

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

Cristiane Regina Kasburg

Seleção e caracterização de isolados de fungos entomopatogênicos visando ao controle do ácaro vermelho *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae)

CASCADEL – PR
Março/2016

Cristiane Regina Kasburg

Seleção e caracterização de isolados de fungos entomopatogênicos visando ao controle do ácaro vermelho *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae)

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Área de Concentração: Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Orientador: Prof. Dr. Luis Francisco Angeli Alves

Co-orientador: Prof. Dr. Daian Guilherme Pinto Oliveira

Assinatura do Orientador (a)

CASCAVEL-PR

Março/2016

FOLHA DE APROVAÇÃO

Cristiane Regina Kasburg

Seleção e caracterização de isolados de fungos entomopatogênicos visando ao controle do ácaro vermelho *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais-Nível de Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, pela comissão Examinadora composta pelos membros:

Prof. Dr. Luis Francisco Angeli Alves

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)

Prof. Dr. Fagner Luiz da Costa Freitas

Universidade Federal da Fronteira Sul (Docente externo)

Prof^a. Dr^a. Miryan Denise Araújo Coracini

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Aprovada em: 28/03/2016

Local da defesa: Laboratório de Zoologia, CCBS, Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Campus de Cascavel - PR

*“Tudo posso naquele que me fortalece”
Filipenses 4.13*

A Deus, aos meus pais e ao meu amor.
DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pela saúde, para que eu possa aproveitar os bons momentos da vida ao máximo.

A minha família, meu pai Harry e minha mãe Citonia, por terem me dado a vida e todo o suporte e sacrifício para que eu nunca desistisse de alcançar meus sonhos, por serem meus maiores incentivadores e meus exemplos de simplicidade, humildade, honestidade e amor, muito obrigado!

A todos meus demais familiares, que mesmo longe, sempre me incentivaram para que eu não desistisse dos meus objetivos, obrigado!

Ao meu namorado Edson, meu melhor amigo e cúmplice por sempre estar ao meu lado nos momentos bons e ruins, sempre me desejando sorte e compreendendo as minhas ausências....meu amor, muito obrigado!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luis, toda a minha admiração e carinho a esta pessoa maravilhosa, que é um excelente profissional e que além de um ótimo orientador também foi um querido amigo, o meu mais sincero e singelo muito obrigado!!!

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Daian por todas as contribuições, por toda ajuda e auxílio prestado, colaborando sempre para o bom andamento dos trabalhos e fornecendo seu apoio em qualquer que fosse a situação, muitíssimo obrigado!!!

A esta pessoa, que além de professora, foi uma das melhores amigas que tive no mestrado, por ser presente nos momentos bons e ruins, compartilhando das angústias e desesperos da vida e também nos momentos festivos. Minha amiga querida, fiel e companheira ou "safed" Prof^a. Dr^a. Miryan, muito obrigado!

A Prof^a. Dr^a. Ana Tereza, pelas incansáveis ajudas prestadas, pelo tempo disponibilizado e por nos ensinar muito mais do que teoria, por nos ensinar valores (literalmente), muito obrigado!!!

Aos meus amigos, especialmente aqueles que foram meus companheiros no Laboratório de Biotecnologia, compartilhando experiências, medos, sonhos, derrotas e vitórias. A todos, sem exceção, obrigado por fazerem parte da minha curta estadia aqui, sentirei muitas saudades das nossas aventuras!

A minha companheira, amiga, colega Vanessa que durante dois (ou mais) anos dividiu comigo muito mais do que um apartamento, mas também uma parte da sua vida, meu muitíssimo obrigado!

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos, sem a qual o sonho de se tornar mestre não seria possível.

A todos meus professores, da graduação e do mestrado, que contribuíram para minha formação.

A UNIOESTE, por me receber como aluna e contribuir para o meu crescimento intelectual, profissional e humano.

E ao Laboratório de Biotecnologia Agrícola, minha segunda casa, onde aprendi que somos do tamanho dos nossos sonhos!!!

Muito Obrigada!!!

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO GERAL	11
<i>Biologia e importância de <u>Dermanyssus gallinae</u></i>	14
<i>Estratégias de Controle do ácaro vermelho <u>Dermanyssus gallinae</u></i>	17
<i>Controle Químico</i>	18
<i>Pós Inertes</i>	23
<i>Métodos físicos</i>	24
<i>Vacinas</i>	25
<i>Controle comportamental</i>	25
<i>Controle Biológico</i>	26
<i>Organismos Predadores</i>	26
<i>Fungos Entomopatogênicos</i>	27
Seleção e caracterização de isolados de fungos entomopatogênicos visando o controle do ácaro vermelho <i>Dermanyssus gallinae</i> (Acari: Dermanyssidae)	42
RESUMO	43
ABSTRACT	44
MATERIAL E MÉTODOS.....	46
<i>Ácaros</i>	46
<i>Isolados de fungos</i>	47
<i>Multiplicação dos Isolados</i>	48
<i>Aplicação dos Isolados</i>	49
<i>Comparação da atividade acaricida</i>	50
<i>Crescimento Vegetativo e Produção em Meio de Cultura</i>	50
<i>Produção de conídios em arroz</i>	51
<i>Ação da temperatura no crescimento in vitro de <u>Beauveria bassiana</u></i>	52
<i>Análise Estatística</i>	54
RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
<i>Seleção de Isolados</i>	55
<i>Efeito da temperatura no crescimento in vitro de <u>Beauveria bassiana</u></i>	59
<i>Bioensaio de Campo</i>	61

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
LISTA DE TABELAS	75
LISTA DE FIGURAS	78
NORMAS DA REVISTA POULTRY SCIENCE	84
APÊNDICE	94

RESUMO

O Brasil está entre os maiores produtores mundiais de ovos, sendo esta produção em constante crescimento, impulsionada principalmente por investimento de produtores independentes e da criação de cooperativas. As instalações aviárias brasileiras são principalmente em madeira com gaiolas metálicas. Há poucos aviários completamente automatizados, principalmente pelo alto investimento inicial que estes exigem. As estruturas em madeira, geralmente mais antigas, favorecem o aparecimento de alguns artrópodes-pragas, dentre os quais destaca-se o ácaro vermelho das galinhas *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae). Este ácaro é hematófago e apresenta comportamento gregário e hábitos noturnos, passando o dia escondido em frestas e fendas dos aviários, ranhuras da madeira, restos de sujeira e acúmulo de comida e teias de aranha. Dentre os prejuízos causados pelas infestações deste ácaro, destacam-se o estresse das aves, a dermatite e a anemia, a qual pode ocasionar diminuição da produção. Além disso, *D. gallinae* também pode ser transmissor de bactérias do gênero *Salmonella*, vírus causadores da doença de Newcastle e da varíola aviária. As estratégias de controle são baseadas principalmente no uso de acaricidas químicos, os quais representam riscos aos animais, aos avicultores, aos consumidores pelos resíduos que podem deixar nos ovos, além de selecionar populações de ácaros resistentes. Atualmente, o manejo integrado com utilização de estratégias menos impactantes está sendo pesquisado, visando sua utilização no controle da praga. Dentre estas estratégias, destacam-se os extratos e óleos essenciais vegetais, pós inertes (terra de diatomáceas, sílicas, talcos), predadores e fungos entomopatogênicos. Os fungos entomopatogênicos têm se apresentado como uma das técnicas mais eficientes para controle de *D. gallinae* em condições de laboratório, porém com poucos estudos de campo. A combinação destas estratégias de controle também estão sendo pesquisadas visando encontrar um método que seja eficiente e ao mesmo tempo não represente riscos a saúde animal e humana.

Palavras-chave: avicultura, ácaros hematófagos, estratégias de controle, controle biológico

ABSTRACT

Brazil is one of the largest producers of eggs, and this production is constantly growing, based on investment independent producers and the creation of cooperatives. Brazilian poultry facilities are mainly in wood with metal cages. There are few fully automated poultry, mainly by the high initial investment they require. The wooden structures, usually older, favor the appearance of some arthropod pests, as the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae). This mite is hematophagous and features gregarious and nocturnal behavior, spending the day hiding in cracks and crevices of the poultry houses, timber slots, dirt and debris accumulation of food and cobwebs. Among the damage caused by this mite infestation highlights the stress of birds, dermatitis and anemia, which can cause a decrease in production. Moreover, *D. gallinae* can also be transmitter the bacteria genus *Salmonella*, viruses of Newcastle disease and avian pox. Control strategies are mainly based on the use of chemical acaricides, which present risks to animals, poultry farmers and eggs consumers by residues in the eggs. Also, can select populations of resistant mites. Currently, the integrated management with use of less impactful strategies has been researched aiming their use at the field level. Among these strategies include the use of extracts and essential oils, inert powders (diatomaceous earth, silicas, talc), predators and entomopathogenic fungi. The entomopathogenic fungus has emerged as one of the most efficient techniques to control *D. gallinae* in laboratory conditions, but with a few field studies. The combination of these control strategies are also being studied aiming to find a method that is efficient and at the same time represents no risk to human and animal health.

Keywords: poultry, bloodsucking mites, control strategies, biological control

INTRODUÇÃO GERAL

No quarto trimestre de 2015, o Brasil atingiu a marca de 746,26 milhões de dúzias de ovos, apresentando uma queda de 0,5% na produção quando comparado com o trimestre anterior e um aumento de 3,8% quando comparado com o igual período de 2014. A produção brasileira tem mantido aumento constante de produção, inclusive na região sul do Brasil, onde esse aumento é impulsionado principalmente por investimentos registrados nos Estados do Paraná e do Rio Grande do Sul (IBGE, 2015).

No sistema de produção de ovos predomina o confinamento de galinhas poedeiras em aviários com gaiolas metálicas visando diminuir os custos de produção. Em contrapartida, favorece o aparecimento de algumas espécies de artrópodes-pragas, como moscas, piolhos e ácaros. Também, este sistema, tem sido apontado como prejudicial à saúde e ao bem-estar animal, pois limita atividades naturais das aves (Tucci et al., 1998; Axtell, 1999; Singh, Cheng e Silversides, 2008; Van Horne e Achterbosch, 2008; Pereira, 2009; Rios et al., 2009).

Dentre os ácaros, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) representa a espécie mais importante em nível de danos para as aves e perdas econômicas. O sucesso deste ácaro como praga de aviários se dá, principalmente, pelo fato de apresentar ciclo de vida curto, em torno de sete a 10 dias e também por conseguir permanecer no ambiente por longos períodos sem se alimentar, podendo reinfestar um novo lote de galinhas, mesmo após o período do vazio sanitário (Tucci e Guimarães, 1998; Cunha, 2013; Sparagano et al., 2014; Pritchard et al., 2015).

Os métodos de controle para este ácaro são baseados, principalmente, na utilização de acaricidas de origem química, cuja ação e mau uso têm levado ao desenvolvimento de populações de ácaros resistentes aos princípios ativos empregados.

Além disso, tais produtos representam risco ambiental, e para a saúde humana e de outros mamíferos, artrópodes não-alvo e podem deixar resíduos nos ovos (Liebisch et al., 2011; Schulz et al., 2014; Sparagano et al., 2014; Pritchard et al., 2015).

No Brasil, têm-se três produtos registrados junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para controle de *D. gallinae*, pertencentes a três grupos químicos (carbamatos, piretróides e organofosforados). Todos são ectoparasiticidas de uso externo para banho, pulverização ou polvilhamento (Compêndio de Produtos Veterinários, 2016).

Desse modo, novas formas de controle têm sido pesquisadas, destacando-se o uso de extratos e óleos essenciais, pós inertes, predadores naturais, vacinas, semioquímicos, métodos físicos e uso de bactérias e fungos entomopatogênicos (Pereira, 2009; Tavassoli et al., 2008; Magdas et al., 2010; Harrington et al., 2011; Schulz et al., 2014; Sparagano et al., 2014).

O controle biológico é uma estratégia mais segura quando comparada ao uso de acaricidas químicos, pois não apresentam riscos à saúde humana e dos animais, não deixam resíduos nos ovos e no meio ambiente além de serem mais seletivos não afetando populações de organismos não alvos.

O uso de fungos entomopatogênicos tem se apresentado como uma forma promissora do controle desta praga na avicultura, com resultados comprovados em laboratório e alguns em campo (Steenberg e Kilpinen, 2003; Steenberg, Kilpinen; Moore, 2006; Tavassoli et al., 2008; Kaoud, 2010; Tavassoli et al., 2011; Immediato et al., 2015; Kasburg et al., 2016, no prelo).

Dessa forma, visando à redução de impactos ambientais e na saúde, o uso de fungos entomopatogênicos tem grande potencial como uma estratégia segura e eficazno

controle de *D. gallinae* em aviários, principalmente, no Brasil, onde as pesquisas são escassas.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Biologia e importância de Dermanyssus gallinae

A família Dermanyssidae inclui ácaros fitófagos, saprófagos, predadores e parasitas hematófagos. Entre os ectoparasitas hematófagos destaca-se *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778), o qual apresenta ampla distribuição mundial sendo uma das mais importantes pragas avícolas, causando problemas a saúde e ao bem estar das aves (Lesna et al., 2009; Sparagano et al., 2009; Koenraadt e Dicke, 2010; Pritchard et al., 2015).

O ácaro *D. gallinae* apresenta tamanho em torno de 1,5mm, coloração variando de marrom escuro a vermelho intenso, dependendo da quantidade de sangue que tenham ingerido no respasto sanguíneo (Sillos, 2002; Sparagano et al., 2014). Após a alimentação, as fêmeas realizam a oviposição, sendo o período de incubação em torno de dois a três dias; durante toda a vida, uma fêmea pode liberar cerca de 25 ovos. O ciclo do ácaro completa-se entre sete e 10 dias, iniciando-se pela larva não hematófaga, caracterizada pela coloração branca cristalina, evolui para os estágios de protoninfa e deutoninfas hematófagas, fazendo com que as populações de ácaros aumentem em poucas semanas (Flechtmann, 1985; Tucci e Guimarães, 1998; Pereira, 2011; Cunha, 2013).

Este ácaro se desenvolve bem em temperaturas entre 25 a 30°C e umidade relativa em torno de 70 a 90%, com diferença para as temperaturas ótimas das fases de ovo até adulto e ocorrendo diminuição da população do ácaro nos períodos de inverno. Temperaturas negativas ou acima de 45°C são letais (Tucci e Guimarães, 1998, Tucci, Prado e Araújo, 2008; Mul et al., 2009; Othman, Abdallah, Abo-Omar, 2012).

A maior parte do ciclo de vida de *D. gallinae* ocorre fora do hospedeiro, onde permanece escondido durante o dia em fendas e frestas da madeira, em acúmulo de penas, poeiras, comida e teias de aranha e nas estruturas metálicas das gaiolas e durante a noite sai à procura das aves para o repasto sanguíneo (Tucci e Guimarães, 1998; Mul et al., 2009; Koenraadt e Dicke, 2010; Pereira, 2011; Sparagano et al., 2014).

Segundo Sillos (2002), infestações mais elevadas foram encontradas em aviários onde as estruturas eram basicamente de madeira quando comparados com aqueles onde haviam estruturas metálicas (comedouros, suportes). Nas estruturas de metal os ácaros concentravam-se quando havia acúmulo de poeira e penas.

Para localizar o hospedeiro, *D. gallinae* utiliza vários estímulos como a temperatura corporal das aves, sinais químicos (feromônios e cairomônios) e o dióxido de carbono eliminado pelas aves na respiração. O ácaro também é muito sensível a mudanças de temperatura, detectando variações muito pequenas as quais auxiliam na busca pelo hospedeiro, sendo mais evidente após períodos prolongados de jejum (Mul et al., 2009; Koenraadt e Dicke, 2010).

Em estudo de laboratório, Koenraadt e Dicke (2010) estudando o comportamento do ácaro, verificaram que penas velhas são mais atrativas que penas recém retiradas das galinhas, pois estas apresentam substâncias resultantes da degradação microbiana dos lipídios da glândula uropigial, auxiliando na localização do hospedeiro. Também verificaram que ácaros alimentados movem-se em menor velocidade e estão mais empenhados em procurar seus co-específicos para agregarem-se, enquanto que ácaros não alimentados movem-se mais rápido, focados em encontrar o hospedeiro.

Mesmo na falta de alimento, *D. gallinae* pode realizar a hematofagia em outras aves silvestres ou domésticas que possam entrar em contato com o aviário em busca de

comida, ou até mesmo em animais como gatos, cães, bovinos e equinos. O período de alimentação pode variar de 30 a 60 minutos sobre o hospedeiro e ocorre a cada dois ou quatro dias, iniciando algumas horas após o período de escuro. Cada ácaro pode ingerir cerca de 0,2µL em cada alimentação, que usualmente é feita à noite. Contudo, há situações em que os ácaros podem se alimentar também durante o dia (Mul et al., 2009; Sparagano et al., 2014)

Infestações por *D. gallinae* ocasionam grandes perdas econômicas, pois estes debilitam as aves causando estresse, bicagem, dermatite, distúrbios do sono, perda de peso e de penas, diminuição da produção de ovos, perda da qualidade do ovo devido a manchas de sangue, anemia devido à hematofagia e, em casos mais graves, podem causar a morte do animal (Pereira, 2011; Rezende et al., 2013).

Outros fatos observados dizem respeito ao consumo de água pelas aves, que pode aumentar em aviários infestados, causando também aumento do consumo de ração, porém com baixa conversão alimentar pelas aves, redução visível da qualidade das penas e alterações no sistema imune, em reação à infestação e hematofagia, como diminuição dos níveis de γ -globulina no plasma das aves infestadas com *D. gallinae*, indicando estresse crônico das galinhas. Tais respostas podem ser variáveis de acordo com o genótipo e resposta imune das aves e levam à redução na produção de ovos e aumento da mortalidade das aves (Mul et al., 2009; Kowalski e Sokol, 2009).

Como *D. gallinae* ataca a noite, período de descanso das aves, elas se movimentam tentando se livrar dos ácaros e ficam mais agitadas, pois não conseguem se livrar dos mesmos, devido à limitação imposta pelo tamanho da gaiola, número de animais por gaiola e por terem as unhas e os bicos cortados (Sillos, 2002).

Além destes prejuízos, este ácaro pode atuar com agente transmissor de alguns patógenos. Entre bactérias, destacam-se o gênero *Salmonella enterica* Sorotipos

Gallinarum e Enteritidis, *Escherichia coli*, *Coxiella burnetii*, *Streptomyces* spp., entre outras. Também pode ser transmissor do paramixovírus aviário Tipo I (vírus da doença de Newcastle), vírus da encefalite de Saint Louis, vírus da encefalite equina causada por diferentes espécies do gênero *Alphavirus*. Na maioria dos casos, a infecção por estes microrganismos se deu após repasto sanguíneo em animais infectados pelos agentes patogênicos (Moro, Chauce e Zenner, 2005; Magdas et al., 2006; Moro et al., 2009).

A dispersão deste ácaro de uma granja para outra ou entre animais pode ocorrer pelo trânsito de pessoas, compartilhamento de utensílios ou equipamentos, acúmulo de entulhos que podem servir de abrigo aos ácaros e contato com outros animais e aves parasitadas (Rezende et al., 2013).

Baseado em todas estas características, *D. gallinae* é apontado como um dos principais ectoparasitas de importância econômica e veterinária que ocorre em granjas de postura no Brasil e no mundo (Lesna et al., 2009).

Estratégias de Controle do ácaro vermelho Dermanyssus gallinae

Para se iniciar um método de controle, medidas de observação visual e monitoramento com armadilhas são indispensáveis. O desenvolvimento de armadilhas que sejam eficientes para monitoramento e que, além disso, também podem ser usadas com atrativos ou produtos químicos e biológicos para auxiliar no controle estão sendo pesquisadas. Armadilhas confeccionadas em papel corrugado, plástico, tubos de PVC e bambu se apresentaram eficientes para captura de ácaros, auxiliando na estimativa da população (Lundh, Wikteliuss e Chirico, 2005; Nordenfors e Chirico, 2001; Cunha, 2013).

Atualmente, o principal desafio para os avicultores, no Brasil e no mundo, está relacionado aos métodos de controle disponíveis para eliminação do ácaro.

O método tradicionalmente adotado é baseado na utilização de acaricidas e inseticidas químicos, dentre os quais muitos não são registrados para uso contra *D. gallinae*. Frente a essa situação, várias pesquisas, principalmente, na Europa e na Ásia foram e são realizadas para se encontrar métodos alternativos de controle.

Além de um produto eficaz, o sucesso do controle exige que o avicultor esteja atento aos focos do ácaro e que não somente recorra ao uso de acaricidas, mas que sejam adotadas táticas integradas de manejo, como por exemplo, fazer a limpeza do aviário, retirando acúmulos de penas, fezes e restos de comida, que podem servir de abrigo ao ácaro; evitar o contato das aves com outros animais, como ratos e aves silvestres, que podem ser atraídas pela comida e o tráfego de pessoas entre locais infestados (Pereira, 2009; Sparagano et al., 2014).

Controle Químico

O uso de produtos químicos contra *D. gallinae* é a forma convencional de controle utilizada pelos avicultores. A grande maioria dos acaricidas utilizados pertence aos grupos químicos dos piretróides, organofosforados e carbamatos, sendo os dois últimos considerados tóxicos para aves e mamíferos devido à inativação da enzima hepática acetilcolinesterase. Muitos outros produtos, inclusive de ampla utilização agrícola ou não registrados, vêm sendo usados contra *D. gallinae*, acarretando problemas e tornando o controle cada vez mais difícil (Thind e Ford, 2007; Pereira, 2009; Sparagano et al., 2014).

