

Desenvolvimento de nova metodologia para aplicação de bioinseticidas no controle de borrachudos (Diptera: Simuliidae) em ribeirões com fluxo de água irregular

Development of new methodology for bioinsecticide application for black fly (Diptera: Simuliidae) control in rivers with irregular flow

Fernando Pereira dos Santos¹; José Lopes^{2*}

Resumo

Objetivando desenvolver adaptações metodológicas para aplicação de bioinseticida Teknar® no controle de simulídeos em ribeirões com fluxo de água irregular e identificar as espécies presentes, realizou-se experimentos nos ribeirões Cafezal, Cambé e Tamapuã, localizados no sul do Brasil. O primeiro, com fluxo de água regular, foi considerado como controle e os outros dois, com fluxos irregulares, foram as testemunhas para validação da nova metodologia proposta. Na metodologia tradicional, normalmente empregada para a aplicação do produto nos ribeirões considerados, foram alcançados as mortalidades larval de 99,13%, 59,76% e 13,87%, respectivamente. Para a nova metodologia, considerando no cálculo da concentração do produto aplicado as irregularidades específicas as ribeirões Cambé e Tamapuã, essas percentagens aumentaram para 99,43% e 99,32%. Durante os experimentos foram coletadas 229.251 imaturos, sendo *Grenieriella pruinosum* e *Chirostilbia pertinax*, as mais abundantes nesta região.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis israelensis*, controle biológico, Simuliidae

Abstract

The goals of this study were to develop methodological changes for applying the bio-pesticide Teknar® to control the black fly in streams with irregular flow and identify black fly species in three streams (Cafezal, Cambé, Tamapuã) in Southern Brazil. The only regular-flow stream Cafezal was the control stream; the other two streams had irregular flow and were selected to validate the new methodology. The traditional method for bio-insecticide application in the streams under study presented larval mortalities of 99.13% (Cafezal), 59.76% (Cambé), and 13.87% (Tamuã). As a result of the new methodology, bio-insecticide concentration was determined according to the specific irregularities of the Tamapuã and Cambé streams and mortality percentages increased to 99.43% and 99.32%, respectively. Among the 229,251 immature Simuliidae collected during the experiment, *Grenieriella pruinosum* and *Chirostilbia pertinax* were the most abundant.

Key words: *Bacillus thuringiensis israelensis*, biological control, Simuliidae

¹ Aluno do Programa de pós-Graduação em Agronomia na Universidade Estadual de Londrina, UEL. E-mail: nando@uel.br

² Docente. do Departamento de Biologia Animal e Vegetal, Universidade Estadual de Londrina, UEL. Caixa Postal 6001, E-mail: jea@uel.br

* Autor para correspondência

Introdução

Espécies de simulídeos estão envolvidas na transmissão de oncocercose humana principalmente na região norte do Brasil (LACEY; UNDER, 1984; CAVADOS et al., 2001; PETRY; LOZOVEI; EHLERS, 2006; NASCIMENTO et al., 2007). Nesta mesma região, existe uma outra moléstia conhecida como Pênfigo foliáceo ou “Fogo selvagem”, doença específica do sistema imunológico. Indivíduos expostos aos insetos hematófagos, em especial ao *Simulium nigrimanum* Macquart 1838, apresentaram maior susceptibilidade a essa enfermidade (AOKI et al., 2005). No sudeste do Brasil, a principal importância volta-se para as questões sócio-econômicas, podendo afetar drasticamente o turismo e a qualidade de vida da população local (CAVADOS et al., 2001) e também a produção animal, causando perda de peso, a diminuição na produção de leite, podendo causar a morte de aves (CUNHA 2001).

