**AVALIÇÃO DE ATIVIDADE LARVICIDA E PUPICIDA DE *Metarhizium anisopliae* EM *Aedes aegypti***

**Matheus Lopes Ribeiro1\*, Ricardo de Oliveira Barbosa Bitencourt2, Haika Victória Sales Moreira3, Emerson Guedes Pontes4, Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt4 e Isabele da Costa Angelo4.**

*1Graduando em Medicina Veterinária – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ – Seropédica/RJ – Brasil – \*Contato: maaathlopes@hotmail.com*

*2Doutorando em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ – Seropédica/RJ – Brasil*

*3Mestranda em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ – Seropédica/RJ – Brasil*

 *4Docente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ – Seropédica/RJ – Brasil*

**INTRODUÇÃO**

*Aedes aegypti*é o vetor de arboviroses causadoras de dengue, chikungunya e zika, que afetam milhares de pessoas no país (BRASIL, 2020)4.O ciclo de vida compreende o desenvolvimento de ovos, larvas, pupas e adultos3. No geral, o controle desse vetor se dá utilizando inseticidas, porém, já é reportado a sua resistência às atuais bases químicas2. Portanto, se faz necessário o desenvolvimento de novos métodos de controle visando contribuir com as tecnologias disponíveis. *Metarhizium anisopliae* é um fungo entomopatogênico (FEP) amplamente utilizado para controle de pragas da agricultura6 e vem sendo estudado no controle de *A. aegypti*1. O controle biológico através de FEP apresenta vantagens, como: a escolha de isolados altamente seletivos, sua fácil obtenção, a segurança para o meio-ambiente bem como para organismos não alvo, incluindo mamíferos, e a sua capacidade de parasitar diferentes estágios de vida do seu hospedeiro7.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar o potencial larvicida e pupicida do isolado CG 153 de *M. anisopliae* sobre *A. aegypti*. Dessa forma, visa-se potencializar os métodos de controle e então possibilitar a implantação de novas estratégias de manejo integrado de mosquitos importantes para a Saúde Pública.

**METODOLOGIA**

O isolado CG 153 de *M. anisopliae*foi cultivado em placa de Petri com meio batata dextrose agar (BDA) e mantido em condições de umidade e temperatura controladas (25 ± 1 ºC e umidade relativa ≥ 80%). Após 14 dias, os conídios foram raspados da superfície da placa com auxílio de lâmina de bisturi estéril e suspensos em solução de Tween 80® a 0,03%. As  suspensões  de conídios foram quantificadas e ajustadas nas concentrações de 1×108, 1×107, 1×106,1×105 e1×104 con/mL. Para avaliar a viabilidade fúngica, 10 µL da suspensão 1×105conídios mL-1 foi inoculada em placa de Petri contendo BDA+0,05% de cloranfenicol, mantida  em condições de umidade e temperatura controladas. Após 18 horas, o percentual de germinação foi avaliado. Os ovos de *A. aegypti* (cedidos pelo Laboratório de Bioquímica de Biologia Molecular de Artrópodes, da UFRRJ), foram imersos em 1,5 L de água desclorada estéril e 0,05g/L de ração de peixe Alevinos® para alimentação das larvas. Após 48 horas de eclosão, grupos de dez larvas (N=30) de segundo estágio foram imersas em copos descartáveis contendo 10 mL de suspensão fúngica nas concentrações citadas. Para o bioensaio com as pupas, o mesmo protocolo foi empregado, utilizando pupas recém emergidas. O percentual de sobrevivência das larvas foi avaliado diariamente por sete dias e o de pupas por três dias, sendo o número de indivíduos vivos anotados e os mortos, retirados. O grupo controle foi exposto a água desclorada estéril acrescido de Tween 80 a 0,03%. Os ensaios biológicos foram repetidos em três tempos distintos, utilizado diferentes lotes de larvas, pupas e fungos. O tempo de sobrevivência médio (S50) foi obtida utilizando a curva Kaplan-Meier, e as curvas foram comparadas, estatisticamente, pelo teste de Log-rank, associado ao método de qui-quadrado.

**RESULTADOS**

No geral, todos os tratamentos reduziram significativamente (*P*<0,001) a longevidade das larvas em comparação ao grupo controle (Fig. 1), porém, as larvas foram mais suscetíveis a concentração de 1×108 (*χ2*=152,7, S50=2 dias); seguido de 1×107 (*χ2*=153.6; S50=2 dias), 1×105 (*χ2*=84,22, S50=4 dias), 1×106(*χ2*=81,87, S50=4dias) e 1×104 (*χ2*= 28,17) con/mL, ratificando o comportamento desse fungo também observado por Zuharah et al., (2020)8 para controle de larvas de*A. aegypti*e *Aedes albopictus.* Devido aomaior percentual de sobrevivência das larvas expostas a 1×104 con/mL, não foi possível determinaroS50. Estes resultados corroboram os obtidos por Bitencourt et al., (2021)1 que observaram efeito dose-depende dos conídios sobre *A. aegypti*, ou seja, quanto maior a concentração fúngica, maior a mortalidade*.*



**Figura 1:** Curva de sobrevivência (%) de larvas ou pupas de *Aedes aegypti* expostas a diferentes concentrações do isolado CG 153 de *Metarhizium anisopliae* observadas por sete ou três dias, respectivamente.

Somente as concentrações de 1×108 (*χ2*=10,81) e 1×107 (*χ2*=5.247) con/mL reduziram significativamente (*P*=0,0010 e *P*=0,0022, respectivamente) a sobrevivência das pupas em comparação ao grupo controle; o mesmo não foi observado para 1×106(*χ2*=2,034, *P*=0,1538) e 1×105 e1×104 con/mL (*χ2*= 0,000, *P*>0,999). Mesmo com diferença estatística nas maiores concentrações, não foi possível determinaroS50, devidoao alto percentual de sobrevivência das pupas em todos os tratamentos. Interessantemente, Carolino et al., (2018)5 reportaram eficácia no controle de pupas de *A. aegypti* utilizando blastosporos de *M. anisopliae*.

**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Conclui-se que embora o isolado CG 153 de *M. anisopliae* tenha apresentado resultado pouco promissor no controle direto de pupas de *A. aegypti*, o mesmo isolado demonstrou elevado potencial larvicida, o que poderia contribuir diretamente com a redução no número de pupas e consequentemente de adultos vivos.

**APOIO:**

**CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E**

**TECNOLÓGICO (CNPq) e FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA**

**DO RIO DE JANEIRO (FAPERJ)**