

## ISOLAMENTO E PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis* EM CULICÍDEOS

Rafaele Frassini (BIC-UCS), Neiva Monteiro de Barros (orientadora), Vaneisa Gobatto, Lúcia Rosane Bertholdo Vargas, Alexandre Specht - Instituto de Biotecnologia/UCS - [rfrassin@ucs.br](mailto:rfrassin@ucs.br)

Dentre os principais vetores de doenças humanas destacam-se os culicídeos e os simulídeos. Os simulídeos (borrachudos) são um grande transtorno em regiões agrícolas e turísticas do sul do Brasil, impedindo que tais regiões se desenvolvam como pólo turístico, além de causarem encefalites e edemas localizados. Os programas de controle de mosquitos baseiam-se quase que exclusivamente na utilização de produtos químicos, porém estes têm causado sérios danos aos ecossistemas, devido a sua ação residual e à seleção de populações resistentes. Como alternativa, o controle biológico com a utilização da bactéria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) tem se mostrado muito eficaz, pois atinge somente a espécie-alvo, não apresentando toxicidade para outros organismos. Este trabalho teve por objetivos isolar linhagens de *Bt* a partir de amostras de solos coletados em três localidades da Região Nordeste do Rio Grande do Sul e testar sua eficiência por meio de bioensaios em laboratório. O isolamento de *Bt* a partir de amostras de solo foi adaptado do protocolo da OMS (1985). As colônias foram crescidas em meio Agar Nutriente e selecionadas por meio de características morfológicas como a coloração e bordos, sendo transferidas para meio glicosado, acrescido de penicilina por 24 horas, a 30°C e 180 rpm para posterior análise por microscopia de contraste de fase. Os isolados que apresentaram cristais foram utilizados para os bioensaios. Estes foram realizados de acordo com o seguinte procedimento: centrifugou-se os isolados por 15 minutos, a 10°C e 5000 rpm. Retirou-se o sobrenadante e ressuspendeu-se o pellet em 333 mL de água destilada estéril. Em seguida, uma alíquota de 200 µl de uma suspensão de  $3,2 \times 10^8$  UFC/mL foi transferida para um eppendorf com 990 µl de água destilada estéril; 200 µl da amostra foram transferidos para um copo com 100 mL de água desclorada, 0,01 g de levedo de cerveja e 25 larvas de *Culex quinquefasciatus* de 3° ínstar, observando-se a mortalidade após 48 horas. O controle negativo foi feito utilizando-se somente água e dieta e o mesmo número de larvas. Coletou-se 9 amostras de solo, obtendo-se 27 isolados, destes 3 foram classificados como *Bt* (TL-1, TL-2 e G-1) e um como *Bacillus sphaericus* (TL-3) e utilizados nos testes de patogenicidade observando-se as seguintes taxas de mortalidade de larvas de *C. quinquefasciatus* com os diferentes isolados: TL-1 (72%); TL-2 (42%); TL-3 (33%) e G-1 (30%).

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis*, Culicídeos, *Culex quinquefasciatus*

Apoio: UCS