

CONTROLE DE SIMULÍDEOS COM CONCENTRADO EMULSIONÁVEL DE *BACILLUS THURINGIENSIS*

— Carlos J. P. C. Araújo-Coutinho¹ e Lawrence A. Lacey² —

Avaliaram-se, em 24 cursos d'água da área litorânea ao norte do estado de São Paulo, Brasil, os efeitos de formulações com concentrados emulsionáveis de Bacillus thuringiensis variedade israelensis (H-14): Teknar, (Zoecon, Sandoz Inc.), Vectobac (Abbott Labs.) e Bactimos (Biochem, Solvay Labs.) contra o Simulium pertinax. Não se verificaram diferenças significativas na taxa de carregamento entre as formulações (mortalidade acima de 80%) quando aplicadas na proporção de 10 mg/litro durante um minuto. À exceção do Teknar, talvez em razão da influência das características físicas dos córregos onde se efetuaram as avaliações, verificou-se uma elevada correlação entre a vazão do curso d'água e o carregamento efetivo das formulações.

O litoral norte do estado de São Paulo compreende uma faixa de terra entre a Serra do Mar (cadeia de montanhas na costa do estado) e o Oceano Atlântico. A Serra do Mar apresenta topografia acidentada com densa cobertura vegetal característica dessa região tropical. Há, na área, um grande número de rios, córregos e riachos, em sua maioria de pequeno a médio porte, de águas claras e temperatura em torno de 22 °C, e cujos cursos apresentam pequenas quedas turbilhonadas, criadouros preferidos dos *Simulium pertinax*.

A população fixa da região é de aproximadamente 200 000 habitantes, distribuídos em quatro municípios cuja economia é calcada, basicamente, na indústria turística.

Por ocasião do verão (janeiro a março), a população sofre um aumento de cerca de 200% devido ao influxo de turistas. Com o avanço do desenvolvimento urbano, e conseqüente desmatamento das proximidades da Serra do Mar, os simulídeos vêm infestando áreas cada vez mais extensas, notadamente nos últimos anos, acarretando sérios danos ao turismo da região devido ao incômodo das complicações alérgicas causadas por suas picadas, principalmente na população flutuante, que é a mais sensível.

A partir de 1957, a Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo iniciou o trabalho de controle, mediante aplicações de organodorados (DDT e BHC) nos rios. A partir de 1971 passaram a utilizar o organofosforado Temephos (Abate 500-E-Cyanamid). O trabalho de controle realiza-se atualmente em 893 km² da região, compreendendo 8 094 criadouros (figura 1). Para o tratamento utiliza-se gotejamento de Temephos com periodicidade quinzenal. Devido à ampla distribuição e alta densidade de *S. pertinax* na área trabalhada, é ele considerado a principal espécie-alvo (1).

¹ Superintendência de Controle de Endemias. Endereço postal: Rua Paula Souza No. 166, CEP 01027, São Paulo, SP, Brasil.

² Vector Biology and Control Project (USAID/MSC), 1611 North Kent Street, Suite 503, Arlington, VA 22209, EUA.

FIGURA 1. Litoral norte do estado de São Paulo



Área trabalhada (893 km²) pelo Programa de Controle de Simulídeos

Número de criadouros = 8 094

A descoberta e o desenvolvimento de *Bacillus thuringiensis* (H-14) proporcionou um modo eficaz de controle altamente seletivo contra simulídeos e larvas de mosquitos, com um mínimo de impacto sobre ecossistemas aquáticos (2, 3), e também demonstrou ser especialmente útil em habitats onde a aplicação convencional de inseticidas químicos é indesejável, devido a considerações ambientais ou à sua baixa eficácia em consequência do desenvolvimento de resistência (4, 5). A natureza altamente complexa da endotoxina paraesporal do *B. thuringiensis* (H-14) reduz a probabilidade de desenvolvimento de resistência nas espécies-alvo. Em áreas que vêm recebendo aplicações regulares de inseticidas organofosforados para o controle de larvas de simulídeos, tais como as do litoral norte do estado de São Paulo, o *B. thuringiensis* (H-14) poderá ser um método alternativo ou suplementar de controle seguro e eficaz.

O objetivo deste estudo foi avaliar três formulações comerciais de *B. thuringiensis* (H-14) para o controle de *S. pertinax*, sob condições naturais.

