



O uso do *Bacillus thuringiensis* variedade *israelensis*, no
controle das larvas do *Aedes aegypti*.

Amanda Kelly Souza do Nascimento

Brasília – 2003

Centro Universitário de Brasília.
Faculdade de Ciências da Saúde.
Licenciatura em Ciências Biológicas.

O uso do *Bacillus thuringiensis* variedade *israelensis*, no
controle das larvas do *Aedes aegypti*.

Amanda Kelly Souza do Nascimento

Monografia apresentada como requisito
para conclusão do curso de Biologia do
Centro Universitário de Brasília.

Orientação: Karina Ribeiro L.J. Cavalcante
Cláudio H. Cerri e Silva

Brasília – 1º semestre – 2003

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a DEUS, por ter me dado esta oportunidade que é oferecida a poucos de está cursando uma Faculdade adquirindo conhecimentos que levarei para o resto de minha vida!

Aos meus pais, por ter me dado apoio tanto financeiro como moral, e ao meu irmão por ter me ajudado a digitar esta monografia.

Agradeço também, ao Cláudio H. Cerri e Silva e a Karina Ribeiro Leite R. J. Cavalcante, por terem sido meus orientadores de monografia e além de tudo meus amigos. Aos meus amigos do laboratório por terem me ajudado na realização do experimento.

Pela colaboração nos trabalhos experimentais realizados no Laboratório de Entomologia /FUNASA.

Resumo

Durante muitos anos, trabalhou-se nas perspectivas de erradicação do *Aedes aegypti* que por duas vezes fora atingido. Contudo, falhas nos trabalhos de manutenção e resistência do mosquito aos inseticidas químicos, tornou-se prejudicial ao homem e dependendo da quantidade utilizada ocasiona desequilíbrio ambiental. Dentre os agentes de controle biológico o uso do *Bacillus thuringiensis* variedade *israelensis* (*Bti*) é uma alternativa de controle de formas imaturas do vetor da dengue, a ação do larvicida está relacionado diretamente na sua ingestão ocasionando a morte da larva por toxemia. Os resultados dos testes foram satisfatórios mostrando a eficiência do bioinseticida e seu poder residual, onde as larvas foram susceptíveis ao *Bti*, vindo a contribuir na viabilização do emprego de técnicas de controle ambientalmente seguras em programas de controle de endemias.

Palavras chave: controle biológico, *Bacillus thuringiensis*, *Aedes aegypti*

Sumário

1	- Introdução -----	1
2	- Histórico e Características Gerais do <i>Aedes aegypti</i> -----	2
3	- Controle Biológico -----	4
4	- A descoberta do <i>Bacillus</i> -----	4
5	- Produção Geral do <i>Bacillus thuringiensis</i> -----	5
6	- Tipos de Formulações -----	6
7	- Bioinseticidas Comerciais a Base de <i>Bacillus thuringiensis</i>	6
8	- Uso dos Bioinseticidas. -----	7
9	- Características Gerais dos <i>Bacillus</i> -----	7
10	- Mecanismo de Ação dos <i>Bacillus thuringiensis</i> subspe. <i>israelensis</i> -----	8
11	- Importância Econômica -----	9
12	- Métodos-----	11
13	- Procedimento-----	12
14	- Resultados e Discussão -----	15
15	- Conclusão-----	17

1- Introdução

A experiência acumulada, nessas décadas, com relação ao controle de mosquitos, deu-se por diversas pesquisas realizadas por Universidades e Instituições de pesquisa, além da realização de serviços de controle em vários países. Por muito tempo, e ainda hoje, utilizam-se inseticidas químicos como piretróides, organoclorados, carbamatos e organofosforados no controle de vetores, tanto na forma adulta como na forma imatura. Porém, trouxe diversas desvantagens quanto ao seu uso como a resistência das populações de mosquitos, contaminação do meio ambiente, além de ser prejudicial a quem o manipula sem os devidos cuidados.

Com isto, necessitaram encontrar novos caminhos, gerando novas pesquisas, desempenhando um novo papel para o homem e o meio ambiente. O controle biológico vem se destacando em relação aos inseticidas químicos. Dentre os diversos componentes alternativos temos a estirpe conhecida como: *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (*Bti*) que é uma bactéria natural, comum no solo. Diversas tensões desta bactéria podem infectar e matar insetos. Por causa desta propriedade, o *Bti*, foi desenvolvido como um tipo de inseticida microbial, usado para o controle de uma variedade de insetos. O enfoque do uso do *Bti* está no controle do *Aedes aegypti*, mosquito vetor da dengue. Tendo como objetivos, verificar o efeito residual do larvicida biológico *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (H-14), nas larvas de *Aedes aegypti*, na cepa de Brasília e cepa Rockfeller – Rock- em pneus e jardineiras, expostos ou não ao sol, utilizando as dosagens recomendadas pelo fabricante e fornecer embasamento científico para a aplicação de *Bacillus thuringiensis var. israelensis* no controle de formas imaturas de *Aedes aegypti*, contribuindo para viabilizar o emprego de técnicas de controle ambientalmente seguras em programas de controle de endemias.