Para o controle desse vetor, o método mais adequado é o biológico, utilizando-se bactérias do gênero *Bacillus*. *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner (B.t.i.) tem sido utilizada como princípio ativo de bioinseticida por sua patogenicidade e especificidade sobre larvas de borrachudos (LACEY; LACEY, 1981; BECKER et al., 1992; BROWN et al., 1998; 1999; 2000; RODRIGUES; WANDERLI; JOSÉ, 1998; NAYAR et al., 1999; CHUNG et al., 2001; FILLINGER; KNOLS; BECKER, 2003; POLLOM, 2003; CAVADOS et al., 2005).

Cada ribeirão tem sua característica geomorfológica, mas os modelos para cálculo de concentração do produto a ser aplicado são construídos baseados em águas correntes de forma uniforme podendo não serem adequados para todas as situações topográficas que acompanham os ribeirões. A estratégia de aplicação corresponde ao principal fator que garante o sucesso do programa, já que o B.t.i. está comprovado como bioinseticida eficiente.

Este trabalho teve como objetivo elaborar e testar uma variável metodológica para aplicação de bioinseticida a base de *B. thuringiensis israelensis* no controle de simulídeos, em ribeirões com características geomorfológicas acentuadas.

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados em três ribeirões, Cafezal, Cambé e Tamapuã. A área estudada do ribeirão Cafezal está localizada no município de Rolândia-PR (23°22'30"S; 51°23'30"W), com mata ciliar reduzida e em algumas regiões com gramíneas atingindo suas margens. Esse ribeirão, tem sua nascente próxima a área urbana e, neste trecho, recebe forte influência gerada pela urbanização e ação antrópica, que já está minimizada na área estudada. Apresenta leito com poucas irregularidades que permite suas águas fluírem de forma contínua. Este ribeirão foi definido como controle para comparação da metodologia tradicional com a metodologia proposta.

O ribeirão Cambé está localizado no município de Londrina, PR, Brasil (23°17'15"S; 51°13'58"W). A bacia deste ribeirão encontra-se quase toda urbanizada, com mata ciliar reduzida ou ausente. De modo geral, este córrego é influenciado por material particulado proveniente da auto estrada e de esgotos clandestinos industriais e domésticos. Apresenta leito irregular com trechos de águas lóticis, corredeiras e pequenas cachoeiras que formam, após a queda, piscinas naturais.

O ribeirão Tamapuã está localizado no município de Arapongas-Pr (23°27'45"S; 51°34'25"W), em terreno íngreme, resultando em uma topografia com a presença de piscinas naturais de dimensões consideráveis. Por estar localizado no perímetro urbano, esse ribeirão apresenta mata ciliar reduzida e presença de entulhos e lixo doméstico ao longo de seu leito.

Foram realizados cálculos de vazão dos córregos, tomando-se como base uma extensão de 10m. Neste trecho, a largura foi determinada de metro a metro, perfazendo dez medidas. Em cada uma destas seções, a profundidade foi medida a cada 20cm a partir da margem. Este procedimento forneceu em torno de 50 medidas de profundidade para o trecho. A velocidade da água foi calculada utilizando-se flutuadores (bola de tênis de mesa), previamente preenchido com 25mL de água. Este flutuador

foi solto no marco zero e o tempo para alcançar o ponto final (10m) foi determinado utilizando um cronômetro da marca Technos® – Cronus. O número de repetições dependeu da largura do ribeirão, já que, o flutuador foi solto de 20 em 20cm em toda a largura do ponto zero. De posse destas medidas, calculou-se a vazão de acordo com a equação I:

Equação I:

$$Q = \frac{Lm \times Pm \times C \times 0,85}{Tm}$$

Onde: Q = vazão (m³.min⁻¹); C = comprimento (m); Lm = largura média (m); Pm = profundidade média (m); Tm = tempo médio (m); 0,85 é uma constante que serve para corrigir o atrito da água com o fundo.

Calculada a vazão, utilizou-se a tabela produzida pela Divisão de Zoonoses da Secretaria de Saúde e Meio Ambiente do estado do Rio Grande do Sul (Tabela 1) (RIO GRANDE DO SUL, 2006) para determinar a concentração do produto a ser aplicado e seu carreamento. Para o cálculo da quantidade de produto a ser aplicado, foi multiplicado o valor da vazão pela concentração correspondente na tabela.

