

Efeito de conídios *Metarhizium anisopliae* IP 46 formulados em água ou óleo-água e aplicados em ovitrampas sobre oviposição *Aedes aegypti* em condições de campo

Luciana Silva LOBO¹, Christian LUZ¹

1. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP)

e-mail: lulobo87@gmail.com

palavras – chave: controle biológico; mosquito; fungo entomopatogênico

Apoio: CAPES

INTRODUÇÃO

Aedes aegypti é o principal vetor do vírus da dengue nos trópicos. O estado de Goiás no Centro-Oeste do Brasil detém a maior incidência dessa arbovirose na região (Ministério da Saúde 2011).

Melhores estratégias de controle integrado de *A. aegypti* são necessárias para enfrentar a propagação de resistência do vetor a químicos e seus efeitos adversos ao ambiente.

Fungos entomopatogênicos têm sido alvo de grande interesse no controle de insetos de importância médica, como mosquitos (Scholte et al. 2005, Kanzok & Lorena 2006). *Metarhizium anisopliae* IP 46 foi efetivo contra ovos (Luz et al. 2007, 2008, Albernaz et al. 2009, Santos et al. 2009), larvas (Scholte et al. 2004, Silva et al. 2004) e adultos (Scholte et al. 2007, Leles et al. 2010) de *A. aegypti* em condições de laboratório. Entretanto, há pouco conhecimento sobre formulações e técnicas de aplicação específicas que visam aumentar a eficiência considerando o comportamento da praga alvo e necessidades do fungo entomopatogênico.

O presente estudo reporta o efeito de IP 46 formulado em água ou óleo-água e aplicado em ovitrampas sobre a oviposição de *A. aegypti* e avalia o efeito desses formulados sobre ovos postos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Dispositivo para oviposição

Paletas de fibra vegetal (5 cm de largura x 0,5 cm de espessura x 15 cm de comprimento) com superfície rugosa e papéis filtro cortados nas mesmas medidas foram parcialmente envoltos em parafilme para evitar contato direto do papel filtro e da paleta com a água, em uma distância de aproximadamente 2 cm acima e abaixo da linha da água. Paletas e papéis filtro foram verticalmente fixados no lado de

dentro de uma armadilha para ovos rotineiramente utilizada por agentes de saúde para monitoramento de *A. aegypti*, e 500 ml de água foi adicionado (Fay & Perry, 1965).

Preparo do fungo

Conídios de *M. anisopliae* foram raspados da superfície de cultura com uma espátula, suspensos em 10 ml de Tween 80 estéril a 0,1%, agitados com pérolas de vidro em vórtex e filtrados por algodão hidrófilo. Após diluição, o número de conídios foi quantificado em câmara de Neubauer e suspensões foram ajustadas à concentração final de 10^6 conídios/cm². Antes de cada experimento, a viabilidade dos conídios > 95% foi confirmada.

Preparo de aditivos

Emulsões óleo-água foram preparadas com óleo vegetal emulsionável (Graxol®, G, Agrária Indústria e Comércio LTDA) e 1 ml foi aplicado equitativamente sobre papel filtro e paleta com micropipeta semiautomática a 1 µl G/cm².

Testes de campo

Conídios formulados em óleo-água na concentração final de 1 µl G/cm² e 10^6 conídios/cm² ou conídios formulados em água na mesma concentração de conídios, emulsão na mesma concentração do óleo, sem conídios (controle) ou somente água (controle) foram aplicados nas paletas e papéis filtro e esses ajustados cada em diferentes ovitrampas como descrito. Quatro testes independentes foram realizados na época seca (Maio a Agosto) e chuvosa (Novembro a Março) por um período de 30 dias cada em quatro regiões metropolitanas de Goiânia (Oeste, Sudoeste, Noroeste e Norte), ao mesmo tempo. As regiões situam-se pelo menos 10 km de distância uma da outra e tinham presença confirmada de *A. aegypti*. Para cada teste de campo e região, dois dispositivos tratados com fungo e dois controles foram expostos em áreas peridomiciliares, protegidos de luz solar direta e chuvas.

Todas as visitas nas residências foram feitas mediante autorização prévia dos moradores, comprovada por assinatura do “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)” e foram realizadas juntamente com agentes de saúde responsáveis por cada distrito sanitário, mediante parceria estabelecida com a “Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia (SMSGo)”.

Uma vez por semana, as paletas e papéis foram removidos, as armadilhas limpas e a água renovada. Novas paletas e papéis filtro tratados como mencionado foram colocadas nas armadilhas. No laboratório, ovos sobre paletas e papéis foram

contados e processados para eclosão quantitativa de larvas como mencionado no segundo ensaio.

Análise de Resultados

Para cada ensaio, foram realizadas 4 repetições independentes, cada uma utilizando cultura de fungo diferente. Resultados percentuais foram transformados em arcsin e examinados com análise de variância (ANOVA) e teste de comparação múltipla Student-Newman-Keuls (SNK). Médias foram consideradas significativamente diferentes com $p < 0,05$.

RESULTADOS

Foram encontrados ovos somente após época da seca e somente sobre papel filtro, tratado ou não com conídios de *M. anisopliae* formulado em água ou óleo-água, e não sobre paletas de eucatex. Ao final do período de exposição de 7 dias em campo, o papel filtro se encontrava em processo de degradação e foi observado crescimento de fungo saprofítico sobre ele. O crescimento de micélio e conídios sobre os ovos até 15 dias de incubação em câmara úmida não ultrapassou 50% independentemente do tratamento com conídios.

