

AÇÃO INSETICIDA DA BACTÉRIA ENTOMOPATOGÊNICA *Brevibacillus laterosporus* (Laubach) SOBRE LARVAS DE *Culex quinquefasciatus* SAY, 1823 (DIPTERA: CULICIDAE)

BRUM, Fernanda. A.¹; ZIMMER, Cristine R.²; GONÇALES, Relber A.^{3*}; KNABAH, Paula. F.³; FELCHICHER, Francielly³; LEITE, Fabio Pereira Leivas⁴

1. Mestranda PPG-Parasitologia, UFPel, E-mail: fernanda.-brum@hotmail.com

2. Bolsista PRODOC PPG- Parasitologia. UFPel, E-mail: crzimmerbio@yahoo.com.br

3. Acadêmicos de Ciências Biológicas. UFPel, *BIC FAPERGS. E-mail: relberg.ib@ufpel.edu.br
paulinhah_2016@hotmail.com, franciellybio@yahoo.com.br

4. Prof. Adjunto, Dept^o Microbiologia e Parasitologia. E-mail: fabio_leite@ufpel.tche.br

1 INTRODUÇÃO

A influencia humana sobre o ambiente tem papel fundamental no aumento das populações de mosquitos e processos como urbanização, moradia, modificações ecológicas e climáticas contribuem para este fenômeno. O díptero *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera, Culicidae) é considerado, pela Saúde Pública, como fator de incômodo, bem como transmissores de patógenos em inúmeras áreas urbanizadas do Brasil (NATAL et al., 1991). De acordo com Forattini (2002), a presença dessa espécie, no ambiente urbano, é indesejável e constitui diminuição da qualidade de vida.

A importância de novas tecnologias buscando estratégias de controle de vetores de um modo seletivo vem despontando, o que inclui a utilização de produtos naturais que sejam menos agressivos ao meio ambiente e tenham um bom resultado, com um baixo custo. Entre as opções, destacam-se os bioinseticidas a base de espécies de *Bacillus* que estão sendo utilizadas como alternativa ao controle de pragas urbanas e agrícolas (RODRIGUES et al., 1988).

Brevibacillus laterosporus (Laubach), é uma bactéria aeróbica formadora de esporos e recentemente tem demonstrado suas propriedades inseticidas contra diferentes ordens de insetos (FAVRET & YOUSSTEN, 1985; RIVERS et al 1991; RUIU et al, 2007, 2008; DUARTE, et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2004. A identificação de linhagens bacterianas inseticidas contra mosquitos são de fundamental importância para o estabelecimento de medidas alternativas de controle desta potencial praga sinantrópica. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade larvicida da bactéria entomopatogênica *B. laterosporus* sobre *C. quinquefasciatus* em condições artificiais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do experimento foi utilizada uma colônia de *Culex quinquefasciatus* já adaptada às condições de laboratório, estabelecida conforme Costa et al. (1994). A colônia foi mantida durante o período de experimentação em câmara climatizada com temperatura variando de 26°C ± 2°C, umidade relativa do ar acima de 75% e com fotofase de 12 horas, localizada no Laboratório de Biologia de Insetos no Instituto de Biologia (IB) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

As espécies de *Bacillus* foram obtidos da Bacterioteca do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, IB, UFPel. A bactéria foi semeada em meio NYSM (YOUSSTEN, 1984), líquido, incubada em agitador orbital a 150 rpm, 28°C por 48

horas. Após o tempo de incubação, os microrganismos foram semeados em ágar NYSM pelo método de esgotamento e incubados em estufa a 28°C. Foram feitas 4 diluições decrescentes e posteriormente armazenadas em geladeira a 4°C até o momento de utilização.

O bioensaio foi realizado com larvas de *C. quinquefasciatus* entre 2º - 3º ínstar (10 larvas por réplica – totalizando 30 larvas por dose). Os testes foram realizados em triplicata, juntamente com um grupo controle contendo somente o meio de cultivo e outro somente contendo água. Avaliação foi realizada em intervalos de 24 e 48 horas, por meio de contagem do número de larvas.

As amostras de *B. thuringiensis israelensis*, *B. laterosporus* e *B. cereus* foram analisadas pela eletroforese em gel de poli-acrilamida. As amostras foram homogeneizadas com tampão da amostra 4x concentrado (250mM Tris-HCl pH 6,8, 40% glicerol, 8% SDS, 20% β-mercaptoetanol e 0,008% de azul de bromofenol), incubadas por 10 minutos a 100°C, e aplicadas no gel. O gel foi preparado na concentração de 12% de poli-acrilamida. A eletroforese foi realizada em tampão Tris-Glicina (50mM Tris, pH 8,6, 1,92 M glicina e 1% SDS), a 100V por até 80 minutos em temperatura ambiente, no sistema Mini-Protean II (Bio-Rad).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi observada atividade larvicida em todas as diluições. Nas primeiras 24 horas de avaliação, a mortalidade das larvas de *C. quinquefasciatus* atingiu o percentual superior a 85% em todas as diluições testadas (Figura 1). A menor taxa de mortalidade obtida foi de 86,67% (10^5 UFC/mL) e a maior de 100% (10^4 e 10^7 UFC/mL). Em 48 horas a mortalidade atingiu 96,67% nas diluições 10^5 UFC/mL e 10^6 UFC/mL e 100% na diluição 10^3 UFC/mL.

