

## **ESTUDO DA TOXICIDADE DE LARVICIDA BACTERIANO BRASILEIRO SOBRE A ENTOMOFAUNA AQUÁTICA EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO**

Natalielli Socorro Galdino MAIA<sup>1</sup>, Raquel Telles de Moreira SAMPAIO<sup>1</sup>

Iléa Brandão RODRIGUES<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC/CNPq; Orientadora INPA/CPEN<sup>2</sup>; Orientadora INPA/CPCS<sup>2</sup>

### **1. Introdução**

No Brasil a malária registra grandes epidemias em quase todo país desde o início do século XX. A região da Amazônia Legal concentra a maior parte do número de casos da doença (Batista 1972; Marques e Gutierrez 1994), sendo considerada a primeira endemia na Amazônia (Costa 2007; Tadei 2001). As formas imaturas dos mosquitos que transmitem a malária pertencem ao gênero *Anopheles* (Meigen 1818) em geral se dão em águas límpidas, dividindo espaço com outros seres da fauna não alvo e benéfica (Lang, C. e O. Reymond 1994) que exercem pressão reguladora nesses vetores (De Barjac 1990).

Os insetos aquáticos têm importante papel na ciclagem de nutrientes, auxiliam na conversão da matéria vegetal em tecido animal nos ecossistemas aquáticos e significam importante fonte de energia para vários outros níveis da cadeia alimentar. Várias famílias de insetos aquáticos têm sido utilizadas como bioindicadores de impacto ambiental, as espécies de insetos aquáticos benéficas, isto é, que não transmitem doenças são consideradas como entomofauna não-alvo em programas de controle.

A segurança da entomofauna acompanhante ou não alvo é considerada pela Organização Mundial de Saúde um dado importante na aplicação de qualquer inseticida. Segundo McCafferty (1981), é necessário que se faça um levantamento de organismos aquáticos antes da construção de barragens, indústrias que dispõem águas quentes ou poluídas em um lago ou rio e segundo requisitos da Organização Mundial da Saúde (OMS), é necessário testar qualquer larvicida biológico ou químico contra a entomofauna não alvo e benéfica antes de se iniciar um programa de controle. Larvicidas químicos são comumente utilizados em programas de controle, porém o mesmo está em declínio devido ao alto custo, ao desenvolvimento de resistência do patógeno ao produto e aos riscos à saúde de quem manuseia tais compostos. Em face disto a literatura recomenda o uso de biolarvicidas como alternativa ou complementação aos tratamentos comumente utilizados. O controle biológico se resume na utilização de um ser vivo, nesse caso, bactérias entomopatogênicas, no controle de outro ser vivo. O termo larvicida é o nome de todo composto químico ou biológico que tem ação específica sobre as larvas dos vetores. As espécies do gênero *Bacillus* sp., são representadas por células em forma de bastonete, as células de *Bacillus sphaericus* (*B.s*), ao contrário da grande maioria das espécies do gênero, são esféricas, o que lhes valeu o nome específico

Testes em campo com *Bacillus sphaericus* (*B.s.*) 2362 vêm sendo realizados em diferentes ambientes na Amazônia pelas Coordenações de Saúde (CPCS) e Entomologia (CPEN) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e Fundação Nacional de Saúde. O objetivo é observar sua efetividade contra a fauna alvo (anofelinos) e não alvo (entomofauna geral acompanhante) dependendo da origem e dosagem do biolarvicida. Estudos em laboratório testando a dosagem recomendada pelo fabricante e seus efeitos sobre os insetos aquáticos que compõem a entomofauna não alvo e convivem com os vetores de doenças ainda necessitam ser desenvolvidos para a região Amazônica especialmente testando isolados brasileiros de *B. sphaericus*. Este estudo visa contribuir para o conhecimento dos efeitos de um isolado brasileiro sobre as famílias de insetos aquáticos Chironomidae e Euthyplociidae. A finalidade é padronizar testes de toxicidade de larvicidas em insetos aquáticos para o uso ou não em campanhas de controle de doenças como a malária.

## 2. Material e Métodos

A coleta dos insetos aquáticos para a composição dos bioensaios foi realizada no igarapé do campus da UFAM, pertencente à Bacia Hidrográfica do Educandos, com o objetivo de obter indivíduos da família Euthyplociidae, ordem Ephemeroptera e para obtenção dos indivíduos da família Chironomidae a coleta foi no Igarapé Boa Vida, Zona Leste de Manaus. As coletas dos imaturos aquáticos de Chironomidae foram realizadas com auxílio de uma rede entomológica aquática (rapiché) e bandeja de poliestireno para triagem parcial no local da coleta. Para complementar o número de indivíduos nos bioensaios, parte do substrato coletado manual foi transportado ao laboratório para uma segunda triagem a fim de se separar os indivíduos de interesse para os bioensaios. O larvicida utilizado foi o *Bacillus sphaericus* da estirpe ou variedade 2362, isolado brasileiro cujo nome comercial é Sphaerus®SC da empresa Bethek, Brasília, DF.

