura

O período médio observado nos grupos tratados diminuiu à proporção que se aumentava a concentração de conídios utilizada em relação aos grupos controle. Para os grupos tratados a variação foi de 5,20 a 2,40 dias na maior concentração (Figura 01), dados que não corroboram com os de Bittencourt *et al.*, (1999) quando utilizaram o *M. anisopliae* sobre *B. microplus* e não verificaram diferença significativa para o período de postura entre os tratamentos. No entanto, Monteiro *et al.*, (1998) ao observarem a postura de *A. nitens* quando tratado por *B. bassiana* verificaram, também, a redução deste período.

Período médio de postura  
(dias)

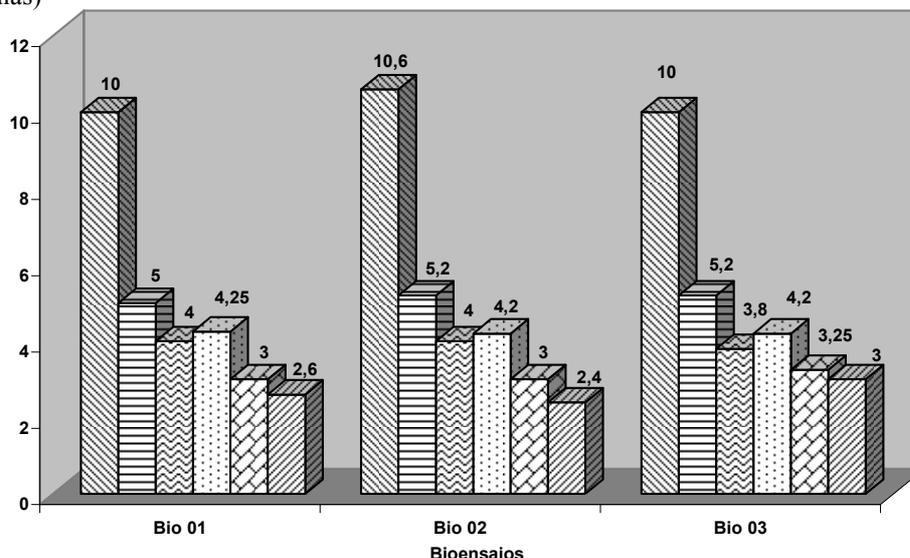


Figura 01 - Ação de diferentes concentrações ( $10^4$  a  $10^8$ ) do fungo *Metarhizium anisopliae* var *acidum* sobre o período de postura médio de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*.

### Peso da Massa de Ovos

O peso médio observado nos grupos tratados diminuiu à proporção que se aumentava a concentração de conídios utilizada em relação aos grupos controle. Na concentração de  $10^8$  o grupo tratado apresentou a menor massa de ovos que foi de 97,40 mg (Tabela 01), resultados que se assemelharam com os de Correia *et al.*, (1998) que conseguiram uma redução de 52% da massa de ovos com *M. anisopliae* sobre *B. microplus*; o mesmo se repetiu nos trabalhos de Bittencourt *et al.*, (1999) em teste de campo, com o mesmo fungo, sobre carrapatos de bovinos.

Tabela 01 - Ação de diferentes concentrações ( $10^4$  a  $10^8$ ) do fungo *Metarhizium anisopliae* var *acridum* sobre o peso médio da massa de ovos de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*.

Peso médio (mg) da massa de ovos em diferentes bioensaios				
Fungo/Concentração	Bio-1	Bio-2	Bio-3	Média
<i>Metarhizium anisopliae</i> var <i>acridum</i>				
Controle	151,20 a A	158,40 aA	169,20 a A	160+9
$10^4$	147,80 a A	157,60 aA	161,80 a A	156+7
$10^5$	142,80 a A	156,60 aA	140,60 abA	147+9
$10^6$	121,40 abA	143,00 aA	142,00 abA	135+12
$10^7$	100,60 b A	101,00 bA	109,60 bcA	104+5
$10^8$	97,40 b A	97,80 bA	98,60 c A	98+1

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem estatisticamente entre si, pelo método de Tukey ( $P>0,05$ ).

### Índice de Produção de Ovos

O índice médio diminuiu nos grupos tratados e esta variação foi de 41,74 a 66,91% (Figura 02) resultados semelhantes foram encontrados por Bittencourt *et al.* (1997) quando avaliaram, *in vitro*, a eficácia de dois isolados de *B. bassiana* sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*.