Em alguns países da Europa, utilização indiscriminada e incorreta de acaricidas tem selecionado populações resistentes em várias regiões. Muitas substâncias tiveram sua utilização proibida e muitas foram banidas pela União Européia, devido aos resíduos presentes nos ovos e animais e que representam para a saúde humana (Nordenfors et al., 2001; Thind et al., 2007; Marangi et al., 2009, 2012).

Em estudo realizado por Marangi et al. (2012), amostras de tecidos foram coletadas de um grupo de aves abatidas para consumo visando analisar e verificar o teor residual de carbaril (atualmente proibido na União Européia) e permetrina, compostos muito utilizados em diversos locais para controle de *D. gallinae*. Carbaril foi identificado em mais de 40% das amostras, estando presente principalmente na gordura, pele e órgãos, e em algumas amostras, sua concentração era superior ao permitido pela antiga legislação. Ao final da amostragem, os autores verificaram que mais de 80% das aves selecionadas se apresentavam positivas para o composto carbaril e mais de 8% eram positivas para permetrina.

Na Europa, cipermetrina e a α -cipermetrina têm sido amplamente usados contra o ácaro vermelho, apesar da sua eficácia ter sido questionada por muitos avicultores. Thind e Ford (2007), ao testar esses dois compostos para *D. gallinae* de quatro regiões diferentes, observaram que em duas regiões onde o uso era contínuo as populações eram mais tolerantes do que nas outras onde o uso passava por um intervalo de tempo.

No Brasil, resíduos de acaricidas foram detectados em ovos coletados em supermercados no Estado de São Paulo. Foram encontrados resíduos de 44 produtos químicos, e dentre os produtos químicos encontrados estava o herbicida alacloro (Ciscato 2008). Em um estudo no Estado do Paraná foram encontrados resíduos em ovos de aldicarbe (carbamato) e dimetoato (organofosforado), os quais não possuem registro veterinário (Romão, 2007).

Em São Paulo, devido à ocorrência de resistência a piretróides, carbamatos e organofosforados o uso destes pesticidas não é recomendado (Tucci e Araújo, 2000). Uma suposta resistência também foi observada por Sillos (2002) em aviários da região de Curitiba – PR. Um dos fatores que contribuem para o insucesso do controle químico também está relacionado à aplicação, já que os ácaros passam o dia agregados em abrigos e nem sempre tais focos são atingidos pelos produtos. Nestes casos, a população tende a aumentar em um período de tempo cada vez mais curto (Pereira, 2009).

Na Europa, o produto ByeMite® (foxim 50%, Bayer) foi testado contra *D. gallinae* em condições de campo, com eficácia de 96% após 3 dias da aplicação, e ultrapassando os 99% até atingir 49 dias (Meyer- Kühling et al., 2007).

Para verificar a segurança de foxim, Hamscher, Prieb e Nau (2007) avaliaram a quantidade de resíduos presentes nos ovos e observaram que, mesmo sendo largamente empregados, os resíduos de foxim se mantiveram dentro da faixa limite de $60 \mu\text{g kg}^{-1}$ ($5,7 - 51,6 \text{ mg/kg}^{-1}$).

Estudos mais recentes mostraram a eficiência de espinosade (composto fermentado da bactéria *Saccharopolyspora spinosa*) contra *D. gallinae* foi demonstrada por George et al., (2010) e Liebisch, Hack e Smid (2011). No Brasil, há alguns produtos à base de espinosade registrados para pragas de culturas agrícolas, mas não há registros junto ao órgão competente para uso contra *D. gallinae* (Agrofit, 2016).

A utilização de óleo mineral também foi avaliada contra *D. gallinae* em condições de laboratório e de campo por Guimarães e Tucci (1992). O óleo foi eficaz para todas as formas móveis, exceto para os ovos, demonstrando que o óleo tem ação sobre a respiração dos ácaros. Esta alternativa de controle além de se mostrar eficiente não deixa resíduos e não prejudica a saúde dos animais.

Óleos essenciais e extratos vegetais

Devido a toda problemática relatada com o controle químico e seus efeitos na saúde e no meio ambiente, óleos essenciais e extratos de plantas são pesquisados para controle e repelência de insetos pragas em cultivos agrícolas e no manejo de pragas de interesse veterinário, e dentre os produtos de origem vegetal mais utilizados, destacam-se o piretro, a rotenona, o neem e os óleos essenciais (Isman, 2006; George et al., 2008a).

Especificamente para *D. gallinae*, George et al. (2008b) testaram a ação acaricida de quatro óleos essenciais (tomilho, cominho, palmarosa e zimbro) e verificaram maior eficiência quando os ácaros estavam em um período de abstinência de alimentação. Sendo assim, os autores indicam a utilização destes óleos para a higienização dos aviários bem como sua aplicação no período que compreende a saída e a entrada de um novo lote de aves. Quando comparados à ação individual de cada óleo, tomilho e cominho foram mais eficazes que zimbro e palmarosa.

Testando a ação acaricida de 56 óleos essenciais, Kim et al. (2004) obtiveram 100% de mortalidade contra *D. gallinae* na concentração de $0,07 \text{ mg cm}^{-2}$ impregnada em papel filtro para os óleos de cade, canela, cravo-da-india, coentro, rábano, limão galego, mostarda, poejo, pimenta, hortelã, tomilho vermelho e tomilho branco. Essa eficácia, porém, baixou quando a concentração diminuiu para $0,02 \text{ mg cm}^{-2}$. Nos testes de fumigação na concentração de $0,28 \text{ mg cm}^{-2}$, os óleos de cade, cravo-da-india, coentro, rábano e mostarda destacaram-se dos demais, sendo mais eficazes em ambientes fechados (100% de mortalidade) do que em abertos (2 a 5% de mortalidade).

Na avaliação em campo da ação de armadilhas de papel corrugado impregnado com óleo de neem a 20%, Lundh, Wikteliuss e Chirico (2005) verificaram que ao final de quatro semanas de avaliação a população de *D. gallinae* diminuiu aproximadamente

92%. O neem possui ação inseticida comprovada para muitas espécies devido as seus vários componentes que apresentam propriedades inseticidas ou acaricidas.

Testando a ação acaricida de 11 óleos essenciais contra *D. gallinae*, Magdas et al. (2010) utilizaram as concentrações de 0.2; 0.4 e 0.6 mg/cm² impregnadas em papel filtro e as avaliações foram realizadas com 24, 48 e 72 horas de exposição. Os resultados revelaram que os óleos mais eficientes foram de manjerição (51 a 100%), coentro (56,6 a 100%), hortelã-pimenta (53,3 a 100%) e segurelha (56,6 a 100%).

Para avaliar a ação acaricida de *Artemisia vulgaris* L. contra *D. gallinae*, Soares (2012) testou a ação do óleo essencial e do extrato etanólico e verificou que o óleo essencial foi eficiente nas concentrações de 15 e 20%, com uma porcentagem de mortalidade de 75 e 96,67%, respectivamente. Já para o extrato etanólico apenas a concentração de 0,875 mg/cm² foi eficaz, diferindo do grupo controle e apresentando uma mortalidade de 22,47%.

Na avaliação de três terpenos (eugenol, geraniol e citral) nas concentrações de 1, 10 e 100%, Sparagano et al. (2013) demonstraram que todos foram eficientes contra *D. gallinae* na concentração máxima, causando 100% de mortalidade. Já na concentração de 10%, eugenol causou 54,5% de mortalidade enquanto que citral e geraniol 34,6 e 20,7% de mortalidade, respectivamente. Apenas eugenol teve eficácia na concentração de 1% com 19,2% de mortalidade.

Também, carvacrol, timol e farnesol foram testados contra *D. gallinae*, em comparação à permetrina. Os compostos carvacrol e timol foram considerados tóxicos para *D. gallinae*, apresentando uma DL50 de 1 e 3.15 µg/cm³, respectivamente, enquanto que a permetrina apresentou DL50 de 31.95µg/cm³, comprovando assim a eficiência de carvacrol contra o ácaro (Tabari et al. 2015).

Apesar da eficiência, os óleos essenciais e extratos apresentam a desvantagem da variação química que pode ocorrer dentro de uma variedade da mesma espécie vegetal, e esta pode ser influenciada principalmente por fatores como sazonalidade, origem, modo de extração, solvente usado, período da colheita e condições de secagem e armazenamento. Como solução para este problema, a identificação e isolamento dos compostos com ação inseticida e acaricida são essenciais para a síntese de novas moléculas e de métodos de aplicação (Sparagano, et al., 2013).

Avaliando a ação acaricida dos extratos foliares de espécies de *Coffea* sobre *D. gallinae*, Morrone et al. (2001) comprovaram uma elevada atividade acaricida para os extratos clorofórmicos de *C. racemosa* (100%), *C. canephora* (100%), *C. salvatrix* (82%), *C. stenophylla* (73%), *C. arabica* (83%) e no extrato etanólico de *C. canephora* (90%). Demais extratos etanólicos variaram a mortalidade entre 45 e 62% e os extratos aquosos registrou-se as menores mortalidades, variando entre 5 e 25%.

Ressalta-se que as pesquisas nessa área são relativamente recentes e ainda são necessários muitos testes, tanto em laboratório quanto em campo, para que se alcance no futuro produtos com boa empregabilidade em nível de campo.

Pós Inertes

Os pós inertes são conhecidos e utilizados na avicultura para controle de do cascudinho, *Alphitobius diaperinus*, sendo esses sílicas, terra de diatomáceas, caulins e talcos. Há também estudos envolvendo cal hidratada para controle de larvas e adultos de *A. diaperinus* e também como sanitizante e secante das fezes, diminuindo odores e proliferação de moscas (Watson et al., 2003; Alves et al., 2006; Alves, Oliveira & Neves, 2008, Alves et al., 2015, dados em publicação).

A utilização de pós inertes vem ganhando destaque justamente pelo fato de não ocorrer resistência por parte dos insetos e com baixa toxicidade para as aves e os seres humanos. Esses materiais, principalmente, as sílicas, atuam por contato, aderindo ao tegumento, ocasionando um processo físico de dessecação através da remoção da camada de lipídios que protege o inseto. Para *D. gallinae*, há vários trabalhos que demonstram a sua eficácia desses pós, tanto em laboratório quanto em campo (Maurer & Perler, 2006; Kilpinen & Steenberg 2009; Maurer et al., 2009; Schulz et al., 2014, Amalin et al., 2015).

A maioria dos produtos disponíveis no mercado estão na forma de pó, dificultando assim a sua aplicação e podendo causar problemas alérgicos devido à aspiração. Porém, novos métodos de aplicação têm demonstrado que os pós em formulações líquidas, fluídas ou em gel podem ser utilizados com mais facilidade e apresentam a mesma eficácia que a sílica em pó (Maurer & Perler, 2006; Mul et al., 2009, Santesson, 2013).

Métodos físicos

Temperaturas de -20 e acima de 45°C são letais para *D. gallinae*. Apesar de eficiente, pode se mostrar pouco eficaz, caso a temperatura não seja homogênea por todo o aviário, não combatendo todos os ácaros. Também é um método que demanda maior investimento do avicultor e deve-se tomar muito cuidado para não afetar a saúde das aves (Tucci, Prado e Araújo, 2008; Mul et al., 2009). Por isso, é um método que pode ser combinado com outras formas de controle, sendo mais indicado utilizá-lo durante o período de vazio do aviário. Também é relatado o uso, por alguns avicultores,

de lança-chamas nas estruturas metálicas para controle dos ácaros aglomerados nestas estruturas.

A iluminação também pode ser um método físico de controle, de forma que períodos intercalados de claro e escuro poderiam ser aplicados a fim de diminuir a frequência de alimentação dos ácaros. Porém, com o decorrer do tempo é possível que os ácaros se adaptem e passem a se alimentar mesmo nos períodos de iluminação (Sparagano et al., 2014).

Vacinas

Outra estratégia de controle que têm ganhado destaque diz respeito ao desenvolvimento de vacinas, as quais estão sendo testadas visando melhorar e desenvolver o sistema de defesa das aves. As linhas de pesquisa nessa área concentram-se em induzir anticorpos do sangue das aves a gerar uma resposta imune conferindo as aves proteção contra *D. gallinae*. (Arkle et al., 2008).

Os avanços nessa área ainda são poucos e lentos principalmente pela falta de conhecimento da relação entre *D. gallinae* e seu hospedeiro. Alguns estudos analisam a possibilidade de desenvolver uma vacina baseada na utilização de proteínas homólogas, antígenos somáticos, proteínas imunorreativas e também na utilização de proteínas recombinantes de outras espécies (Sparagano et al., 2014; Bartley et al., 2015).

Controle comportamental

Os ácaros utilizam cairomônios e feromônios no processo de agregação e, apesar de serem recentes, os estudos apontam para a utilização de tais compostos em iscas para

armadilhas, auxiliando tanto no processo de monitoramento, ou ainda interferir no processo de agregação e reprodução. Além disso, destaca-se também a atratividade que as penas das aves e o CO₂ exercem sobre os ácaros (Koenraadt e Dicke, 2010).

Controle Biológico

Organismos Predadores

A utilização de inimigos naturais pode ser muito eficiente, mas depende muito do ambiente e da dinâmica populacional da praga e do predador (Sparagano et al., 2014).

Entre os insetos que apresentam sucesso no controle de *D. gallinae*, destaca-se a tesourinha. Estas se adaptam bem ao ambiente dos aviários podendo viver nas estruturas metálicas e de madeira, sempre próximo aos locais de acúmulo dos ácaros, auxiliando na redução da população (Pereira, 2009).

Outras espécies que apresentam potencial para serem usadas para controle de *D. gallinae*, conforme demonstrado por Lesna et al. (2009, 2012), são os ácaros predadores *Hypoaspis aculeifer* (G. Canestrini), *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) e *Androlaelaps casalis* (Berlese), os quais podem ocorrer naturalmente em aviários.

Ressalta-se que os ácaros predadores representam uma alternativa promissora, principalmente se atuarem sobre todos os estágios da presa. Ácaros predadores com potencial precisam ter uma dinâmica populacional capaz de manter a população de *D. gallinae* abaixo do nível de dano. Baseado nos hábitos de *D. gallinae*, os estudos com predadores devem contemplar o seu comportamento gregário nos esconderijos durante o dia, caso contrário esses predadores seriam ingeridos pelas galinhas (Mul et al., 2009).

Por isso, é necessária a criação massal de predadores para que estes possam ser liberados nos aviários, e é necessário verificar ainda o método usado para liberação, o microclima presente no aviário e a seletividade dos produtos químicos para controlar outras pragas, os quais podem acabar por eliminar também os predadores (Sparagano et al., 2014)

Fungos Entomopatogênicos

O uso de fungos entomopatogênicos na avicultura é muito recente se comparado ao uso na produção vegetal (Chandler et al., 2000; Oliveira et al., 2014).

Estudos recentes realizados para controle de *D. gallinae* têm utilizado os fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma album* e *Paecilomyces fumosoroseus* (*Isaria fumosorosea*), em laboratório e em campo (Steenberg e Kilpinen, 2003; Steenberg, Kilpinen e Moore, 2006; Tavassoli et al., 2008; Kaoud, 2010; Tavassoli et al., 2011).

Devido aos resultados promissores, os fungos destacam-se como a grande promessa do controle biológico de ácaros na avicultura. A capacidade do fungo em matar o ácaro e crescer sobre o cadáver produzindo mais esporos o mantém persistente no ambiente com capacidade de infectar outros ácaros. Os fungos se mostram relativamente seletivos quanto aos seus hospedeiros, aspecto muito importante no controle de pragas, pois isso dificulta a infecção infecte organismos não-alvos. São seguros para outros animais, para os seres humanos e para o meio ambiente além de apresentarem capacidade para se desenvolver nas temperaturas e umidades que ocorrem em um aviário (Mul et al., 2009).

No primeiro estudo realizado, Steenberg e Kilpinen (2003) utilizaram seis isolados de fungos entomopatogênicos para controle de *D. gallinae* e verificaram que os isolados de *B. bassiana* se apresentaram mais virulentos quando comparados com *M. anisopliae* e *P. fumosoroseus*, com uma mortalidade de 60%, após cinco dias de incubação.

Em outro estudo, foram avaliados três isolados de *B. bassiana* e dois de *M. anisopliae* para controle de *D. gallinae* e, mais uma vez, *B. bassiana* obteve resultados superiores aos encontrados com *M. anisopliae*. No experimento simulando uma situação de campo, o isolado selecionado foi aplicado na estrutura do aviário, porém os resultados não foram satisfatórios, sugerindo que mais testes fossem realizados (Steenberg, Kilpinen e Moore, 2006).

Três isolados de *M. anisopliae* (685, V245 e 715 C) em quatro concentrações (1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6) foram testadas em laboratório nas fases de ninfa e adultos de *D. gallinae* por Tavassoli et al. (2008). Todos os isolados foram patogênicos para os estágios de ninfas e adultos, e a mortalidade aumentou conforme o tempo de exposição e a concentração utilizada, revelando o potencial de controle destes isolados. Os isolados V 245 e 715C foram selecionados.

Esses isolados, além de um isolado de *M. anisopliae* (3247) foram testados em campo em duas concentrações (1×10^7 e 1×10^9) (Tavassoli et al., 2011). Na menor concentração testada não houve diferença significativa entre os isolados e com a testemunha. Resultados significativos foram obtidos na maior concentração, demonstrando o potencial desses fungos tanto em laboratório quanto em campo frente a *D. gallinae*.

Também avaliando a aplicação direta dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *T. album* contra *D. gallinae*, Kaoud (2010) verificou elevada mortalidade

com *T. album* (90%) e com *B. bassiana* (65%), em apenas cinco dias. Quando os fungos foram pulverizados sobre *D. gallinae*, a mortalidade atingiu 80% para *B. bassiana* e 100% tanto para *T. album* isoladamente como para a mistura dos dois fungos.

Avaliando, em laboratório, a ação acaricida de um isolado de *B. bassiana* contra ninfas e adultos de *D. gallinae* nas concentrações de 10^5 , 10^7 e 10^9 , Immediato et al. (2015) verificaram que a mortalidade para adultos atingiu 100% para adultos e ninfas em 12 e 14 dias, respectivamente, demonstrando que este fungo é uma alternativa promissora para o controle do ácaro vermelho.

Contudo, não são conhecidos estudos desenvolvidos no Brasil, apesar da relevância da praga no contexto da produção avícola brasileira. As populações de ácaros existentes no Brasil estão adaptadas a um clima e manejo diferente do encontrado em aviários da Europa e na Ásia, justificando assim, o desenvolvimento desta área de pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves LFA, Buzarello GD, Oliveira DGP, Alves S.B. 2006. Ação da terra de diatomácea contra adultos do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae). Arq. Inst. Biol. 73 (1): 115-118

Alves LFA, Oliveira DGP, Neves PMOP. 2008. Fatores que afetam a eficiência da terra de diatomácea no controle de adultos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Neotrop. Entomol. 37(6): 716-722

Alves LFA, Martins CC, Nardelli MS, Alves VM. 2015. *In vitro* assay and morphological characterization of a new product based on diatomaceous earth for lesser mealworm control in poultry houses. Dados em publicação.

Agrofit. Espinosade. Disponível em:
http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons!/ap_ing_ativo_detalhe_cons?p_id_ingrediente_ativo=231. Acessado em: 08/03/2016

Arkle S, Harrington D, De Luna C, George D, Guy J, Sparagano OA. 2008. Immunological control of poultry red mite: the use of whole mite antigens as a candidate vaccine. Annals. N.Y. Acad. Sci., 1149: 36-40

Axtell RC. Poultry integrated pest management: Status and future. 1999. Integrated Pest Manag. Rev., 4(1): 53-73

Bartley K, Wright HW, Huntley JF, Manson ED, Inglis NF, McLean K, Nath M, Bartley Y, Nisbet AJ. 2015. Identification and evaluation of vaccine candidate antigens from the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). Int J Parasitol. 45(13): 819-830

Chandler D, Davidson G, Pell JK, Ball BV, Shaw K, Sunderland KD. 2000. Fungal Biocontrol of Acari. Biocontrol. Sci. Techn.10 (4): 357-384

Ciscato CHP. 2008. Resíduos de praguicidas em amostras de ovo comercializadas na cidade de São Paulo. Tese de Doutorado em Patologia Experimental e Comparada. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo.