O ribeirão Cafezal apresenta uma característica topográfica típica de criadouros naturais de borrachudos, ou seja, pouca profundidade, irregularidades topográficas, e substratos adequados para oviposição. Baseando-se nestas características, o experimento, que realizou-se no período de maio a junho de 2006, foi direcionado a utilizá-lo como um ribeirão comparativo aos experimentos descritos anteriormente. Foram realizadas medidas de vazão, obtendo-se um carreamento de 250m (Figura 1). O ponto testemunha para coleta de larvas foi instalado logo no início do trecho e, a dois metros abaixo deste, o ponto de aplicação do bioinseticida. O segundo ponto de coleta de larvas (ponto I) foi estabelecido a dois metros abaixo do ponto de aplicação, e 150m após o ponto I, fixou-se o ponto II. No final do carreamento (250m após a testemunha) foi instalado o ponto III, utilizado para verificar a eficiência do cálculo de vazão. Instalou-se também um quarto ponto, 100m abaixo do ponto III, para verificação de um possível aumento no carreamento do produto. O volume de biolarvicida aplicado foi de 150 ml, valor obtido pela tabela sugerida pela Divisão de Zoonoses e Vetores da Secretaria da Saúde e Meio Ambiente do Rio Grande do Sul (RIO GRANDE DO SUL, 2006).

Tabela 1. Cálculo de dosagem de aplicação e carreamento de produtos biológicos, através dos valores de vazão.

Vazão (m ³ /min)	Concentração (ppm)	Carreamento (m)
0,01 a 0,31	50	50 (01)
0,32 a 0,62	50	60 (01)
0,63 a 1,25	45	75 (01)
1,26 a 2,50	40	125 (02)
2,51 a 5,00	30	250 (02)
5,01 a 10,0	20	500 (02)
10,01 a 15,00	15	750 (02) (03)
15,01 a 20,00	12	1000 (01) (03)

(01) Limites máximos para não-agressão aos organismos não alvos, recomenda-se aplicar o produto somente em situações extremas, onde ocorra um elevado nível de infestação larval e ataque intenso de insetos ao homem. Ao aplicá-lo deve-se evitar cascatas e empoçamentos.

(02) Intervalos de aplicações normais de rotina.

(03) Intervalos onde se deve empregar dois (2) regadores para as aplicações

* Se o cálculo da dosagem for inferior a 5mL, aplica-se 5mL como dose mínima.

Fonte: Divisão de Zoonoses e Vetores da Secretaria da Saúde e Meio Ambiente do Rio Grande do Sul. **Simulídeos: Programa Estadual Rio Grande do Sul – Brasil, 2006.**