MATERIAIS E MÉTODOS

No período de maio a setembro de 1984 testaram-se, sob condições naturais, três formulações de *B. thuringiensis* (H-14) em 24 rios escolhidos ao acaso nos municípios de Ubatuba, Caraguatatuba e Ilhabela, contra várias espécies do gênero *Simulium*, sendo a principal espécie-alvo o *S. pertinax*.

As formulações utilizadas foram: Bactimos FC, da Biochem, Solvay Labs. (com 1 000 unidades internacionais de toxicidade

por miligrama), testada em quatro rios com vazões variando entre 13 e 350 m³/min; Teknar, da Zoecon, Sandoz Inc. (com 1 500 unidades internacionais de toxicidade por miligrama), testada em seis rios com vazões variando entre 5 e 90 m³/min, e Vectobac FC, da Abbot Labs. (com 600 unidades internacionais de toxicidade por miligrama), testada em 14 rios com vazões variando entre 0,3 e 132 m³/min.

Determinaram-se as vazões dos rios mediante o emprego de cronômetro e flutuador (uma laranja), para medir a velocidade média da correnteza, e trena e baliza milimetrada, para mensurar a largura e a profundidade média dos rios. Para computar a vazão de cada riacho, utilizou-se a média de várias de suas medidas. Para cada riacho, calculou-se qual a quantidade de emulsão necessária para alcançar uma concentração de 10 mg de larvicida por litro de vazão, por minuto. O produto foi pesado no campo, utilizando-se uma balança de torsão, e as aplicações foram feitas com regadores previamente calibrados para um minuto de aplicação, segundo metodologia descrita por Lacey e Undeen (6).

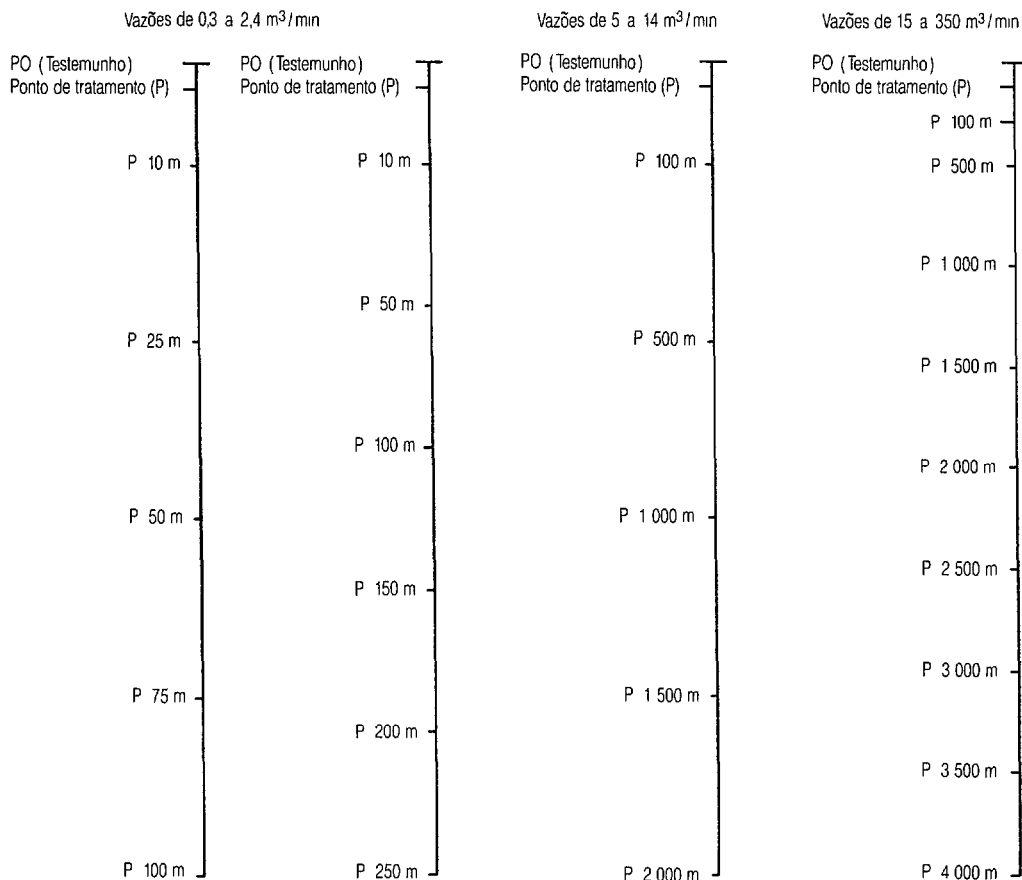
Para determinar o "carreamento efetivo" (maior distância a juzante do ponto de tratamento com mortalidade de 80% ou mais) (7), colocaram-se, nos cursos d'água, cordões de nylon de 30 cm × 1 cm para servir de substratos artificiais. Sete dias antes do tratamento dispuseram-se os mesmos em vários pontos acima e abaixo do ponto de tratamento, em número de 10 cordões por ponto, a fim de garantir uma colonização com suficiente número de larvas de simuliídeos (8). Os substratos artificiais foram distribuídos de acordo com a vazão dos riachos, levando-se em consideração a relação previamente estabelecida entre a vazão e a distância do "carreamento efetivo" do *B. thuringiensis* (H-14) (7). Nos córregos com vazão entre 0,3 e 2,4 m³/min, colocou-se um primeiro substrato a 10 metros e os demais de 25 em 25 metros a juzante do ponto de tratamento, até uma distância de 100 metros. Nesses mesmos córregos realizaram-se testes posteriores com os substratos dispostos a 10 e a cada 50 metros

