

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n2a516.1-6>

Efeito do cobalto-60 em fêmeas *R. (B) microplus* na postura e na incubação dos ovos

Alexandre Antonio Pasqualini¹ & Valter Arthur²

¹Doutorando, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, USP. Prof. Msc. ETEC Espírito Santo do Pinhal, SP

²Prof. Dr. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/ centro de energia nuclear na agricultura / CENA-USP, Piracicaba, SP
Autor para correspondência, E-mail: xpasq@yahoo.com

Resumo. Este trabalho buscou avaliar os efeitos do Co⁶⁰ na postura de fêmeas ingurgitadas do carrapato *R. (B) microplus* na fase de pré postura e na eclodibilidade de seus ovos quando submetidas às doses de 0 a 400 Gy onde se constatou que a radiação ionizante afetou em aproximadamente 70% o peso da postura dos ovos destas fêmeas, que a taxa de eclosão dos ovos da Testemunha foi 68,2% maior que a menor dose ionizante, o Tratamento com 5 Gy, que quanto maior a dose de radiação, menor o índice de eclosões e nos tratamentos que receberam doses maiores de 20 Gy, não ocorreram eclosões das posturas, estabelecendo-se assim um marco para se estudar a aplicação de técnica do inseto estéril neste espécime.

Palavras chave: carrapato, incubação, irradiação, postura

Effect of cobalt-60 on R. (B) microplus females on egg laying and incubation

Abstract. This study aimed to evaluate the effects of Co⁶⁰ on the posture of engorged females of tick *R. (B) microplus* in the pre-laying phase and on the hatchability of their eggs when submitted to doses from 0 to 400 Gy where it was found that ionizing radiation affected approximately 70% the egg laying weight of these females, that the egg hatching rate of the Witness was 68.2% higher than the lowest ionizing dose, the 5 Gy Treatment, that the higher the radiation dose, the lower the index. of hatching and treatments that received doses higher than 20 Gy, there were no hatching of the postures, thus establishing a milestone to study the application of sterile insect technique in this specimen.

Keywords: tick, incubation, irradiation, posture

Efecto de cobalto-60 en hembras R. (B) microplus sobre la puesta e incubación de huevos

Resumen. Este estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos de Co⁶⁰ en la postura de las hembras de la garrapata *R. (B) microplus* ingurgitadas en la fase de prepostura y la incubabilidad de sus huevos cuando se sometieron a dosis de 0 a 400 Gy, donde se descubrió que la radiación ionizante afectaba aproximadamente el 70% del peso de la puesta de huevos de estas hembras, que la tasa de eclosión del testigo fue 68,2% más alta que la dosis ionizante más baja, el tratamiento de 5 Gy, que cuanto mayor es la dosis de radiación, menor es el índice de eclosión y tratamientos que recibieron dosis superiores a 20 Gy, no hubo eclosión de las posturas, estableciendo así un hito para estudiar la aplicación de la técnica de insecto estéril en este espécimen.

Palabras clave: garrapata, irradiación, postura, incubación

Introdução

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* pertence à ordem Acari e família Ixodidae, é uma espécie de ácaro presente nos países de clima tropical e parasita diversos animais de interesse zootécnico, mas predominantemente, bovinos (Marini et al., 2010). No Brasil, o mercado industrial do setor agropecuário investiu 5.954 bilhões de reais no ano de 2018, sendo que 29% deste total estavam relacionados ao emprego de produtos antiparasitários e os ruminantes demandaram mais de 55% deste mercado (SINDAN, 2018).

Buscou-se avaliar os efeitos da radiação gama na postura e na eclodibilidade dos ovos de fêmeas ingurgitadas do carrapato da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* submetidas a uma fonte de Cobalto-60, utilizando o Gammacell-220®, instalado no CENA, Piracicaba, SP, afim de se fomentar conhecimentos para a realização da Técnica do Inseto Estéril (TIE) e assim se propor uma nova perspectiva para um controle parasitário.

Material e métodos

Fêmeas *R.(B.) microplus* adultas, ingurgitadas e em fase de pré-postura, obtidas de infestação natural de vacas leiteiras da Escola Técnica ETEC Dr. Carolino da Motta e Silva em Espírito Santo do Pinhal, São Paulo (ETEC-Pinhal), sem tratamento acaricida há mais de 30 dias, foram lavadas, secas e selecionadas dentro de um padrão morfológico e pesadas (peso vivo médio de 0,2g) e no dia seguinte, no Laboratório de Irradiação de Alimentos e Radioentomologia, CENA-USP, Piracicaba, SP, 280 exemplares foram submetidas às doses de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 e 400 Gy, (0,145Gy/h) com Gammacell®-220 Excel (MSD Nordion) (Figura 1).