2- Histórico e Características Gerais do *Aedes aegypti*

Os mosquitos são do reino Arthropoda (pés articulados), são dípteros (um par de antenas funcional e um par posterior em halteres), são da classe hexápoda (três pares de patas), pertencentes à família Culicidae, do gênero *Aedes*. O ciclo biológico compreende as seguintes fases: ovo, quatro estágios larvais, pupa e adulto, visto na figura 1. Nas formas imaturas são aquáticos, e na forma de adultos são alados (Consoli 1998).

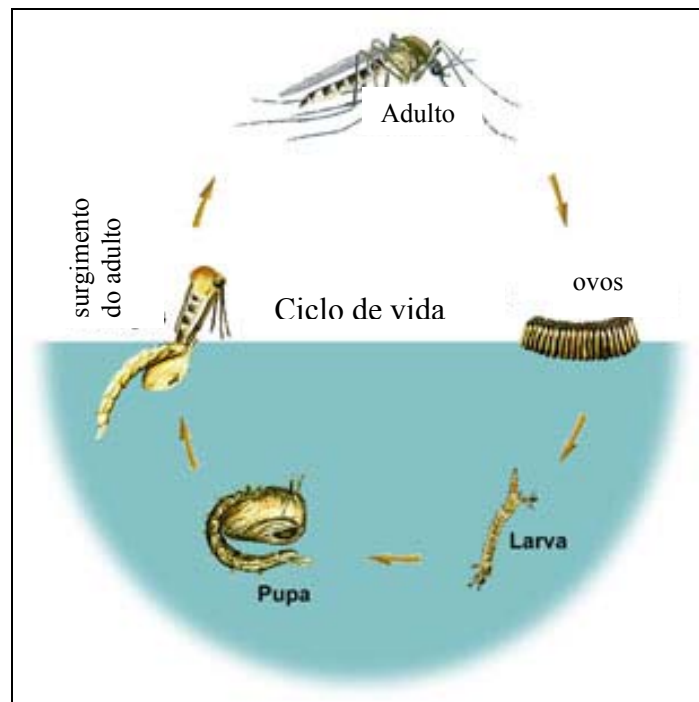


Figura 1- Ciclo Biológico do mosquito.

(Leon County Mosquito Control, Tallahassee, FL Larvicides for Mosquito Control Updated: April 17, 2002)

Oriundo do velho mundo, tendo sido originário do Egito, provavelmente da região Etiópica o *Aedes aegypti*, segundo Linnaeus 1762, acompanha o homem a tempos em suas imigrações e permaneceu onde as alterações antrópicas propiciaram a sua proliferação.

É considerado um mosquito cosmopolita, ou seja, ocorre em regiões tropicais e subtropicais, compreendidas principalmente entre os paralelos (latitudes) 45° N e 35° S ou dentro das zonas isotermais de 20°C. Encontra-se em locais onde o homem

levou embarcações, trens, automóveis, avião... que proporcionam condições para sua multiplicação. Em nosso país se encontra restrito as vilas e cidades, ligadas ao peridomicílio e ao domicílio humano (Porto 2002).

O *Aedes aegypti* foi introduzido no Brasil durante o período colonial, provavelmente na época dos escravos. Devido a sua importância como vetor da febre amarela, foi intensivamente combatido em nosso meio, tendo sido erradicado em 1955. Mas, os países vizinhos como: Cuba, as Guianas e a Venezuela, não o erradicaram provocando a reinfestação do *Ae. aegypti*, em Belém do Pará em 1967 (erradicado neste local em 1960), no estado do Rio de Janeiro provavelmente em 1977 e em Roraima na década de 1980. Hoje ocorre nos estados litorâneos do Maranhão ao Paraná, região Centro-Oeste, além de Minas Gerais e Tocantins (Brasil 1989).

É durante a estação chuvosa que a população de *Ae. aegypti* atinge níveis elevados. Os locais que contribuem para a sua proliferação são: os recipientes artificiais, tanto os abandonados pelo homem a céu aberto e os preenchidos pelas águas da chuva como: pneus, latas, pratos de vasos, xaxins, piscinas, aquários abandonados, caixas d'água destampadas, latões, etc. (Martins 2002).

As fêmeas de *Ae. aegypti* são hematófagas (alimentam-se de sangue) com hábitos diurnos com atividade ao amanhecer e pouco antes do crepúsculo vespertino, mas pode atacar a qualquer hora do dia tanto o homem como animais, principalmente se estiverem próximos de seu abrigo. Os machos se alimentam da seiva de plantas, mas estão próximos as fêmeas para a realização da cópula. Ambos os sexos se dirigem e/ou permanecem no domicílio ou peridomicílio, onde desovam e se alimentam (Brasil 1997).

Somente a fêmea do *Aedes aegypti* infectada pode, enquanto procura alimentar-se satisfatoriamente de sangue, produzir várias alimentações curtas em diferentes hospedeiros e disseminar o dengue (Martins 2002).