Compêndio de Produtos Veterinários. Acessado em março de 2016. <http://www.cpv.com.br/cpv/pesquisar.aspx>. Acessado em: 2016

Cunha LM. 2013. Aspectos epidemiológicos relacionados à ocorrência de ácaros hematófagos em granjas comerciais de postura no estado de Minas Gerais e avaliação de armadilhas para captura de *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) (De Geer, 1778). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte

Flechtmann CHW. 1985. Ácaros de importância médico-veterinária. São Paulo, 3ª ed. Nobel; 192p

George DR, Guy JH, Arkle S, Harrington D, De Luna C, Okello EJ, Shiel RS, Port G, Sparagano OAE. 2008a. Use of plant-derived products to control arthropods of veterinary importance: a review. *Annals. N.Y. Acad. Sci.* 1149: 23–26

George DR, Smith TJ, Sparagano OAE, Guy JH. 2008b. The influence of ‘time since last blood meal’ on the toxicity of essential oils to the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *Vet. Parasitol.* 155(3-4): 333–335

George DR, Shiel RS, Appleby WG, Knox A, Guy JH. 2010. In vitro and in vivo acaricidal activity and residual toxicity of spinosad to the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Vet. Parasitol.* 173(3-4): 307–316

Guimarães JH, Tucci EC. 1992. Avaliação da eficiência do óleo mineral no controle do *Dermanyssus gallinae* (DE GEER, 1778) (Acari, Dermanyssidae), em condições de laboratório. *Rev. Bras. Entomol.* 36(4): 859-862

Hamscher G, Prieb B, Nau B. 2007. Determination of phoxim residues in eggs by using high-performance liquid chromatography diode array detection after treatment of stocked housing facilities for the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *Anal.Chim. Acta.* 586(1-2): 330–335

Harrington DWJ, George DR, Guy JH, OAE Sparagano. 2011. Opportunities for integrated pest management to control the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *World's Poultry Sci. J.* 67(1): 83-94

IBGE – Instituto Brasileiro de Biografia e Estatística. Produção de Ovos de Galinha. In: Estatística da Produção Pecuária. Acessado em março de 2016: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201504_publ_completa.pdf

Immediato D, Camarda A, Iatta R, Puttilli M.R, Ramos RAN, Di Paola G, Giangaspero A, Otranto D, Cafarchia C. 2015. Laboratory evaluation of a native strain of *Beauveria bassiana* for controlling *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae). Vet. Parasitol. 212 (3-4):478-482

Isman MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Ann. Rev. Entomol. 51: 45–66

Kaoud HA. 2010. Susceptibility of poultry red mites to entomopathogens. Int. J. Poult. Sci. 9(3): 259-263

Kilpinen O, Steenberg T. 2009. Inert dusts and their effects on the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). Exp. Appl. Acarol. 48(1-2): 51–62

Kim SI, Yi JH, Tak JH, Ahn YJ. 2004. Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Vet. Parasitol. 120(4): 297–304

Koenraad CJM, Dicke M. 2010. The role of volatiles in aggregation and host-seeking of the haematophagous poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Exp. Appl. Acarol. 50(3): 191–199

Kowalski A, Sokół R. 2009. Influence of *Dermanyssus gallinae* (poultry red mite) invasion on the plasma levels of corticosterone, catecholamines and proteins in layer hens. Pol. J. Vet. Sci. 12(2): 231-235

Lesna I, Wolfs P, Faraji F, Roy L, Komdeur J, Sabelis MW. 2009. Candidate predators for biological control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Exp. Appl. Acarol. 48(1): 63-80

Lesna I, Sabelis MW, Niekerk TGCM, Komdeur J. 2012. Laboratory tests for controlling poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) with predatory mites in small 'laying hen' cages. Exp. Appl. Acarol. 58(4): 371–383

Liebisch G, Hack R, Smid G. 2011. Efficacy of spinosad against the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Mesostigmata: Dermanyssidae), in laboratory and field trials. In: Moraes, G.J. e Proctor, H. (eds) Acarology XIII: Proceedings of the International Congress. Zoosymposia. 6: 282–287

Lundh J, Wiktelius D, Chirico J. 2005. Azadirachtin-impregnated traps for the control of *Dermanyssus gallinae*. Vet. Parasitol. 130(3-4): 337–342

Magdas C, Chirilă F, Fit N, Criste A, Baci H. 2006. Epidemiologic study of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) infestation in birds, from three localities on Cluj area. Bulletin USAMV-CN. 63(1-2): 309-314

Magdas C, Cernea M, Baciú H, Şuteu E. 2010. Acaricidal effect of eleven essential oils against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Sci. Parasitol.* 11(2): 71-75

Marangi M, Cafiero M.A, Capelli G, Camarda A, Sparagano OAE, Giangaspero A. 2009. Evaluation of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) susceptibility to some acaricides in field populations from Italy. *Exp. Appl. Acarol.* 48(1-2): 11–18

Marangi M, Morelli V, Pati S, Camarda A, Cafiero MA, Giangaspero A. 2012. Acaricide residues in laying hens naturally infested by red mite *Dermanyssus gallinae*. *PLoS One.* 7(2): 1-6

Maurer V, Perler E. 2006. Silicas for control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Joint Organic Congress, Odense. Denmark. 30-31

Maurer V, Perler E, Heckendorn F. 2009. In vitro efficacies of oils, sílicas and plant preparations against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Exp. Appl. Acarol.* 1(2): 31–41

Meyer-Kühling B, Pfister K, Müller-Lindloff J, Heine J. 2007. Field efficacy of phoxim 50% (ByeMite[®]) against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* in battery cages stocked with laying hens. *Vet. Parasitol.* 147(3-4): 289-296

Moro CV, Chauve C, Zenner L. 2005. Vectorial role of some dermanyssoid mites (Acari, Mesostigmata, Dermanysoidea). *Parasite*, 12 (2): 99-109

Moro CV, De Luna CJ, Tod A, Guy JH, Sparagano OAE, Zenner L. 2009. The poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*): a potential vector of pathogenic agents. *Exp. Appl. Acarol.* 48(1-2): 93-104

Morrone F, Mayworm MAS, Tucci EC, Salatino A, Guerreiro Filho O. 2001. Ação acaricida de extratos foliares de espécies de *Coffea* (Rubiaceae) sobre *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari, Dermanyssidae). *Arq. Inst. Biol.* 68(2): 43-47

Mul M, Van Niekerk T, Chirico J, Maurer V, Kilpinen O, Sparagano O, Thind B, Zoons J, Moore D, Bell B, Gjevre AG, Chauve C. 2009. Control methods for *Dermanyssus gallinae* in systems for laying hens: results of an international seminar. *World's Poultry Sci. J.* 65: 589-599

Nordenfors H, Höglund J, Tauson R, Chirico J. 2001. Effects of permethrin impregnated plastic strips on *Dermanyssus gallinae* in loose housing systems for laying hens. *Vet. Parasitol.* 102(1-2): 121-131

Nordenfors H, Chirico J. 2001. Evaluation of a sampling trap for *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *J. Econ. Entomol.* 94(6): 1617-1621

Oliveira DGP, Alves LFA Sosa-Gomez DR. 2014. Advances and perspectives of the use of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for the control of arthropod pests in poultry production. Rev. Bras. Cienc. Avic. 16(1): 01-12

Othman RA, Abdallah JM, Abo-Omar J. 2012. Prevalence of the red mite (*Dermanyssus gallinae*) in layer flocks in four districts in northern West Bank, Palestine. OJAS. 2(2):106-109

Pereira MC. 2009. Ectoparasitose. In: Revolledo L, Ferreira AJP, (eds.). Patologia Aviária. 1ª ed. Cap. 34: 322-327

Pereira DMC. 2011. *Dermanyssus gallinae* em galinhas poedeiras em bateria: carga parasitária, ação vectorial e ensaio de campo de um biopesticida. Dissertação. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, Portugal

Pritchard J, Kuster T, Sparagano O, Tomley F. 2015. Understanding the biology and control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*: a review. Avian Pathol. 44(3): 143-153

Rezende LC, Cunha LM, Teixeira CM, Oliveira PR, Martins NRS. 2013. Mites affecting hen egg production – some considerations for Brazilian farms. Cien. Rural. 43(7): 1230-1237

Rios RL, Bertechini AG, Carvalho JCC, Castro SF, Costa VA. Effect of cage density on the performance of 25- to 84-week-old laying hens. 2009. Rev. Bras. Cienc. Avic. 11(4): 257-262

Romão GO. 2007. Ocorrência de resíduos de dimetoato e aldicarb em ovos produzidos na região norte do estado do Paraná. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná

Santesson S. 2013. Evaluation of Ectopar for the control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Second cycle. Uppsala: SLU, Department of Animal Nutrition and Management. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-s-2299>

Schulz J, Berk J, Suhl J, Schrader L, Kaufhold S, Mewis I, Hafez MH, Ulrichs C. 2014. Characterization, mode of action, and efficacy of twelve silica-based acaricides against poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) *in vitro*. Parasitol. Res. 113(9): 3167-3175

Sillos PR. 2002. Sazonalidade e teste de eficácia com drogas contra o *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) e *Ornithonyssus sylviarum* (Canestrini & Fanzago, 1877) nas granjas de postura da região metropolitana de Curitiba. Dissertação de Pós Graduação em Ciências Veterinárias – UFPR, Curitiba, Paraná

Singh R, Cheng KM, Silversides FG. 2009. Production performance and egg quality of four strains of laying hens kept in conventional cages and floor pens. Poult. Sci. 88(2): 256-264

Soares LB. 2012. A constituição química do óleo essencial de folhas, atividade fungicida e acaricida de *Artemisia vulgaris* L. e potencial aplicação na avicultura industrial. Dissertação de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio. Instituto Biológico. São Paulo, Brasil

Sparagano O, Pavlicevic A, Murano T, Camarda A, Sahibi H, Kilpinen O, Mul M, Emous R, Bouquin S, Hoel K, Cafiero MA. 2009. Prevalence and key figures for the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* infections in poultry farm systems. *Exp. Appl. Acarol.* 48(1-2): 3–10

Sparagano O, Khallaayoune K, Duvallet G, Nayak S, George D. 2013. Comparing Terpenes from Plant Essential Oils as Pesticides for the Poultry Red Mite (*Dermanyssus gallinae*). *Transbound. Emerg. Dis.* 60(2): 150-153

Sparagano OAE, George DR, Harrington DWJ, Giangaspero A. 2014. Significance and Control of the Poultry Red Mite, *Dermanyssus gallinae*. *Ann. Rev. Entomol.* 59: 447-466

Steenberg T, Kilpinen O. 2003. Fungus infection of the chicken mite *Dermanyssus gallinae*. *Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes. IOBC-WPRS Bulletin.* 26 (1): 23-25

Steenberg, T, Kilpinen O, Moore D. 2006. Fungi for control of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Proceedings of the International Workshop “Implementation of Biocontrol in Practice in Temperate Regions – Present and Near Future. Dias Report. 119: 71-73

Tabari MA, Youssefi MR, Barimani A, Araghi A. 2015. Carvacrol as a potente acaricide against *Dermanyssus gallinae*. Parasitol Res. 114(10): 3801-3806

Tavassoli M, Ownag A, Pourseyed H, Mardani K. 2008. Laboratory evaluation of three strains of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for controlling *Dermanyssus gallinae*. Avian Pathol. 37(3): 259-263

Tavassoli M, Allymehr M, Pourseyed SH, Ownag A, Bernousi I, Mardani K, Ghorbanzadegan M, Shokrpour S. 2011. Field bioassay of *Metarhizium anisopliae* strains to control the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Vet. Parasitol. 178(3-4): 374-378

Thind BB, Ford HL. 2007. Assessment of susceptibility of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) to some acaricides using an adapted filter paper based bioassay. Vet. Parasitol. 144(3-4): 344-348

Tucci EC, Guimarães JH. 1998. Biologia de *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari, Dermanyssidae). Rev. Bras. Parasitol. Vet. 7(1): 27-3

Tucci EC, Guimarães JH, Bruno TV, Gama NMSQ, Santos AMM. 1998. Ocorrência de ácaros hematófagos em aviários de postura no Estado de São Paulo. Rev. Bras. Parasitol. Vet., 7(1): 71-78

Tucci EC, Araújo RP. 2000. Influência do jejum na oviposição de *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari, *Dermanyssidae*). In: Congresso de Produção e Consumo de Ovos. Anais. São Paulo: APA, p. 173

Tucci EC, Prado AP, Araújo RP. 2008. Thermal requirements of *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: *Dermanyssidae*). Rev. Bras. Parasitol. Vet. 17(2): 67-72

Van Horne PLM, Achterbosch TJ. 2008. Animal welfare in poultry production systems: impact of EU standards on world trade. World's Poult. Sci. J. 64(1): 40-52

Watson DW, Denning SS, Zurek L, Stringham SM, Elliott J. 2003. Effects of lime hydrate on the growth and development of darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. Int. J. Poult. Sci. 2(2): 91-93

Seleção e caracterização de isolados de fungos entomopatogênicos visando o controle do ácaro vermelho *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae)

C. R. Kasburg*

L. F. A. Alves*

D. G. P. Oliveira**

*Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, Rua Universitária 2069, Jardim Universitário, 85819-110 Cascavel, PR, Brasil

* Autor para correspondência: criskasburg@hotmail.com

**Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Santa Helena – Prolongamento da Rua Cerejeira, s/n CEP 85892-000 – Bairro São Luiz – Santa Helena – PR – Brasil

RESUMO

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

O presente trabalho teve por objetivo avaliar isolados de fungos entomopatogênicos com potencial de utilização no controle do ácaro vermelho, *Dermanyssus gallinae*. Em laboratório, isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* foram aplicados sobre os ácaros (1×10^8 conídios/mL). Foram selecionados quatro isolados a partir da mortalidade confirmada $\geq 70\%$. Em seguida, foram comparados quanto ao crescimento vegetativo e produção de conídios em meio de cultura. O isolado selecionado foi avaliado quanto à capacidade de se desenvolver em diferentes temperaturas e também foi aplicado em campo. O bioensaio de campo foi conduzido em dois aviários comerciais de igual dimensão, sendo o fungo pulverizado na estrutura de suporte das gaiolas do aviário (1×10^9 conídios/mL em suspensão de água + Tween 80 (0,1%). Na testemunha, utilizou-se água + Tween[®] 80 (0,1%). Foram realizadas avaliações populacionais pré e posteriormente à aplicação. O isolado de *B. bassiana* Unioeste 88 foi selecionado por apresentar mortalidade confirmada de 73,8%, maior produção de conídios em placa de Petri ($7,1 \times 10^8$ conídios/colônia) e em arroz ($7,7 \times 10^8$ conídios/g). Não se desenvolveu nas temperaturas de 35 a 45°C (sem risco para as aves). O fungo reduziu a população, com eficiência de 61,7%. No aviário não tratado, a população praticamente dobrou. Assim, o isolado de *Beauveria bassiana* Unioeste 88 apresenta potencial para ser usado em um programa de controle do ácaro vermelho.

Palavras-chave: controle biológico, produção animal, praga de aviários, galinhas poedeiras

ABSTRACT

26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50

This study aimed to evaluate isolates of entomopathogenic fungi with potential for use in the control of red mite, *Dermanyssus gallinae*. In laboratory, conidia of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* isolates were applied on mites (1×10^8 conidia/ml). Were selected four isolates, based on minimum mite confirmed mortality $\geq 70\%$. Then they were compared for vegetative growth and conidia production in the culture medium. The capacity of growth in different temperature from selected isolate were also. The field bioassay was conducted in two similar commercial poultry layer house. The conidial suspension was sprayed on wood structures from poultry cages (1×10^9 conidia / ml). In control, water was used + Tween 80 (0.1%). They were carried out one pre and post application populational evaluation with PVC pipe traps (5×25 cm). The *B. bassiana* Unioeste 88 isolate was selected based on its high confirmed mortality (73.8%), higher conidial production in culture medium on Petri (7.1×10^8 conidia / colony), and on rice cooked (7.7×10^8 conidia/g). Furthermore, there was no increase in temperatures 35 to 45 °C (no risks to chickens). The fungus reduced the population, with 61.7% efficiency. In the control poultry layer house mite population nearly doubled. Thus, isolated from *Beauveria bassiana* Unioeste 88 has the potential to be used in a red mite control program.

Keywords: biological control, animal production, poultry pest, laying hens

INTRODUÇÃO

51

52

531. *Dermanyssus gallinae* é um ácaro cosmopolita e hematófago de grande
54 importância, atacando granjas no Brasil e em todo mundo (Meyer-Kühling et al., 2007;
55 Sparagano et al., 2009; Rezende et al., 2013). Este ácaro apresenta comportamento
56 gregário e passa a maior parte do tempo abrigado em fendas e frestas presentes nas
57 estruturas dos aviários, em acúmulos de penas e fezes, teias de aranhas e poeira saindo
58 à noite à procura das aves para realizar o repasto sanguíneo. Na falta do hospedeiro,
59 pode atacar outras espécies de aves como pardais, pombos, canários, roedores e
60 mamíferos como cães, gatos, equinos e ainda há relato em seres humanos (Tucci e
61 Guimarães, 1998; Sillos, 2002; Pereira, 2011; Cunha, 2013; Gavrilović, Kecman e
62 Jovanović, 2015).

63 Dentre os danos causados pelo ácaro às aves, destacam-se estresse, perda de
64 peso, diminuição da postura, anemia por espoliação sanguínea e, em casos mais graves,
65 pode levar o animal à morte (Arkle, Guy e Sparagano, 2006; Pereira, 2009). Além disso,
66 *D. gallinae* pode ser transmissor de patógenos, dentre os quais destacam-se os vírus da
67 doença de Newcastle, da encefalite de Saint Louis da varíola aviária e, recentemente,
68 relatou-se a transmissão do vírus Influenza A (AIV); e das bactérias *Coxiella burnetii* e
69 *Salmonella enterica* sorotipo Gallinarum e *S. enterica* sorotipo Enteritidis (Moro,
70 Chauve e Zenner, 2007; Moro et al., 2009; Harrington et al., 2011; Pereira, 2011;
71 Sommer et al., 2016).

72 Para o controle do ácaro, são normalmente utilizados produtos químicos que,
73 apesar da considerável eficácia, trazem efeitos negativos, como intoxicação do usuário e
74 a presença de resíduos nos ovos, e no meio ambiente (Ciscato, 2008). Além disso, é
75 relatada a existência de populações de ácaros resistentes a esses produtos devido ao uso

76 incorreto e indiscriminado nas instalações (Thind et al., 2007; Lesna et al., 2009;
77 Marangi et al., 2009, 2012; Pereira, 2009).

78 Assim, alternativas eficientes e seguras são necessárias e, dentre elas, destacam-
79 se os fungos entomopatogênicos. Nesse sentido, estudos realizados na Europa e na Ásia
80 demonstram o potencial dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*
81 frente ao ácaro vermelho (Steenberg e Kilpinen, 2003; Steenberg, Kilpinen e Moore,
82 2006; Tavassoli et al., 2008; Kaoud, 2010; Tavassoli et al., 2011; Steenberg e Kilpinen,
83 2014; Immediato et al., 2015).

84 Os fungos entomopatogênicos se apresentam como uma estratégia promissora
85 para o controle de *D. gallinae* e, no Brasil, inexistem estudos de avaliação da
86 patogenicidade de fungos entomopatogênicos visando o controle do ácaro vermelho.
87 Além disso, os fungos apresentam grande variabilidade genética, traduzida na virulência
88 entre os isolados aos seus hospedeiros, o que ressalta a importância desse tipo de estudo
89 no desenvolvimento de um programa de controle microbiano de pragas (Alves, 1998;
90 Petlamul e Prasertsan, 2012).

91 Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar isolados dos fungos
92 entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* originários do Brasil contra o ácaro
93 vermelho *D. gallinae*, em condições de laboratório e campo.

94

95 MATERIAL E MÉTODOS

96

97 *Ácaros*

98

99 Ácaros adultos foram coletados em uma granja comercial de aves de postura
100 linhagem ISA Brown, situada no município de Céu Azul, PR (25°10'37,9"S,

101 53°53'27,4"W), onde além da elevada infestação não há registro de utilização de
102 acaricidas. Foram utilizadas armadilhas de madeira ((5 x 10 cm) e armadilhas de papel
103 corrugado (7 x 10 cm) (Figura 2a,b,c), as quais foram fixadas no aviário próximos aos
104 locais de acúmulo do ácaro. Após sete dias, as armadilhas foram coletadas, armazenadas
105 em sacos plásticos fechados e encaminhadas ao laboratório de Biotecnologia Agrícola
106 da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* de Cascavel, PR, para posterior
107 isolamento de fêmeas ingurgitadas de *Dermanyssus gallinae* (Figura 2d,e).

108 No laboratório, os ácaros foram retirados das armadilhas com auxílio de uma
109 espátula. Para os experimentos, foram escolhidas apenas fêmeas ingurgitadas, separadas
110 com auxílio de um pincel de cerdas macias e finas e acondicionados em tubos de vidro
111 fechados com tecido *voil* (Figura 2f).

112 Os ácaros permaneceram por um período de 24 horas em sala climatizada a
113 25±1°C, 70±5 % de umidade relativa (UR) e fotofase de 14 horas para aclimação.

114

115 ***Isolados de fungos***

116

117 Os isolados de fungos testados foram provenientes da Coleção de Fungos
118 Entomopatogênicos do Laboratório de Biotecnologia Agrícola da Unioeste, *Campus* de
119 Cascavel – PR e da Coleção de Microrganismos Entomopatogênicos "Oldemar Cardim
120 Abreu" do Instituto Biológico de São Paulo, sendo 39 isolados de *Beauveria bassiana* e
121 10 isolados de *Metarhizium anisopliae* (Figura 1).

122 Os fungos foram cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura para
123 esporulação (ME) (ágar 20 g, dextrose 10 g, extrato de levedura 5 g, mistura de sais 4,6
124 g e água destilada 1000 mL) (Alves et al., 1998). As placas foram incubadas em câmara
125 climatizada por 10 dias (26±1° C e 14 horas de fotofase) para conidiogênese.

