

## **ATIVIDADE OVICIDA DE FUNGOS HIFOMICÉTICOS EM *Aedes aegypti***

**TAI, Marina Hsiang Hua**<sup>1</sup>; **ALBERNAZ, Douglas Araujo dos Santos**<sup>2</sup>; **ELIAS, Carmeci Natalina**<sup>3</sup>; **LUZ, Christian**<sup>4</sup>

Palavras-chave: controle biológico, mosquito, ovos, fungos entomopatogênicos

### **1. INTRODUÇÃO**

Mosquitos são vetores de diferentes agentes etiológicos como vírus, protozoários e helmintos, causando doenças como dengue, malária e filarioses. Em todo o Brasil, a densidade do mosquito *Aedes aegypti* tem aumentado nos últimos anos elevando consideravelmente os riscos de novas epidemias de dengue, como já vem ocorrendo desde os anos 80. Em muitas regiões foi detectada resistência do *A. aegypti* contra inseticidas sintéticos comumente utilizados. Nos últimos anos, devido à conscientização da população sobre os prejuízos do uso de inseticidas químicos aliada aos primeiros casos de resistência de mosquitos também a *Bacillus* spp., o interesse por novos agentes de controle biológico de mosquitos está crescendo, com destaque para os fungos (SCHOLTE *et al.* 2004, 2005, SILVA *et al.* 2004, 2005, BLANFORD *et al.* 2005, KANZOK & LORENA 2006).

O sucesso de um controle permanente dos vetores está diretamente relacionado com o conhecimento da biologia do vetor-alvo. O *A. aegypti* utiliza como criadouro pequenas coleções de água parada. As fêmeas depositam seus ovos na superfície do criadouro ou sobre substratos secos ou molhados adjacentes da água. O desenvolvimento embrionário inicia logo após oviposição e o avanço da embriogênese depende da temperatura e umidade relativa. O período de maturação dura cerca de 30-40 h em ambiente úmido e temperatura de cerca de 25°C. Se não houver contato dos ovos com água, as larvas formadas dentro dos ovos conseguem entrar em diapausa facultativa e suspender temporariamente a eclosão. Foi observada resistência das larvas nos ovos por muitos meses independentemente da temperatura e umidade (JULIANO *et al.* 2002). A diapausa é interrompida após contato com a água através da submersão ou agitação, variações de temperatura e devido à interação com microrganismos. Durante a diapausa, ovos do *A. aegypti* estão expostos à predação por inimigos naturais e infecção por patógenos, além da ação de fatores abióticos como luz ultravioleta, temperaturas e umidades extremas. Grande parte dos estudos sobre a atividade de fungos em mosquitos foi feita com larvas e pouco se sabe sobre a susceptibilidade de outras fases de desenvolvimento destes vetores (SCHOLTE *et al.* 2004, SILVA *et al.* 2004). Vários estudos mostraram que fungos têm atividade ovicida em artrópodes como carrapatos (GINDIN *et al.* 2002), lepidópteros e heterópteros (ROMAÑA & FARGUES 1992, EKESI *et al.* 2002). Porém, praticamente nada se sabe sobre atividade de fungos em ovos de mosquitos. Larvas de *Culex* spp. e *Aedes* spp., inclusive de *A. aegypti*, eclodiram normalmente após exposição de ovos a conídios de *B. bassiana* mesmo após exposição dos ovos durante duas semanas fora da água (CLARK *et al.* 1968). A falta da atividade ovicida para *A. aegypti* foi provavelmente ligada à espécie e/ou linhagem testada ou devido às condições sub-otimais de umidade para o

desenvolvimento do fungo sobre os ovos. No presente estudo foi avaliada a atividade ovicida de outros fungos entomopatogênicos em *A. aegypti*.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 - Criação de *mosquitos*

*A. aegypti* foi criado em câmara climatizada a 28°C, com umidade relativa de cerca de 80% e fotofase de 12 h, conforme o método de SILVA & SILVA (1998).

### 2.2 - Origem, cultivo e preparação do fungo

Foram testados 9 fungos isolados de insetos ou substratos: *M. anisopliae* var. *flavoviride* (CG 423), 2 *Fusarium* sp. (IP 2 e IP 4), *Tolypocladium cylindrosporum* (ARSEF 3392), *Beauveria brongniartii* (CG 619), *Evlachovaea* sp. (IP 218), *Sporothrix insectorum* (CG 826), *Paecilomyces lilacinus* (CG 362) e *P. carneus* (CG 525). Todos estão armazenados na coleções de fungos entomopatogênicos do IPTSP, Goiânia, GO. Os fungos foram cultivados em meio de cultivo BDA (batata, dextrose, ágar) a 25°C, 75 ± 5% de umidade relativa (UR) e fotofase de 12 h durante 15 d. Os conídios foram raspados na superfície da cultura e suspensos em 0,1% de Tween 80. A suspensão foi filtrada e os conídios quantificados com câmara de Neubauer.

