

SAÚ-02

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE DIFERENTES ESTIRPES BRASILEIRAS DE *Bacillus sphaericus* CONTRA *Anopheles nuneztovari*.Eleilza de Castro Litaiff⁽¹⁾; Iléa Brandão Rodrigues⁽²⁾⁽¹⁾ Bolsista CNPq/PIBIC; ⁽²⁾ Orientadora INPA/CPCS

O aumento do número de casos de malária na região amazônica justifica a busca de novas medidas de combate aos vetores da doença, pois o uso de inseticidas químicos já não se mostra eficaz, uma vez que os mosquitos passaram a adquirir resistência a esses produtos, ocorrem mudanças de comportamento, além de serem poluentes ambientais (Tadei **et al.**, 1993). Nesse trabalho, o controle biológico é apontado como alternativa, utilizando-se uma bactéria, o *Bacillus sphaericus*, para controle de *Anopheles nuneztovari*, uma potencial espécie vetora de grande ocorrência na cidade de Manaus. O objetivo desse trabalho consistiu em obter-se a toxicidade de estirpes brasileiras de *B. sphaericus* contra *A. nuneztovari*, para a obtenção da concentração letal mediana CL₅₀, que serve de indicativo para a obtenção de bioinseticidas efetivos no controle dessa espécie de mosquito.

Para a obtenção de mosquitos, realizava-se coletas na periferia de Manaus (Zona Leste), em currais bovinos, nos horários de 18 às 20 horas. As fêmeas eram capturadas já alimentadas e trazidas ao Laboratório de Malária, onde eram postas para oviposição no insetário, mantido sob condições de temperatura ambiente de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa superior a 80%. As fêmeas foram identificadas com auxílio da chave de identificação de Gorhan **et al.** (1967) e Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994). Após a eclosão, as larvas eram mantidas segundo Santos **et al.** (1981), até que atingissem o terceiro estágio, então usadas nos bioensaios, por serem as menos susceptíveis ao bacilo (Rodrigues, 1996). Os bioensaios seriam exposições das larvas à certas doses do bacilo e observação da mortalidade ocorrida em intervalos de tempos dessa exposição. Foram testadas quatro estirpes a S4, S14, S42 e S58 cedidas pelo CENARGEN/EMBRAPA (Brasília), extraídas de solo brasileiro. Ao montar um bioensaio, fazia-se, para cada dose a ser aplicada, réplicas de 5 copos contendo água, alimento líquido, 20 larvas (terceiro estágio) e a concentração bacilar. As doses a serem utilizadas eram obtidas a partir de uma suspensão bacilar (solução-mãe) e desta, fazia-se diluições seriadas à doses de 1ppm; 0,5ppm; 0,25ppm; 0,12ppm; 0,06ppm; 0,02ppm e 0,01ppm. Em cada bioensaio, era montado uma seqüência de 5 copos sem a aplicação do bacilo, como sendo a "população controle", necessária para indicar a mortalidade natural da população, que

segundo critérios estabelecidos por Dulmage **et al** (1990), não poderia ultrapassar 20%. Para cada estirpe eram feitos três bioensaios. Após a aplicação do bacilo, fazia-se leituras nos intervalos de 24, 48 e 72 horas da aplicação do bacilo, onde se verificava o número de larvas vivas e mortas em cada copo.

Os resultados encontrados com os bioensaios para a efetividade das estirpes contra larvas de *A. nuneztovari*, foram obtidos com o auxílio do programa POLO-PC, que pela análise de próbites, fornecia o valor da concentração letal mediana (CL₅₀). Na Tabela 1 encontram-se os valores da concentração letal mediana (CL₅₀), onde foi observado que a estirpe S₁₄ foi a mais efetiva em comparação às demais estirpes em todas as leituras; seguida das estirpes S₅₈ e S₄₂, cujos valores são aproximados para todas as leituras. Para a atividade relativa os resultados estão representados na Tabela 2, onde a estirpe S₁₄ (AR=6,54) mostrou-se seis vezes mais efetiva que a estirpe padrão (2362) para a leitura de 24 e 48 horas. A S₅₈ e S₄₂ foram três vezes mais tóxicas (AR=3 e AR=3,6, respectivamente) que a estirpe padrão, para a leitura de 24 horas, mantendo-se similares para as demais leituras. As retas de regressão linear para as diferentes estirpes testadas contra larvas de *A. nuneztovari* nas leituras de 24, 48 e 72 horas constam na Figura 1, onde se confirmam os resultados obtidos nas análises anteriores, cuja maior toxicidade para esta espécie de anofelino é verificada pela estirpe S₁₄ nas doses de 1ppm, 0,5 ppm, 0,25 ppm e 0,12 ppm na leitura de 24 horas. Ainda nesta leitura, as demais estirpes mais tóxicas em ordem decrescente foram S₅₈, S₄₂ e a S₄. Na leitura de 48 horas a estirpe S₁₄ e S₅₈ foram as mais efetivas apresentando toxicidade similares nas diferentes doses. Após 72 horas observou-se que atividade larvicida das estirpes testadas permaneceram inalteradas, sendo que a estirpe S₅₈ nas doses mais altas apresentou atividade similar à S₁₄, enquanto que para as doses mais baixas ocorreu uma inversão apresentando similaridade à S₄₂. Vilarinhos **et al.** (1992) trabalharam também com 30 estirpes de *B. sphaericus*, contra larvas de segundo estágio de *Culex quinquefasciatus*. Dessas, a potência de quatro isolados (S₁, S₁₄, S₂₁ e S₃₆) foram comparáveis à apresentada pela estirpe padrão. Portanto, a S₁₄ mostra toxicidade que atinge também outros gêneros, como ocorre para *Culex*. O contínuo isolamento de novas estirpes da natureza tem mostrado que muitos isolados apresentam atividade larvicida superior à 2362. Na Amazônia, alguns testes com importantes vetores de doenças já estão sendo realizados como o de Rodrigues **et al.** (1998) testando 10 estirpes brasileiras de *B. sphaericus* contra *A. darlingi* e *A. nuneztovari* observaram que a S₂, S₂₀ e a S₄₆ foram mais efetivas que a estirpe padrão. No projeto anteriormente desenvolvido (PIBIC 97/98), os resultados mostraram que apenas uma das estirpes testadas, a S₁₂, apresentou atividade relativa superior à 2362 (Litaiff & Rodrigues,