126 Após esse período, os conídios foram coletados, raspando-se a superfície do
127 meio de cultura com uma espátula esterilizada e armazenados em tubos do tipo
128 Eppendorf, na temperatura de - 4°C, formando-se a coleção de trabalho usada durante os
129 bioensaios.

130

131 *Seleção dos Isolados*

132

133 A seleção foi realizada em duas etapas, sendo a primeira baseada na atividade
134 acaricida (mortalidade confirmada). Posteriormente fez-se a comparação dos parâmetros:
135 crescimento vegetativo, produção em meio de cultura e em arroz, sendo esses de
136 fundamental importância para selecionar características eficientes dos isolados os quais
137 podem ter potencial para serem usados no campo ou no desenvolvimento de produtos
138 biológicos de controle de organismos indesejáveis (Petlamul e Poonsuk, 2012).

139

140 *Multiplificação dos Isolados*

141

142 A partir da coleção de trabalho foram multiplicados os isolados fúngicos para a
143 avaliação de patogenicidade, em meio de cultura ME conforme descrito anteriormente.
144 Em seguida, os conídios foram raspados e armazenados em tubos de vidro até a
145 utilização.

146 Para preparo da suspensão de aplicação, 10 mL de água destilada + Tween[®] 80 a
147 0,01% foram adicionados ao tubo contendo os conídios do fungo. A suspensão foi
148 agitada em vortex por 1 minuto para desprendimento dos conídios. Em seguida, foram
149 realizadas diluições seriadas em água destilada + Tween 80 a 0,01% e feita a
150 quantificação dos conídios em câmara de Neubauer (Alves e Moraes, 1998).

151 As suspensões foram padronizadas na concentração de 1×10^6 conídios/mL para
152 a avaliação da viabilidade, conforme Alves et al. (1998) e Oliveira (2015). O cálculo da
153 porcentagem de germinação foi realizado utilizando a seguinte fórmula:

$$V = \frac{NCG}{NTC} * 100$$

154
155 onde:

156 V: Viabilidade

157 NCG: Número de conídios germinados

158 NTC: Número total de conídios

159

160 Para a utilização nos bioensaios de laboratório foram utilizados somente os
161 isolados que apresentaram viabilidade mínima de 90%.

162 Para a aplicação dos isolados, a suspensão de conídios foi padronizada na
163 concentração de 1×10^8 conídios/mL.

164

165 *Aplicação dos Isolados*

166

167 A aplicação de isolados foi realizada a partir da metodologia descrita por
168 Steenberg, Kilpinen e Moore (2006) e Tavassoli et. al (2008), com adaptações. Fêmeas
169 ingurgitadas, previamente selecionadas e mantidas em tubos de vidro por 24 horas,
170 foram transferidas para placas de Petri com as bordas isoladas com vaselina sólida, para
171 evitar fuga. Em seguida, foi pulverizado 1 mL da suspensão de conídios (1×10^8
172 conídios/mL) com auxílio de uma Torre de Potter regulada para operar na pressão de
173 0,7 Kgf/cm².

174 Após a pulverização, as fêmeas foram transferidas para tubos de vidro fechados
175 com tecido *voil* e mantidas em sala climatizada ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ de UR e fotofase de 14

176 horas). Para o grupo controle foram utilizados os mesmos procedimentos, porém os
177 ácaros foram pulverizados apenas com água destilada estéril + Tween[®] 80 (0,01%). Para
178 cada isolado e também para a estemunha, foram preparadas sete repetições, sendo cada
179 uma constituída por 15 ácaros.

180 Os experimentos foram conduzidos em grupos de isolados, variando o número
181 de isolados em cada grupo, dada a impossibilidade de se realizar um único teste com
182 todos os isolados simultaneamente.

183 As avaliações foram realizadas diariamente, durante sete dias. Os ácaros que não
184 apresentavam mobilidade visível ou ao toque com pincel foram considerados mortos.
185 Esses ácaros foram removidos do tubo e transferidos para câmara úmida para
186 confirmação do agente causador da morte, através da esporulação do fungo.

187 Para a próxima etapa do estudo, foram selecionados os melhores isolados de
188 cada grupo e considerados aqueles que apresentaram mortalidade confirmada $\geq 70\%$.

189

190 *Comparação da atividade acaricida*

191

192 Os isolados selecionados previamente foram novamente multiplicados e
193 aplicados sobre os ácaros, seguindo a metodologia já descrita anteriormente, porém
194 todos isolados simultaneamente.

195

196 *Crescimento Vegetativo e Produção em Meio de Cultura*

197

198 Para avaliar o crescimento vegetativo, os isolados selecionados foram
199 inoculados com uma alça de platina em três pontos na superfície do meio de cultura
200 BDA. Após 10 dias de incubação ($26\pm 1^\circ\text{C}$, $70\pm 5\%$ UR e 14h de fotofase), mediu-se o

201 diâmetro das colônias em dois sentidos ortogonais, determinando-se o diâmetro médio
202 das mesmas.

203 Em seguida, as colônias foram recortadas do meio de cultura na linha terminal
204 do halo e transferidas para tubos de vidro com 10 mL de água destilada + Tween[®] 80 a
205 0,01%. Os tubos foram submetidos à agitação em vortex por um minuto, sendo também
206 utilizado um pincel para auxiliar no desprendimento dos conídios do meio de cultura.
207 Após, realizou-se a quantificação dos conídios, utilizando câmara de Neubauer. Para
208 cada isolado foram preparadas três placas com três colônias cada, sendo cada colônia
209 considerada uma repetição.

210

211 *Produção de conídios em arroz*

212

213 Para avaliar a produção de conídios em arroz, foi utilizado o método descrito por
214 Leite et al. (2003), utilizando-se arroz parboilizado imerso em água destilada em uma
215 bandeja plástica por 50 minutos. Decorrido esse tempo, o arroz foi escorrido e
216 aproximadamente 200g de arroz foram colocados em sacos de polipropileno, que foram
217 fechados e autoclavados por 20 min a 120°C. Após resfriamento, os sacos foram
218 inoculados com 10 ml da suspensão de conídios (10^8 conídios/ml) produzidos
219 previamente em ME, como descrito anteriormente. Para cada isolado foram preparados
220 sete sacos, cada um constituindo-se uma repetição. Os sacos foram incubados em
221 câmara climatizada ($26\pm 1^\circ\text{C}$, $70\pm 5\%$ UR e 14h de fotofase) durante 10 dias, quando
222 foram abertos e distribuídos em bandejas plásticas, sendo um saco/bandeja. Nessas
223 condições, o arroz foi mantido nas bandejas por mais quatro dias para que ocorresse o
224 completo crescimento e conidiogênese do fungo. Após esse período, as bandejas foram

225 retiradas da câmara climatizada e colocadas para secagem do arroz em uma sala
226 utilizando um desumidificador.

227 Para a avaliação da produção, foram retiradas cinco amostras de 1 g de arroz/
228 bandeja, sendo cada amostra transferida para um tubo de vidro no qual foram
229 adicionados 10 ml água destilada esterilizada + Tween[®] 80 a 0,01%. Após agitação em
230 vortex por 1 minuto, foram feitas diluições seriadas até possível quantificação dos
231 conídios em câmara de Neubauer.

232 Também se avaliou a viabilidade dos conídios obtidos, utilizando a metodologia
233 já descrita anteriormente.

234

235 *Ação da temperatura no crescimento in vitro de Beauveria bassiana*

236

237 A fim de verificar a segurança de utilização do isolado selecionado para as aves,
238 foi avaliado o crescimento do fungo em diferentes temperaturas, baseando-se na
239 metodologia descrita por Kohl et al. (2011).

240 Foram utilizadas placas de cultura de células de 12 poços, nas quais foram
241 vertidos 5 mL de meio de cultura BDA. Em seguida, foram inoculados 5 µL de uma
242 suspensão de conídios (1×10^3 conídios/mL) no centro de cada poço da placa.

243 As placas foram incubadas em câmaras climatizadas nas temperaturas de 25
244 (condição ideal e padrão de comparação), 30, 35, 40 (temperatura próxima à corporal
245 das galinhas) e 45°C. As avaliações de crescimento foram realizadas no quinto dia após
246 inoculação, considerando-se presença ou ausência de crescimento micelial.

247

248

249

250 *Bioensaio de Campo*

251

252 O experimento de campo foi conduzido em aviários de postura comercial
253 localizado no município de Medianeira, PR (25°21'11.4"S, 53°59'36,5"W) utilizando-
254 se o isolado previamente selecionado, e foi desenvolvido, baseando-se na metodologia
255 de Tavassoli et al. (2011), no período de 15 de Janeiro a 19 de Fevereiro de 2016.

256 Foram utilizados dois aviários de igual dimensão (80m × 3,3m) com corredor em
257 cimento, estrutura de madeira e duas fileiras de gaiolas metálicas (Figura 3a,b). Um dos
258 aviários foi destinado ao tratamento com fungo e o outro para a testemunha. Cada
259 aviário continha aproximadamente 3500 galinhas da linhagem híbrida ISA Brown com
260 aproximadamente 50 semanas de idade.

261 Em cada aviário, foram delimitados 20 blocos com oito gaiolas de galinhas,
262 distribuídos e intercalados em ambos os lados, apresentando entre si um bloco não
263 tratado (Figura 3a).

264 A população de ácaros nos aviários foi avaliada por meio de armadilhas de cano
265 PVC (5 cm de diâmetro × 25 cm de comprimento), contendo papel toalha em seu
266 interior para servir de abrigo aos ácaros. Em ambos os aviários foram instaladas 21
267 armadilhas junto à estrutura de madeira na base das gaiolas e fixadas com lacre de
268 plástico (Figura 3c,d).

269 Semanalmente as armadilhas instaladas eram retiradas e substituídas por outras
270 idênticas. As armadilhas retiradas foram colocadas em sacos plásticos e transportadas
271 até o laboratório, onde permaneceram em freezer -4°C por 24 horas para imobilização
272 dos ácaros e possibilitar posterior estimativa populacional (Figura 3e).

273 Para estimar a quantidade de ácaros nas armadilhas, foram pesadas previamente
274 10 amostras de 500 ácaros, obtendo-se assim o valor médio de 0,9 g/500 ácaros, que foi
275 aplicado para estimar a quantidade de ácaros presentes nas armadilhas.

276 A suspensão de conídios (1×10^9 conídios viáveis/mL) em água destilada +
277 Tween[®] 80 (0,1%) foi aplicada com um pulverizador costal, de 5 L de capacidade
278 utilizando bico cônico, no volume de 800 mL para cada bloco, constituído de duas
279 fileiras de três gaiolas ($1,5 \times 1,0$ m), direcionado para locais em que os ácaros se
280 encontravam (frente e sob comedouros, e na estrutura de madeira das gaiolas). No
281 aviário testemunha, foi aplicada uma solução de água destilada + Tween[®] 80 (0,1%).
282 Após sete dias da primeira aplicação, repetiu-se o procedimento, com nova aplicação de
283 fungo e de água na testemunha. Todas as aplicações foram realizadas no período
284 matutino. O monitoramento populacional foi realizado uma semana antes da aplicação e
285 repetido por mais duas semanas após cada aplicação do fungo.

286

287 *Análise Estatística*

288

289 O delineamento experimental dos bioensaios em laboratório foi inteiramente
290 aleatorizado. Os dados foram analisados quanto à homogeneidade pelo teste de
291 Cochran. Para os dados paramétricos foi utilizado ANOVA One-Way com teste de
292 Tukey HSD ($p \leq 0,05$). Para detectar diferenças significativas também foi utilizado teste
293 de Student-Newman-Keuls.

294 Para os dados não-paramétricos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$),
295 seguida pela comparação múltipla de Dunn utilizando o programa estatístico
296 STATISTICA 7.1 (StatSoft Inc., USA, 2005).

322 estudos, as avaliações transcorrem-se por 10 dias, representando um tempo maior para a
323 ocorrência do ciclo de infecção.

324 Resultados de mortalidade podem variar de acordo com a metodologia
325 (concentração e viabilidade dos conídios, volume aplicado, inoculação, tempo de
326 contato) e os isolados testados. Isso se deve-se principalmente à variabilidade genética
327 existente entre os isolados de fungo, influenciando na relação patógeno × hospedeiro.
328 Além disso, é necessário considerar também o processo infeccioso e a reação do sistema
329 imune do hospedeiro (Oliveira, 2014).

330 A baixa mortalidade confirmada obtida para alguns isolados pode ser explicada
331 pelo pequeno tamanho do ácaro. O crescimento micelial do fungo pode ter levado a
332 exaustão dos nutrientes ou ainda ter causado alterações fisiológicas e bioquímicas as
333 quais podem afetar a reprodução, causar paralisia ou perda da coordenação e cessar a
334 alimentação dos ácaros. Além disso, toxinas de organismos oportunistas, como
335 bactérias, também podem ter contribuído, não permitindo a colonização do inseto pelo
336 fungo, impedindo-o de completar o ciclo de vida, tal como observado em outros estudos
337 com insetos e ácaros (Alves, 1998; Tamai, 2002; Martins, 2014; Formentini et al.,
338 2015).

339 Diferenças entre as espécies de fungos podem estar relacionadas com
340 características genéticas que cada um apresenta e a forma como interage com o inseto-
341 alvo. No caso específico do fungo *B. bassiana*, este produz inúmeros metabólitos
342 secundários no processo de infecção do inseto, como pigmentos (oosporina e
343 bassianina), peptídeos (beauvericina e bassianolide), e ácido oxálico envolvidos no
344 processo de patogênese e virulência, sendo uma importante toxina na hemolinfa de
345 insetos causando a presença de cristais de oxalato (Roberts e Krasnoff, 1998; Tamai,
346 2002; Xiao et al., 2012).

347 Fungos entomopatogênicos produzem quitinases que facilitam a penetração das
348 hifas no exoesqueleto do hospedeiro, facilitando a colonização dos órgãos internos e
349 ocasionar a morte do mesmo. Por outro lado, a estimulação da produção de enzimas
350 pelos fungos está relacionada com os componentes presentes na cutícula dos
351 hospedeiros, o que pode contribuir para tornar um isolado mais específico ou não a
352 determinado grupo de insetos (Roberts e Krasnoff, 1998).

353 Além das quitinases, há enzimas relacionadas com a degradação dos ácidos
354 graxos cuticulares, adesinas que facilitam a adesão dos conídios nos insetos e as
355 hidrofobinas, relacionadas também a fatores de adesão e virulência ao hospedeiro (Xiao
356 et al., 2012).

357 Dentre os isolados avaliados no presente trabalho, destacaram-se Unioeste 57,
358 Unioeste 62, Unioeste 69 e Unioeste 88 (Figura 1), todos pertencentes à espécie *B.*
359 *bassiana*, causando mortalidade confirmada mínima de 70% em *D. gallinae*, reforçando
360 a superioridade em relação aos isolados de *M. anisopiae* e indicando que estes
361 apresentam maior potencial para ser usado no controle do ácaro vermelho (Figura 4).

362 Na comparação da atividade acaricida dos quatro isolados selecionados, a
363 mortalidade confirmada variou de 57,6 a 73,8%, destacando-se os isolados Unioeste 69
364 e Unioeste 88 (Tabela 1).

365 Em trabalho realizado por Kaoud (2010), foi observado que *B. bassiana* causou
366 65% de mortalidade em *D. gallinae* após cinco dias de inoculação, quando houve
367 exposição direta dos ácaros aos conídios e 80% de mortalidade aos 10 dias de
368 inoculação quando o fungo foi pulverizado, resultado semelhante ao encontrado neste
369 trabalho.

370

371

372 ***Crescimento Vegetativo, Produção em Meio de Cultura e em Arroz***

373

374 O isolado Unioeste 57 apresentou o maior diâmetro de colônia (3,7cm) enquanto
375 Unioeste 62 foi o menor diâmetro (3,0cm) (Tabela 1). Os demais isolados apresentaram
376 diâmetros intermediários, sem diferirem entre si. Diâmetros semelhantes foram
377 encontrados por Rohde et al. (2006) e Santoro et al. (2008) para outros isolados de *B.*
378 *bassiana*.

379 Em relação à produção de conídios nas colônias, o isolado Unioeste 88 foi o que
380 prevaleceu ($7,1 \times 10^8$ conídios/colônia) quando comparado aos demais isolados, o
381 que demonstra que a produção de conídios não está relacionada com o tamanho da
382 colônia. Isso também pode ser verificado com o isolado Unioeste 57, o qual apresentou
383 maior diâmetro de colônia e a produção apresentou valor intermediário ($4,4 \times 10^8$
384 conídios/cm²). Analisando-se a produção de conídios/cm² de colônia, o isolado Unioeste
385 88 também apresentou maior produção em relação aos demais isolados.

386 Na comparação da produção de conídios em arroz, o isolado Unioeste 88,
387 manteve produção elevada ($7,7 \times 10^8$ conídios/g) diferindo estatisticamente dos demais
388 isolados (Tabela 1), com média de 95,7% de conídios viáveis.

389 Parâmetros de crescimento e produção são distintos e variáveis entre isolados de
390 fungos entomopatogênicos, conforme pode ser observado em estudos com outros
391 isolados do fungo *B. bassiana*, havendo valores similares, inferiores e superiores.
392 Potrich et al. (2006) encontraram valores de crescimento vegetativo entre 3,3 e 4,5 cm e
393 produção de conídios entre 1,3 e $4,8 \times 10^7$ conídios/colônia. Rohde et al. (2006)
394 observaram que o diâmetro das colônias variou entre 2,9 e 4,3 cm, e produção variou
395 entre 3,8 e $33,5 \times 10^8$ conídios/colônia. No trabalho de Martins (2014), o diâmetro das
396 colônias variou de 1,8 a 2,6 cm e a produção de 0,2 a $26,2 \times 10^8$ conídios/colônia. Já

397 Formentini et al. (2015) verificou tamanho de colônia entre 2,2 e 3,2 cm e produção de
398 0,1 a 13×10^7 conídios/colônia.

399 Tais variações decorrem da variação nas condições de incubação (umidade e
400 temperatura), do tempo de incubação, meio de cultura utilizado, da quantidade e
401 concentração dos nutrientes e da própria variabilidade genética dos isolados (Alves,
402 1998; Pinto et al., 2012; Fanti et al., 2013).

403 O primeiro passo no desenvolvimento de um programa de controle utilizando-se
404 fungo entomopatogênico deve ser o conhecimento dos seus atributos, e desta forma, se
405 faz necessário avaliar os parâmetros biológicos que subsidiem a seleção daquele que
406 apresente os melhores índices de virulência e patogenicidade, capacidade de
407 germinação, crescimento e produção de conídios, de forma a permitir sua utilização e
408 sucesso no controle de artrópodes-pragas (Petlamul e Prasertsan, 2012).

409 Com base na sua superioridade em parâmetros como viabilidade de conídios,
410 produção de conídios em meio de cultura e em arroz e atividade acaricida, pode-se
411 inferir que Unioeste 88 é um isolado com potencial para ser empregado em um
412 programa de manejo do ácaro e, dessa forma, foi selecionado para o bioensaio de
413 campo.

414

415 *Efeito da temperatura no crescimento in vitro de Beauveria bassiana*

416

417 Observou-se crescimento micelial do isolado Unioeste 88 somente nas
418 temperaturas de 25 e 30°C (Tabela 2). Nas demais temperaturas não foi observado
419 crescimento (Figura 5).

420 Estudos semelhantes conduzidos por Alexandre et al. (2006) e Constanski,
421 Zorzetti e Neves (2015) mostraram que o crescimento vegetativo dos isolados de *B.*

422 *bassiana* Unioeste 4 e Unioeste 40 foi menor quando expostos as temperaturas de 10 e
423 37°C, apresentando, tal como aqui observado, maior crescimento na temperatura de
424 25°C.

425 Considerando que a temperatura corporal das galinhas varia de 41 a 42°C
426 (Welker et al., 2008), os resultados aqui obtidos demonstram que *B. bassiana* isolado
427 Unioeste 88 é seguro para ser utilizado junto às aves e não apresentará problemas caso
428 entre em contato com as mesmas durante o período de tratamento do aviário.

429 Os resultados aqui obtidos corroboram a segurança de fungos
430 entomopatogênicos para aves, como foi observado por Johnson et al. (2002), quando
431 forneceram gafanhotos infectados por *B. bassiana* e *M. anisopliae* a falcões e não se
432 observou nenhuma alteração.

433 Da mesma forma, Rezende (2009) forneceu uma suspensão via oral de *B.*
434 *bassiana* para galinhas e não observou alterações significativas. Ainda, conídios de *B.*
435 *bassiana* foram misturados na ração e oferecidos para galinhas e as avaliações dos
436 tecidos internos e externos mostraram que o fungo não se desenvolveu e não causou
437 nenhuma lesão, não sendo constatada nenhuma alteração associada ao fungo (Haas-
438 Costa, Alves e Daros, 2010).

439 Segundo Pereira, Alves e Reis (1998), entomopatógenos são muito específicos,
440 reduzindo assim o risco de infecção de organismos não-alvos. Isso ocorre por causa da
441 diferença entre a fisiologia dos organismos. As aves apresentam temperatura corporal
442 superior à temperatura ideal de crescimento dos entomopatógenos, conforme observado
443 neste estudo.