Vinte e quatro horas após a irradiação estas foram transportadas para ETEC-Pinhal, onde seus ventres foram fixados com fita adesiva de dupla face em recipientes plásticos PEAD atóxico e mantidas em estufa Incubadora Diagtech® ajustada para temperatura de 29° C ($\pm 0,5$) e umidade relativa do ar em 60% (± 5).

Cada dose compunha de cinco tratamentos com quatro repetições, e estas fêmeas foram monitoradas diariamente para se estabelecer o início da postura e eclosões. As teleógenas, as posturas e as larvas nascidas foram pesadas sob forma de *pool* de amostras para efeitos de análise dos dados.

Resultados

As posturas tiveram início quatro dias após as irradiações e após 12 dias todos os tratamentos apresentaram postura de um ou mais espécimes, e se estabeleceu o limite para o período de incubação de 36 dias para as avaliações da eclodibilidade dos ovos.

Com o *pool* de ovos do tratamento Testemunha, contou-se 350 ovos que pesados totalizaram 0,005g, onde 1 grama corresponderia a 70.000 ovos, como mostra a figura 2.



Figura 1. Gammacell® 220 Excel – Cena / USP



Figura 2. Contagem de 350 ovos de teleógenas de *R.(B) microplus* não irradiadas pesando 0,00 5g.

Na [tabela 1](#) observa-se que o peso médio dos tratamentos foi de 3,6g e das teleógenas de 0,18 g. Constatou-se que ocorreram 5% de óbitos das teleógenas irradiadas com 5, 10, 20 Gy (1/20); 10% na dose de 300 Gy (2/20); e 20% nas doses de 25, 50, 100 e 350 Gy (4/20).

Tabela 1. Relação do peso das teleógenas irradiadas e o peso das posturas, com detalhe de ocorrência de óbitos das fêmeas anteriormente a postura.

Ocorrência de óbitos	Doses (0,145 Gy/h)	Peso (g) Teleógenas Tratamento	Peso (g) Postura Tratamentos	Peso /Postura (%) Tratamentos	Peso médio Teleógenas (g)	Peso médio Postura Teleógenas vivas (g)	Peso / Postura Teleógenas vivas (%)
20 vivas	Testemunha	4,082	2,499	61,2	0,204	0,125	61,2
1 óbito, 19 vivas	5	4,158	0,873	21,0	0,208	0,046	22,1
1 óbito, 19 vivas	10	4,091	0,908	22,2	0,205	0,048	23,4
20 vivas	15	2,837	0,989	34,9	0,142	0,049	34,9
1 óbito, 19 vivas	20	3,503	0,943	26,9	0,175	0,050	28,3
4 óbitos, 16 vivas	25	3,460	0,761	22,0	0,173	0,048	27,5
4 óbitos, 16 vivas	50	2,660	0,623	23,4	0,133	0,039	29,3
4 óbitos, 16 vivas	100	3,620	0,672	18,6	0,181	0,042	23,2
20 vivas	150	4,142	1,036	25,0	0,207	0,052	25,0
20 vivas	200	4,244	0,794	18,7	0,212	0,040	18,7
20 vivas	250	3,952	0,872	22,1	0,198	0,044	22,1
2 óbitos, 18 vivas	300	2,970	0,388	13,1	0,149	0,022	14,5
4 óbitos, 16 vivas	350	3,364	0,316	9,4	0,168	0,020	11,7
20 vivas	400	3,360	0,638	19,0	0,168	0,032	19,0
Média		3,604	0,879		0,180	0,044	
Média Trat. Irrad			0,755			0,041	

O peso médio da postura do tratamento Testemunha, 2,499g, foi 41,4% maior que o segundo maior peso de postura nos tratamentos irradiados, 150 Gy com 1,036g. A mesma relação foi encontrada quando analisado esta relação se considerando apenas às fêmeas vivas que realizaram a postura.

Os pesos médios das posturas irradiadas, 0,755g, foi 69,8% menor que a média do peso da postura do tratamento Testemunha 2,499g e considerando a mesma relação com as fêmeas vivas que realizaram a postura, o peso médio da postura das teleógenas irradiadas 0,041g foi 67,2% menor que o peso médio das Testemunhas 0,125g.