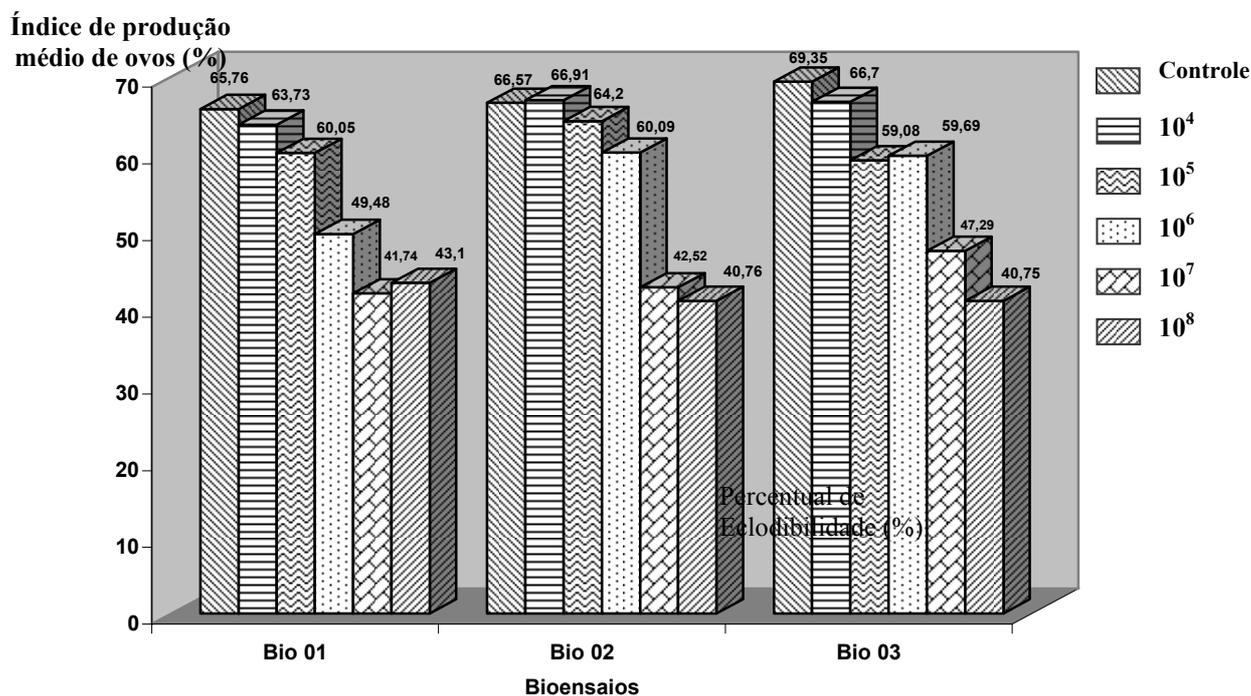


Figura 02 - Ação de diferentes concentrações ( $10^4$  a  $10^8$ ) do fungo *Metarhizium anisopliae* var *acridum* sobre o índice de produção médio de ovos de fêmeas ingurgitadas tratadas de *Boophilus microplus*.

### Eficiência Reprodutiva

A eficiência média nos grupos tratados diminuiu à medida que se aumentou a concentração utilizada. Na concentração de  $10^8$  conídios/mL o percentual foi de 87.485,30% (Tabela 02). Resultados que se assemelharam com os de experimento de campo de

Bittencourt *et al.*, (1999) com *M. anisopliae* e Bittencourt *et al.*, (1997) com *B. bassiana* sobre *B. microplus*, ressaltando-se que a concentração de  $10^8$  conídios/mL foi a que apresentou os menores percentuais. Onofre *et al.*, (2001) obtiveram resultados semelhantes para *M. anisopliae* e *M. flavoviride*, confirmado pelos dados apresentados neste trabalho.

Tabela 02 - Ação de diferentes concentrações ( $10^4$  a  $10^8$ ) do fungo *Metarhizium anisopliae* var *acridum* sobre a eficiência reprodutiva média de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*.

Valores de eficiência reprodutiva em diferentes bioensaios				
Fungo/Concentração	Bio-1	Bio-2	Bio-3	Média
<i>Metarhizium anisopliae</i> var <i>acridum</i>				
Controle	1257264,2 a A	1293999,8 a A	1361996,0 a A	1304420+53138
$10^4$	829318,6 b A	923403,9 b A	934519,6 b A	895747+57797
$10^5$	636037,4 c B	809203,3 bc A	759129,7 cAB	734790+89112
$10^6$	494791,7 c B	684920,3 c A	697339,1 c A	625684+113526
$10^7$	289203,2 d B	332761,1 dAB	458229,1 d A	360064+87753
$10^8$	91669,6 e A	79869,6 e A	90916,7 e A	87487+6606

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem estatisticamente entre si, pelo método de Tukey (P>0,05).

