

RESUMO - CIÊNCIAS AGRÁRIAS - MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE COLORAÇÃO EM  
HEMÓCITOS DE RHIPICEPHALUS MICROPLUS DESAFIADOS COM  
FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO**

*Liris Raphaella Turin De Moraes Maki (liristurin@ufrj.br)*

*Thaís Almeida Corrêa (thaisj91@gmail.com)*

*Victória Silvestre Bório (vicboorio@gmail.com)*

*Emily Mesquita Da Silva (emily\_mesquita@hotmail.com)*

*Vinícius Teixeira De Souza (viniustxsa@gmail.com)*

*Joana Da Rocha Matos (rochajoana51@gmail.com)*

*Adriani Da Silva Carneiro (adrianiropes@ufrj.br)*

*Isabele Da Costa Angelo (isabeleangelo@yahoo.com.br)*

*Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt (vaniabit@ufrj.br)*

*Patricia Silva Golo (patriciagolo@gmail.com)*

O carrapato *Rhipicephalus microplus* é um artrópode hematófago que tem como principal hospedeiro os bovinos, causando grandes prejuízos para a pecuária. Usualmente, o controle desses ectoparasitos é feito com acaricidas químicos que geram resíduos no ambiente. Estudos realizados evidenciam populações resistentes à diferentes classes de acaricidas, como piretróides, lactonas macrocíclicas e fenilpirazóis. Esse cenário reforça a necessidade métodos alternativos de controle e, entre as alternativas mais promissoras,

destacam-se os fungos entomopatogênicos, agentes já utilizados com sucesso no manejo integrado de pragas agrícolas e com bons resultados também para o controle de carrapatos. O mecanismo de ação desses fungos baseia-se na adesão de seus conídios à superfície do artrópode. Após a fixação, ocorre a germinação e a penetração pela cutícula, possibilitando que o fungo entre em contato com a hemolinfa e os hemócitos, células centrais da resposta imune celular em artrópodes. Considerando esse processo, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a morfologia dos hemócitos de *R. microplus* expostos a conídios de *Beauveria bassiana* LCM S20, bem como avaliar o processo de fagocitose desses propágulos. Para a condução dos ensaios, a hemolinfa foi coletada de fêmeas de *R. microplus* (CEUA n° 6274250624) com o auxílio de agulhas de insulina e capilares em meio L-15 suplementado com soro fetal bovino. As células foram quantificadas em câmara de Neubauer através microscopia óptica e um total de  $2 \times 10^4$  células foram alocadas em lâminas circulares nas placas de cultura de 24 poços. As placas foram incubadas a 32 °C por 10 minutos para favorecer a formação de uma monocamada celular. Em seguida, adicionaram-se 20 µL da suspensão de conídios de *B. bassiana* LCM S20 e de Zymosan (*Saccharomyces cerevisiae*) na concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/ml e a placa foi incubada em estufa a 32 °C por duas horas, para o processo de fagocitose. Após o tempo de incubação, os hemócitos foram submetidos a três protocolos distintos de fixação em metanol e coloração com Giemsa, visando identificar aquele que proporcionasse melhores condições de visualização das células. O protocolo 1 consistiu na fixação das células em metanol por cinco minutos seguida da aplicação do corante Giemsa por dois minutos. Esse método resultou em lâminas com fundo limpo, embora apresentando baixa intensidade de coloração de núcleo, citoplasma e definição das bordas celulares. No protocolo 2, as células foram submetidas à fixação em metanol por 30 segundos seguida de 20 segundos de pré-coloração com May-Grünwald e 20 segundos em Giemsa. Os resultados mostraram coloração satisfatória de núcleo, citoplasma e borda, mas com fundo menos limpo e presença de debris celulares, o que dificultou parcialmente a análise. Já o protocolo 3, que incluiu fixação em metanol por três minutos e coloração com Giemsa por 30 minutos, demonstrou desempenho superior aos outros protocolos, proporcionando fundo mais limpo, maior intensidade de coloração do núcleo e citoplasma e definição mais nítida das bordas celulares. Essas características facilitaram a identificação de conídios fagocitados e possibilitaram melhor avaliação morfológica. Assim, os resultados apontam o protocolo 3 como a metodologia mais adequada para

estudos de fagocitose de hemócitos de *R. microplus* desafiados por *B. bassiana*.

Palavras-chave: carrapato-de-boi; sistema imune; *beauveria bassiana*.