Cada tratamento teve todos seus ovos reunidos e pesados para se formar um *pool* de amostra para efeito de incubação. A eclosão dos ovos teve início 33 dias contados a partir do início da postura e após 30 dias do início da eclosão, as larvas de cada amostra, sob as mesmas condições já citadas, foram pesadas para se estabelecer a relação entre seu peso com os ovos não eclodidos, conforme se observa na [tabela 2](#) e ainda, que a partir da dose de 20Gy, não ocorreu a eclosão dos ovos.

Doses (Gy)	Peso média das posturas (g)	Peso médio dos ovos não eclodidos (g)	Peso médio das larvas (g)	Soma peso dos ovos não eclodidos e larva (g)	Peso da postura menos soma de ovos e larvas (g)	Ovos e Larvas / Postura Desidratação (%)	Larvas / Ovos Nascimento (%)
0	2,499	0,577	0,061	0,638	1,862	74,5	9,55
5	0,873	0,352	0,081	0,433	0,440	50,4	18,71
10	0,908	0,513	0,006	0,519	0,389	42,8	1,16
15	0,989	0,525	0,033	0,558	0,431	43,6	5,91
20	0,943	0,905	0,003	0,908	0,035	3,8	0,29
25	0,761	0,426	0,000	0,426	0,335	44,0	0,00
50	0,623	0,340	0,000	0,340	0,283	45,4	0,00
100	0,672	0,360	0,000	0,360	0,312	46,4	0,00
150	1,036	0,618	0,000	0,618	0,418	40,3	0,00
200	0,794	0,466	0,000	0,466	0,328	41,3	0,00
250	0,872	0,500	0,000	0,500	0,372	42,7	0,00
300	0,388	0,222	0,000	0,222	0,166	42,8	0,00
350	0,316	0,228	0,000	0,228	0,088	27,8	0,00
400	0,638	0,370	0,000	0,370	0,268	42,0	0,00
Médias	0,879				0,879		
Média*	0,755	0,488	0,009	0,458	0,297	39,49	2,06

*Média do tratamento com irradiação

Ao final dos 30 dias após o início das eclosões, realizou-se a pesagem dos ovos não eclodidos e das larvas, as quais em sua maioria estavam mortas e constatou-se que houve severa desidratação através da comparação com o peso da postura inicial, e o tratamento Testemunha foi o que apresentou maior perda, 74,5%. Assim, na [Tabela 3](#) se corrigiu o grau de desidratação para se estabelecer a taxa de eclodibilidade dos tratamentos à uma condição mais precisa e assim constatou-se através do peso corrigido que a taxa de eclosão dos ovos da Testemunha foi 68,2% maior que a menor dose ionizante, o Tratamento com 5 Gy, e ainda se observou que quanto maior a dose de radiação, menor o índice de eclosões.

Tabela 3. Taxa de eclodibilidade estimada através da aplicação da porcentagem de desidratação apresentada na [Tabela 2](#).

Doses (Gy)	Peso médio postura (g)	Soma pesos ovos não eclodido e larvas (g)	Perda de peso na pesagem 30dd	Desidratação (%)	Peso médio dos ovos aferido (g)	Peso médio dos ovos ajustados (g)	Peso médio das larvas aferido (g)	Peso médio das Larvas ajustado (g)	Taxa de Eclosão
Test	2,499	0,638	1,86	74,5	0,577	2,259	0,061	0,239	10,579
5	0,873	0,433	0,44	50,4	0,352	0,710	0,081	0,163	23,011
10	0,908	0,519	0,39	42,8	0,513	0,898	0,006	0,010	1,170
15	0,989	0,558	0,43	43,6	0,525	0,931	0,033	0,058	6,286
20	0,943	0,908	0,04	3,7	0,905	0,940	0,003	0,003	0,331

Discussão

Muito se tem investido no controle de parasitas na pecuária do Brasil e em contra partida, os produtores constatarem ao longo do tempo que estes vêm adquirindo resistência aos poucos princípios ativos disponíveis no mercado. O uso intensivo das substâncias químicas possibilitou o desenvolvimento da resistência dos carrapatos aos acaricidas. A excessiva utilização dos acaricidas, associada ao seu manejo incorreto ocasionou resistência do carrapato às drogas disponíveis no mercado ([Gauss & Furlong, 2002](#); [Spagnol et al., 2010](#)).