De acordo com a Organização Panamericana de Saúde (1987) a dengue é uma arbovirose, devido o *Aedes aegypti* ser um vetor em potencial no meio urbano da doença, por sua elevada endofilia (ambos os sexos são encontrados dentro de casa),

antropofilia (predileção pelo sangue humano) e suscetibilidade ao vírus. Há a transmissão transovariana do vírus, de maneira que, variável percentual das fêmeas filhas de um espécime infectado, nasce já infectado.

3- Controle Biológico

Segundo Routraut (1994), controle biológico nada mais é que a utilização de um tipo de inimigo natural específico (predadores, parasitos ou patógenos) contra pragas e vetores. O uso de bactérias no controle biológico das larvas de mosquitos tem se destacado entre os diversos componentes que devem fazer parte dos programas de manejo integrado (Vilarinhos *et al.*1997)

4- A descoberta do *Bacillus*

A descoberta e a exploração comercial das bactérias entomopatogênicas *Bacillus thuringiensis*, se dá desde o século XX. A primeira menção a doenças em insetos causada por esse tipo de bactéria data de 1902, quando Ishiwata, no Japão, descreveu uma bactéria esporulante que causava mortalidade em bicho-da-seda (*Bombix mori*). Em 1911, Berliner, na Alemanha, descreveu o mesmo tipo de bactéria atuando sobre traças-das-farinhas (*Anagasta Kuhnella*) e, em 1915, a batizou de *Bacillus thuringiensis* (Habib & Andrade 1986).

Na década de 1960, o desenvolvimento da sorologia flagelar, por de Barjac & Bonnefoi (1962), permitiu grande avanço na sistemática e classificação dos bacilos entomopatogênicos para a subespécie *Bacillus thuringiensis* (de Barjac & Frachon 1990). A sorologia flagelar é universalmente utilizado, e em alguns casos, a classificação sorológica tem sido associada com a patogenicidade contra alguns insetos (de Barjac & Franchon 1990).

Goldberg & Margalit (1977) trabalhando em solos de Israel, encontraram uma estirpe de *Bacillus thuringiensis* efetiva contra dípteros (culicídeos e simulídeos) que logo chamou a atenção pela sua elevada potência larvicida e que foi batizada como *Bacillus thuringiensis* subesp. *israelensis*.

5- Produção Geral do *Bacillus thuringiensis*

De acordo, com Dumage *et al.* (1990), a produção do *Bacillus thuringiensis*, é bastante simples, como pode ser visualizado na figura 2 abaixo:

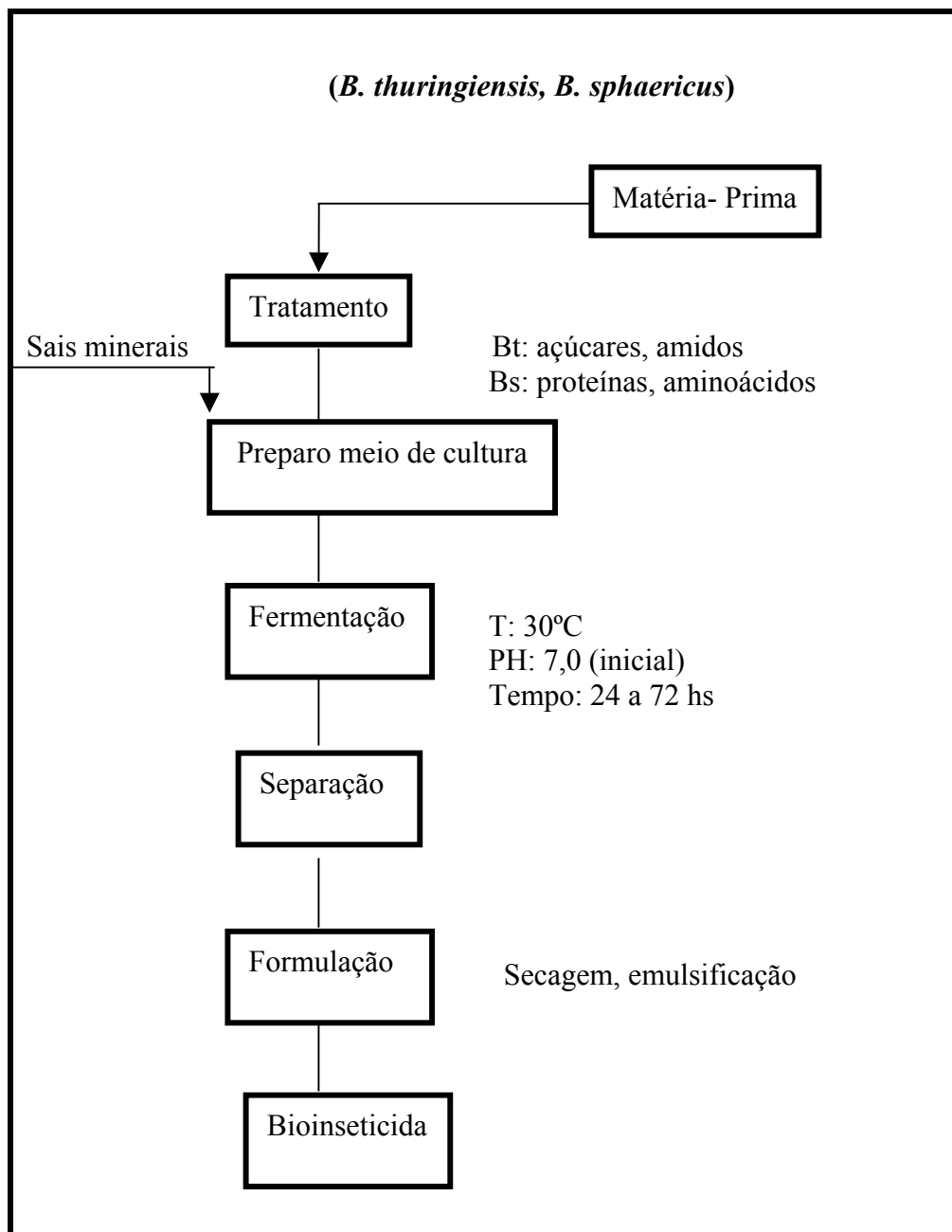


Figura 2 : Produção de bioinseticidas. (Dias 1992)

Os substratos passam por pré-tratamentos que visam aumentar a sua pureza ou a disponibilidade de nutrientes essenciais ao crescimento microbiano, e são transformados em meios de cultura pela adição de sais minerais e, muitas vezes, vitaminas e fatores de crescimento.

A fermentação deve ser conduzida em temperatura entre 28° e 38°C, havendo necessidade, em alguns casos de controle de pH em torno de 7,0. O tempo do processo, dependendo das condições pode demorar de 24 a 72 horas. Ressaltando que o processo deve ser conduzido através de estratégias que permitam o crescimento bacteriano, a esporulação e a produção de toxinas (Dias 1992).

O caldo fermentado passa por operações de separação dos microorganismos (precipitação, centrifugação, filtração tangencial, ultrafiltração, etc) e a biomassa concentrada é enviada para a formulação e para o controle de qualidade. Para *Bacillus*, nas fermentações que contam coma glicose como fonte de carbono, é geralmente convertida a ácidos orgânicos, com uma marcante queda de pH no meio de cultura, interrompendo o crescimento exponencial. A utilização dos ácidos produzidos, além da síntese de metabólitos amoniacaais, faz com que o pH retorne a neutralidade (ou aumente) e a célula esporule (Dias *et al.* 1993).

6- Tipos de Formulações

Tecnicamente uma formulação é qualquer combinação de um biocida com um segundo material, e dependendo das características desejadas para o produto, os materiais empregados na formulação de bioinseticidas podem ter propriedades aderentes, emulsificantes, dispersantes, protetoras contra radiação, flutuantes, atrativas, ou praticamente inertes (Couch & Ignoffo 1981).

7- Bioinseticidas Comerciais à base de *Bacillus thuringiensis*.

A recomendação do uso da quantidade a ser aplicada segue um parâmetro a aplicar por metros quadrados (m²) ou por hectare de superfície aquática a potência larvicida, sendo expressa em UTI (Unidades Tóxicas Internacionais) / mg e este

parâmetro também pode ser usado para atribuir valores comerciais comparativos com outros produtos, um exemplo de características comerciais pode ser visto, na tabela 1.

Tabela 1- Características de formulações comerciais de *Bacillus thuringiensis* subesp. *israelensis*.

Nome Comercial	Tipo	Potência (UTI/mg)	Tamanho	Fabricante
			médio das Partículas (um)	
TEKNAR	Conc.emuls.	600	2,1	Sandoz
VECTOBAC	Pó molhável	2000	5,2	Abbot
BACTI MOS	Pó molhável	3500	4,0	Bactimos

Pesq. Agropec.bras., Brasília-DF, 27, S/N: 59-76, abr.1992

8-Uso dos bioinseticidas

Os bioinseticidas bacterianos vem sendo utilizado contra pragas da agropecuária há mais de 50 anos. Contra mosquitos, a utilização data de cerca de duas décadas incluindo de programas bem sucedidos, apoiados pela Organização Mundial da Saúde (Becker 1990).

Os trabalhos de controle de mosquitos eram desenvolvidos há muito tempo usando inseticidas organofosforados e piretróides. A partir de maio de 1988, passou-se a utilizar o inseticida bacteriano, substituindo completamente a aplicação dos produtos químicos (Moraes *et al.* 1998).

9- Características gerais dos *Bacillus*

As bactérias do gênero *Bacillus* têm como característica a produção natural de esporos. Enquanto dentro da célula, mergulhados no citoplasma, os esporos são chamados endósporos e o conjunto é denominado esporângio. Não possuindo o esporo a célula bacteriana encontra-se na sua forma vegetativa (Rabinovith *et al.* 2003).