a partir do ponto de tratamento, até 250 metros a juzante. Nos riachos com vazão entre 5 e 14 m³/min, colocaram-se os substratos a 100 metros abaixo do ponto de tratamento e também a cada 500 metros, até uma distância de 2 km a juzante. Em rios com vazão entre 15 e 350 m³/min, dispuseram-se os substratos a 100 metros abaixo do ponto de tratamento e a intervalos de 500 metros, até 4 km a juzante (figura 2). Em todos os testes também se colocaram substratos a 2 ou mais metros acima do ponto de tratamento para servirem como controle.

Momentos antes do tratamento de cada riacho determinou-se qual a sua vazão e retiraram-se cinco substratos de cada ponto. Estes foram colocados em recipientes individuais contendo álcool etílico a 70%, tomando todo cuidado para não danificar, antes ou durante o processo de remoção, a fauna aderida aos substratos. Em cada recipiente colocaram-se etiquetas contendo informações sobre onde foram coletadas as amostras e se o foram antes ou depois do tratamento. Mais tarde, no laboratório, fez-se a contagem do número de larvas e preservaram-se os espécimes testemunhas para identificação/confirmação. Quarenta e oito horas após o tratamento removeram-se os cinco substratos restantes de cada um dos pontos, adotando o mesmo procedimento utilizado para as amostras pré-tratamento. A partir destes dados, calculou-se o percentual de redução de larvas para cada ponto de amostragem.

Para a análise dos dados subdividiram-se os criadouros em três grupos, sendo a vazão dos rios o critério utilizado para a distribuição. Os três grupos foram: criadouros pequenos (0,31 a 10 m³/min), criadouros médios (10 a 45 m³/min) e criadouros grandes (com mais de 45 m³/min). Para os riachos com pequena vazão, utilizou-se o teste-*t* para comparar a eficácia de amostras independentes. Para os de vazão média e grande, utilizou-se a análise de variância para comparar a eficácia. Com relação aos dados sobre o carreamento efetivo e a vazão, efetuou-se a análise de regressão.

FIGURA 2. Demonstração esquemática da distribuição dos substratos artificiais em relação à vazão dos criadouros trabalhados no litoral norte do estado de São Paulo



RESULTADOS

Os três produtos tiveram o mesmo tipo de resultado quanto a eficácia e carreamento efetivo nos três grupos de rios (tabela 1). No nível de 0,05 não se detectaram diferenças significativas entre os produtos. A tabela 2 apresenta a relação entre a eficácia do produto e a vazão dos rios. Bactimos apresentou um coeficiente de correlação significativo entre o carreamento efetivo e a vazão ($R = 0,99$; $P < 0,01$). O mesmo foi observado para o Vectobac FC ($R = 0,75$; $P < 0,005$). A

ausência de correlação significativa entre o carreamento efetivo do Teknar e a vazão do rio pode estar relacionada com a menor vazão e as características físicas dos rios escolhidos. Como estes foram escolhidos aleatoriamente, a presença de um número considerável de "piscinas", remansos ou outros fatores poderá ter exercido influência negativa no desempenho dessa formulação.