1998). Neste novo projeto, de quatro estirpes testadas três (S₁₄, S₅₈ e S₄₂) apresentaram maior atividade relativa que a estirpe padrão 2362. No entanto, a estirpe potencialmente mais adequada para a região Amazônica no controle de larvas de *Anopheles nuneztovari* foi a S₁₄ quando se considera a atividade relativa nas leituras de 24 e 48 horas.

Tabela 1. CL₅₀ de *B. sphaericus* contra *A. nuneztovari*

<i>Bacillus sphaericus</i>	CL ₅₀ (ppm)		
	24h	48h	72h
S ₄	1,15	0,67	0,36
S ₁₄	0,11	0,07	0,04
S ₄₂	0,24	0,10	0,06
S ₅₈	0,20	0,11	0,04

Tabela 2. Atividade relativa para diferentes estirpes de *B. sphaericus*

<i>Bacillus sphaericus</i>	Atividade Relativa		
	24h	48h	72h
S ₄	0,62	0,63	0,50
S ₁₄	6,54	6,00	4,50
S ₄₂	3,00	4,20	3,00
S ₅₈	3,60	3,82	4,50

Referências Bibliográficas

- Consoli, R.A.G.B. & Oliveira, R.L. Principais Mosquitos de Importância Sanitária do Brasil. 1994. Rio de Janeiro, Fiocruz. 225p.
- Dulmage, H. T.; Yousten, A. A.; Singer, S. & Lacey, L. A. 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.
- Gorhan, J. R.; Stojanovich, C. J. & Scott, H. G. 1967. *Clave ilustrada para los mosquitos anofelinos de Sudamerica Oriental*. Atlanta, U. S. Department of Health, Education, and Welfare. 64 p.
- Litaiff, E.C. & Rodrigues, I.B. 1998. Ação larvicida de quatro estirpes de *Bacillus sphaericus* contra *Anopheles nuneztovari*. (Resumo) Anais VII Jornada de Iniciação Científica do PIBIC/INPA.
- Rodrigues, I.B. 1996. *Controle da Malária: Atividade larvicida de onze estirpes de Bacillus sphaericus contra Anopheles nuneztovari, Anopheles darlingi e Anopheles braziliensis*. Dissertação de Mestrado. INPA/FUA, Manaus, AM.95 p.
- Rodrigues, I.B.; Tadei, W.P. & Dias, J.M.C.S. 1998. Studies on the *Bacillus sphaericus* larvicidal activity against malarial vector species in Amazonia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 93(4): 441-444.

- Santos, J. M. M.; Contel, E. P. B. & Kerr, W. E. 1981. Biologia de Anofelinos Amazônicos I - Ciclo biológico, postura e estádios larvais de **Anopheles darlingi** Root, 1926 (Diptera: Culicidae) da Rodovia Manaus / Boa Vista. *Acta Amazon.*, **11** (4) : 789 - 797.
- Tadei, W. P.; Santos, J. M. M.; Scarpassa, V. M. & Rodrigues, I. B. 1993. Incidência, distribuição e aspectos ecológicos de espécies de **Anopheles** (Diptera: Culicidae), em regiões naturais e sob impacto ambiental da amazônia brasileira. In: Ferreira, E. J. G.; Santos, G. M.; Leão, E. L. M. & Oliveira, L. A. (Eds) (1993) *Bases Científicas para Estratégias de Preservação e Desenvolvimento da Amazônia*. Vol. 2. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus. p. 167 - 196.
- Vilarinhos, P.T.R.; Dias, S.C.; Nogueira, R.G. & Lopes, J.B. 1992. Avaliação da potência larvicida de novos isolados de **Bacillus sphaericus** contra **Culex quinquefasciatus**. *III Simpósio de Controle Biológico* (Resumos). CNPDA/EMBRAPA. p. 286.