#### Percentual de Controle

O percentual médio aumentou à proporção que se aumentavam as concentrações de conídios (Tabela 03). *M. anisopliae* var. *acridum* apresentou um percentual médio de 93,27%. Este resultado corrobora com os de Bittencourt *et al.*, (1997) para *B. bassiana* e Onofre *et al.* (2001) para *M. anisopliae* e *M. flavoviride*.

Tabela 03 - Ação de diferentes concentrações ( $10^4$  a  $10^8$ ) do fungo *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* sobre o percentual médio de controle de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*

% de controle em diferentes bioensaios				
Fungo/Concentração	Bio-1	Bio-2	Bio-3	Média
<i>Metarhizium anisopliae</i> var <i>acridum</i>				
$10^4$	33,95 d A	28,55 d A	31,34 d A	31+2,7
$10^5$	49,42 c A	37,40 cd A	48,79 c A	45+6,8
$10^6$	60,79 c A	47,09 c B	43,65 cd B	51+9,1
$10^7$	76,92 b A	74,24 b A	66,49 b A	73+5,4
$10^8$	92,66 a A	93,82 a A	93,33 a A	93+0,6

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem estatisticamente entre si, pelo método de Tukey (P>0,05).

#### Percentual de Eclodibilidade

Na Figura 03 se observa uma significativa diminuição no percentual médio de eclosão de larvas de ovos de fêmeas ingurgitadas tratadas. À proporção que se aumentava a concentração, o percentual de eclosão diminuía. Ovos de fêmeas tratadas com *M. anisopliae* var. *acridum* apresentaram percentual médio de eclosão de 10,53%, resultados que não foram observados por Bittencourt *et al.*, (1999) para *M. anisopliae* sobre *B. microplus*, no campo.

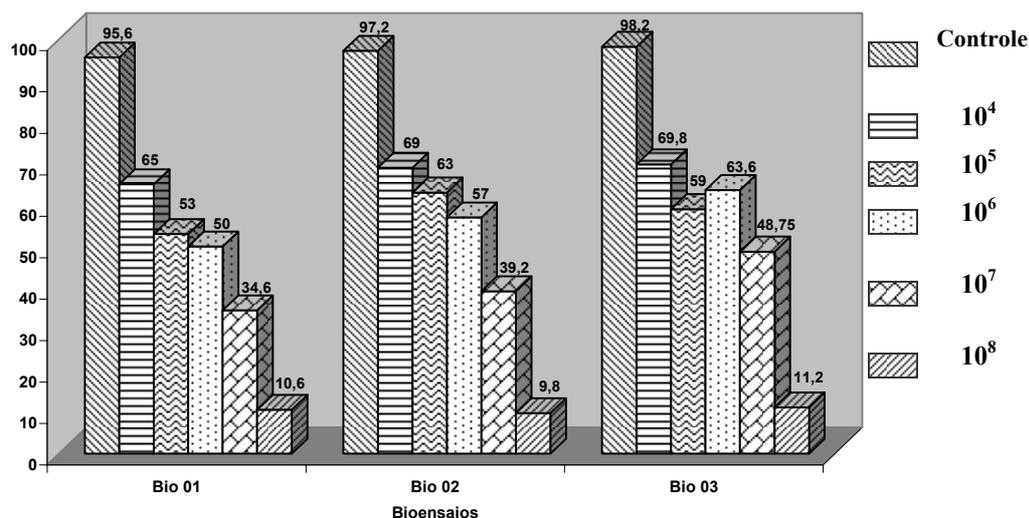


Figura 03 - Ação de diferentes concentrações ( $10^4$  a  $10^8$ ) do fungo *Metarhizium anisopliae* var *acridum* sobre o percentual médio de eclodibilidade de ovos de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*

### Conclusão

A infecção sobre fêmeas ingurgitadas causou alterações fisiológicas, onde os tratamentos afetaram o índice de produção de ovos, o índice de eficácia reprodutiva, e a viabilidade de ovos oriundos das fêmeas infectadas, favorecendo um aumento no percentual médio de controle.