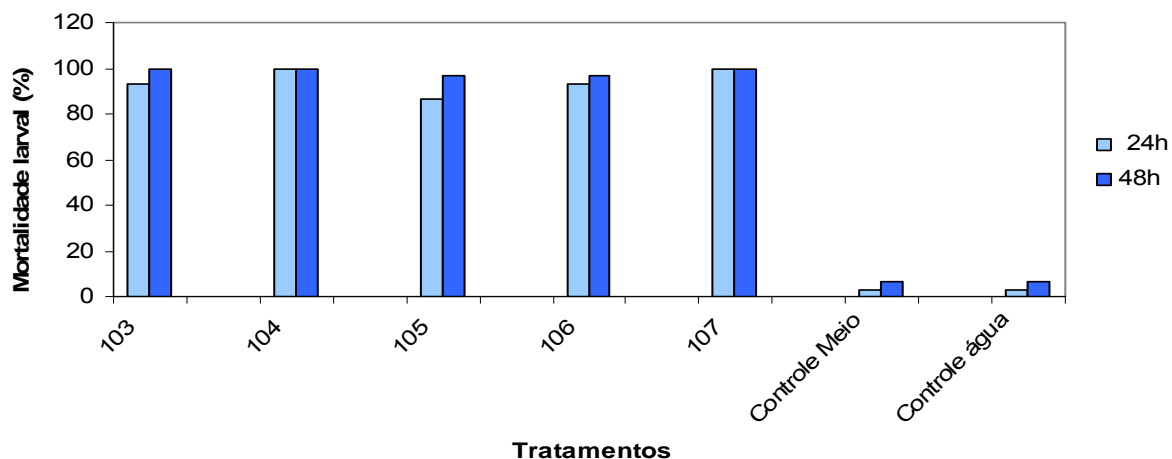


Figura 1 – Ação de diferentes concentrações da bactéria entomopatogênica *Brevibacillus laterosporus* sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*, em condições de laboratório.

Diversas espécies de insetos demonstraram susceptibilidade ao *B.laterosporus* (FAVRET & YOUSSTEN, 1985; RIVERS et al 1991; RUIU et al, 2007, 2008; DUARTE, et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2004).

Ruiu et al. (2008) observou a mortalidade de 100% de larvas de *Musca domestica* (Diptera:Muscidade) na concentração 10^8 esporos/mL de *B. laterosporus*.

Duarte et al., (2009) trabalhando com o mesmo díptero e a mesma bactéria, encontraram a o percentual de 81,29% de mortalidade acumulada na concentração 10^8 UFC/mL.

4 CONCLUSÕES

Os resultados indicam que *B. laterosporus* apresenta ação inseticida sobre as larvas de *C. quinquefasciatus*, porém, estudos adicionais estão sendo realizados com a finalidade de identificar as toxinas envolvidas e a determinação da toxicidade oral desta bactéria.

É muito provável que a atividade patogênica de *B.laterosporus* seja mediada por um mecanismo semelhante a ação de toxinas do *B. thuringiensis*, δ -endotoxinas..

5 AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa PRODOC para a segunda autora e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pela concessão de bolsa de iniciação científica para o terceiro autor.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA, P.R.P.; VIANNA, E.E.S.; SILVEIRA, Jr.P.; RIBEIRO, P.B. Influência da temperatura na longevidade e viabilidade do ciclo aquático de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Díptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.3, n.2, p. 1-6, 1994.

DUARTE, J.P.; CÁRCAMO, M.C.; ZIMMER, C.R.; RIBEIRO, P.B.; LEITE, F.P.L. Patogenia de *Bacillus thuringiensis* E *Brevibacillus laterosporus* em larvas de *Musca domestica* (diptera, muscidae), em laboratório.In: **XVIII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, XI ENPOS, I MOSTRA CIENTÍFICA**. UFPel, Pelotas, RS, 2009. In: http://www.ufpel.tche.br/cic/2009/cd/pdf/CB/CB_00874.pdf

FAVRET, E.M.; YOUSTEN, A,A, Insecticidal activity of *Bacillus laterosporus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.45, p.195–203, 1985.

FORATTINI, O.P. **Culicidologia Médica**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002, 860p.

NATAL, D.; PAGANELLI, C.H.; SANTOS, J.L.H. Composição da população adulta de *Culex (Culex) quinquefasciatus* Say, 1823 em ecótopos próximos à represa Edgard de Souza, no município de Santana do Parnaíba, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.35, p.539–543, 1991.

OLIVEIRA, E.J.; RABINOVITCH, L. MONNERAT, R.G.; PASSOS, L.K.J.; ZAHNER, V. Molecular characterization of *Brevibacillus laterosporus* and its potential use in biological control. **Applied And Environmental Microbiology**, v.70, n.11, p. 6657–6664, 2004.

RIVERS, D.B., VANN, C.N., ZIMMACK, H.L.; DEAN, D.H. Mosquitocidal activity of *Bacillus laterosporus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.58, p. 444–447, 1991.

RUIU, L.; FLORIS, I.; SATTÀ, A.; ELLAR, D.J. Toxicity of a *Brevibacillus laterosporus* strain lacking parasporal crystals against *Musca domestica* and *Aedes aegypti*. **Biological Control**, v. 43, n.1, p.136-143, 2007.

RUIU, L.; SATTÀ, A.; FLORIS, I. Immature House Fly (*Musca domestica*) Control in Breeding Sites With a New *Brevibacillus laterosporus* Formulation. **Environmental Entomology**, v.37, n.2, p. 505-509, 2008.

RODRIGUES, I.B., TADEI, W.P., DIAS, J.M.C.S. Studies on the *Bacillus sphaericus* larvicidal activity against malaria vector species in Amazonia. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.93, p. 441-444, 1988.

SINGER, S. The utility of morphological group II *Bacillus*. **Advances in Applied Microbiology**, v.42, p.219–261, 1996.