TABELA 1. Eficácia de três formulações comerciais preparadas com o *Bacillus thuringiensis*, variedade *israelensis*, à razão de 10 mg/litro em aplicações de um minuto, contra o *Simulium pertinax* em cursos d'água no litoral norte do estado de São Paulo

Formulação	Vazão do rio (m³/min)	Duplicação	Eficácia média do carreamento efetivo ^a abaixo do ponto de tratamento (m)	Desvio padrão (s)
Bactimos	10,0 ─ 45	2	100	—
	≥ 45	2	1 250	1 060,06
Teknar	0,3 ─ 10	3	533	450,92
	10,0 ─ 45	3	566	808,29
Vectobac	≥ 45	1	1 000	—
	0,3 ─ 10	8	187	331,40
	10,0 ─ 25	4	525	550,00
	≥ 45	2	1 250	353,05

^a Maior distância onde se observou mortalidade acima de 80%.

TABELA 2. Correlação entre a vazão (m³/min) e a eficácia do carreamento efetivo^a (m) de *Bacillus thuringiensis* (H-14) contra o *Simulium pertinax*, no litoral norte do estado de São Paulo

Bactimos		Teknar		Vectobac	
Vazão (m³/min) × eficácia (m)		Vazão (m³/min) × eficácia (m)		Vazão (m³/min) × eficácia (m)	
13,00	100	5,22	100	0,30	50
14,60	100	7,70	1 000	0,73	50
45,00	500	8,80	500	1,05	50
347,00	2 000	14,40	1 500	1,05	150
		20,30	100	1,10	100
		20,30	100	1,53	1 000
		89,50	1 000	2,10	150
				2,40	100
				13,60	100
				28,60	600
				33,00	1 000
				33,10	1 000
				44,40	1 000
				131,50	1 000

^a Maior distância onde se observou mortalidade acima de 80%.

DISCUSSÃO

A forte correlação entre a vazão dos rios e o carreamento efetivo do *B. thuringiensis* (H-14), observada também por outros pesquisadores (examinada por Lacey e Undeen) (9) acarreta dificuldades para programas de controle em regiões com grande número de cursos fluviais de pequeno porte. A

fim de conseguir um controle satisfatório de criadouros em riachos de baixa vazão, especialmente quando estes sejam bastante longos, será talvez necessário aplicar o produto a intervalos bem pequenos, ou seja, em vários pontos. Este fato também foi observado du-

rante a avaliação de Teknar em riachos da Guatemala (10) e do México (11) onde o carreamento efetivo foi acentuadamente baixo.

Em regiões como o litoral norte do estado de São Paulo, onde as aplicações são feitas manualmente, via de regra em locais de difícil acesso, o tratamento de criadouros pequenos, em forma rotineira, seria operacionalmente difícil e até mesmo inviável, em alguns casos. Contudo, em criadouros de médio e grande porte, com um nível satisfatório de carreamento efetivo, a utilização desse tipo de controle não apresenta dificuldades operacionais. As características topográficas dos criadouros influenciam grandemente a eficácia já que as águas muito lentas ou muito rasas, e a formação de piscinas ou remansos, contribuem para a rápida sedimentação do produto, reduzindo o carreamento efetivo. A inexistência de correlação entre vazão e eficácia notada com o Teknar deve-se, possivelmente, a essas características. Por outro lado, criadouros com topografia mais homogênea, correnteza mais constante e com águas bem turbilhonadas apresentam aumento de eficácia do produto, melhor carreamento e maior correlação entre vazão e carreamento (9, 12).

Produtos recentemente formulados utilizando concentrações mais altas (13) permitirão, possivelmente, que os programas de controle empreguem doses menores do que as utilizadas neste estudo. A quantidade de *B. thuringiensis* (H-14) que se utilizou nos criadouros de maior porte foi excessiva em relação aos larvicidas químicos convencionais, fato que poderia criar problemas logísticos adicionais para as operações de tratamento em locais de difícil acesso.

O *B. thuringiensis* (H-14) demonstrou ser uma boa alternativa em programas regulares de controle, quando for possível fazerem-se aplicações aéreas ou em terrenos de fácil acesso, devido à sua eficácia satisfatória em criadouros de médio e grande porte (14). Porém, serão necessários estudos mais aprofundados quanto à metodologia da aplicação a fim de facilitar as operações rotineiras em locais de topografia acidentada e de difícil acesso, tal como o litoral norte do estado de

São Paulo, e, em especial, sobre métodos que minimizem as dificuldades operacionais em criadouros de pequeno porte onde o carreamento efetivo for pequeno. Vencidos estes obstáculos o *B. thuringiensis* (H-14) poderá exercer papel importante no controle de simuliídeos em regiões montanhosas com densa vegetação tropical, como a Mata Atlântica.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Bióloga Marilza Maia Herzog, do Laboratório de Simuliídeos da Fundação Oswaldo Cruz, pela identificação das espécies testadas; à Dra. Rita de Cássia Barradas Barata, do Departamento de Medicina Social da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, pela orientação nas análises estatísticas; ao Pesquisador Científico Geraldo Magela Buralli, da Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN), pela revisão dos manuscritos; a Antônio Pereira da Silva e a José Antônio Sampaio Zuanon, pela confecção das figuras e tabelas apresentadas. À Sra. Cynthia Lacey, pela preparação final e datilografia dos manuscritos, um especial agradecimento.