### Referências Bibliográficas

- ALVES, S. B. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. In: \_\_\_\_\_. (Coord). **Controle microbiano de insetos**. São Paulo: Manole, 1998a. p. 21-37.
- ALVES, S. B. Técnicas de Laboratório. In: \_\_\_\_\_. (Coord). **Controle microbiano de insetos**. São Paulo: Manole, 1998b. p. 637-711.
- ALBUQUERQUE, A. C., PEREIRA, K. C.A., CUNHA, F. M., VEIGA, A. F.S.L, ATHAYDE, A. C.R. LIMA, E. A.L.A. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* sobre *Nasutitermes oxipoensis* (Holmgren) (Isoptera: Termitidae). **Neotropical Entomology**, v.34, p.585-591, 2005.
- ATHAYDE, A. C. R. *et al.*, Fungos entomopatogênicos: uma alternativa para o controle do carrapato bovino - *Boophilus microplus*. **Biociência**, v.21, p.12-15, 2001.
- BENNETT, G. F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). I. Influence of tick size on egg production. **Acarologia**, v. 16, p. 52-61, 1974.
- BITTENCOURT, V. R. E. P. *et al.*, *In vitro* efficacy evaluation of two isolates of the fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) engorged females. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 6, p. 49-52, 1997.
- BITTENCOURT, V. R. E. P. *et al.*, Eficácia do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 em teste de campo com bovinos infestados por carrapato *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.21, p.78-82, 1999.
- BASSO, L. M. DE S., MONTEIRO, A. C., BELO, M. A. DE A., SOARES, V. E., GARCIA, M. V. MOCHI, D. A. Controle de larvas de *Boophilus microplus* por *Metarhizium anisopliae* em pastagens infestadas artificialmente. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.595-600, 2005.

- CORREIA, A. C. B. *et al.*, Effects of *Metarhizium anisopliae* on the tick *Boophilus microplus* (acarí: Ixodidae) in stabled cattle. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.71, p. 189- 191, 1998.
- DAVEY, R. B.; OSBURN, R. L. & MILLER, J. A. Ovopositional and morphological comparisons of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) collected from different geographical areas. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 77, p. 1-5, 1984.
- DRUMMOND, R. O. *et al.*, Laboratory testing of insecticides for control of the winter tick. **Journal of Economic Entomology**, v. 64, p. 686-688, 1971.
- FERNANDEZ-RUVALCABA, M. *et al.*, Anti-tick effects of *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata* on plots experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae in Morelos, Mexico. **Experimental Applied Acarology**, v.23, p.171-175, 1999.
- FRISCH, J. E. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p.57-71, 1999.
- GARCIA, J. F.; OZAKI, L. S. Perspectivas de controle imunológico de carrapatos parasitos de rebanhos bovinos. **A Hora Veterinária**, n.71, p.9-12, 1993.
- HITCHCOCK, L. F. Studies on the non-parasitic stages of the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). **Australian Journal of Zoology**, v.3, p. 295-311, 1955.
- Hogsette, J. A. Management of ectoparasites with biological control organisms. **International Journal of Parasitology**, v.29, p.147-151, 1999.
- KHALAF-ALLAH, S. S. Control of *Boophilus microplus* ticks in cattle calves by immunization with a recombinant Bm86 glucoprotein antigen preparation. **DTW Dtsch Tierarztl Wochenschr**, v.106, p. 248-251, 1999.
- Kunz, S. E.; Kemp, D. H. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. **Review of Science and Technology**, v. 13, p.1249-1286, 1994
- LUNA-ALVES LIMA, E. A.; AZEVEDO, J. L. Obtenção de possíveis diplóides entre linhagens de *Metarhizium anisopliae*. **Ciência e Cultura** (supl.), v. 37, p. 721, 1985.
- MONTEIRO, S. G. *et al.*, Effect of isolate 986 of the fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. on engorged females of *Anocentor nitens* Neumann, 1897 (Acari: Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, p. 673-676, 1998.
- MONTEIRO, S. G., BAHIENSE, T. C., BITTENCOURT, V. R. E. P. Ação do fungo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre a fase parasitária do carrapato *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) Schulze, 1937 (Acari: ixodidae) **Ciência Rural**, v.33, p.559-563, 2003.
- NARI, A. Strategies for the control of one-host ticks and relationship with tick-borne diseases in South America. **Veterinary Parasitology**, v. 57, p. 153-165, 1995.
- OBA, M. S. P.; PEREIRA, M. C.; ALMEIDA, M. A. C. Ensaio *in vitro* pelos critérios da OBA (1972) E DE DRUMMOND (1973) de Chlorpyrifós sobre linhagens supostamente resistente de *Boophilus microplus* provenientes de Taubaté, São Paulo. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 13, p.409-420. 1976.
- ONOFRE, S. B. *et al.*, Pathogenicity of four strains of entomopathogenic fungi against the bovine tick *Boophilus microplus*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, p. 1478-1480, 2001.
- Samish, M.; Rehacek, J. Pathogens and predators of ticks and their potential in biological control. **Annual Review of Entomology**, v. 44, p. 159-182, 1999.
- STENDEL, W. The relevance of different test method for the evaluation of tick controlling substances. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 51, p. 147-152, 1980.
- VAZ JÚNIOR, I. S. *et al.*, Vacina contra carrapato. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. v. 13, p. 18-23, 2000.