O uso da radiação ionizante constitui-se em uma técnica atrativa e eficaz para o controle de pragas, por ser um método específico e não oferecer riscos aos inimigos naturais, aos polinizadores e ao meio ambiente ([Arthur, 1997](#)). A literatura consultada relata o emprego desta técnica em diversas espécies de insetos, como os estudos no controle das moscas das frutas *Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus* e os efeitos da radiação gama em cigarrinhas da folha da cana de açúcar *Malhanarva posticata* nas condições do nordeste brasileiro ([Rodrigues, 1978](#)) e a esterilização da broca do abacate *Stenoma catenifer* descrito por [Silva et al. \(2007\)](#). Há também as pesquisas realizadas na Moscamed® com *Aedes aegypti* que são exemplos desta técnica como mais uma opção ao controle biológico de pragas.

[Bakri et al. \(2005\)](#) compilaram diversas publicações disponíveis ao longo de 50 anos sobre métodos de determinação de doses esterilizante por radiação ionizante em artrópodes e obtiveram as seguintes doses de radiação para algumas ordens de insetos e ácaros: de 130 a 400 Gy em Lepidóptera, de 30 a 280 Gy em Acari, 40 a 200 Gy em Coleopteros, de 10 a 180 Gy em Hemipteros, de 20 a 160 Gy em Dipteros, de 20 a 150 Gy em Araneae, de 5 a 140 Gy em Dictyoptera, de 100 Gy em Thysanoptera e 4 Gy em Orthoptera.

[Silva et al. \(2007\)](#) irradiaram pupas e adultos de *Stenoma catenifer*, insetos da ordem Lepidóptera com doses de 150 Gy e 200 Gy, respectivamente, e conseguiram a esterilização dos insetos adultos. [Galun et al. \(1967\)](#) irradiaram carrapatos, da espécie *Ornithodoros tholozani*, no Oriente Médio, utilizando a radiação gama proveniente do Cobalto-60 com uma dose de 2000 r em ninfas e 16.000 r em machos adultos, obtendo resultados práticos e satisfatórios com a esterilização dos carrapatos.

No Brasil, o primeiro trabalho realizado com irradiação de ácaros para tratamento quarentenário foi o de [Mineiro & Arthur \(2003\)](#) que irradiaram ácaros *Tetranychus urticae* e determinaram que nas doses de 250, 300 e 400 Gy, a mortalidade dos ácaros foi maior que 80%. [Arthur & Machi \(2015\)](#) avaliaram os efeitos da radiação gama sobre as fases do ciclo evolutivo dos ácaros: *Tetranychus urticae*, *Tetranychus desertorum*, *Oligonychus ilicis* como tratamento quarentenário e como um método de controle alternativo de controle. Ácaros fêmeas foram irradiadas com doses de 0 (controle), 100, 200, 300 e 400 Gy, Os resultados obtidos mostraram uma diminuição na viabilidade dos ovos e ninfas de ácaros, que foi diretamente proporcional ao aumento das doses de radiação gama. A dose de 200 Gy foi a esterilizante para todas as fases do ciclo evolutivo de *O. ilicis*, e de 300 Gy para *T. urticae* e *T. desertorum*.

[Walder & Mastrangelo \(2011\)](#) descreveram o emprego da irradiação com raios X na TIE recomendando doses que podem variar de 18 a 70 Gy/min, e relataram a viabilidade de esterilizar 20 litros de pupas de moscas das frutas *Ceratitis capitata*, ao longo de 3-5 minutos e que os efeitos biológicos dos raios X foram semelhantes aos da radiação gama, uma vez que ambas são radiações eletromagnéticas. Houve significativa diferença de peso da postura entre os tratamentos Testemunha e os demais, assim como a taxa de eclodibilidade que demonstra o evidente efeito da radiação ionizante na postura desta espécie de parasita. Neste levantamento bibliográfico se observou que nos diferentes espécimes estudados, as doses ionizantes para se obter a esterilização dos descendentes foram muito mais altas do que as empregadas neste experimento, mas também a metodologia empregada diverge em si.

A opção de se empregar doses até 25Gy se baseou na dosagem empregada na esterilização de bolsas de sangue para transfusão ([Góes et al., 2008](#)) usualmente empregadas em hemocentros, isso para que não ocorra significativa destruição celular das fêmeas ingurgitadas, pois aproximadamente, 60% de seu peso nesta fase é de sangue dos hospedeiros que serve para nutrir seus ovos. E os resultados encontrados evidenciaram que doses acima de 25 Gy não geraram descendentes.