444

445

446 ***Bioensaio de Campo***

447

448 Apesar da grande variação observada na população entre os aviários, em
449 nenhuma das avaliações foram constatadas diferenças estatísticas na população dos
450 aviários (Tabela 3). Ressalta-se que na última semana de avaliação, a população no
451 aviário tratado era 15% menor que a original, no aviário testemunha, a população
452 praticamente dobrou em relação ao seu valor inicial (Figura 6).

453 Contudo, com base no cálculo da eficiência, que leva em consideração a
454 variação populacional pré e pós tratamento, comparando os aviários tratado e não
455 tratado, a eficiência após a primeira aplicação foi de 35,3%, passando para 54,4 e
456 finalmente 61,7%, mostrando a eficiência do fungo no controle do ácaro, em duas
457 aplicações.

458 Também se comprova a ação mais lenta do fungo, se comparado com aplicações
459 de acaricidas químicos, os quais alcançam mais de 80% de mortalidade em
460 aproximadamente três dias (Keita et al., 2006; Meyer-Kühling et al., 2007), resultado da
461 complexidade do processo de infecção, que usualmente leva ácaros à morte entre 4 a 7
462 dias após a aplicação (Tamai, 2002; Immediato et al., 2015). O aumento gradativo da
463 eficiência de fungo no controle de ácaros, também foi observado por Martins (2014),
464 que avaliou *B. bassiana* para o controle do ácaro branco, *Poliphagotarsonemus latus*
465 (Acari: Tarsonemidae) em cultura de feijoeiro.

466 Além disso, pode-se observar que na terceira semana do início do experimento,
467 as populações se igualaram e na semana seguinte, ainda que com pequena diferença,
468 houve uma diminuição no crescimento da população tratada, enquanto que a população
469 do aviário testemunha aumentou. A diferença no comportamento populacional se
470 evidencia pelas equações das retas de cada uma das populações, cujo valor negativo

471 (população do aviário tratado) indica queda e positivo para o aviário testemunha
472 confirma a elevação populacional e a eficiência do tratamento (Figura 6).

473 Resultados obtidos em campo podem ser mais eficientes levando-se em conta
474 que os fungos, após causarem a morte do hospedeiro, iniciam o processo de colonização
475 e esporulação no corpo do artrópode, o que acontece dentro de quatro ou cinco dias. A
476 esporulação dos cadáveres com conídios viáveis aumenta a persistência do fungo no
477 campo fazendo com que demais indivíduos possam também ser infectados, ocasionando
478 uma maior eficiência com redução da população de ácaros (Immediato et al., 2015).

479 No Brasil, não há registros de pesquisa realizada com isolados de fungos
480 entomopatogênicos visando o controle de *D. gallinae*, sendo este um estudo pioneiro
481 em laboratório e em campo.

482 A aplicação do fungo em água+Tween[®] 80 (0,1%) pode ter diminuído o tempo
483 de exposição dos ácaros aos conídios viáveis, já que após exposição à água, os conídios
484 iniciam o processo de germinação. Uma forma de melhorar o tempo de exposição e
485 aumentar a viabilidade pode ocorrer aplicando-se o fungo em uma formulação com óleo
486 emulsionável, que apresenta uma proteção aos conídios contra os efeitos de temperatura
487 e umidade, resultando em uma maior sobrevivência dos conídios. Além disso, o óleo
488 tende a melhorar o desempenho do tratamento, pois reduz o tamanho das gotas,
489 aumentando a adesividade da suspensão, garantindo maior contato com os ácaros. O
490 óleo na formulação também pode auxiliar na fixação dos conídios no corpo dos ácaros,
491 bem como nas estruturas do aviário (Batista Filho et al., 1998; Oliveira, 2009; Leite et
492 al., 2011).

493 Corroborando essa ideia, em trabalho de campo, Tavassoli et al. (2011)
494 utilizaram uma formulação de conídios em óleo de girassol, afirmando que esta
495 apresenta maior afinidade com as penas, gaiolas metálicas e as demais estruturas do

496 aviário, e constataram que os três isolados avaliados se mostraram eficazes na primeira
497 semana após a aplicação na maior concentração de 1×10^9 conídios/mL, e assim se
498 mantiveram até o período final do estudo.

499 A diferença nos valores entre estudos de laboratório e campo é explicada pela
500 presença de fatores ambientais, como temperatura, umidade, direção e velocidade do
501 vento e incidência de luz solar, que não são controláveis no campo e que podem
502 alterar/afetar a capacidade infectiva dos fungos (Oliveira, 2009).

503 O comportamento de *D. gallinae* de manter-se escondido nas estruturas do
504 aviário representa a maior dificuldade encontrada pelos avicultores para o sucesso do
505 seu controle. Juntamente, com o efeito dos fatores ambientais, deve-se também
506 considerar a calibragem dos equipamentos de aplicação, a utilização correta de bico e
507 pressão do pulverizador a fim de se atingir de forma homogênea a maior parte das
508 estruturas do aviário.

509 Da mesma forma, deve-se levar em consideração o hábito do ácaro de se abrigar
510 em aberturas/frestas da estrutura ou embaixo dos comedouros, e o acúmulo de sujeira
511 como restos de comida, penas e teias de aranha que impede que o produto aplicado
512 atinja de forma homogênea os ácaros escondidos, expondo-os a sub-doses (Pereira,
513 2009).

514 Por esta razão, Tucci e Guimarães (1998) e Pereira (2009) indicam que a adoção
515 de medidas integradas, incluindo práticas preventivas, para auxiliar no controle do
516 ácaro. A limpeza dos aviários é uma das principais medidas para evitar infestações de
517 *D. gallinae*. Restos de comida, fezes, teias de aranha e penas devem ser removidos para
518 evitar que sirvam de abrigo para os ácaros, bem como evitar a entrada de caminhões,
519 funcionários e caixas de ovos de locais infestados para locais não infestados. A
520 evacuação dos galpões por períodos mais prolongados também seria uma estratégia para

521 evitar que ácaros venham a infestar um novo lote de galinhas. Medidas de controle
522 também podem ser aplicadas no período do vazio das galinhas quando ácaros estão mais
523 ativos em busca de alimento, ficando mais tempo a procura do hospedeiro e fora dos
524 abrigos.

525 Alguns autores sugerem que maior eficiência possa ser atingida mudando-se o
526 período do dia em que é realizada a aplicação. Durante o dia os ácaros encontram-se
527 escondidos, saindo apenas à noite para realizar o repasto sanguíneo. Neste período são
528 mais ativos e movimentam-se mais pela estrutura do aviário, podendo então ser
529 atingidos mais facilmente pelo produto aplicado (Pereira, 2009; Locher et al., 2010).

530 É possível, também integrar várias estratégias de controle. A combinação de
531 métodos de controle, conforme estudado por Steenberg e Kilpinen (2014), que
532 avaliaram a ação de pós inertes (terra de diatomácea, sílicas amorfas e sintéticas) com o
533 fungo *B. bassiana*, pode ser uma alternativa útil para controle de *D. gallinae*. A
534 combinação desses dois agentes de controle resultou em um aumento de 38% na
535 mortalidade do ácaro, quando comparado com a ação individual de cada um.

536 Considerando que a utilização de fungo para o controle de pragas na avicultura e
537 também para *D. gallinae* é muito recente, faltam trabalhos principalmente na parte de
538 campo, o que faz com que esse tipo de controle seja pouco utilizado.

539 O isolado Unioeste 88 de *B. bassiana* apresenta potencial para utilização, sendo
540 ressaltada a importância e a necessidade de novas pesquisas que incluam a formulação
541 do fungo ou avaliação de reaplicações e a sua integração com outras táticas de controle,
542 de forma a se construir uma estratégia de controle que seja eficaz e persistente e que
543 diminua os impactos causados pela utilização de produtos químicos ou não registrados
544 para este ácaro.

545

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

546

547

548 Alexandre TM, Alves LFA, Neves PMOJ, Alves SB. 2006. Efeito da temperatura e
549 cama do aviário na virulência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium*
550 *anisopliae* (Metsch.) para o controle do cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer)
551 (Coleoptera: Tenebrionidae). Neotrop. Entomol. 35(1): 75-82

552

553 Alves, SB. Fungos Entomopatogênicos. 1998. Páginas: 289-382. In: Controle
554 Microbiano de Insetos. Piracicaba: FEALQ, 2º ed., cap. 11

555

556 Alves SB, Almeida JEM, Moino Jr A, Alves LFA. 1998. Técnicas de Laboratório.
557 Páginas: 637-712. In: Controle Microbiano de Insetos. Piracicaba: FEALQ, 2º ed., cap.
558 20

559

560 Alves SB, Moraes SA. 1998. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos.
561 Páginas: 765-778. In: Alves S.B. (Ed.). Controle microbiano de insetos. Piracicaba:
562 FEALQ, 2ª ed., cap. 23

563

564 Arkle S, Guy JH, Sparagano O. 2006. Immunological effects and productivity variation
565 of red mite (*Dermanyssus gallinae*) on laying hens- implications for egg production and
566 quality. World's Poultry Sci. J., 62(2): 249-257

567

568 Batista Filho A, Alves SB, Alves LFA, Pereira RM, Augusto NT. 1998. Formulação de
569 Entomopatogênicos. Páginas: 917-966. In: Alves, S.B. Controle Microbiano de Insetos.
570 Piracicaba: FEALQ, 2ª ed., cap. 31

- 571 Ciscato CHP. 2008. Resíduos de praguicidas em amostras de ovo comercializadas na
572 cidade de São Paulo. Tese de Doutorado em Patologia Experimental e Comparada.
573 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São
574 Paulo
- 575
- 576 Constanski KC, Zorzetti J, Neves PMOJ. 2015. Selection, assessment of virulence to
577 *Alphitobius diaperinus*, and Pr1 enzyme production of *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill.
578 isolates cultured at stress temperatures. Semin: Cien. Agrar. 36(6): 3529-3538
- 579
- 580 Cunha LM. 2013. Aspectos epidemiológicos relacionados à ocorrência de ácaros
581 hematófagos em granjas comerciais de postura no estado de Minas Gerais e avaliação
582 de armadilhas para captura de *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) (De Geer,
583 1778). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte
- 584
- 585 Fanti ALP, Alves LFA. 2013. Isolados de fungos entomopatogênicos visando ao
586 controle da broca da erva-mate (*Hedypathes betulinus*) Klug (Coleoptera;
587 Cerambycidae). Semin: Cien. Agrar.34(4): 1467-1478
- 588
- 589 Formentini MA, Alves LFA, Schapovaloff ME, Mamprim AP, Bonini AK, Pinto FGS.
590 2015. Characterization and activity of entomopathogenic fungi isolates against
591 “Paraguay tea ampul” (*Gyropsylla spegazziniana*) (Lizer & Trelles) (Hemiptera:
592 Psyllidae). Semin: Cien. Agrar. 36(6): 3553-3566
- 593
- 594 Gavrilović P, Kecman V, Jovanović M. 2015. Diagnosis of skin lesions caused
595 by *Dermanyssus gallinae* in five patients. Int. J. Dermatol.54(2): 207-210

- 596 Haas-Costa J, Alves LFA, Daros AA. 2010. Safety of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.
597 to *Gallus domesticus* L. Braz. Arch. Biol. Techn. 53(2) 465-471
598
- 599 Harrington DWJ, George DR, Guy JH, OAE Sparagano. 2011. Opportunities for
600 integrated pest management to control the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*.
601 World's Poultry Sci. J. 67(1): 83-94
602
- 603 Henderson CF.; Tilton EW. 1955. Tests with acaricides against the brow wheat mite. J.
604 Econ Entomol. 48(2): 157-161
605
- 606 Immediato D, Camarda A, Iatta R, Puttilli M.R, Ramos RAN, Di Paola G, Giangaspero
607 A, Otranto D, Cafarchia C. 2015. Laboratory evaluation of a native strain of *Beauveria*
608 *bassiana* for controlling *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari:
609 Dermanyssidae). Vet. Parasitol. 212 (3-4): 478-82
610
- 611 Johnson DL, Smits JE, Jaronski ET, Weaver DK. 2002. Assessment of health and
612 growth of ring-necked pheasants following consumption of infected insects or conidia
613 of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* and *Beauveria*
614 *bassiana*, from Madagascar and North America. J. Toxicol. Environ. Health
615 Part A, 65(24): 2145-2162
616
- 617 Kaoud HA. 2010. Susceptibility of poultry red mites to entomopathogens. Int. J. Poult.
618 Sci. 9(3): 259-263
619

- 620 Keïta A, Pagot E, Pommier P, Baduel L, Heine J. 2006. Efficacy of Phoxim 50 % E.C.
621 (ByeMite) for treatment of *Dermanyssus gallinae* in laying hens under field conditions.
622 Revue Méd. Vét. 157(12): 590-594
623
- 624 Köhl J, Postma J, Nicot P, Ruocco M, Blum B. 2011. Stepwise screening of
625 microorganisms for commercial use in biological control of plant-pathogenic fungi and
626 bacteria. *Biolog. Control.* 57(1): 1–12
627
- 628 Leite LG, Batista Filho A, Almeida JEM, Alves, SB. 2003. Processos de produção.
629 Páginas 33-44. In: Leite LG, Batista Filho A, Almeida, JEM, Alves SB. Produção de
630 fungos entomopatogênicos. Ribeirão Preto, 92p
631
- 632 Leite MSP, Iede ET, Penteado SRC, Zaleski SEM, Camargo JMM, Ribeiro RD. 2011.
633 Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Hedypathes*
634 *betulinus* e avaliação da persistência. *Floresta.* 41(3): 619-628
635
- 636 Lesna I, Wolfs P, Faraji F, Roy L, Komdeur J, Sabelis MW. 2009. Candidate predators
637 for biological control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Exp. Appl. Acarol.*
638 48(1): 63-80
639
- 640 Locher N, Al-Rasheid KAS, Abdel-Ghaffar F, Mehlhorn H. 2010. In vitro and field
641 studies on the contact and fumigant toxicity of a neem-product (Mite-Stop[®]) against the
642 developmental stages of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Parasitol. Res.*
643 107(2): 417–423
644

- 645 Martins CC. 2014. Seleção e caracterização de isolados do fungo *Beauveria bassiana*
646 visando ao controle do ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari:
647 Tarsonemidae). Dissertação de mestrado em Conservação e Manejo de Recursos
648 Naturais. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel, Paraná
649
- 650 Marangi M, Cafiero M.A, Capelli G, Camarda A, Sparagano OAE, Giangaspero A.
651 2009. Evaluation of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari:
652 Dermanyssidae) susceptibility to some acaricides in field populations from Italy. Exp.
653 Appl. Acarol. 48(1-2): 11–18
654
- 655 Marangi M, Morelli V, Pati S, Camarda A, Cafiero M.A, Giangaspero A. 2012.
656 Acaricide residues in laying hens naturally infested by red mite *Dermanyssus gallinae*.
657 PLoS One. 7(2): 1-6
658
- 659 Meyer-Kühling B, Pfister K, Müller-Lindloff J, Heine J. 2007. Field efficacy of
660 phoxim 50% (ByeMite[®]) against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* in battery
661 cages stocked with laying hens. Vet. Parasitol. 147(3-4): 289-296
662
- 663 Moro CV, Chauve C, Zenner L. 2007. Experimental infection of *Salmonella enteritidis*
664 by the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Vet. Parasitol. 146(3-4): 329-336
665
- 666 Moro CV, De Luna CJ, Tod A, Guy JH, Sparagano OAE, Zenner L. 2009. The poultry
667 red mite (*Dermanyssus gallinae*): a potential vector of pathogenic agents. Exp. Appl.
668 Acarol. 48(1-2): 93-104
669

- 670 Oliveira DGP. 2014. Parâmetros biológicos de *Euschistus heros* (Hemiptera:
671 Pentatomidae) alimentados em dietas naturais e sua relação com a infecção causada por
672 fungos entomopatogênicos. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná.
673 Curitiba, Paraná
674
- 675 Oliveira DGP, Pauli G, Mascarin GM, Delalibera I. 2015. A protocol for determination
676 of conidial viability of the fungal entomopathogens *Beauveria*
677 *bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from commercial products. J. Microbiol. Methods
678 119: 44–52
679
- 680 Pereira RM, Alves SB, Reis PR. 1998. Segurança no emprego de entomopatógenos.
681 Páginas: 171-193. In. Controle Microbiano de Insetos, 2ª ed. Vol. 4, FEALQ,
682 Piracicaba, São Paulo
683
- 684 Pereira MC. 2009. Ectoparasitose. In: Revolledo L, Ferreira AJP, (eds.). Patologia
685 Aviária. 1ª ed. Cap. 34: 322-327
686
- 687 Pereira DMC. 2011. *Dermanyssus gallinae* em galinhas poedeiras em bateria: carga
688 parasitária, ação vectorial e ensaio de campo de um biopesticida. Dissertação.
689 Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, Portugal
690
- 691 Petlamul W, Prasertsan P. 2012. Evaluation of strains of *Metarhizium anisopliae* and
692 *Beauveria bassiana* against *Spodoptera litura* on the basis of their virulence,
693 germination rate, conidia production, radial growth and enzyme activity. Mycobiology
694 40(2): 111-116

- 695 Pinto APF, Batista Filho A, Almeida JEM, Wenzel IM. 2012. Patogenicidade de
696 *Beauveria bassiana* ao psílídeo *Diaphorina citri* e compatibilidade do fungo com
697 produtos fitossanitários. *Pesqui. Agropec. Bras.* 47(12): 1673-1680
698
- 699 Potrich M, Alves LFA, Mertz NR, Silva ERL. 2006. Avaliação de *Beauveria bassiana*
700 (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para controle de *Sitophilus*
701 *zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Bioassay*. 1: 1-9
702
- 703 Rezende SRF. 2009. Fungos entomopatogênicos no controle do *Alphitobius diaperinus*
704 (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) como estratégia de biosseguridade na avicultura.
705 Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica,
706 Rio de Janeiro
707
- 708 Rezende LC, Cunha LM, Teixeira CM, Oliveira PR, Martins NRS. 2013. Mites
709 affecting hen egg production – some considerations for Brazilian farms. *Cien. Rural*.
710 43(7): 1230-1237
711
- 712 Roberts D, Krasnoff SB. 1998. Toxinas e enzimas de fungos entomopatogênicos.
713 Páginas 967-986. In: Alves, S.B. (Ed.) *Controle microbiano de insetos*. 2.ed.: FEALQ.
714 São Paulo
715
- 716 Rohde C, Alves LFA, Neves PMOJ, Alves SB, Silva ERL, Almeida JEM. 2006.
717 Seleção de Isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae*
718 (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera:
719 Tenebrionidae). *Neotrop. Entomol.* 35(2): 231-240

- 720 Santoto PH, Neves PMOJ, Alexandre TM, Sartori D, Alves LFA, Fungaro MHP. 2008.
721 Selection of *Beauveria bassiana* isolates to control *Alphitobius diaperinus*. J. Inverteb.
722 Pathol. 97(2): 83-90
723
- 724 Sillos PR. 2002. Sazonalidade e teste de eficácia com drogas contra o *Dermanyssus*
725 *gallinae* (De Geer, 1778) e *Ornithonyssus sylviarum* (Canestrini & Fanzago, 1877) nas
726 granjas de postura da região metropolitana de Curitiba. Dissertação de Pós Graduação
727 em Ciências Veterinárias – UFPR, Curitiba, Paraná
728
- 729 Sommer D, Heffels-Redmann U, Köhler K, Lierz M, Kaleta EF. 2016. Role of the
730 poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) in the transmission of avian influenza A vírus.
731 Tierarztl. Prax. Großtiere Nutztiere., 44(1): 26-33.
732
- 733 Sparagano O, Pavlicevic A, Murano T, Camarda A, Sahibi H, Kilpinen O, Mul M,
734 Emous R, Bouquin S, Hoel K, Cafiero MA. 2009. Prevalence and key figures for the
735 poultry red mite *Dermanyssus gallinae* infections in poultry farm systems. Exp. Appl.
736 Acarol. 48(1-2): 3–10
737
- 738 Steenberg T, Kilpinen O. 2003. Fungus infection of the chicken mite *Dermanyssus*
739 *gallinae*. Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes. IOBC-WPRS Bulletin. 26
740 (1): 23-25
741
- 742 Steenberg, T, Kilpinen O, Moore D. 2006. Fungi for control of the poultry red mite,
743 *Dermanyssus gallinae*. Proceedings of the International Workshop “Implementation of
744 Biocontrol in Practice in Temperate Regions – Present and Near Future”. Dias Report.
745 119: 71-73

- 746 Steenberg T, Kilpinen O. 2014. Synergistic interaction between the fungus *Beauveria*
747 *bassiana* and desiccant dusts applied against poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*).
748 Exp. Appl. Acarol. 62(4): 511-524
749
- 750 Tamai, M.A. Controle de *Tetranychus urticae* Koch com fungos entomopatogênicos.
751 Tese de Doutorado em Ciências - Entomologia. Escola Superior de Agricultura “Luiz de
752 Queiroz” – Universidade de São Paulo – Piracicaba - SP
753
- 754 Tavassoli M, Ownag A, Pourseyed H, Mardani K. 2008. Laboratory evaluation of three
755 strains of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for controlling
756 *Dermanyssus gallinae*. Avian Pathol. 37(3): 259-263
757
- 758 Tavassoli M, Allymehr M, Pourseyed SH, Ownag A, Bernousi I, Mardani K,
759 Ghorbanzadegan M, Shokrpour S. 2011. Field bioassay of *Metarhizium anisopliae*
760 strains to control the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Vet. Parasitol. 178(3-4):
761 374-378
762
- 763 Thind BB, Ford HL. 2007. Assessment of susceptibility of the poultry red mite
764 *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) to some acaricides using an adapted
765 filter paper based bioassay. Vet. Parasitol. 144(3-4): 344-348
766
- 767 Tucci EC, Guimarães JH. 1998. Biologia de *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778)
768 (Acari, Dermanyssidae). Ver. Bras. Parasitol. Vet. 7(1): 27-30
769

- 770 Xiao G, Ying SH, Zhebg P, Wang ZL, Zhang S, Xie XQ, Shang Y, Leger RJST, Zhao
771 GP, Wang C, Feng MG. 2012. Genomic perspectives on the evolution of fungal
772 entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. Sci. Rep. 2: 1-10
773
- 774 Welker JS, Rosa AP, Moura DJ, Machado LP, Catelan F, Uttpatel R. 2008.
775 Temperatura corporal de frangos de corte em diferentes sistemas de climatização. R.
776 Bras. Zootec. 37(8): 1463-1467

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Mortalidade Confirmada, crescimento vegetativo, produção de conídios em meio de cultura (ME) e em arroz, dos isolados de *B. bassiana* selecionados previamente ($26\pm 1^\circ\text{C}$, $70\pm 5\%$ UR e 14 horas de fotoperíodo).