Os *Bacillus* patogênicos para insetos podem sintetizar estruturas glicoprotéicas sólidas denominadas de cristais de d-endotoxina, cristais de toxina, cristais de proteína pó pró-toxina, de localização justaposta ao esporo, onde são chamados de corpos para-esporais. Essas proteínas são codificadas por diferentes genes. Numa mesma célula, podem ser encontradas uma ou mais dessas glicoproteínas, como a linhagem de *Bacillus thuringiensis* subesp. *israelensis*, com atividade contra larvas de mosquitos. (Vilarinhos *et al.* 1997)

10- Mecanismo de ação do *Bacillus thuringiensis* subesp. *israelensis*

Das várias espécies do gênero *Bacillus*, algumas poucas como *Bacillus thuringiensis* subesp. *israelensis* tem a prioridade de sintetizar pró-toxinas ativas contra insetos. Mas, atua somente sobre na fase de larva, nunca sobre os adultos. Sua especificidade está relacionada a cinco toxinas existentes em um corpo cristalino que se forma por ocasião da esporulação da bactéria, veja na figura 3 (Gill 1995).

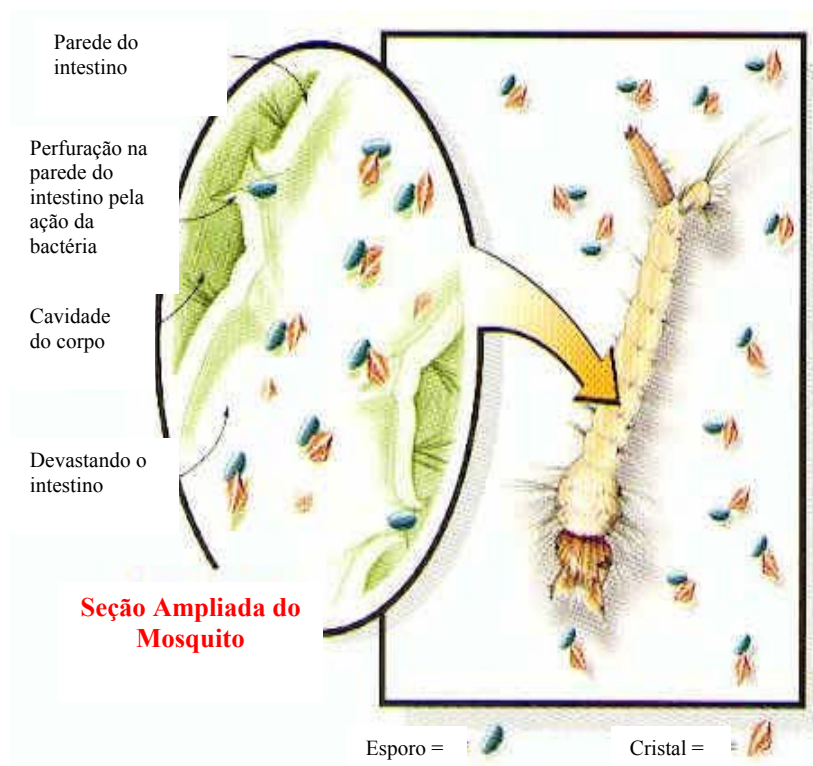


Figura 3 – Modalidade da ação do *Bacillus thuringiensis*.

(Controle 2002, In Mosquito de Colorado – http://www.cosmosquitocontrol.com/bti_Bs_MOA.html)

São na verdade cinco pró-toxinas (peptídeos), que quando ingeridas e sob as condições alcalinas do intestino das larvas dos dípteros, quebram-se pela ação de enzimas (proteínases). Essa quebra libera as frações realmente tóxicas que então se ligam a receptores específicos da membrana epitelial provocando poros e quebrando o balanço osmótico no tecido intestinal (Yousten, 1996).

Isso leva à lise das células e extravasamento do conteúdo intestinal para a hemolinfa, com conseqüente parada alimentar, paralisia e morte rápida por toxemia. É interessante notar que essas toxinas agem sinergicamente, ou seja, quando isoladas tem menor efeito do que juntas (Gill *et al.* 1992, Gill 1995, Yousten, 1996).

12-Importância Econômica

Hoje o mercado mundial de inseticidas está estimado em cerca de 4,0 bilhões de dólares e nele produtos a base de *Bacillus thuringiensis* ocupam modesta posição, com vendas anuais entre 60 e 80 milhões de dólares, o que corresponde a cerca de 1,5 a 2,0% do total. Há fatores limitantes no uso de bioinseticidas bacterianos como os elevados custos de produção, a baixa utilização dos biológicos e a sua especificidade, além de baixa persistência do efeito larvicida dos produtos quando usados em campo. Porém, os novos princípios ativos, a tendência mundial de diminuição do uso de inseticidas químicos e ao interesse das indústrias, o consumo dos bioinseticidas bacterianos tende a aumentar (Dias 1992).

Um aspecto muito importante no desenvolvimento de novos bioinseticidas é a descoberta de novas estirpes com maior atividade, ou melhor, adaptado as condições em que os produtos serão utilizados (Schenkel *et al.* 1988). A melhora da fermentação também é um fator importante, que pode ser conseguida tanto pela utilização de matérias-primas mais baratas e que resultem em maiores fatores de conversão dos nutrientes em células e/ou toxinas, quanto pela utilização do processo fermentativo propriamente dito (Dias 1992).

Outro fator importante é que possuem sorotipos que atuam seletivamente contra um curto espectro de ordens de insetos, são larvicidas, não atuando sobre as formas adultas, não atuam por contato, devem ser ingeridos e atuam no trato

intestinal do inseto susceptível. As pró-toxinas não se transformam em toxinas no trato digestivo de humanos e de outros animais são biodegradáveis. Não possui contra si forma de resistência que comprometa o seu emprego como inseticida. O desenvolvimento de inseticidas bacterianos é de custo bem inferior se comparado com um inseticida convencional, e novas pró-toxinas vão sendo descobertas (Rabinovith *et al.* 2003).

13 -Métodos

Os ovos utilizados no teste foram das cepas de Brasília e Rockfeller (americana). As larvas recém eclodidas devem ser colocadas em bandejas de 25x40cm para a manutenção das mesmas no teste e para o seu desenvolvimento. As bandejas de cada cepa foram identificadas com seus devidos nomes com a utilização de uma caneta para retroprojctor: cepa de Brasília e cepa Rock (Rockfeller).

As larvas das cepas utilizadas de *Aedes aegypti* se nutrem de ração para camundongos ou levedo de cerveja que se depositam no fundo das bandejas onde as larvas se alimentam.

A temperatura do insetário deve estar em torno de 28° a 32°C aproximadamente, para que as larvas possam se desenvolver igualmente.

As jardineiras e pneus utilizados foram bem lavados e expostos ao sol para evitar qualquer contaminação de alguma bactéria.

O larvicida biológico utilizado para controle de mosquitos foi o *Bacillus thuringiensis* subspe. *israelensis* (H-14), na forma de grânulos, tendo como veículo sabugo de milho, substrato seguro ao meio ambiente.

14 -Procedimento

Devido a baixa temperatura no insetário (local onde se encontravam a criação de larvas e mosquitos do *Aedes aegypti* de diversas cepas para testes), foram utilizados 15 larvas por recipiente.

O teste se procedeu da seguinte maneira: 15 larvas da cepa de Brasília na **jardineira “A”** e 15 larvas da cepa Rock na **jardineira “B”**, no teste do pneu foram utilizadas as mesmas quantidades de larvas.

As larvas testadas eram do 2ºestadio ou início do 3º e foram mantidas em água de criadouro até o início da prova. As larvas que apresentaram anormalidades foram descartadas.

Os testes foram realizados em criadouros artificiais, que consiste em 12 (doze) jardineiras e 12 (doze) pneus, sendo dois pneus e duas jardineiras usados como controle ou réplica. Todos os recipientes foram supridos com água destilada, medidas no bécker com as seguintes quantidades: pneus 1.000 ml (1L) e jardineiras 5.000 ml (5L).

Com o auxílio da colher de chá, em cada criadouro foram colocados as seguintes quantidades de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, na forma de grânulos: pneu 0,05 mg e jardineira 0,5 mg. Em seguida, utilizou-se o bastão de vidro agitando cada recipiente por 30 segundos, com exceção dos controles, os recipientes permaneceram em repouso de 15 a 30 minutos das soluções preparadas. As larvas do *Aedes aegypti* das bandejas foram transferidas com o auxílio da pipeta para cada criadouro identificado com o nome da cepa e uma letra do alfabeto nos seus respectivos recipientes.

Em cada recipiente foram colocadas 15 larvas do 2º ou 3º estágio da seguinte maneira: 15 larvas da cepa de Brasília na jardineira A, 15 larvas da cepa Rock na jardineira A ;15 larvas da cepa de Brasília no pneu B , 15 larvas da cepa Rock no pneu B e assim sucessivamente.

Após 24 horas de exposição, realizamos a contagem de larvas mortas e moribundas (que não nadavam normalmente) em cada criadouro. As leituras foram realizadas todos os dias num intervalo de 24 horas durante dois meses. A cada leitura

as larvas mortas ou moribundas eram trocadas, tanto dos recipientes contendo o *Bacillus* como dos recipientes controles.

As etapas da leitura foram seguidas da seguinte maneira: leitura e cálculo de mortalidade, após 24 horas, de cada teste. Se a mortalidade do controle ou réplica for maior que 5% e menor que 20%, corrigir a mortalidade pela **Fórmula de Abbott**:

$$\frac{\% \text{ de mortalidade dos expostos} - \% \text{ de mortalidade no controle}}{100 - \% \text{ de mortalidade no controle}} \times 100$$

Quando a mortalidade no controle é maior que 20% a prova é descartada, sendo necessário calcular a média de mortalidade obtida para a mesma concentração em diferentes réplicas.

Os critérios de interpretação da Organização Mundial de Saúde (OMS) se encontram na tabela 2 abaixo.

Tabela 2: Índice de susceptibilidade.