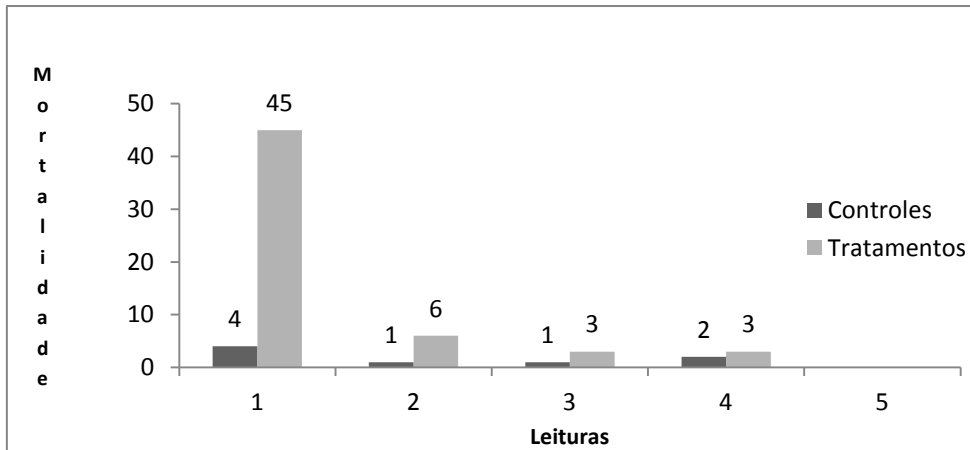
O igarapé onde foram coletados os insetos imaturos da família Euthyplociidae apresentou pH equivalente a 3,73 e temperatura de 25° C, características de igarapés de águas pretas e limpas, inclusive devido à presença de Euthyplociidae, indicador de boa qualidade de água (Callisto et al. 1995; Veríssimo 2010). O igarapé onde se coletou Chironomidae apresentou características de igarapé alterado, pois essa família é extremamente resistente à poluição.

A dosagem do larvicida (*B.s.*) utilizada nos bioensaios é a recomendada pelo fabricante, ou seja, 1L/1 ha. Sendo que cada aquário utilizado para testar o efeito do larvicida Sphaerus Sc à base de *Bacillus sphaericus* 2362 e estirpe S<sub>242</sub>, mede 20x20 cm, sendo calculada a dose de 20µL de solução segundo recomendações do fabricante. Esta solução foi mensurada com auxílio de uma micropipeta para cada aquário utilizado no tratamento com o larvicida. Os bioensaios foram realizados em aquários de vidro; nos aquários considerados tratamento, colocou-se a dosagem de biolarvicida acima descrita; e os aquários controles, não receberam o biolarvicida a fim de se observar algum efeito não provocado pelo larvicida, seguindo os critérios de Dulmage *et al.* (1990) com modificações: a mortalidade no grupo controle não deverá ultrapassar 30% - o limite de confiança considerado foi de 95%. Os bioensaios foram feitos em condições de temperatura 26+2°C e umidade relativa entre 80% e 90%.

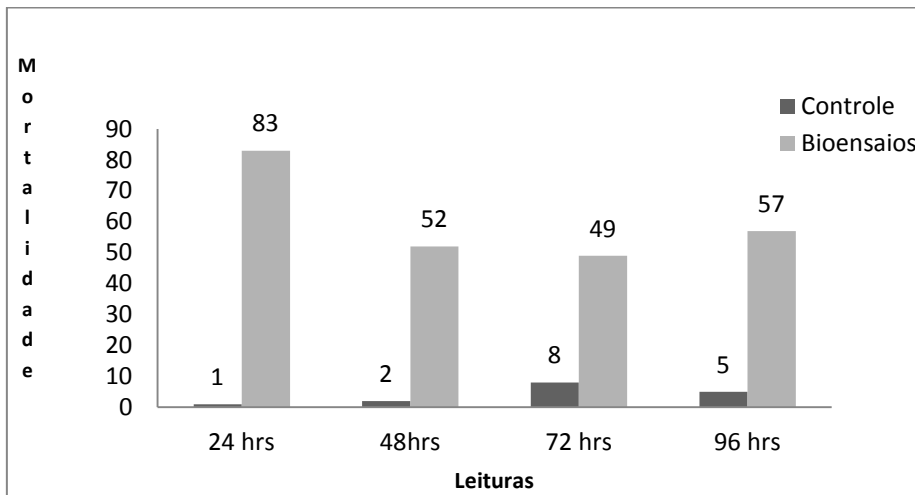
Foram testados 81 indivíduos de Euthyplociidae e 700 indivíduos de Chironomidae. A mortalidade foi observada a cada 24, 48, 72 e 96 horas, aceitando-se índices de mortalidade até 30% para o controle.