Na Tabela 2 se observa que as larvas apresentaram ganho de peso até o momento da pesagem e disto surge a necessidade de se realizar um teste *in vivo* afim de se avaliar a ocorrência de reparos celulares ou efeitos mutagênicos nestes nascituros, não podendo se especular que 25 Gy pode ser uma dose esterilizante para carrapatos da espécie *R.(B) microplus*.

Por outro lado, na Tabela 3 se observa que a Testemunha e o Tratamento com 5 Gy foram os que apresentaram maior grau de desidratação das larvas, 74,5 e 50,4%, ou seja, aproximadamente a mesma concentração de líquidos corpóreos das teleógenas e assim, ao se realizar a irradiação de larvas pode ocorrer efeito encontrado neste experimento.

Conclusão

Este experimento estabeleceu os primeiros dados sobre os efeitos da radiação ionizantes do Cobalto 60 nesta espécie de ácaro. A irradiação em fêmeas na fase de pré-postura demonstrou que doses até 20 Gy possibilitam se realizar a experimentação da TIE com todos os descendentes que têm a característica de ambos os gêneros serem hematófagos, contudo, se faz necessário a realização de um ensaio biológico em hospedeiros *in vivo*, a fim de se avaliar sua aplicabilidade, bem como, eventual efeito mutagênico em seus descendente através da competição com parceiros sexuais nativos para redução das infestações *in loco*.

Referências bibliográficas

- Arthur, V. (1997). Controle de insetos-praga por radiações ionizantes. *Biológico*, 5977-79.
- Arthur, V. & Machi, A. R. (2015). *The use of gamma radiation from cobalt-60 for quarantine treatment of mites (Acari: Tetranychidae) of agricultural importance.*: Florida Entomology.
- Bakri, A., Heather, N., Hendrichs, J. & Ferris, I. (2005). Fifty years of radiation biology in entomology: lessons learned from IDIDAS. *Annals of the Entomological Society of America*, 98(1):1-12.
- Galun, R., Warburg, M. & Avivi, A. (1967). Studies on the application of the sterility method in the tick *Ornithodoros tholozani*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 10(2):143-152.
- Gauss, C. L. B. & Furlong, J. (2002). Comportamento de larvas infestantes de *Boophilus microplus* em pastagem de *Brachiaria decumbens*. *Ciência Rural*, 32(3):467-472.
- Góes, E. G., Ottoboni, M. A., Palma, P. V. B., Morais, F. R., Pelá, C. A., Borges, J. C. & Covas, D. T. (2008). Quality control of blood irradiation with a teletherapy unit: damage to stored red blood cells after cobalt-60 gamma irradiation. *Transfusion*, 48(2):332-340.
- Marini, A., Soutello, R. V. G., Costa, R. L. D., Neves, J. H., Vacati, A. C., Barreto, T. N. & Demarchi, J. J. A. A. (2010). Infestação por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em novilhas de diferentes grupos genéticos. *Boletim de Indústria Animal*, 67(1):65-71.
- Mineiro, J. L. C. & Arthur, V. (2003). *Efeitos da radiação gama do Cobalto-60 em adultos de Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae)*. Paper presented at the IX Encontro Científico dos Pós-Graduandos.

- Rodrigues, Z. A. (1978). Efeitos da radiação gama em *Malhanarva posticata* (Stal,1855) nas condições do nordeste brasileiro. *Revista Nordestina de Biologia*, 1(1):83-88.
- SINDAN. *Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal* - São Paulo – SP www.sindan.org.br acessado 18/07/2018.
- Silva, L. K. F., Arthur, V., Nava, D. E. & Parra, J. R. P. (2007). Uso da radiação gama do cobalto-60 visando ao tratamento quarentenário e à esterilização de *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 33427-438.
- Spagnol, F. H., Paranhos, E. B. & Albuquerque, G. R. (2010). Avaliação in vitro da ação de acaricidas sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini, 1887 (Acari: Ixodidae) de bovinos leiteiros no município de Itamaraju, Bahia, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 11(3):731-736.
- Walder, J. M. M. & Mastrangelo, T. A. (2011). *X-rays: new technology for sterile insect technique*. Paper presented at the 12º SICONBIOL. Simpósio de Controle Biológico.

Recebido: 29 de novembro, 2019.

Aprovado: 30 de janeiro, 2020.

Publicado: 21 de março, 2020.

Licenciamento: Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados.