

# DISTÂNCIA DE ATUAÇÃO EM OLFATÔMETRO DO FEROMÔNIO SEXUAL DE ATRAÇÃO DE *Anocentor nitens* (ACARI : IXODIDAE), 2,6-DICLOROFENOL

ANA CRISTINA CÔRTEZ LÔBO<sup>1</sup>, LÍGIA MIRANDA FERREIRA BORGES<sup>2</sup> E ÁLVARO EDUARDO EIRAS<sup>3</sup>

1. Escola de Veterinária/ UFG, Caixa Postal 131 - CEP 74001-970 – Goiânia-GO.  
2. Laboratório de Parasitologia Veterinária / DMIPP/ IPTSP/ UFG. Cx. Postal 131, CEP 74001-970 Goiânia, GO, e-mail: ligia@iptsp.ufg.br.  
3. Departamento de Parasitologia/ ICB/ UFMG. Cx Postal 486, CEP: 30270-901 Belo Horizonte, MG, e-mail: alvaro@icb.ufmg.br

## RESUMO

Neste trabalho determinou-se a distância de atuação do 2,6-diclorofenol (2,6-DCF), em um olfatômetro, visando obter subsídios para o uso de iscas deste feromônio para o controle de *Anocentor nitens*. Foram liberados, individualmente, vinte machos sexualmente maduros, nas distâncias de 5 e 10 cm, diante de septos de borracha limpos e tratados com 50, 500 e 5.000 ng de 2,6-DCF e fêmeas atrativas. As fêmeas, na distância de 5 cm, já não atraíram os machos, pois os percentuais de orientação e de ângulos em cada categoria foram similares. Em ambas as distâncias, os melhores desempenhos foram observados para os machos

testados nas menores concentrações do 2,6-DCF, cujos percentuais de orientação foram mais altos; os machos tiveram de ser testados menos vezes; as frequências de ângulos entre 0° e 10°, que indicam a atração do carrapato para a fonte de odor, foram maiores. Os machos foram igualmente rápidos para alcançar o septo tratado com qualquer concentração do 2,6-DCF, do que para as fêmeas ou septo controle. Esses resultados demonstram o marcado papel do 2,6-DCF como atraente para *A. nitens* nas concentrações de 50 a 500 ng e a possibilidade do seu uso como isca, associado ou não a um acaricida, no controle desse carrapato.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Anocentor nitens*, olfatometria, feromônio sexual, 2,6-diclorofenol.

## SUMMARY

### RANGE OF THE SEX PHEROMONE OF *ANOCENTOR NITENS* (ACARI: IXODIDAE), 2,6-DICHLOROPHENOL, IN AN OLFACTOMETER BIOASSAY

The range of the sex pheromone of *Anocentor nitens*, 2,6-diclorofenol (2,6-DCP), was evaluated in an olfactometer bioassay in order to get aid to use decoys of this pheromone to control this tick. Twenty sexually active males were release individually at 5 and 10 cm from control rubber septa and treated with 50, 500 and 5000 ng of 2,6-DCP, attractive females. At 5 cm distance the females were not attractive as the responses of orientation and displacement angles were similar to those observed to control rubber septa. In both distance, the highest performances were observed

for the lowest concentrations of 2,6-DCP: percentages of orientation were higher; the males were less tested; the frequencies of angles between 0° and 10°, which indicate attraction, were higher. Similar time of orientation was observed to every 2,6-DCP concentration and higher than to female and to control rubber septa. These results show that 2,6-DCP at 50 to 500 ng concentration is a remarkable attractant for *A. nitens* and a potential candidate to be used in an attractant and kill strategy for control this tick.

**KEY WORDS:** *Anocentor nitens*, olfactometer bioassay, sexual pheromone, 2,6-dichlorophenol.

## INTRODUÇÃO

*Anocentor nitens* (NEUMANN, 1897) é um carrapato amplamente difundido nos equinos do Bra-

sil (FALCE et al., 1983; BORGES & LEITE, 1998), nos quais pode provocar o desenvolvimento de infecções bacterianas secundárias ou miíases e consequentemente perda de rigidez do pavilhão auricular.

Além disso, ele é o vetor de *Babesia caballi*, um dos agentes da babesiose eqüina no Novo Mundo (ROBY & ANTHONY, 1963). A necessidade de técnicas de controle de carrapatos que minimizem a dependência de acaricidas químicos tem aumentado o interesse no uso de feromônios, substâncias químicas de comunicação interespecífica, para o seu controle.

Em carrapatos, a corte envolve uma hierarquia de eventos comportamentais controlados por diferentes sinais químicos (feromônios). Quando machos detectam o feromônio sexual de atração, 2,6-diclorofenol (2,6-DCF), eles se destacam e iniciam a procura da fêmea. O feromônio sexual de monta, o qual é necessário para que o macho reconheça a fêmea como uma parceira apta para a cópula, foi identificado como ésteres de esteril em diferentes espécies de ixodídeos (HAMILTON et al., 1989; HAMILTON et al. 1994; SOBBHY et al., 1994). Ao contrário do que ocorre com outros carrapatos, em *A. nitens*, BORGES et al. (2002) verificaram que o 2,6-DCF sozinho atuou como feromônio sexual de atração e de monta, pois machos se orientaram, montaram e se posicionaram ventralmente de manequins tratados com esse composto. No entanto, a distância de atuação desse composto sobre machos de *A. nitens* ainda não foi determinada.

Os conhecimentos obtidos nos últimos anos têm permitido a realização de testes em que se utilizaram os feromônios como “confundidores” sexuais ou como iscas (SONENSHINE, 1993). Formulações microencapsuladas de 2,6-diclorofenol para controle de infestações artificiais de *D. variabilis* em cães foram testadas por ZIV et al. (1981) e SONENSHINE et al. (1985), que observaram uma redução significativa da cópula nos animais tratados. A eficácia de iscas de adesivos de cauda impregnados com feromônios e acaricidas para o controle de *A. hebraeum* e *A. variegatum* em bovinos tem sido avaliada com resultados promissores (NORVAL et al., 1996; ALLAN et al., 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a distância de atuação do 2,6-DCF, em um olfatômetro, visando obter subsídios para o uso de iscas desse feromônio para o controle de *A. nitens*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Metaninfas de *A. nitens* foram colhidas em eqüinos naturalmente infestados, incubadas a 27°C e umidade relativa superior a 80%, até a muda. Machos e fêmeas foram separados e colocados nas orelhas de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) para alimentação. Foram utilizados machos e fêmeas alimentadas por pelo menos seis dias, pois BORGES & RIBEIRO (1999) demonstraram que após esse período de alimentação as fêmeas já estão atrativas e os machos sexualmente ativos.

Foram realizados estudos de olfatometria de acordo com metodologia descrita por BORGES et al. (2002). Um olfatômetro foi confeccionado mediante o uso de uma caixa de acrílico (20 x 15 x 5 cm), aberta nas duas extremidades e com o fundo revestido com papel cartolina branco, quadriculado (1 x 1 cm). Uma das extremidades da arena foi fechada com tecido de algodão para laminizar o fluxo de ar e a outra extremidade permaneceu aberta. A corrente de ar foi produzida por um pequeno ventilador. Um saco plástico de 30 cm de comprimento uniu a caixa à fonte de ar. O olfatômetro foi colocado sobre um filme plástico tipo PVC esticado sobre um banho-maria com água a 37°C até a borda para simular o corpo do hospedeiro.

Machos sexualmente ativos foram liberados em frente a septos de borracha de 0,5 cm de diâmetro, limpos (controle) e tratados com 2,6 DCF diluído em hexano em concentrações crescentes (50, 500 e 5.000 ng) e fêmeas atrativas. Para cada fonte de odor foram realizadas vinte repetições. O carrapato a ser testado foi colocado individualmente na arena, evitando assim qualquer interação com outro indivíduo, constituindo-se cada carrapato numa repetição. Cada carrapato teve até três chances para se orientar, e após alcançar a fonte de odor, ele não era mais testado. Para cada distância e fonte de odor foram observados os seguintes parâmetros: (a) o número de carrapatos que alcançaram a fonte de odor – % de orientação (b) tempo de percurso (c) número de vezes que cada macho foi testado e (d) percurso do carrapato. O trajeto do carrapato foi traçado em uma folha quadriculada (3 x 3 cm) ao mesmo tempo em que

ele se deslocava. O percurso foi dividido em seções iguais a duas a três vezes o tamanho do carrapato. Para cada seção, o ângulo formado entre a linha do percurso e o vento predominante foi calculado considerando-se o ângulo 0° como a direção contra o vento e 180° a direção a favor do vento.

Os percentuais de carrapatos que se orientaram foram comparados por meio do teste de Kruskal-Whallis, e os tempos de orientação submetidos à análise de variância e comparação pelo teste de Duncan (SAMPAIO, 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na distância de 5,0 cm pode-se observar que as fêmeas já não atraíram mais os machos, pois as respostas de orientação não foram estatisticamente diferentes ( $P > 0,05$ ) daquelas observadas para o septo controle, e a frequência em cada categoria de ângulos foi similarmente distribuída, indicando que o

carrapato não estava sendo atraído para a fonte de odor (Tabela 1 e Figuras 1a e 1b). Em ambas as distâncias, os melhores desempenhos foram observados para os machos testados nas menores concentrações do 2,6-DCF, cujos percentuais de orientação foram mais altos (70 a 95%); os machos tiveram de ser testados menos vezes (1,3 até 1,6 vez) (Tabela 2); as frequências de ângulos entre 0° e 10°, que indicam a atração do carrapato para a fonte de odor, foram maiores (80,1% a 86,7%) (Figuras 1c, 1d, 2b, 2c). Valores inferiores foram obtidos na concentração de 5.000 ng: 35% a 65% dos machos se orientaram, os machos tiveram de ser testados mais vezes (1,9 a 2,5 vezes) e foram observadas menores frequências de ângulos entre 0° e 10° (61% a 71%) (Tabela 1, Figuras 1e, 2d). Os machos foram igualmente rápidos para alcançar o septo tratado com qualquer concentração do 2,6-DCF (103 até 238 segundos), do que para as fêmeas ou septo controle (236 até 300 segundos) (Tabela 1).

**TABELA 1.** Percentuais de orientação, tempo de orientação e número de vezes que machos de *Anocentor nitens* foram testados diante de diferentes fontes de odor, em um olfatômetro, nas distâncias de 5,0 e 10 cm.

| Fonte de odor   | 5 cm              |                            |           | 10 cm           |                              |           |
|-----------------|-------------------|----------------------------|-----------|-----------------|------------------------------|-----------|
|                 | % O               | Tempo                      | Nº vezes  | % O             | Tempo                        | Nº vezes  |
| Septo controle  | 30 <sup>a</sup>   | 236,1 ± 101,3 <sup>b</sup> | 2,8 ± 0,5 | 0 <sup>a</sup>  | 300,0 ± 0,0 <sup>c</sup>     | 3,0 ± 0,0 |
| Fêmea           | 20 <sup>a</sup>   | 246,2 ± 110,4 <sup>b</sup> | 2,8 ± 0,4 | -               | -                            | -         |
| 50 ng 2,6-DCF   | 95 <sup>c</sup>   | 103,1 ± 77,8 <sup>a</sup>  | 1,3 ± 0,7 | 70 <sup>c</sup> | 156,2 ± 108,7 <sup>a</sup>   | 1,6 ± 0,9 |
| 500 ng 2,6-DCF  | 75 <sup>b,c</sup> | 139,3 ± 102,3 <sup>a</sup> | 1,6 ± 0,9 | 80 <sup>c</sup> | 189,5 ± 91,34 <sup>a,b</sup> | 1,5 ± 0,9 |
| 5000 ng 2,6-DCF | 65 <sup>b</sup>   | 157,6 ± 112,2 <sup>a</sup> | 1,9 ± 1,0 | 35 <sup>b</sup> | 238,0 ± 91,6 <sup>a</sup>    | 2,5 ± 0,8 |

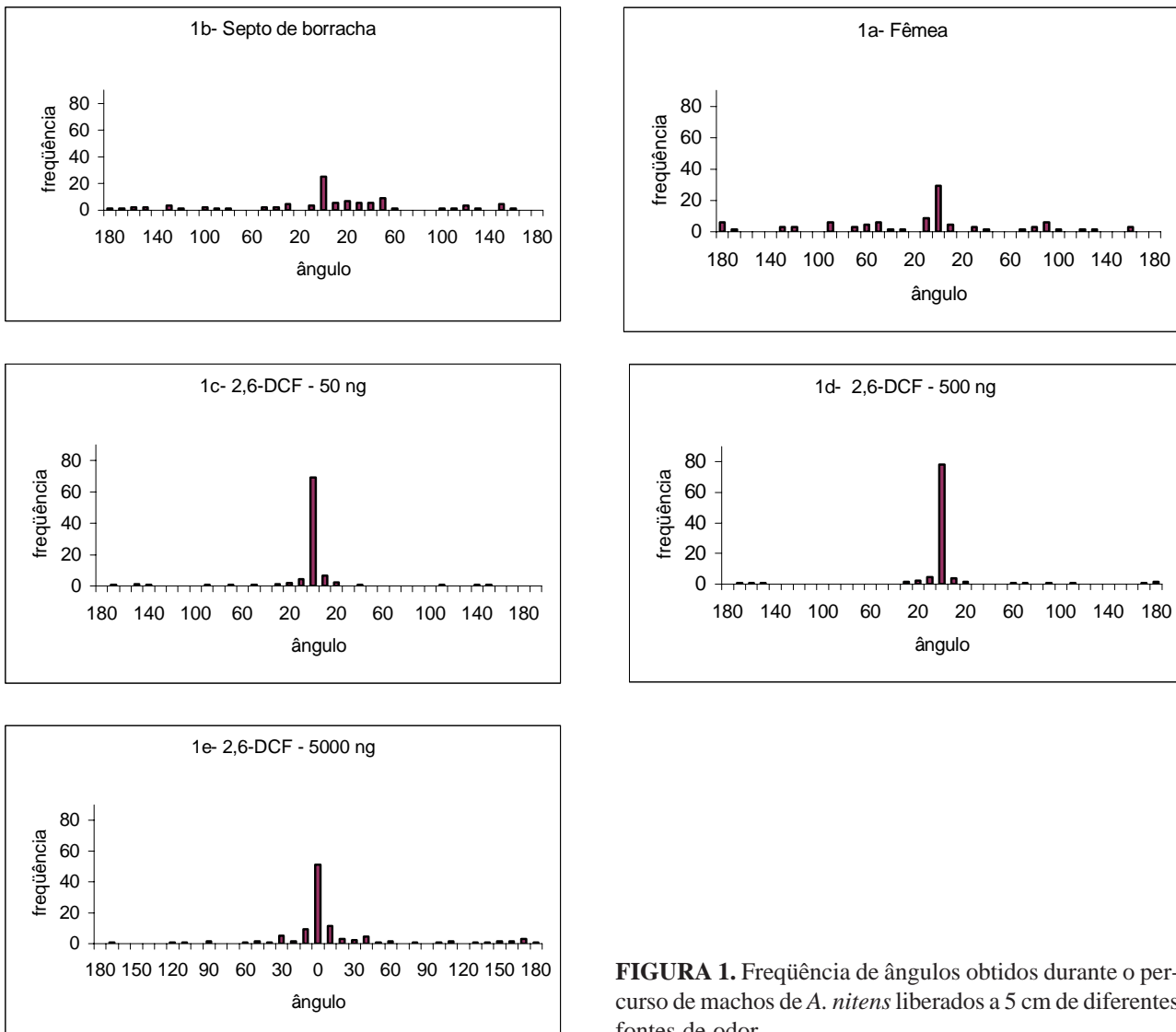
( $P < 0,05$ ) <sup>a,b,c</sup> letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.

A distância de atuação dos feromônios sexuais em carrapatos ixodídeos é curta quando liberados de fêmeas atrativas, o que pode ser observado no presente trabalho e na literatura consultada. Em *Hyalomma dromedarii*, baixas respostas de orientação (10%) foram observadas na distância de 10 cm (KHALIL et al., 1981). A ausência de atração das fêmeas na distância de 5 cm já era um resultado esperado. O *A. nitens* é um carrapato

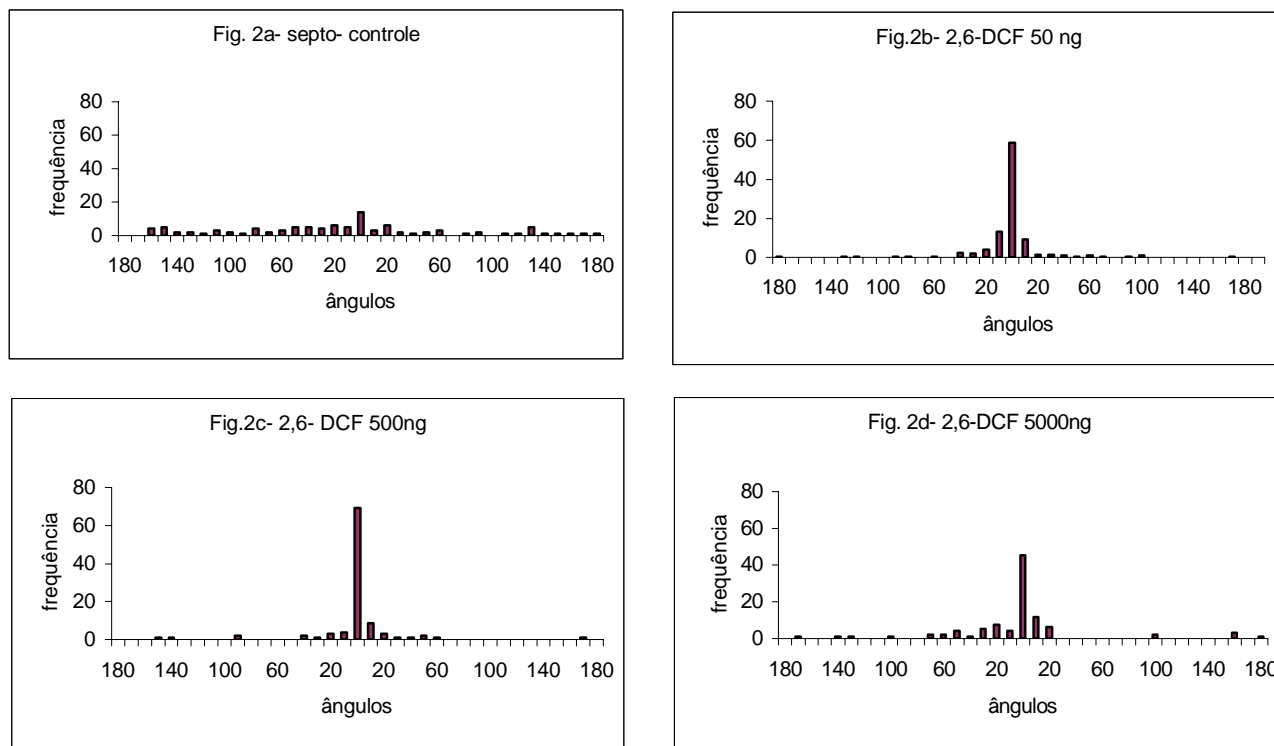
metastriata e, portanto, realiza a cópula no hospedeiro após o repasto sanguíneo. Quando parasitando o hospedeiro, os carrapatos ficam muito próximos uns dos outros; logo, não há necessidade de que as fêmeas atraiam os machos por grandes distâncias. No entanto, quando são comparados esses resultados diante das fêmeas com os obtidos com o composto sintético, fica claro que ele é mais eficaz em atrair os machos.

O fato de que em altas concentrações o 2,6-DCF atua de forma inibitória também foi observado por BORGES et al. (2002), uma vez que menos machos alcançaram o septo de 5.000 ng de 2,6-DCF, do que nas baixas concentrações. No entanto, pôde-se observar que, à medida que ocorreu aumento da distância de liberação, houve uma tendência de se realizarem orientações semelhantes entre as concentrações de 50 e 500 ng, ao contrário do que foi observado na distância de 2,5 cm (BORGES et al., 2002). Como não é possível a determinação da concentração do 2,6-DCF no interior do olfatômetro, pode-se inferir que, na distância de 5 e 10 cm, a percepção dos machos para a concentração de 500 ng do 2,6-DCF tenha sido semelhante àquela observada na concentração de 50 ng na distância menor.

Iscas adesivas impregnadas com feromônios sexual de atração e de agregação-fixação e acaricida foram fixadas na cauda de bovinos para o controle de *A. hebraeum* e *A. variegatum*, demonstrando resultados promissores (NORVAL et al., 1996; ALLAN et al., 1998). Grande parte da população de *A. nitens* se localiza na região anterior do animal (orelhas, cabeça e crina) (BORGES et al., 2000). O 2,6-DCF, na concentração de 50 a 500 ng, é um notável atraente para esse carrapato, além de ser o único até agora identificado. Diante de tais considerações, a fixação de uma isca contendo 2,6-DCF associado ou não a um acaricida poderia se constituir numa importante forma de controle de *A. nitens*.



**FIGURA 1.** Frequência de ângulos obtidos durante o percurso de machos de *A. nitens* liberados a 5 cm de diferentes fontes de odor.