Isolado	¹ Mortalidade Confirmada (%)	² Diâmetro médio da colônia (cm)	³ Conídios/Colônia (10^8)	⁴ Conídios/cm ² (10^8)	⁵ Conídios em Arroz (10^8 /g)
Unioeste 57	57,6 b	3,7 a	4,4 b	0,39 b	3,1 c
Unioeste 62	64,3 ab	3 c	2,7 b	0,39 b	4,6 b
Unioeste 69	72,8 a	3,4 b	5,4 ab	0,59 ab	3,8 c
Unioeste 88	73,8 a	3,5 b	7,1 a	0,81 a	7,7 a
CV (%)	17,9	6,2	53,9	38,6	14,5

^{1,2,5}Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey HSD com comparação de Student Newman-Keuls

^{3,4}Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis com comparações múltiplas de Dunn

CV(%): Coeficiente de Variação

Tabela 2: Crescimento vegetativo do fungo *Beauveria bassiana* isolado Unioeste 88, em meio de cultura BDA, após cinco dias de incubação em diferentes temperaturas ($26\pm 1^\circ\text{C}$, fotofase de 14 h e 70% UR).

Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Crescimento	
	Presente	Ausente
25	*	
30	*	
35		*
40		*
45		*

Tabela 3: Número médio de ninfas e adultos do ácaro *Dermanyssus gallinae* em armadilhas, nas avaliações pré e pós aplicação do fungo *Beauveria bassiana*, isolado Unioeste 88, Medianeira-PR, 22/01 – 19/02/2016.

Tratamento	Dias após a aplicação do isolado Unioeste 88 (1×10^9 conídios/mL)						
	Pré- Aplicação*	7**		14		21	
	N	N	%E	N	%E	N	%E
Testemunha	19,7aA	51,32aA	35,27	31,48aA	54,39	44,17aA	61,7
Unioeste 88	42,84aA	72,22aA		31,21aA		36,37aA	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey HSD ao nível de 5%.

*Primeira aplicação do isolado Unioeste 88

**Segunda aplicação do isolado Unioeste 88

E%: Porcentagem de eficiência segundo Herdenson e Tilton (1955)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Porcentagem de mortalidade confirmada de fêmeas de *Dermanyssus gallinae* submetidos a diferentes isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (1×10^8 conídios/mL) sete dias após inoculação ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, 70% UR e fotofase de 14h).

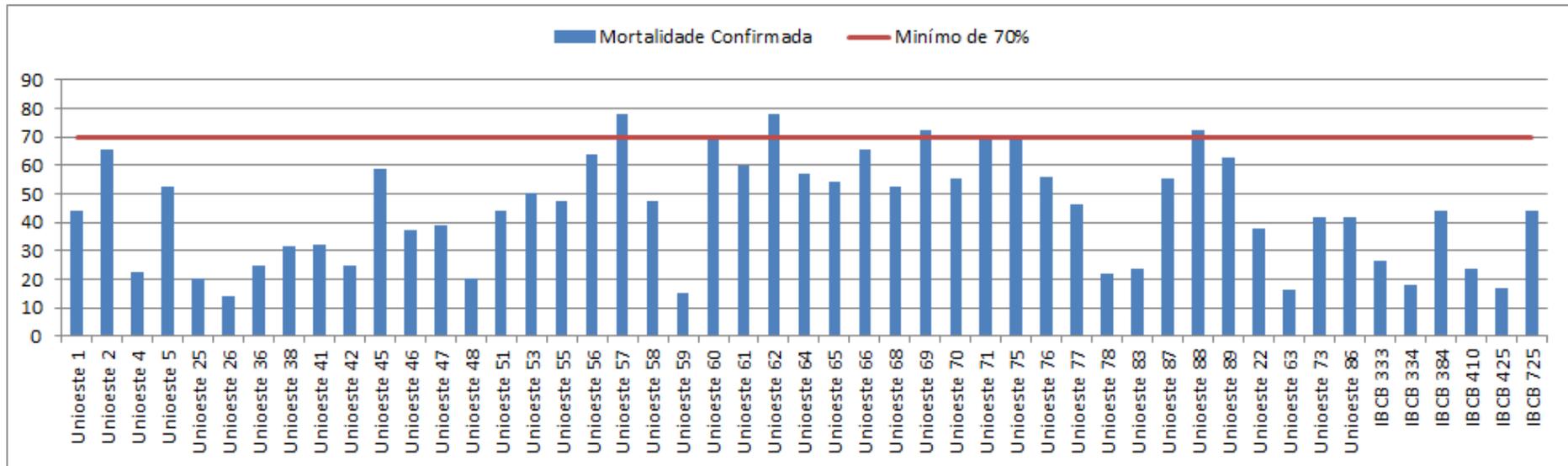




Figura 2: a) Armadilha de madeira próximo ao local de acúmulo dos ácaros; b) Armadilha de madeira com ácaros; c) Armadilha de papel corrugado; d) Triagem das fêmeas ingurgitadas; e) Fêmea de *D. gallinae* ingurgitada; f) Tubos de vidro contendo fêmeas do ácaro



Figura 3: a) Bloco de oito gaiolas; b) Estrutura interna do aviário; c) Armadilha de cano PVC utilizada para amostragem; d) Cano de PVC contendo ácaros; e) Ácaros escondidos no interior do papel

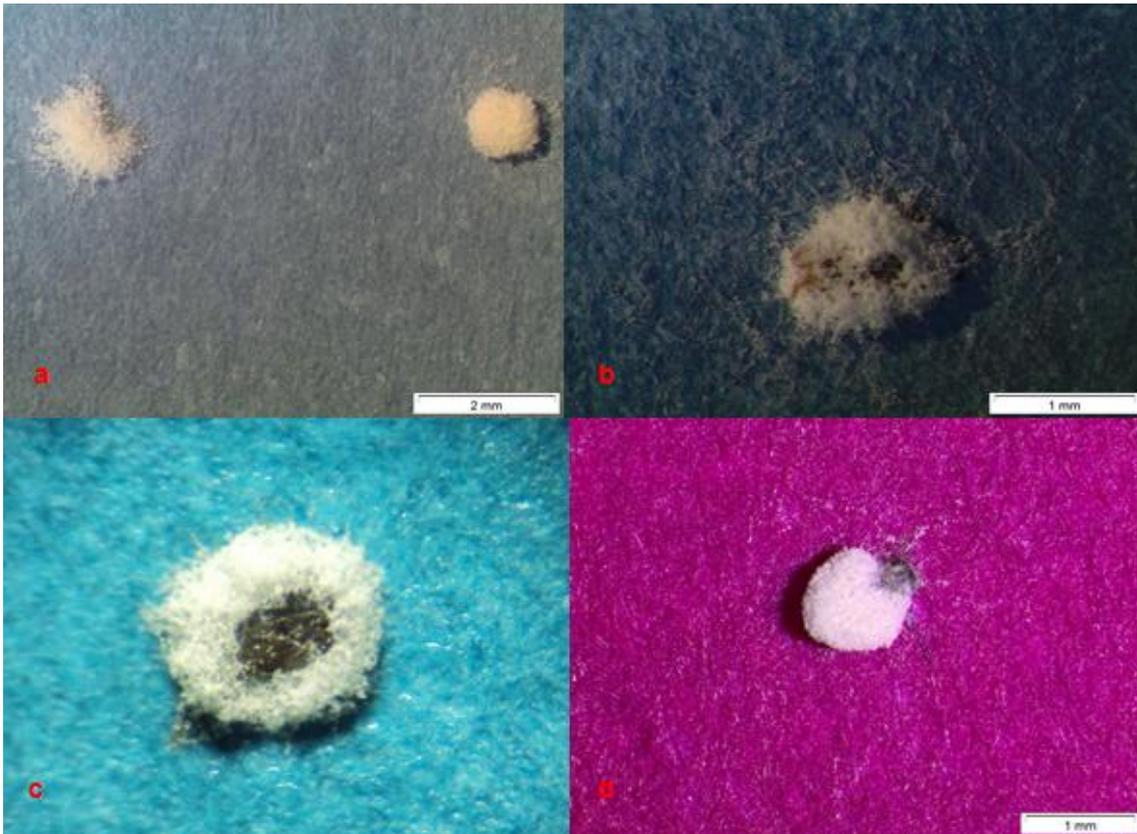


Figura 4: Ácaros confirmados com os isolados do fungo *Beauveria bassiana*. a) Unioeste 57; b) Unioeste 62; c) Unioeste 69; d) Unioeste 88

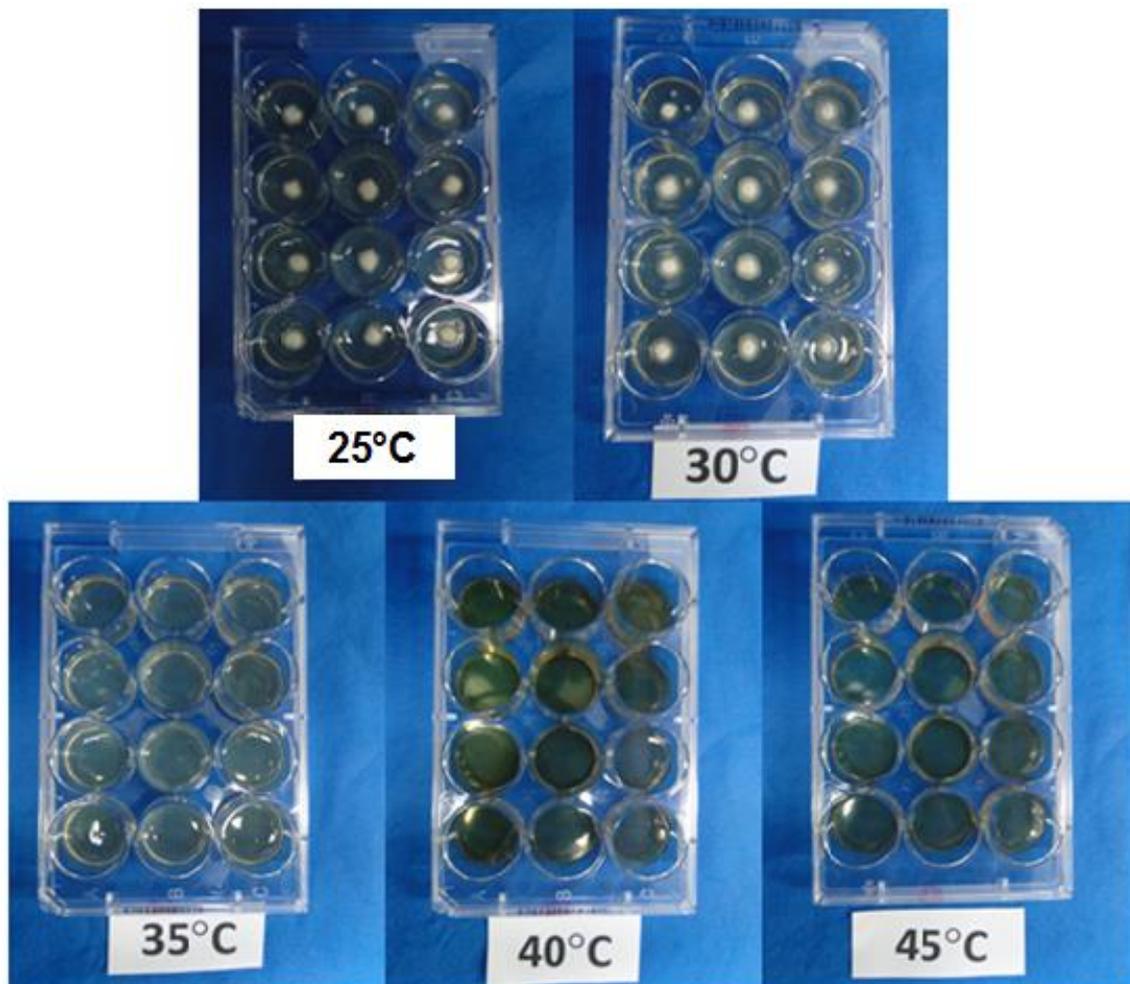


Figura 5: Crescimento do isolado de *Beauveria bassiana* Unioeste 88 em diferentes temperaturas de incubação

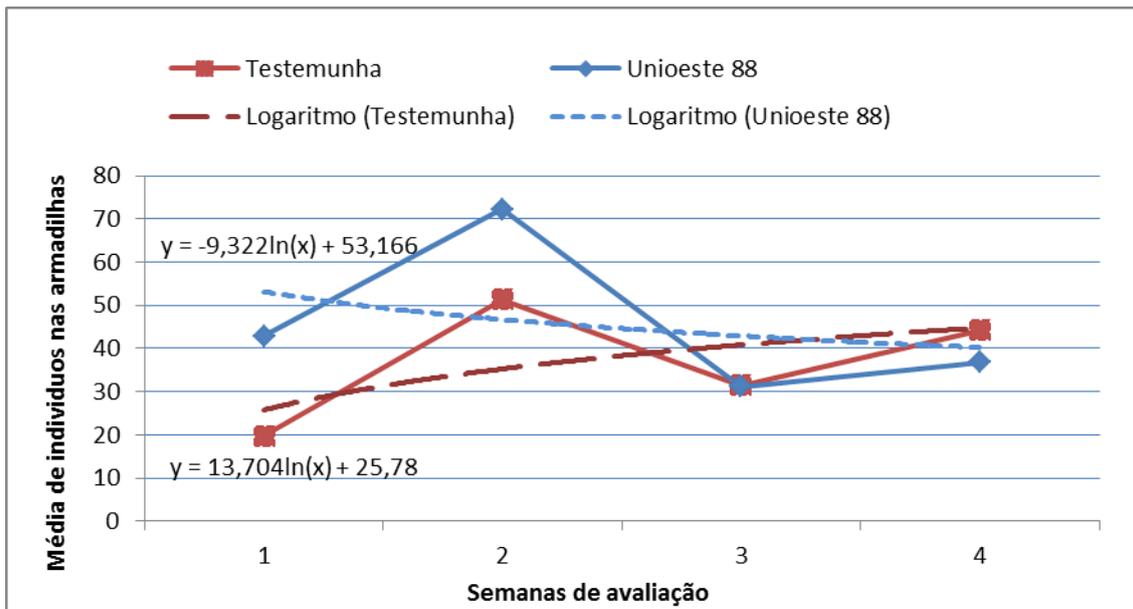


Figura 6: Flutuação populacional de *Dermanyssus gallinae* pré e pós aplicação do isolado de *Beauveria bassiana* Unioeste 88, Medianeira-PR, 2016

NORMAS DA REVISTA POULTRY SCIENCE

MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE/STYLE

General

Papers must be written in English. The text and all supporting materials must use American spelling and usage as given in *The American Heritage Dictionary*, *Webster's Third New International Dictionary*, or the *Oxford American English Dictionary*. Authors should follow the style and form recommended in *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers*. 2006. 7th ed. Style Manual Committee, Council of Science Editors, Reston, VA.

Preparing the Manuscript File

Manuscripts should be typed double-spaced, with lines and pages numbered consecutively, using Times New Roman font at 12 points. All special characters (e.g., Greek, math, symbols) should be inserted using the symbols palette available in this font. Complex math should be entered using MathType from Design Science (www.dessci.com). Tables and figures should be placed in separate sections at the end of the manuscript (not placed within the text).

Headings

Major Headings: Major headings are centered (except ABSTRACT), all capitals, boldface, and consist of ABSTRACT, INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION (or RESULTS AND DISCUSSION), ACKNOWLEDGMENTS (optional), APPENDIX (optional), and REFERENCES.

First Subheadings: First subheadings are placed on a separate line, begin at the left margin, the first letter of all important words is capitalized, and the headings are boldface and italic. Text that follows a first subheading should be in a new paragraph.

Second Subheadings: Second subheadings begin the first line of a paragraph. They are indented, boldface, italic, and followed by a period. The first letter of each important word should be capitalized. The text follows immediately after the final period of the subheading.

Title Page

The title page shall begin with a running head (short title) of not more than 45 characters. The running head is centered, is in all capital letters, and shall appear on the top of the title page. No abbreviations should be used. The title of the paper must be in boldface; the first letter of the article title and proper names are capitalized, and the remainder of the title is lowercase. The title must not have abbreviations. Under the title, names of authors should be typed (first name or initial, middle initial, last name). Affiliations will be footnoted using the following symbols:

*, †, ‡, §, #, |||, and be placed below the author names. Do not give authors' titles, positions, or degrees. Numbered footnotes may be used to provide supplementary information, such as present address, acknowledgment of grants, and experiment station or journal series number. The corresponding author should be indicated with a numbered footnote (e.g., Corresponding author: name@university.edu).

Note that there is no period after the corresponding author's e-mail address. The title page shall include the name and full address of the corresponding author. Telephone numbers and e-mail address must also be provided. The title page must indicate the appropriate scientific section for the paper (i.e., Animal Well-Being and Behavior; Genetics and Genomics; Immunology, Health and Disease; Metabolism and Nutrition; Molecular and Cellular Biology; Physiology and Reproduction; Processing and Products; Microbiology and Food Safety; Management and Production).

Abbreviations

Author-derived abbreviations should be defined at first use in the abstract and again in the body of the manuscript. The abbreviation will be shown in bold type at first use in the body of the manuscript. Refer to the Miscellaneous Usage Notes for more information on abbreviations.

Abstract

The Abstract disseminates scientific information through abstracting journals and through convenience for the readers. The Abstract, consisting of not more than 325 words, appears at the beginning of the manuscript with the word ABSTRACT without a following period. It must summarize the major objectives, methods, results, conclusions, and practical applications of the research. The Abstract must consist of complete sentences and use of abbreviations should be limited. References to other work and footnotes are not permitted. The Abstract and Key Words must be on a separate sheet of paper.

Key Words

The Abstract shall be followed by a maximum of five key words or phrases to be used for subject indexing. These should include important words from the title and the running head and should be singular, not plural, terms (e.g., broiler, not broilers). Key words should be formatted as follows: Key words: . . .

Introduction

The Introduction, while brief, should provide the reader with information necessary for understanding research presented in the paper. Previous work on the topic should be summarized, and the objectives of the current research must be clearly stated.

Materials and Methods

All sources of products, equipment, and chemicals used in the experiments must be specified parenthetically at first mention in text, tables, and figures [i.e., (model 123,

ABC Corp., Provo, UT)]. Model and catalog numbers should be included. Information shall include the full corporate name (including division, branch, or other subordinate part of the corporation, if applicable), city, and state (country if outside the United States), or Web address. Street addresses need not be given unless the reader would not be able to determine the full address for mailing purposes easily by consulting standard references.

Age, sex, breed, and strain or genetic stock of animals used in the experiments shall be specified. Animal care guidelines should be referenced if appropriate.

Papers must contain analyzed values for those dietary ingredients that are crucial to the experiment. Papers dealing with the effects of feed additives or graded levels of a specific nutrient must give analyzed values for the relevant additive or nutrient in the diet(s). If products were used that contain different potentially active compounds, then analyzed values for these compounds must be given for the diet(s). Exceptions can only be made if appropriate methods are not available. In other papers, authors should state whether experimental diets meet or exceed the National Research Council (1994) requirements as appropriate. If not, crude protein and metabolizable energy levels should be stated. For layer diets, calcium and phosphorus contents should also be specified.

When describing the composition of diets and vitamin premixes, the concentration of vitamins A and E should be expressed as IU/kg on the basis of the following equivalents:

Vitamin A

1 IU = 0.3 μ g of all-trans retinol

1 IU = 0.344 μ g of retinyl acetate

1 IU = 0.552 μ g of retinyl palmitate

1 IU = 0.60 μ g of β -carotene

Vitamin E

1 IU = 1 mg of dl- α -tocopheryl acetate

1 IU = 0.91 mg of dl- α -tocopherol

1 IU = 0.67 mg of d- α -tocopherol

In the instance of vitamin D₃, cholecalciferol is the acceptable term on the basis that 1 IU of vitamin D₃ = 0.025 μ g of cholecalciferol.