### 2.3 - Testes sobre atividade ovicida

Ovos de *A. aegypti* foram recolhidos de papéis filtros 24 horas após exposição destes em gaiolas de criação com adultos. Os ovos foram incubados por mais 3 a 5 d nas mesmas condições de temperatura e umidade para formação das larvas (L1) dentro dos ovos. Estes, fixos nos papéis filtros, foram retirados cuidadosamente com pincel e colocados sobre papel filtro previamente esterilizado (1 cm<sup>2</sup>) com borda dobrada de 1 mm e tratados com 50 µl de 10<sup>8</sup> conídios/ml, o que correspondeu a 5 x 10<sup>6</sup> conídios cm<sup>2</sup>. Depois foram secados durante uma hora em condições ambientais e então levados para umidade perto de saturação (> 98%) e 25°C. Após 5, 10, 15 e 25 d de exposição, o papel filtro com os ovos foi transferido para 20 ml de água em copos (3,5 x 4,2 cm). Nesse momento foi acrescida ração triturada para gato sobre a água e as larvas eclodidas foram alimentadas a cada 2 dias. Diariamente a eclosão foi estimulada por exposição a 37°C em banho-maria durante 15 minutos e a água evaporada foi substituída. A cada dia foi avaliado o número de larvas eclodidas e a sobrevivência e desenvolvimento destas até a pupação. Larvas mortas foram retiradas do copo. Para cada teste foi avaliado um grupo controle tratado com água. Todos os testes foram realizados em pelo menos 4 réplicas com 20 ovos.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Grande parte (≥ 92,5%) das larvas de ovos do controle eclodiu até 25 d de incubação. Para os ovos tratados aos 5, 10 e 15 d *post incubationem* (*p. i.*) não foi observado efeito fungo sobre a eclosão das larvas ( $F_{8,27} \leq 1,17$ ;  $P \geq 0,35$ ), que variou entre 66,3% (*P. carneus*), 5 d *p. i.*, até 97,5% (*Fusarium* sp. IP 4), 15 d *p. i.*, independentemente do fungo estudado. Aos 25 d *p. i.* a eclosão variou significativamente entre os fungos ( $F_{8,27} = 20,8$ ;  $P < 0,001$ ) com os valores mais baixos para *P. lilacinus* (21,3%) e *P. carneus* (30%), seguidos por *Evlachovaea* sp. (72,5%) e os outros fungos estudados (≥ 81,3%). *P. lilacinus* e *P. carneus* e em parte *Evlachovaea* sp. que, ao contrário dos outros fungos testados, desenvolveram

micélio abundante e conídios sobre os ovos incubados durante 25 d, mostraram ter atividade ovicida em *A. aegypti*.

#### 4. CONCLUSÃO

O efeito dos fungos com atividade ovicida deve ser mais estudado para um combate biológico de *A. aegypti* e de outros mosquitos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLANFORD, S.; CHAN, B. H. K.; JENKINS, N. S. I. M. D.; TURNER, R. J.; READ, A. F.; THOMAS, M. B. Fungal pathogen reduces potential for malaria transmission. **Science** 308: 1638-1641, 2005.
- CLARK, T. B.; KELLEN, W. R.; FUKUDA, T.; LINDGREN, J. E. Field and laboratory studies of the pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* to three genera of mosquitoes. **Journal of Invertebrate Pathology** 11: 1-7, 1968.
- EKESI, S.; ADAMU, R. S.; MANIANIA, N. K. Ovicidal activity of entomopathogenic hyphomycetes to the legume pod borer, *Maruca vitrata*, and the pod sucking bug, *Clavigralla tomentosicollis*. **Crop Protection** 21: 589-595, 2002.
- GINDIN, G.; SAMISH, M.; ZANGI, G.; MISHOUTCHENKO, A.; GLAZER, I. The susceptibility of different species and stages of ticks to entomopathogenic fungi. **Experimental and Applied Acarology** 28: 283-288, 2002.
- JULIANO, A. S.; O'MEARA, G. F.; MORRILL, J. R.; CUTWA, M. M. Desiccation and thermal tolerance of eggs and the coexistence of competing mosquitoes. **Oecologia** 130: 458-469, 2002.
- KANZOK, S. M.; LORENA, M. J. Entomopathogenic fungi as biological insecticides to control malaria. **Trends in Parasitology** 22: 49-51, 2006.
- ROMAÑA, C. A.; FARGUES, J. Relative susceptibility of different stages of *Rhodnius prolixus* to the entomopathogenic hyphomycete *Beauveria bassiana*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 87: 363-368, 1992.
- SCHOLTE, E. J.; KNOLS, B. G. J.; SAMSON, R. A.; TAKKEN, W. Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. **Journal of Insect Science** 4: 1-24, 2004.
- SCHOLTE, E. J.; NG'HABI, K.; KIHONDA, J.; TAKKEN, W.; PAALJMANS, K.; ABDULLA, S.; KILLEEN, G. F.; KNOLS, B. G. J. An entomopathogenic fungus for control of adult African malaria mosquitoes. **Science** 308: 1641-1642, 2005.
- SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G.; LIRA, K. S. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. **Revista de Patologia Tropical** 27: 53-63, 1998.
- SILVA, R. O.; SILVA, H. H. G.; LUZ, C. Effect of *Metarhizium anisopliae* isolated from soil samples of the central Brazilian cerrado against *Aedes aegypti* larvae under laboratory conditions. **Revista de Patologia Tropical** 33: 207-216, 2004.
- SILVA, R. O.; SILVA, H. H. G.; ULHOA, C. J.; LUZ, C. Is there a relationship between N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity of *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin (Hyphomycetes) isolates from peridomestic areas in Central Brazil and larvicidal effect on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae) ? **Journal of Applied Entomology** 129: 158-164, 2005.

<sup>1</sup> Bolsista de Iniciação Científica. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/ UFG – Laboratório de Controle Biológico, marinahht@gmail.com

<sup>2</sup> Mestrando/ Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/ UFG – Laboratório de Controle Biológico.

<sup>3</sup> Técnica de Laboratório – Secretaria Municipal de Saúde/ Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG- Laboratório de Biologia e Fisiologia de Insetos

<sup>4</sup> Orientador / Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/ UFG – Laboratório de Controle Biológico, wolf@iptsp.ufg.br