**FIGURA 2.** Frequência de ângulos obtidos durante o percurso de machos de *A. nitens* liberados a 10 cm de diferentes fontes de odor.

## AGRADECIMENTOS

À International Foundation for Science, Stockholm, Suécia, pelo financiamento concedido a L. M. F. Borges, para a realização da pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- ALLAN, S. A.; SONESHINE D. E.; BURRIDGE, M. J. Efficacy of tgs impregnated with pheromone and acaricide for control of *Amblyomma variegatum*. **Medicine Veterinary Entomology**, v. 12, p. 141-150, 1998.
- BORGES, L.M.F.; LEITE, R. C. Fauna ixodológica do pavilhão auricular de eqüinos de municípios de Minas Gerais e da Bahia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, p. 87-89, 1998.
- BORGES, L.M.F.; RIBEIRO, M.F.B. Presence of sex pheromones in *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 36, p. 50-54, 1999.
- BORGES, L.M.F.; OLIVEIRA, P.R.; RIBEIRO, M.F.B. Seasonal dynamics of *Anocentor nitens* on horses in Brasil. **Veterinary Parasitology**, v. 89, p. 165-171, 2000.
- BORGES, L.M.F.; EIRAS, A.E.; FERRI, P. H.; LÔBO, A.C.C. The role of 2,6-dichlorophenol as sex pheromone of the tropical horse tick *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). **Experimental Applied Acarology**, v. 27, p. 223-230, 2002.
- FALCE, H. C.; FLECHTMANN, C.H.W.; FERNANDES, B. F. Ixodidae (Acari) on horses, mules and asses in the state of Paraná, Brazil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 20, p. 103-106, 1983.
- HAMILTON, J.G.C.; SONENSHINE, D. E.; LUSBY, W. R. Cholesteryl oleate: mounting sex

pheromone of the hard tick *Dermacentor variabilis* (Say) (Acari: Ixodidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 11, p. 873-879, 1989.

HAMILTON, J.G.C.; PAPADOPOULOS, E.; HARRISON, S. J.; LLOYD, C. M. WALKER, A. R. Evidence for a mounting sex pheromone in the brown ear tick *Rhipicephalus appendiculatus*, Neumann 1901 (Acari: Ixodidae). **Experimental Applied Acarology**, v. 18, p. 331-338, 1994.

KHALIL, G. M.; NADA, S. A.; SONENSHINE, D. E. Sex pheromone regulation of mating behavior in the camel tick, *Hyalomma dromedarii* (Ixodoidea: Ixodidae). **Journal of Parasitology**, v. 67, p. 70-76, 1981.

NORVAL, R.A.I.; SONENSHINE, D. E.; ALLAN, S. A.; BURRIDGE, M. J. Efficacy of pheromone-acaricide-impregnated tail-tag decoys for controlling the bont tick, *Amblyomma hebraeum* (Acari: Ixodidae) on cattle in Zimbabwe. **Experimental Applied Acarology**, v. 20, p. 31-46, 1996.

ROBY, T. O.; ANTHONY, D. W. Transmission of equine piroplasmiasis by *Dermacentor nitens* Neumann. **Journal of American Medical Veterinary Association**, v. 142, p. 768-769, 1963.

SAMPAIO, I. V. B. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária, 1998.

SOBBHY, H.; AGGOUR, M. G.; SONENSHINE, D. E.; BURRIDGE, M. J. Cholesteryl esters on the body surfaces of the camel tick, *Hyalomma dromedarii* (Koch, 1844) and the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). **Experimental Applied Acarology**, v. 18, p. 265-280, 1994.

SONENSHINE, D. E.; TAYLOR, D.; CORRIGAN, G. Studies to evaluate the effectiveness of sex pheromone-impregnated formulations for control of populations of the American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Say) (Acari: Ixodidae). **Experimental Applied Acarology**, v.1, p. 23-34, 1985.

SONENSHINE, D. E. **Biology of ticks**. v. II. New York: Oxford University Press, 1993.

ZIV, M.; SONENSHINE, D. E.; SILVERSTEIN, R. M.; WEST, J.R.; GINGHER, K. H. Use of sex pheromone, 2,6-dichlorophenol, to disrupt mating by American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Say). **Journal of Chemical Ecology**, v. 7, p. 829-840, 1981.