A eclosão acumulada sobre o papel filtro durante a incubação em câmara úmida foi maior quando ovos foram postos sobre papel filtro tratado com formulações de conídios em óleo-água. A eclosão quantitativa foi menor ao submergir ovos postos sobre papel filtro tratados com conídios.

DISCUSSÃO

Em campo, as fêmeas preferiram notavelmente ovipor sobre papéis filtro. Elas não conseguiram detectar conídios de IP 46 sobre os papéis filtro na concentração testada.

IP 46 pareceu estimular um comportamento de fuga das larvas dentro dos ovos antes da submersão em água. É notável que a eclosão de larvas a partir de ovos postos por fêmeas sobre papel filtro úmido mesmo na ausência de um reservatório de água suficiente para o desenvolvimento de estágios aquáticos foi estimulada. Entretanto, óleo-água sem conídios inibiu completamente a eclosão sobre papel filtro antes da submersão dos ovos em água.

A eclosão quantitativa de ovos postos sobre papéis filtro tratados com conídios formulados em água ou óleo-água foi reduzida comparada com respectivos

controles. Os valores encontrados no presente estudo não atingiram resultados de inibição encontrados em outros estudos onde ovos de *A. aegypti* foram postos artificialmente sobre papéis filtro tratados com IP 46, e não pelas próprias fêmeas. Nessas condições uma exposição mínima de 5 dias dos ovos sobre papel filtro tratado com conídios de IP 46 formulado em óleo foi necessária para inibir a eclosão (Albernaz et al. 2009).

Em condições de campo existem muitos fatores que influenciam tanto na escolha do sítio de oviposição pela fêmea quanto na efetividade ovicida de um formulado de conídios. Um aumento da microbiota disseminada por adultos e desenvolvendo-se sobre os papéis filtro eventualmente dificultou o desempenho entomopatogênico dos conídios de *M. anisopliae* sobre os ovos. Fatores extrínsecos e intrínsecos estimulando ou inibindo a eclosão larval são complexos e a baixa eclosão observada em geral não significa que a larva dentro do ovo havia morrido (Consoli 1994, Clements 1999).

CONCLUSÕES

Baseados nos resultados do presente estudo *M. anisopliae* IP 46 formulado em óleo vegetal Graxo® a 1 µl/cm² e aplicado sobre um substrato permanentemente úmido em um dispositivo que atrai fêmeas grávidas, teve o efeito ovicida e assim tem interesse para controle de *A. aegypti*.

Novos estudos sobre a persistência de conídios de IP 46 formulados em substratos molhados, substratos e dispositivos mais adequados irão contribuir ao desenvolvimento de novas estratégias de combate integrado desse importante vetor com micoinseticida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albernaz DAS, Tai MHH, Luz C 2009. Enhanced ovicidal activity of an oil formulation of the fungus *Metarhizium anisopliae* on the mosquito *Aedes aegypti*. *Med Vet Entomol* 23: 141-147.
- Clements AN 1999. *The biology of mosquitoes, vol. 1*. 1st ed., Chapman e Hall, London, 752 pp.
- Consoli RAGB, Oliveira RL 1994. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. 1^a ed., Fiocruz, Rio de Janeiro, 228 pp.

- Fay RW, Perry AS 1965. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosq News* 25: 276-81.
- Kanzok SM, Jacobs-Lorena M 2006. Entomopathogenic fungi as biological insecticides to control malaria. *Trends in Parasitol* 22: 49-51.
- Leles RN, Sousa NA, Rocha LF, Santos AH, Silva HH, Luz C 2010. Pathogenicity of some hypocrealean fungi to adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) *Parasitol Res* 107: 1271-1274.
- Luz C, Tai MHH, Santos AH, Rocha LFN, Albernaz DAS, Silva HHG 2007. Ovicidal activity of entomopathogenic Hyphomycetes on *Aedes aegypti* under laboratory conditions. *J Med Entomol* 44: 799-804.
- Luz C, Tai MHH, Santos AH, Silva HHG 2008. Impact of moisture on survival of *Aedes aegypti* eggs and ovicidal activity of *Metarhizium anisopliae* under laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 214-215.
- Ministério da Saúde 2011. *Balanço Dengue Informe – Janeiro a Março de 2011*: 12 pp.
- Scholte EJ, Knols BGJ, Samson RA, Takken W 2004a. Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. *J Insect Sci* 4: 1-24
- Scholte EJ, Ng'habi K, Kihonda J, Takken W, Paaijmans K, Abdulaa S, Killeen GF, Knols BGJ 2005. An entomopathogenic fungus for control of adult African malarian mosquitoes. *Sci* 308: 1641-1642.
- Scholte EJ, Takken W, Knols BGJ 2007. Infection of adult *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Acta Trop* 102: 151-158.
- Santos AH, Tai MHH, Rocha LFN, Silva HHG, Luz C 2009. Dependence of *Metarhizium anisopliae* on high humidity for ovicidal activity on *Aedes aegypti*. *Biol control* 50: 37-42.
- Silva RO, Silva HHG, Luz C 2004. Effect of *Metarhizium anisopliae* isolated from soil of the central brazilian cerrado against *Aedes aegypti* larvae under laboratory conditions. *Rev Pat Trop* 33: 207-216.