REFERÊNCIAS

- 1 Araújo-Coutinho, C. J. P. C., Maia Herzog, M. e Souza, B. C. Levantamento das espécies do gênero *Simulium* latreille (Diptera Simuliidae) no litoral norte do estado de São Paulo. *Rev Bras Entomol* 32:11-17, 1988.
- 2 Colbo, M. H. e Undeen, A. H. Effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-target insects in stream trials for control of Simuliidae. *Mosq News* 40:368-371, 1980.

- 3 Lacey, L. A. e Mulla, M. S. Safety of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to nontarget organisms in the aquatic environment. In: Laird, M., Lacey, L. A. e Davidson, E. W., eds. *Safety of Microbial Insecticides*. CRC Press, 1989 (no prelo).
- 4 Guillet, P. La lutte contre l'onchocercose humaine et les perspectives d'intégration de la lutte biologique. *Entomophaga* 29:121-132, 1984.
- 5 Lacey, L. A. e Undeen, A. H. Microbial control of black flies and mosquitoes. *Ann Rev Entomol* 31:265-296, 1986.
- 6 Lacey, L. A. e Undeen, A. H. The effect of formulation, concentration and application time on efficacy of *Bacillus thuringiensis* (H-14) against black fly larvae under natural conditions. *J Econ Entomol* 77:412-418, 1984.
- 7 Undeen, A. H., Lacey, L. A. e Avery, S. W. A system for recommending dosage of *Bacillus thuringiensis* (H-14) for control of Simuliid larvae in small streams based upon stream width. *Mosq News* 44:553-559, 1984.
- 8 Undeen, A. H. e Lacey, L. A. Field procedures for the evaluation of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (serotype 14) against black flies (Simuliidae) and nontarget organisms in streams. *Misc Publ Entomol Soc Am* 12:25-30, 1982.
- 9 Lacey, L. A. e Undeen, A. H. The biological control potential of pathogens and parasites of black flies. In: Kim, K. C. e Merritt, R. W., eds. *Black Flies: Ecology, Population Management, and Annotated World List*. Pennsylvania State University Press, 1987, pp. 327-340.
- 10 Undeen, A. H., Takaoka, H. e Hansen, K. A test of *Bacillus thuringiensis* de Barjac as a larvicide for *Simulium ochraceum*, the Central American vector of onchocerciasis. *Mosq News* 41:37-40, 1981.
- 11 Gaugler, R., Kaplan, B., Alvarado, C., Montoyo, J. e Ortega, M. Assessment of *Bacillus thuringiensis* serotype 14 and *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) for control of the *Simulium* vector of onchocerciasis in Mexico. *Entomophaga* 28:309-317, 1983.
- 12 Lacey, L. A., Escaffre, H., Philippon, B., Sékétéli, A. e Guillet, P. Large river treatment with *Bacillus thuringiensis* (H-14) for the control of *Simulium damnosum* s.l. in the Onchocerciasis Control Programme. *Z Tropenmed Parasitol* 33:97-101, 1982.
- 13 Lacey, L. A. e Hetzman, C. M. Efficacy of flowable concentrate formulation of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against black flies (Diptera: Simuliidae). *J Am Mosq Control Assoc* 1:493-497, 1985.

SUMMARY

CONTROL OF SIMULIIDAE WITH FLOWABLE CONCENTRATE FORMULATIONS OF *BACILLUS THURINGIENSIS*

The effects of the three flowable concentrate formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-14): Teknar (Zoecon, Sandoz Inc.), Vectobac (Abbott Labs.), and

Bactimos (Biochem, Solvay Labs.) against *Simulium pertinax* were evaluated in 24 streams in the North Littoral Zone of São Paulo State, Brazil. There was no significant difference in effective carry (80% or more mortality) among the formulations when applied at the rate of 10 mg/liter for one minute. There was a strong correlation between stream discharge and effective carry of the formulations, except in the case of Teknar, possibly due to the influence of the physical characteristics of the streams where evaluation was conducted.