The sources of vitamins A and E must be specified in parentheses immediately following the stated concentrations.

Statistical Analysis: Biology should be emphasized, but the use of incorrect or inadequate statistical methods to analyze and interpret biological data is not acceptable. Consultation with a statistician is recommended. Statistical methods commonly used in the animal sciences need not be described in detail, but adequate references should be provided. The statistical model, classes, blocks, and experimental unit must be designated. Any restrictions used in estimating parameters should be defined. Reference to a statistical package without reporting the sources of variation (classes) and other salient features of the analysis, such as covariance or orthogonal contrasts, is not sufficient. A statement of the results of statistical analysis should justify the interpretations and conclusions. When possible, results of similar experiments should be pooled statistically. Do not report a number of similar experiments separately. The experimental unit is the smallest unit to which an individual treatment is imposed.

For group-fed animals, the group of animals in the pen is the experimental unit; therefore, groups must be replicated. Repeated chemical analyses of the same sample usually do not constitute independent experimental units. Measurements on the same experimental unit over time also are not independent and must not be considered as independent experimental units. For analysis of time effects, use time-sequence analysis.

Usual assumptions are that errors in the statistical models are normally and independently distributed with constant variance. Most standard methods are robust to deviations from these assumptions, but occasionally data transformations or other techniques are helpful. For example, it is recommended that percentage data between 0 and 20 and between 80 and 100 be subjected to arc sin transformation prior to analysis. Most statistical procedures are based on the assumption that experimental units have been assigned to treatments at random. If animals are stratified by ancestry or weight or if some other initial measurement should be accounted for, they should include a blocking factor, or the initial measurement should be included as a covariate.

A parameter [mean (μ), variance (σ^2)], which defines or describes a population, is estimated by a statistic (\bar{x} , s^2). The term **parameter** is not appropriate to describe a variable, observation, trait, characteristic, or measurement taken in an experiment.

Standard designs are adequately described by name and size (e.g., “a randomized complete block design with 6 treatments in 5 blocks”). For a factorial set of treatments, an adequate description might be as follows: “Total sulfur amino acids at 0.70 or 0.80% of the diet and Lys at 1.10, 1.20, or 1.30% of the diet were used in a 2×3 factorial arrangement in 5 randomized complete blocks consisting of initial BW.” Note that a **factorial arrangement is not a design**; the term “design” refers to the method of grouping experimental units into homogeneous groups or blocks (i.e., the way in which the randomization is restricted).

Standard deviation refers to the variability in a sample or a population. The standard error (calculated from error variance) is the estimated sampling error of a statistic such as the sample mean. When a standard deviation or standard error is given, the number of degrees of freedom on which it rests should be specified. When any statistical value (as mean or difference of 2 means) is mentioned, its standard error or confidence limit should be given. The fact that differences are not “statistically significant” is no reason for omitting standard errors. They are of value when results from several experiments are combined in the future. They also are useful to the reader as measures of efficiency of experimental techniques. A value attached by “ \pm ” to a number implies that the second value is its standard error (not its standard deviation). Adequate re-*porting* may require only 1) the number of observations, 2) arithmetic treatment means, and 3) an estimate of experimental error. The pooled standard error of the mean is the preferred estimate of experimental error. Standard errors need not be presented separately for each mean unless the means are based on different numbers of observations or the heterogeneity of the error variance is to be emphasized. Presenting individual standard errors clutters the presentation and can mislead readers.

For more complex experiments, tables of subclass means and tables of analyses of variance or covariance may be included. When the analysis of variance contains several error terms, such as in split-plot and repeated measures designs, the text should indicate clearly which mean square was used for the denominator of each F statistic. Unbalanced factorial data can present special problems. Accordingly, it is well to state how the computing was done and how the parameters were estimated. Approximations should be accompanied by cautions concerning possible biases.

Contrasts (preferably orthogonal) are used to answer specific questions for which the experiment was designed; they should form the basis for comparing treatment means. Nonorthogonal contrasts may be evaluated by Bonferroni *t* statistics. The exact contrasts tested should be described for the reader. Multiple-range tests are not appropriate when treatments are orthogonally arranged. Fixed-range, pairwise, multiple-comparison tests should be used only to compare means of treatments that are unstructured or not related. Least squares means are the correct means to use for all data, but arithmetic means are identical to least squares means unless the design is unbalanced or contains missing values or an adjustment is being made for a covariate. In factorial treatment arrangements, means for main effects should be presented when important interactions are not present. However, means for individual treatment combinations also should be provided in table or text so that future researchers may combine data from several experiments to detect important interactions. An interaction may not be detected in a given experiment because of a limitation in the number of observations.

The terms significant and highly significant traditionally have been reserved for $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively; however, reporting the *P*-value is preferred to the use of these terms. For example, use “. . . there was a difference ($P < 0.05$) between control and treated samples” rather than “. . . there was a significant ($P < 0.05$) difference between control and treated samples.” When available, the observed significance level (e.g., $P = 0.027$) should be presented rather than merely $P < 0.05$ or $P < 0.01$, thereby allowing the reader to decide what to reject. Other probability (α) levels may be discussed if properly qualified so that the reader is not misled. Do not report *P*-values to more than 3 places after the decimal. Regardless of the probability level used, failure to reject a hypothesis should be based on the relative consequences of type I and II errors. A “nonsignificant” relationship should not be interpreted to suggest the absence of a relationship. An inadequate number of experimental units or insufficient control of variation limits the power to detect relationships. Avoid the ambiguous use of $P > 0.05$ to declare nonsignificance, such as indicating that a difference is not significant at $P > 0.05$ and subsequently declaring another difference significant (or a tendency) at $P < 0.09$. In addition, readers may incorrectly interpret the use of $P > 0.05$ as the probability of a β error, not an α error.

Present only meaningful digits. A practical rule is to round values so that the change caused by rounding is less than one-tenth of the standard error. Such rounding increases the variance of the reported value by less than 1%, so that less than 1% of the relevant information contained in the data is sacrificed. Significant digits in data reported should be restricted to 3 beyond the decimal point, unless warranted by the use of specific methods.

Results and Discussion

Results and Discussion sections may be combined, or they may appear in separate sections. If separate, the Results section shall contain only the results and summary of the author’s experiments; there should be no literature comparisons. Those comparisons should appear in the Discussion section. Manuscripts reporting sequence data must have GenBank accession numbers prior to submitting. One of the hallmarks for experimental evidence is repeatability. Care should be taken to ensure that experiments are adequately replicated. The results of experiments must be replicated, either by replicating treatments within experiments or by repeating experiments.

Acknowledgments

An Acknowledgments section, if desired, shall follow the Discussion section. Acknowledgments of individuals should include affiliations but not titles, such as Dr., Mr., or Ms. Affiliations shall include institution, city, and state.

Appendix

A technical Appendix, if desired, shall follow the Discussion section or Acknowledgments, if present. The Appendix may contain supplementary material, explanations, and elaborations that are not essential to other major sections but are helpful to the reader. Novel computer programs or mathematical computations would be appropriate. The Appendix will not be a repository for raw data.

References

Citations in Text: In the body of the manuscript, refer to authors as follows: Smith and Jones (1992) or Smith and Jones (1990, 1992). If the sentence structure requires that the authors' names be included in parentheses, the proper format is (Smith and Jones, 1982; Jones, 1988a,b; Jones et al., 1993). Where there are more than two authors of one article, the first author's name is followed by the abbreviation et al. More than one article listed in the same sentence of text must be in chronological order first, and alphabetical order for two publications in the same year. Work that has not been accepted for publication shall be listed in the text as: "J. E. Jones (institution, city, and state, personal communication)." The author's own unpublished work should be listed in the text as "(J. Smith, unpublished data)." Personal communications and unpublished data must not be included in the References section.

References Section: To be listed in the References section, papers must be published or accepted for publication. Manuscripts submitted for publication can be cited as "personal communication" or "unpublished data" in the text.

Citation of abstracts, conference proceedings, and other works that have not been peer reviewed is strongly discouraged unless essential to the paper. Abstract and proceedings references are not appropriate citations in the Materials and Methods section of a paper. In the References section, references shall first be listed alphabetically by author(s)' last name(s), and then chronologically. The year of publication follows the authors' names. As with text citations, two or more publications by the same author or set of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date. The dates for papers with the same first author that would be abbreviated in the text as et al., even though the second and subsequent authors differ, shall also be differentiated by letters. All authors' names must appear in the Reference section. Journals shall be abbreviated according to the conventional ISO abbreviations given in journals database of the National Library of Medicine. One-word titles must be spelled out. Inclusive page numbers must be provided. Sample references are given below. Consult recent issues of Poultry Science for examples not included below.

Article:

Bagley, L. G., and V. L. Christensen. 1991. Hatchability and physiology of turkey embryos incubated at sea level with increased eggshell permeability. *Poult. Sci.* 70:1412–1418.

Bagley, L. G., V. L. Christensen, and R. P. Gildersleeve. 1990. Hematological indices of turkey embryos incubated at high altitude as affected by oxygen and shell permeability. *Poult. Sci.* 69:2035–2039.

Witter, R. L., and I. M. Gimeno. 2006. Susceptibility of adult chickens, with and without prior vaccination, to challenge with Marek's disease virus. *Avian Dis.* 50:354–365. doi:10.1637/7498-010306R.1

Book:

Metcalfe, J., M. K. Stock, and R. L. Ingermann. 1984. The effects of oxygen on growth and development of the chick embryo. Pages 205-219 in *Respiration and Metabolism of Embryonic Vertebrates*. R. S. Seymour, ed. Dr. W. Junk, Dordrecht, the Netherlands.

National Research Council. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Federal Register:

Department of Agriculture, Plant and Animal Health Inspection Service. 2004. Blood and tissue collection at slaughtering and rendering establishments, final rule. 9CFR part 71. *Fed. Regis.* 69:10137–10151.

Other:

Choct, M., and R. J. Hughes. 1996. Long-chain hydrocarbons as a marker for digestibility studies in poultry. *Proc. Aust. Poult. Sci. Symp.* 8:186. (Abstr.)

Dyro, F. M. 2005. Arsenic. WebMD. Accessed Feb. 2006. <http://www.emedicine.com/neuro/topic20.htm>.

El Halawani, M. E., and I. Rosenboim. 2004. Method to enhance reproductive performance in poultry. Univ. Minnesota, assignee. US Pat. No. 6,766,767.

Hruby, M., J. C. Remus, and E. E. M. Pierson. 2004. Nutritional strategies to meet the challenge of feeding poultry without antibiotic growth promotants. *Proc. 2nd Mid-Atlantic Nutr. Conf.*, Timonium, MD. Univ. Maryland, College Park.

Luzuriaga, D. A. 1999. Application of computer vision and electronic nose technologies for quality assessment of color and odor of shrimp and salmon. PhD Diss. Univ. Florida, Gainesville.

Peak, S. D., and J. Brake. 2000. The influence of feeding program on broiler breeder male mortality. *Poult. Sci.* 79(Suppl. 1):2. (Abstr.)

TABLES

Tables must be created using the MS Word table feature and inserted in the manuscript after the references section. When possible, tables should be organized to fit across the page without running broadside. Be aware of the dimensions of the printed page when planning tables (use of more than 15 columns will create layout problems). Place the table number and title on the same line above the table. The table title does not require a period. Do not use vertical lines and use few horizontal lines. Use of bold and italic typefaces in the table body should be done sparingly; such use must be defined in a footnote. Each table must be on a separate page. To facilitate placement of all tables into the manuscript file (just after the references) authors should use “section breaks” rather than “page breaks” at the end of the manuscript (before the tables) and between tables.

Units of measure for each variable must be indicated. Papers with several tables must use consistent format. All columns must have appropriate headings.

Abbreviations not found on the inside front cover of the journal must be defined in each table and must match those used in the text. Footnotes to tables should be marked by superscript numbers. Each footnote should begin a new line.

Superscript letters shall be used for the separation of means in the body of the table and explanatory footnotes must be provided [i.e., “Means within a row lacking a common superscript differ ($P < 0.05$).”]; other significant P-values may be specified. Comparison of means within rows and columns should be indicated by different series of superscripts (e.g., a,b, . . . in rows; x–z . . . in columns) The first alphabetical letter in the series (e.g., a or A) shall be used to indicate the largest mean. Lowercase superscripts indicate $P \leq 0.05$. Uppercase letters indicate $P \leq 1.1$ or less.

Probability values may be indicated as follows: * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$, and † $P \leq 0.10$. Consult a recent issue of *Poultry Science* for examples of tables.

Generally, results should be presented to the significant figure of the instrument used to collect the data. For example, results should not be presented to 5 digits when the instrument used only reads to 2 digits.

FIGURES/ILLUSTRATIONS

For information on how to submit figure files, please see the Oxford Journals page on figures <http://oxfordjournals.org/en/authors/figures.html>. You can also send queries about figure files to topoultry.science@oup.com.

Permissions

All copyright permission must be cleared and, if necessary, paid for by the author; this includes applications and payments to DACS (Data Access Control System), ARS (Artists Rights Society), and similar licensing agencies where appropriate. It is also the author’s responsibility to include acknowledgements as stipulated by particular institutions.

Requirements

Submission of figures in an electronic format will help us to ensure that your work is produced to the highest possible standard. This page contains information on how best to prepare your artwork for electronic submission.

Most figure file formats are acceptable, although TIFF is preferable.

TIFFs (Tagged Image File Format) are used for bitmap, greyscale, and colour images. To save files in TIFF format, go to the ‘Save As’ or ‘Export’ commands under ‘File’.

Before submitting artwork, please make sure that your image(s) fulfil the following criteria:

Formats

A number of different file formats are acceptable, including:

- Tagged Image File Format (.tif)* (please check settings when exporting to Tiff from the original application).
- Encapsulated PostScript (.eps)*
- Rich Text Format (.rtf)
- (Editable) Microsoft Word (.doc/.docx) (image files embedded into Word are often not good quality).
- (Editable) Microsoft PowerPoint (.ppt/.pptx) (image files embedded into PowerPoint are often not good quality).
- Microsoft Excel (.xls/.xlsx)
- editable Portable Document Format (PDF)
- Postscript (.ps)

- Photoshop (.psd)
- Adobe Illustrator (.ai)
- Graphics Interchange Format (.gif)
- Portable Network Graphics (.png)

preferred file format. Note that .jpg is not a file format listed as files produced as JPGs condense every time they are opened (and thus lose quality).

A note about Resolution and Quality: PPI (Pixels Per Inch) vs DPI (Dots Per Inch)

- The quality of an image is not dependent upon DPI. Typically when an image is of low quality (even though the resolution is within standards), the image contains pixelated text. This means that the figure should be redrawn using a standard font and that care should be taken to ensure the font is embedded.
- DPI pertains to the print version of the image; PPI to the online version. The compositor will take care to convert the accepted figure files accordingly. It is important to note that maximum size should be set at 1081 width by 1280 height for PPI / 600 DPI for line drawings and a minimum 300 DPI for colour or tone images.
- Graphics downloaded from the Web are not acceptable for print reproduction. These graphics are low-resolution images (usually 72 dpi) that are suitable for screen display but far below acceptable standards for print reproduction.
- Please take care that images you supply are not simply low resolution figures that have been expanded. These types of images will appear pixelated when maximised.

Line art

Line art is best reproduced when it is submitted as crisp black-and-white images and contains no unnecessary gray shading.

Patterns

If your image requires the use of many lines (as line graphs often do), please choose patterns that are easily distinguished from each other. Patterns with similar characteristics are hard to differentiate after reduction.

Equations and tables

All equations to be formatted using MathType only; image versions should be avoided. All tables to be in editable format in either Word or Excel; image and pdf versions should be avoided.

Requirements

Follow these rules for figures:

- Number them consecutively following the sequence in which they are mentioned in the text.
 - Include scale bars where appropriate. These should not be placed in the legend.
- Figures must:
- Be submitted for publication at resolutions of 600 dots per inch for line figures/black&white images and 300 dots per inch for half tones/color figures.
 - Use the same font type for all figures; use standard fonts such as Times, Courier, Arial, Helvetica, or Symbol.
 - Have embedded fonts. Embedding the fonts ensures that the text is retained within the figure during production.

- Have uniform lettering style and ensure that figure locants are consistently sized throughout. Figures will not be redrawn by the publisher.
- Have legends that define abbreviations and contain enough information so the figure can be understood independently of the text. Legends should be listed one after the other at the end of the main text document.
- Be converted to grayscale if originally created in color but intended to be printed in black and white BEFORE acceptance.
- Be saved in a separate file.
- Always use the latest version of the software program available. Files from older versions often lose integrity when opened in newer versions.
- Have layers flattened into one layer, if using any files consisting of layers (e.g., .eps).
- Be saved as clearly named files so that they can easily be identified in terms of manuscript, figure number, and format (e.g. [first author surname]Fig1.tif).
- Have figure legends/captions included at the end of the main text file. Please ensure that figures and figure legends/captions are in agreement. Symbols must NOT be included in figure legends; ALL symbols used in figures should be described in the legend/caption using words (e.g., filled triangle, open circle). Symbols may be used in the key within the figure artwork.
- Have line weights between 0.35 pt and 1.5 pt; if there are multiple lines in use, use patterns to differentiate them. Do not use lines that are thinner than 2 points, including the “hairline” width option in some programs.
- Have colour supplied in CMYK and not RGB. Please note that the use of red and green in figures is particularly problematic for approximately 5% of the male population. Advice on the preparation of colour-friendly figures is provided at http://jfly.iam.u-tokyo.ac.jp/html/manuals/pdf/color_blind.pdf.
- Have all data included within the illustration area.
- Avoid placing labels over a shaded area of the image.

To find out more on figure submission, please visit the Instructions to Authors for the particular journal to which you are submitting. View the full list of Journals

APÊNDICE

**Activity of some Brazilian isolates of entomopathogenic fungi against
the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* De Geer (Acari:
Dermanyssidae)**

¹Cristiane Regina Kasburg

²Luis Francisco Angeli Alves

³Daian Guilherme Pinto Oliveira

⁴Cristhiane Rohde

¹Laboratório de Biotecnologia Agrícola – UNIOESTE, Cascavel

²Professor/Bolsista Produtividade em Pesquisa, CNPq – UNIOESTE, Cascavel

³Professor – UTFPR, Santa Helena

⁴Professor – UTFPR, Medianeira

1 **Activity of someBrazilian isolates of entomopathogenic fungi against**
2 **poultry red mite *Dermanyssus gallinae* De Geer (Acari:**
3 **Dermanyssidae)**

4
5 **ABSTRACT**

6 Poultry red mite *Dermanyssus gallinae* is a cosmopolitan and hematophagous species,
7 commonly found in chicken layer houses all around the world. Poultry mite infestations may cause
8 anemia, stress, lower body weight, lower egg production and mortality of hens. Control of mites is
9 based on chemical products, but they are not effective and leave residues in eggs; therefore,
10 alternative control methods are necessary, as the entomopathogenic fungi. This study aimed to
11 evaluate, in the laboratory, the activity of Brazilian isolates of entomopathogenic fungi against *D.*
12 *gallinae*. The mites were collected in a commercial chicken layer house and were sprayed conidial
13 suspensions (1×10^8 spores/ml) of five isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*.
14 All tested isolates were pathogenic to the red mite, with confirmed mortality ranging from 22.9 to
15 52.4 %. This shows the potential of the isolates for future use in mite control, and reinforces the
16 need for further studies with other isolates, application strategies and with fungal formulations.

17
18 **Keywords:** hematophagous mites, microbial control, ectoparasites, laying hens.

19 **RESUMO**

20 O ácaro vermelho das galinhas *Dermanyssus gallinae* é um ácaro cosmopolita e hematófago,
21 encontrado em granjas de postura causando perda de peso, estresse, anemia, diminuição da postura
22 e morte das aves. Seu controle é baseado em acaricidas químicos, que além de não serem eficazes
23 deixam resíduos nos ovos, sendo importante a busca por alternativas de controle, como o uso de
24 fungos entomopatogênicos. Este trabalho objetivou avaliar em laboratório a atividade acaricida de
25 isolados brasileiros de fungos entomopatogênicos visando a futura utilização no controle de *D.*
26 *gallinae*. Os ácaros foram coletados em aviário comercial de galinhas poedeiras e submetidos à
27 pulverização de suspensões de conídios (1×10^8 conídios/ml) de cinco isolados de *Beauveria*
28 *bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. Todos os isolados testados foram patogênicos ao ácaro
29 *Dermanyssus gallinae*, com mortalidade confirmada variando entre 22,9 a 52,4 %.. Isto demonstra o
30 potencial dos isolados e indica a necessidade de estudos com outros isolados, avaliação de
31 estratégias de aplicação e com formulações do fungo.

32

33 **Palavras-chave:** ácaros hematófagos, controle microbiano, ectoparasitas, galinhas poedeiras.