Susceptibilidade	Sigla	Índice (%)
Susceptível	SS	98 – 100%
Verificação Requerida (repetir prova)	VR	80 a < 98%
Resistente	RR	< 80%

Fonte: Ministério da Saúde

Se o teste for positivo, realizar os cálculos do percentual de mortalidade, descontando o número de vivos encontrados no controle e expostos ao *Bti*.

Exemplo:

Nº de larvas expostas = 15 larvas.

Nº de larvas mortas = 12 larvas.

Nº de vivos= 03 larvas.

Larvas para cálculos= 15-03=12 larvas.

Calculo Percentual:

$$\frac{\text{Nº de larvas mortas} \times 100}{\text{Nº de larvas expostas}} = \frac{12 \times 100}{15} = \frac{1.200}{15} = 80\% \text{ mortalidade observada.}$$

15 – Resultados e Discussão.

Os resultados das provas biológicas de suscetibilidade do *Aedes aegypti* ao *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* realizados no Laboratório de Entomologia/Funasa, encontram-se na Tabela 3 e 4.

Tabela 3: Média de mortalidade das larvas do *Aedes aegypti* com o uso do *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* na **jardineira**.

Índice de Mortalidade Observado	Cepas testadas			
	Expostos		Controle	
	Brasília	Rock	Brasília	Rock
Em 24 horas de exposição (%)	98,33	100	0	0
60 dias de exposição (%)	97,77	98,51	2,6	6,2

Tabela 4: Média de mortalidade das larvas do *Aedes aegypti* com o uso do *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* no **pneu**.

Índice de Mortalidade Observado	Cepas testadas			
	Expostos		Controle	
	Brasília	Rock	Brasília	Rock
Em 24 horas de exposição (%)	100	100	0	0
60 dias de exposição (%)	98,45	98,57	2,6	5,93

A ação do *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, na formulação de grânulo, usado experimentalmente nas formas imaturas do *Aedes aegypti*, apresentou índice de mortalidade média nos recipientes usados os seguintes índices de mortalidade: na jardineira entre as primeiras 24 horas foi de 98,33% para a cepa de Brasília e 100% para a cepa Rock (Rockfeller); no pneu o índice de mortalidade foi de 100% para a cepa de Brasília e 100% para a cepa Rock.

Após 24 horas de exposição, no período de dois meses, a média de mortalidade calculada foi de: 97,77% para a cepa de Brasília e 98,51% para a cepa

Rock, na jardineira; no pneu a mortalidade foi de 98,45% para a cepa de Brasília e 98,57% para a cepa Rock.

De acordo com o procedimento utilizado no laboratório juntamente com as normas de índice de mortalidade da Organização Mundial da Saúde (OMS), as larvas do *Aedes aegypti* foram susceptíveis ao *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*, nos mostrando a eficiência deste produto e seu poder de ação residual.

Os resultados das provas biológicas foram expressos em percentagem de mortalidade; de acordo com este critério de interpretação, a mortalidade igual ou superior a 98% configura o *status* de suscetível; de 80 a 98%, verificação de resposta através da repetição experimental, e abaixo de 80% configura o *status* de resistência. Esta interpretação é unânime entre os especialistas da OMS, representando um parâmetro indicador de suscetibilidade. De acordo com os resultados, a eficiência do produto foi satisfatória independente do tipo de criadouro utilizado.

17-Conclusão

Com a realização dos testes, concluímos os trabalhos demonstrando a eficácia do produto denominado *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) quanto ao controle das larvas de *Aedes aegypti*.

Analizamos a residualidade do *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* nos criadouros testados e constatamos que o seu poder residual vai além de 60 dias.

Os materiais de polietileno em que foram realizados os testes (pneu e jardineira) não alteraram os resultados.

A quantidade do produto (*Bti*) utilizado nos recipientes na realização dos testes não apresentou cor, não ocorreu deposição do produto no fundo dos criadouros e ausência de odor forte na água. Observou-se também que as larvas que se encontravam mortas entravam em decomposição, após 12 horas de exposição no larvicida biológico.

No período de dois meses, a média de mortalidade na jardineira foi de 97,77% para a cepa de Brasília e 98,51% para a cepa Rock e no pneu a mortalidade foi de 98,45% para a cepa de Brasília e 98,57% para a cepa Rock, com estes resultados as larvas do *Aedes aegypti* mostraram-se susceptíveis ao *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, onde seu poder de residualidade vai além de 60 dias e independem do tipo de material utilizado como criadouro.

Fica claro, então, que após este trabalho novas técnicas e medidas deverão ser tomadas para o uso do produto, sendo de extrema relevância que as orientações sejam amplamente discutidas e realizadas para que haja otimização das atividades de campo.

Do ponto de vista científico, como do ponto de vista tecnológico, há um maior interesse nas bactérias entomopatogênicas, visando a produção de novos bioinseticidas, com preços competitivos no mercado, melhoramento nos princípios ativos para garantir maior eficiência da ação larvicida, além de ser tornar um ponto estratégico no controle de larvas imaturas do *Aedes aegypti*.