## 3. Resultados e Discussão

Foram realizados três bioensaios com a família Euthyplociidae, sendo quatro controles e 10 tratamentos com o bacilo. A figura 1 apresenta os resultados de todos os bioensaios. A mortalidade observada sobre os imaturos de Euthyplociidae foi de 72% após 24h. Contudo esse índice de mortalidade para a ordem Ephemeroptera difere de resultados em campo já desenvolvidos para região (Cáuper 2003, Castro 2005), onde famílias da ordem Ephemeroptera (Baetidae e Polymitarcidae) ainda mais sensíveis a alterações ambientais, sofreram quedas em seus índices iniciais porém não atingindo 72% de mortalidade após 24hs.



**Figura 1-** Efeito do *B. s.* 2362 sobre Euthyplociidae em laboratório. Número total de indivíduos no controle = **19**; número de indivíduos submetidos ao tratamento com *Bacillus sphaericus* 2362 = **62**



**Figura 2-** Efeito do *B. s.* 2362 sobre Chironomidae em laboratório. Número total de Chironomidae utilizados nos controles= **200**; número de indivíduos Chironomidae testados nos bioensaios= **500**.

Foram realizados três bioensaios compostos por 12 controles e 30 tratamentos para a família Chironomidae, onde, verificando na figura 2 a maior mortalidade observada foi de 17% em 24h, apresentando assim, baixo efeito do bacilo testado. Estes resultados concordam com os obtidos em campo com a família Chironomidae (Cáuper 2003, Castro 2005) onde a maior mortalidade observada foi em 24h. Essa mortalidade é esperada para a ordem Díptera, pois o *B.s.* é recomendado na literatura para controle de dípteros vetores de doenças tropicais.

#### 4. Conclusão

De acordo com o gráfico os indivíduos da família Euthyplociidae ordem Ephemeroptera apresentaram suscetibilidade à formulação Sphaerus SC do *Bacillus sphaericus* 2362, necessitando, porém maiores estudos para se confirmar este resultado.

## 5. Referências

- Batista, D.C. 1972. *On sanitation at Amazon*. Editora Philippe Daon S/A, Manaus, Amazonas, Brasil.110 pp (in Portuguese, with abstract in English).
- Callisto, M.; Esteves F.A. 1995. Distribuição da comunidade de macroinvertebrados bentônicos em um lago amazônico impactado por rejeito de bauxita. Lago Batata (Pará, Brasil). *Oecologia Brasiliensis*, v.1 Estrutura, Funcionamento e Manejo de Ecossistemas Brasileiros. Esteves (ed.): 281-291, Programa de Pós-graduação em Ecologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Castro, L. M. 2003. *Susceptibilidade do Bacillus sphaericus 2362 contra entomofauna acompanhante, em tanques de piscicultura, Puraquequara, Amazonas*. (Monografia) Centro Universitário do Norte, Manaus, Am.
- Cáuper, F. R. M. 2003. Avaliação do efeito do *Bacillus sphaericus* 2362 (Neide, 1904) contra a entomofauna não alvo em criadouros de vetores da malária (Culicidae: Anopheles Meigen, 1818) no Puraquequara/AM. *Anais da XVII Jornada de Iniciação Científica do PIBIC/CNPq/FAPEAM/INPA*.
- Costa, F. M. *Atividade inseticida do regulador de crescimento de insetos diflubenzuron contra Anopheles darlingi Root, 1926 (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório*. 2007. Dissertação de Mestrado. Manaus:[s.n.] p.61, 2007
- De Barjac, H.1990. Classification of *Bacillus sphaericus* 2362 strains and comparative toxicity to mosquito larvae: 228-236. In : H. Barjac, D J Sutherland eds. *Bacterial Control of Mosquitoes & Black Flies: Biochemistry, Genetics & Applications of Bacillus thuringiensis israelensis and Bacillus sphaericus*, Rutgers University Press, New Brunswick.
- Dulmage, H. T.; Yousten, A. A.; Singer, S.; Lacey, L.1990. Guidelines for production of *Bacillus thuringiensis*/ H-14 and *Bacillus sphaericus*. *UNDP/World Bank/WHO, Steering Committee to Biological Control of Vetores*, Geneva. 59 p.
- Lang, C.; O. Reymond. 1994. Qualité biologique des rivières indiquée par la diversité du zoobenthos: campagnes 1991 – 1993. *Revue Suisse de Zoologie*, 101(4):911-917.
- Marques, A.C ; Gutierrez, H. C. Combate à malária no Brasil : Evolução,situação atual e perspectivas.*Revista da Sociedade brasileira de Medicina Tropical*, v.27,Suplemento III, p.91-108, 1994.
- Mccafferty, W. P. 1981. Aquatic Entomology. *The Fishermens and Ecologists Illustrated guide to Insects and their Relatives*. Jones and Bartlett Publishers, Inc. Portolla Valley, Boston. 448p.
- Tadei, W. P. 2001. Controle da Malária e Dinâmica dos vetores na Amazônia. 7º Reunião especial em Manaus – SBPC.
- Veríssimo, L. T. 2010. Estudo da toxicidade de larvicida Diflubenzuron sobre a entomofauna aquática em condições de laboratório. *Anais do XVIII Jornada de Iniciação Científica do PIBIC/CNPq/FAPEAM/INPA*: 295-296.