34 INTRODUCTION

35 Brazil egg production is based on an intensive farming system, which ensures greater yield
36 in a smaller physical space. However, it favors the development of arthropod pests as *Dermanyssus*
37 *gallinae* (De Geer) (Acari, Dermanyssidae). Mites feed on poultry causing weight loss, decreased
38 egg-laying, blood spoliation anemia and, in more severe cases, it leads to death. Studies have shown
39 that the mite can carry *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Coxiella burnetii*, and viruses (Saint Louis
40 encephalitis, the avian pox virus and the avian paramyxovirus type I or the New Castle disease) . In
41 all these cases, the mite may have acquired these microorganisms through blood repast in infected
42 birds (Moro *et al.*, 2007; Harrington *et al.*, 2011; Pereira, 2009; 2011; Sparagano *et al.*, 2014).

43 Its control is based on chemical acaricides that are apparently effective because they cause
44 momentary reductions in the population of the pest. Misuse of these products can lead to residues in
45 the eggs, poisoning of workers and poultry in chicken layer houses, environmental contamination;
46 and also can select resistant individuals to active ingredients (Chauve, 1998; Pereira, 2009;
47 Liebisch, 2011).

48 As alternative entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium*
49 *anisopliae* (Metsch.) Sorok isolates from Europe were evaluated against poultry red mites
50 (Steenberg & Kilpinen 2003). Also, studies conducted in the laboratory and in the field in Iran and
51 Egypt confirmed the action of fungal isolates from Europe and Asia against *D. gallinae* (Steenberg
52 *et al.*, 2006; Kaoud, 2010; Tavassoli *et al.*, 2008; Steenberg & Kilpinen, 2014).

53 However, in Brazil studies of alternative pest control are focused only on *in vitro* evaluation
54 of plant extracts (Morrone *et al.*, 2001; Soares, 2012; Oliveira *et al.*, 2014). Thus the objective of
55 the present study was to evaluate for the first time the pathogenicity of Brazilian isolates of *B.*
56 *bassiana* and *M. anisopliae* against *D. gallinae*.

57

58 MATERIALS AND METHODS

59 Mites were collected in a commercial chicken layer house. Engorged females were selected
60 based on its description (Flechtmann, 1973) and placed in glass tubes sealed with voile fabric and
61 kept at 26°C, 70% RH and 12 h photoperiod for acclimatization until use in the experiment (Soares,
62 2012). Were evaluated fungi *B. bassiana* (Unioeste 01, Unioeste 02, Unioeste 04 and Unioeste 05)
63 and *Metarhizium anisopliae* (Unioeste 22) isolates (Table 1).

64 The fungi were grown in culture medium (sporulation medium) in Petri dishes (10 days at
65 26°C; 12 h photoperiod) (Alves *et al.*, 1998). After incubation conidia were collected by scrapping
66 up the surface of the culture medium and a suspension of conidia was prepared (1×10^8
67 conidia/mL) in distilled water + Tween 80 at 0.01%. Fifteen adult female mites were transferred to
68 a Petri dish and received 1 mL of the conidial suspension with Potter spray tower (0.7 kgf/cm^2). For
69 control, only distilled water + Tween 80 to 0.01% was applied. After application, the mites were
70 transferred to glass tubes sealed with voile fabric. Evaluations were daily for seven days. The dead
71 mites were removed with a fine-tipped brush and placed for confirmation of mortality by the fungus
72 in a humid chamber, and incubated in the same previous conditions. For all treatments were
73 prepared seven replicates with 15 mites. Experiments were repeated twice.

74 Experimental design was completely randomized..Data from total and confirmed mortality
75 were transformed into $\arcsen \sqrt{100}$ and analyzed for normality and homogeneity by the Shapiro-
76 Wilk and Levene's tests, and analyzed by Tukey's test ($p \leq 0.05$) using Sisvar statistical software
77 (Ferreira, 2011).

78

79 RESULTS AND DISCUSSION

80 All *B. bassiana* isolates were pathogenic to the mite *D. gallinae* (confirmed mortality
81 ranging from 22,9 to 52,4%). There was significatively difference only between Unioeste 2 from
82 Unioeste 4 isolates. The Unioeste 22 (*M. anisopliae*) caused 52.4 of total mortality and only 38.1 of
83 confirmed mortality (Table 1).

84 **Table 1.** Total and confirmed mortality of *D. gallinae* by different isolates of entomopathogenic
85 fungi.

Treatment	Host ¹	Total mortality	Confirmed mortality
Control		25.7 ± 1.29 b	0.0 ± 0.00 c
<i>Beauveria bassiana</i>			
Unioeste 01	<i>Astylus variegatus</i> (adult)	49.5 ± 1.75 ab	43.8 ± 1.70 ab
Unioeste 02	<i>Alphitobius diaperinus</i> (larvae)	71.4 ± 1.22 a	65.7 ± 1.14 a
Unioeste 04	<i>Alphitobius diaperinus</i> (larvae)	37.2 ± 1.71 ab	22.9 ± 1.28 b
Unioeste 05	<i>Alphitobius diaperinus</i> (adult)	59.1 ± 1.10 ab	52.4 ± 1.07 ab
<i>Metarhizium anisopliae</i>			
Unioeste 22	Soil, Yerba mate plantation	52.4 ± 0.59 ab	38.1 ± 0.56 ab
CV (%)		36.3	42.5

86 ¹Entomopathogenic Fungi Colection - Laboratory of Agricultural Biotechnology, Unioeste-Cascavel, PR, Brazil.
87 *Astylus variegatus* and *Alphitobius diaperinus* - Coleoptera: Melyridae and Tenebrionidae, respectively.
88 Means followed by the same letter in the column do not differ by Tukey's test ($p \leq 0.05$)
89

90 Similarly, Steenberg & Kilpinen (2003) found 60% mortality of the poultry red mite by *B.*
91 *bassiana* and 30% with *M. anisopliae* in the laboratory. Also, the acaricidal activity of a
92 commercial product based on conidia of *B. bassiana* in a powder formulation was also
93 demonstrated under laboratory conditions, and it obtained 65% mortality after five days of
94 inoculation (Kaoud, 2010).

95 Isolates of *M. anisopliae* were also pathogenic against mite *D. gallinae* in the laboratory,
96 with mortality ranging between 40 and 70% depending on the tested isolates. Besides, under field
97 conditions, efficiency was also observed in commercial poultry houses treated with suspension of
98 conidia at high concentration (1×10^9 conidia/mL) (Tavassoli *et al.* 2008; 2011). It should be noted
99 that this is a preliminary test with isolates from Brazil, and further research is suggested to find
100 more virulent isolates, and to test application strategies and fungal formulations, both in the
101 laboratory and in the field.

103 ACKNOWLEDGEMENTS

104 The authors are thankful to the Brazilian National Research Council (CNPq) and to the
105 Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for providing research
106 grants.

107

108 REFERENCES

109 Alves, S.B.; Almeida, J.E.M.; Moino Jr, A.; Alves, L.F.A. Técnicas de Laboratório. In: Alves S.B.
110 (Ed.). Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ; 1998. p. 637-712.

111

112 Chauve, C. The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): current situation and
113 future prospects for control. *Veterinary Parasitology* 1998; 79 : 239-245.

114

115 Ferreira, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* 2011; 35(6),
116 1039-1042.

117

118 Flechtmann, C.H.W. Ácaros de importância médico-veterinária. São Paulo, Nobel; 1973, 192p.

119

120 Harrington, D.W.J.; George, D.R.; Guy, J.H.; Sparagano, O.A.E. Opportunities for integrated pest
121 management to control the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *World's Poultry Science*
122 *Journal* 2011; 67 : 83-93.

123

124 Kaoud, H.A. Susceptibility of poultry red mites to entomopathogens. *Internacional Journal of*
125 *Poultry Science* 2010; 9(3) : 259-263.

126

127 Liebisch, G.; Hack, R.; Smid, G. Efficacy of spinosad against the poultry red mite, *Dermanyssus*
128 *gallinae* (Mesostigmata: Dermanyssidae), in laboratory and field trials. In: Moraes, G.J. de &
129 Proctor, H. (eds). *Acarology XIII: Proceedings of the International Congress; 2011; Zoosymposia,*
130 *Nova Zelândia.* p. 282-287.

131

132 Moro, C.V.; Chauve, C.; Zenner, L. Experimental infection of *Salmonella enteritidis* by the poultry
133 red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Veterinary Parasitology* 2007; 146 : 329-336.

134

135 Morrone, F.; Mayworm, M.A.S.; Tucci, E.C.; Salatino, A.; Guerreiro Filho, O. Ação acaricida de
136 extratos foliares de espécies de *Coffea* (Rubiaceae) sobre *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778)
137 (Acari, Dermanyssidae). *Arquivos do Instituto Biológico* 2001; 68(2) : 43-47.

138

139 Oliveira, D.G.P.; Alves, L.F.A.; Sosa-Gómez, D.R. Advances and perspectives of the use of the
140 entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for the control of
141 arthropod pests in poultry production. *Brazilian Journal Poultry Science* 2014; 16(1) : 1-12.

142 Pereira, M.C. Ectoparasitose. In: Revollo, L.; Ferreira, A.J.P. (Eds.) *Patologia Aviária.* Barueri,
143 2009. p. 322-327.

144

145 Pereira, D.M.C. *Dermanyssus gallinae* em galinhas poedeiras em bateria: carga parasitária, ação
146 vectorial e ensaio de campo de um biopesticida. [Dissertation]. Lisboa, Portugal: Universidade
147 Técnica de Lisboa; 2011.

- 148
149 Soares, L. B.; A constituição química do óleo essencial de folhas, atividade fungicida e acaricida de
150 *Artemisia vulgaris* L. e potencial aplicação na avicultura industrial. [Dissertation]. São Paulo, Brasil
151 : Instituto Biológico; 2012.
152
- 153 Sparagano OAE, George DR, Harrington DWJ, Giangaspero A. Significance and Control of the
154 Poultry Red Mite, *Dermanyssus gallinae*. Annual Review Entomology 2014; 59: 447-466
- 155 Steenberg, T.; Kilpinen, O. Fungus infection of the chicken mite *Dermanyssus gallinae*. Insect
156 Pathogens and Insect Parasitic Nematodes 2003, Dinamarca, IOBC WPRS Bulletin 26(1) : 23-25.
157
- 158 Steenberg, T.; Kilpinen, O.; Moore, D. Fungi for control of the poultry red mite, *Dermanyssus*
159 *gallinae*. Proceedings of the International Workshop “Implementation of Biocontrol in Practice in
160 Temperate Regions – Present and Near Future”. Research Centre Flakkebjerg, Denmark, November
161 1-3 2005. Dias Report 2006; 119 : 71-73.
162
- 163 Steenberg; T.; Kilpinen, O. Synergistic interaction between the fungus *Beauveria bassiana* and
164 desiccant dusts applied against poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*). Experimental & Applied
165 Acarology 2014; 62 : 511-524.
166
- 167 Tavassoli, M.; Ownag, A.; Pourseyed, S.H.; Mardani, K. Laboratory evaluation of three strains of
168 the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for controlling *Dermanyssus gallinae*. Avian
169 Patology 2008; 37(3) : 259-263.
170
- 171 Tavassoli, M.; Allymehr, M.; Pourseyed, S.H.; Ownag, A., Bernousi, I.; Mardani, K.;
172 Ghorbanzadegan, M.; Shokrpour, S. Field bioassay of *Metarhizium anisopliae* strains to control the
173 poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Veterinary Parasitology 2011; 178 : 374 378.

NORMAS DA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL POULTRY SCIENCE

Instruções aos Autores

Escopo e Política

A publicação da Revista Brasileira de Ciência Avícola é coordenada pela comissão editorial da FACTA (Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas). Todas as conclusões e resultados publicados são de responsabilidade integral do(s) autor (es).

A Revista Brasileira de Ciência Avícola é publicada trimestralmente e aceita apenas trabalhos originais de pesquisa que sejam relevantes à área de ciência avícola. As áreas consideradas para publicação são: Bioquímica e Biologia Celular; Construção, Ambiente e Bem-estar; Aves Silvestres; Produção e Manejo; Imunologia, Doenças Avícolas e Controle; Aves de Postura e Produção de Codornas; Nutrição; Fisiologia, Genética, Reprodução e Incubação; Tecnologia, Processamento e Segurança Alimentar.

O objetivo principal da Revista é o de publicar artigos científicos e técnicos completos, assim como revisões de literatura na área de ciência avícola, escritos por pesquisadores e especialistas da área. Os autores que gostariam de publicar uma revisão de literatura, um editorial ou uma revisão técnica devem entrar em contato com o editor da Revista.

Todos os manuscritos devem ser enviados em inglês e serão avaliados de modo confidencial e imparcial.

O envio de um manuscrito à Revista Brasileira de Ciência Avícola significa que:

1. O artigo nunca foi publicado.
2. O artigo não está sendo enviado para publicação em outro lugar.
3. Todos os autores aprovaram o envio do artigo a Revista Brasileira de Ciência Avícola.
4. Todos os autores obtiveram permissão para publicar por parte dos empregadores ou instituições às quais são filiados.
5. As permissões necessárias, incluindo a aprovação ética, foram obtidas. Serão desconsiderados os trabalhos que descrevam experimentos que demonstram uma falta de preocupação com os padrões éticos e de bem estar animal.

O manuscrito deve ser enviado pelo sistema ScholarOne: <https://mc04.manuscriptcentral.com/rbca-scielo>, as outras correspondências devem ser enviadas preferencialmente por email ou por correio para:

Brazilian Journal of Poultry Science

FACTA - Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas

Avenida Andrade Neves, 2501

13070-001 – Campinas, SP, Brasil

Tel. 55 (19) 3243-6555

Fax. 55 (19) 3243-8542

E-mail: revista@facta.org.br

Normas Editoriais

Artigos científicos

O manuscrito deve conter os resultados de pesquisas originais que contribuem de modo relevante para o avanço da ciência avícola. Se alguma parte dos resultados já tiver sido publicada anteriormente como um resumo ou pequeno trabalho em algum evento científico, esta informação precisa constar no trabalho. Manuscritos que tragam novos conceitos, metodologias ou abordagens experimentais inovadoras terão prioridade.

O manuscrito deve ter as seguintes sessões:

Título

Autor(es)

Endereço para correspondência

Resumo

Palavras-chave

Introdução

Materiais e métodos

Resultados

Discussão

Referências

Agradecimentos que devem ser incluídos após a Discussão

As sessões Resultados e Discussão podem ser apresentadas em conjunto. O resumo deve ter no máximo 250 (duzentas e cinquenta) palavras. As palavras-chave devem vir imediatamente após o resumo, em ordem alfabética, devem ser no máximo 5 (cinco) e devem ser palavras ou expressões que identifiquem o conteúdo do artigo.

Notas técnicas e Estudos de caso

Notas técnicas e estudos de caso devem ter a mesma estrutura de artigos científicos, incluindo as sessões (Introdução, Resumo, Material e métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos e Referências). Estas devem ser apresentadas em um texto com no máximo 1000 (mil) palavras, sem contar o Resumo e Referências, e não devem conter mais de três figuras e/ou tabelas.

Artigos técnicos

Artigos técnicos devem apresentar o desenvolvimento de novas metodologias e/ou técnicas que possam ser utilizadas de modo a contribuir para a área de ciência avícola. Estes artigos devem ter todas as sessões dos artigos científicos.

Editoriais e Revisões de convidados

Editoriais e Revisões de convidados serão publicadas somente através de convite. As revisões devem seguir as normas editoriais dos artigos científicos, porém sem as sessões Materiais e Métodos, Resultados e Discussão.

Layout do Manuscrito

1. Formato: cada manuscrito original deve ser devidamente identificado pelo título e nome(s) do(s) autor(es). A fonte utilizada deve ser Arial (tamanhos de fonte: 16pt para o título, 14pt para os subtítulos no corpo do texto e 12pt para o corpo do texto), em espaçamento duplo e em papel A4 (21,0 x 29,7cm) com margens de 1,5 cm. As linhas e páginas devem ser numeradas consecutivamente. O manuscrito deve ser salvo em .doc (Microsoft Word ou editor de texto compatível). Somente nomenclaturas oficiais e reconhecidas serão aceitas. Abreviações não devem ser utilizadas no título.

2. Folha de rosto: todos os manuscritos devem ter uma folha de rosto com o título, o(s) nome(s) completo(s) do(s) autor(es) e a instituição de origem. Uma nota de rodapé com o endereço para correspondência completo e o email do autor a quem principal deve ser incluída nesta página.

3. Tabelas: as tabelas devem ser numeradas consecutivamente em números indo-arábicos e devem ter um título descritivo. Todas as explicações devem ser dadas em uma legenda imediatamente abaixo da figura. Todas as abreviações que apareçam na tabela devem ser explicadas nesta legenda, mesmo que sejam também explicadas no corpo do texto. As tabelas devem poder ser compreendidas sem qualquer referência ao corpo do texto.

4. Ilustrações (fotografias, gráficos e desenhos): as ilustrações devem ser numeradas consecutivamente em números indo-arábicos e devem ser enviadas no mesmo documento (arquivo) mas em páginas separadas, que devem também trazer o nome do artigo, o(s) nome(s) do(s) autor(es) e a indicação do local no corpo do texto onde a ilustração deve aparecer. Fotografias, figuras e material escaneado devem ser enviados em alta resolução (no mínimo 600 dpi) e no formato .tif ou .jpg. As figuras serão publicadas em preto e branco. Um acordo em relação aos custos da impressão colorida deve ser firmado caso o autor deseje publicar as ilustrações coloridas.

5. Unidades: o Sistema Internacional de Unidades (SI) deve ser usado para medidas e abreviações.

6. Referências: as referências devem aparecer em ordem alfabética de acordo com o sobrenome do autor. A lista completa de referências deve ser mencionada. Todos os autores de cada artigo devem ser citados.

Exemplos:

Bakst MR, Gupta K, Akuffo V. Comparative development of the turkey and chicken embryo from cleavage through hypoblast formation. *Poultry Science* 1997; 76(1):83-90.

Bouzoubaa K, Nagaraja KV. Epidemiological studies on the incidence of salmonellosis in chicken breeder/hatchery operations in Marocco. In: Snoeyenbos GH, editor. *Proceedings of the International Symposium on Salmonella*;1984; Kenneth Square,PA: American Association Avian Pathologists; 1985. p.337.

Briceno WNO, Guimarães FCR, Cruz FGG. Efeitos da densidade populacional de frangos de corte em época quente no município de Manaus. In: 10o Congresso Brasileiro de Avicultura; 1987; Natal, Rio Grande do Norte. Brasil. p. 131-2.

Gabriel JE. Efeitos do nível energético da ração e do estresse térmico na expressão da proteína de choque térmico Hsp70 e nos níveis do seu mRNA no fígado de frangos de corte em diferentes estágios de desenvolvimento. [Dissertation]. Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista; 1996.

Ginsburg M. Primordial germ cell development in avians. Poultry Science 1997; 76(1):91-5.

Simon VA, Oliveira C. Vacinação em avicultura através da água de bebida. In: Macari M, editor. Água na avicultura industrial. Jaboticabal: Funep-Unesp; 1996. p. 73-85.

Summers JD, Leeson S. Commercial poultry nutrition. 2 ed. New York; N.Y / State Manual Book & Periodical Services; 1997.

7. Citações no corpo do texto: o sobrenome do autor deve ser seguido pelo ano em parênteses. No caso de dois autores, os dois sobrenomes devem aparecer. No caso de mais de dois autores, a citação deve ser feita usando-se o sobrenome do primeiro autor seguido pela expressão *et al.* (em itálico).

Exemplos:

Simon (1996)

Silva & Silva (1988)

Briceno et al. (1987)

8. Nomes científicos de microorganismos: seguir as recomendações do Berg's Manual

9. Taxas: A Revista Brasileira de Ciência Avícola não cobra taxa para submissão, somente a taxa para publicação que é de US \$ 400,00 (quatrocentos dólares) por artigo aprovado.

10. Versão editorada: Uma versão editorada e diagramada será enviada ao autor cujos dados para correspondência aparecem na página de rosto do manuscrito. Eventuais correções feitas pelo autor nesta versão devem ser retornadas em até três dias, preferencialmente via fax. O editor se reserva o direito de enviar o manuscrito para a impressão sem o envio da versão editorada ao autor. O editor não deve ser considerado responsável por eventuais erros que apareçam no artigo publicado.

11. Direitos autorais: a transferência dos direitos autorais do artigo à FACTA é uma das condições para publicação na Revista Brasileira de Ciência Avícola. Os autores podem usar o artigo após a publicação sem autorização prévia da FACTA contanto que os devidos créditos sejam dados à Revista como o local original de publicação. Os autores são responsáveis pela obtenção de permissões para reproduzir no artigo materiais de outras fontes que sejam protegidos por direitos autorais.

[Imprimir](#)[Fechar](#)

Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science - Manuscript ID RBCA-2015-0120

De: onbehalfof+koralinamoura+facta.org.br@manuscriptcentral.com em nome de koralinamoura@facta.org.br
Enviada: quarta-feira, 15 de julho de 2015 20:33:45
Para: luis.alves@unioeste.br
Cc: criskasburg@hotmail.com; luis.alves@unioeste.br; daianguilherme@gmail.com; crisrohde@yahoo.com.br

15-Jul-2015

Dear Dr. Alves:

Your manuscript entitled "Activity of Brazilian isolates of entomopathogenic fungi against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* De Geer (Acari: Dermanyssidae)" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science.

Your manuscript ID is RBCA-2015-0120.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/rbca-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/rbca-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science.

Sincerely,

Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science Editorial Office