A resistência do *Aedes aegypti* aos inseticidas químicos em algumas cepas, fez se mostrar a necessidade de se procurar novas alternativas de controle. Contudo, a

vigilância epidemiológica se torna de importância fundamental por ser uma forma de detecção ou prevenção de controle da dengue, além do mais esclarecer o público sobre os riscos do vetor e como encontrá-lo, é a primeira forma de redução da população do *Aedes aegypti*.

18 - Referências Bibliográficas

Becker, N.; Microbial control of mosquitoes and blackflies. In: International Colloquium of Invertebrate Pathology and Microbial Control, 5, 1990, Adelaide Australia. Proceedings.1990. p. 84-90.

Brasil. Ministério da Saúde. 1997. Instruções para pessoal de combate ao Vetor-manual de normas técnicas. Brasília-DF. 75p.

Brasil.SUCAM. 1989. Resumo dos principais caracteres morfológicos diferenciais do *Aedes aegypti* e do *Aedes albopictus*. Brasília – DF. 19p.

Consoli, R.A.G.B; Oliveira, R.L. Principais Mosquitos de Importância Médica no Brasil, ed. Fiocruz, 1998, Rio de Janeiro.

Couch, T.L.; Ignoffo, C.M. Formulation of Insect Pathogens. In: Burges, H.D. (Ed.) Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980; London, Academic Press, 1981. p.621-634.

de Barjac, H.; Bonnefoi, A. Essai de classification biochimie et sorologique de 24 souches de *Bacillus* du type *thuringiensis*. Entomophaga v.7, n.2, 1962. p. 5-31.

de Barjac, H.; Frachon, E. Classification of *Bacillus thuringiensis*. Entomophaga v.35, n.2, 1990. p. 233-240.

Dias, J.M.C.S. Produção e Utilização de Bioinseticidas Bacterianos . Pesq. Agropec. Bras. 27 (S/N) abril 1992. p.59-76.

Dias, S.C.; Silva-Werneck, J.O.; Schenkel, R.G.M.; Lopes, J.B. & Dias, J.M.C.S. Técnicas sorológicas para caracterização de isolados de *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus sphaericus*. EMPRAPA/CENARGEM, Brasília, Comunicado Técnico nº15, maio de 1993. p.6.

Dumage, T.; Yousten, A.A.; Singer, S.; Lacey, L.A. Guidelines for Production of *B. thuringiensis* H.14 and *B. sphaericus*. Geneve: UNDP/WORLD BANK/ WHO 1990. p.58.

Gill, S. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* toxins. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1995. 90: 69-74.

Gill, S. Cowles, E. & Petronio, P. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. Ann. Rev. Entomol. 1992. 37:615-636.

Goldberg, L.J.; Margalit, J. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. Mosquito news, v.39, 1977. p. 541-544.

Habib, M.E.M.;Andrade, C.F.S. Bactérias entomopatogênicas, In: Controle microbiano de insetos. Alves, S.B. (Coord.). São Paulo: Ed. Manole, 1986. p.127-170.

Martins, V.S. Dengue: Histórico e Distribuição, Fatores Determinantes de sua Transmissão, Aspectos Clínicos, Prevenção e Controle. Monografia, Licenciatura em Biologia, Centro Universitário de Brasília, Brasília-DF, 2002.

Moraes, I.O.; Capalbo, D.M.F., Arruda, R.O.M. Produção de bactérias entomopatogênicas. In: Alves, S.B. Controle Microbiano de Insetos. 2ªed. Piracicaba: FEALQ, 1998. Cap. 26, p.815-839.

Organização Panamericana de Saúde. 1987. Dengue Hemorrágico: diagnóstico, tratamento e controle. Genebra.

Porto, V.T. Resistência do *Aedes aegypti* a Inseticidas e Larvicidas. Monografia, Licenciatura em Biologia, Centro Universitário de Brasília, Brasília-DF, 2002.

Rabinovith, L.; Cavados, C.F.G.; Lima, M.M. Bacillus Entomopatogênicos. Disponível em: <http://www.biotechnologia.com.br/bio/6_c.htm>. Acesso em 28/fevereiro/2003

Schenkel, R.G.M.; Vilarinhos, P.T.R.; Honda, C.S. Isolamento de nova cepa de bacilo entomopatogênico na região do Distrito Federal. In: Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental, 2., 1988, Águas de Lindóia, São Paulo, Anais. 1988.p. 16.

Vilarinhos, P.T.R.; Dias, J.M.C.S.; Andrade, C.F.S.; Araújo – Coutinho, C.J.P.C. Uso de Bactérias para Controle de Mosquitos e Simulídeos. Alves, S.B.(Ed.) Controle Microbiano de Insetos. Ed. Manole, São Paulo, 2ª ed.1997. p. 1-21.

W.H.O. 1999 Serie de diretrizes. “Guideline specifications for bacterial larvicides public health use”. WHO/CDS/CPC/WHOPES/99.2

Yousten, A.A. Mosquitocidal toxins from bacteria of the Genus *Bacillus*, 1996. p. 304-309. In: Anais Conferências e Palestras, V SINCOBIOL – Simpósio de Controle Biológico, Foz do Iguaçu, PJ Comunicação & Eventos Ed., 448p.