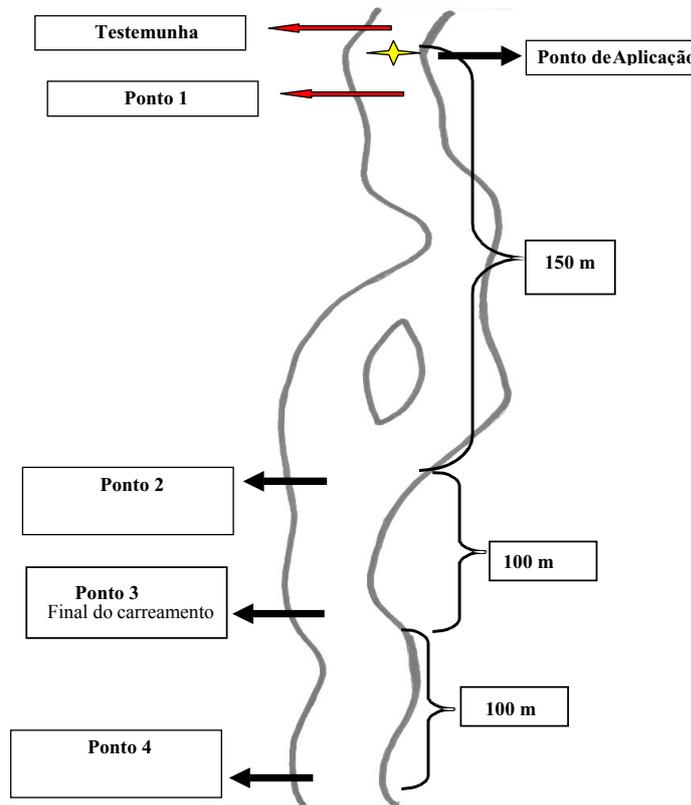


Figura 1. Geomorfologia do ribeirão Cafezal, indicando os pontos de aplicação do *B. thuringiensis israelensis* e os pontos de coleta de imaturos de Simuliidae, na metodologia tradicional

Em todos os pontos, inclusive no ponto controle, instalou-se uma corda de nylon no sentido transversal de margem a margem, e nesta foram amarradas seis fitas (fítilhos) de polietileno e polipropileno de cor verdes, com 2,1cm de largura e 100 cm de comprimento, que serviram como local de fixação para as formas imaturas de simuliídeos. As fitas, após instaladas ficaram 15 dias expostas para colonização por borrachudos.

Para as coletas das amostras foram retiradas três fitas alternadas momentos antes da aplicação do biolarvicida, em cada situação, e as três fitas restantes no dia seguinte, 24 horas após a aplicação do produto.

As aplicações foram feitas quinzenalmente, utilizando-se um regador, no qual foi colocado o produto na quantidade determinada pelos cálculos acima e em seguida completado com água até atingir cinco litros, volume estabelecido pela metodologia

tradicional. Esta solução foi agitada e depois aplicada na superfície da água por toda a largura do ponto estipulado. O tempo usado para aplicação foi de um minuto a um minuto e meio. Tempo descrito por Lacey e Undeen (1984) como o mais eficiente.

O produto utilizado para controle em todos os três ribeirões foi o biolarvicida Teknar® 3.000 AAU/mg, lote 13700-3381 – 04-4849/R2, com número de registro no Ministério da Saúde 3.0119.0035, na formulação de suspensão aquosa concentrada em 1,6%, onde seu princípio ativo é a bactéria *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*.

No ribeirão Cambé, para cada trecho a ser aplicado, foram instalados três pontos de coleta de imaturos de borrachudos; ponto controle localizado 12m acima do ponto inicial de aplicação; ponto I, dois metros a baixo da liberação do produto e ponto II no final do valor do carreamento.

Neste ribeirão o experimento foi dividido em duas etapas. Em um primeiro momento, no período de janeiro de 2006 a março de 2006, a aplicação do produto foi realizada seguindo os valores de carreamento indicados na Tabela 1, ou seja, a aplicação, foi realizada independente das irregularidades do ribeirão (Figura 2A). Neste foram aplicados 239mL no ponto 1 e 254mL no ponto 2, trecho 1 e trecho 2, respectivamente.

Na segunda fase do experimento (abril e maio de 2006) foi estabelecida e testada modificações na metodologia para aplicação, onde foram levadas em consideração as quedas d'águas com a formação de

piscinas naturais, o que diminui significativamente a velocidade da água e a profundidade do leito do curso d'água (Figura 2B). Esta modificação da metodologia, consiste em divisão da dose obtida pela metodologia tradicional, pela distância de carreamento do produto. De acordo com o resultado obtido, multiplica-se por uma constante.

Por esta nova proposta ficou estabelecido três pontos de aplicação e os valores de dose foram os seguintes: Ponto 1: 57,4mL de produto para um carreamento de 40m até o remanso; Ponto 2: 161mL para um carreamento de 338m; Ponto 3: 75mL para um carreamento de 52m.

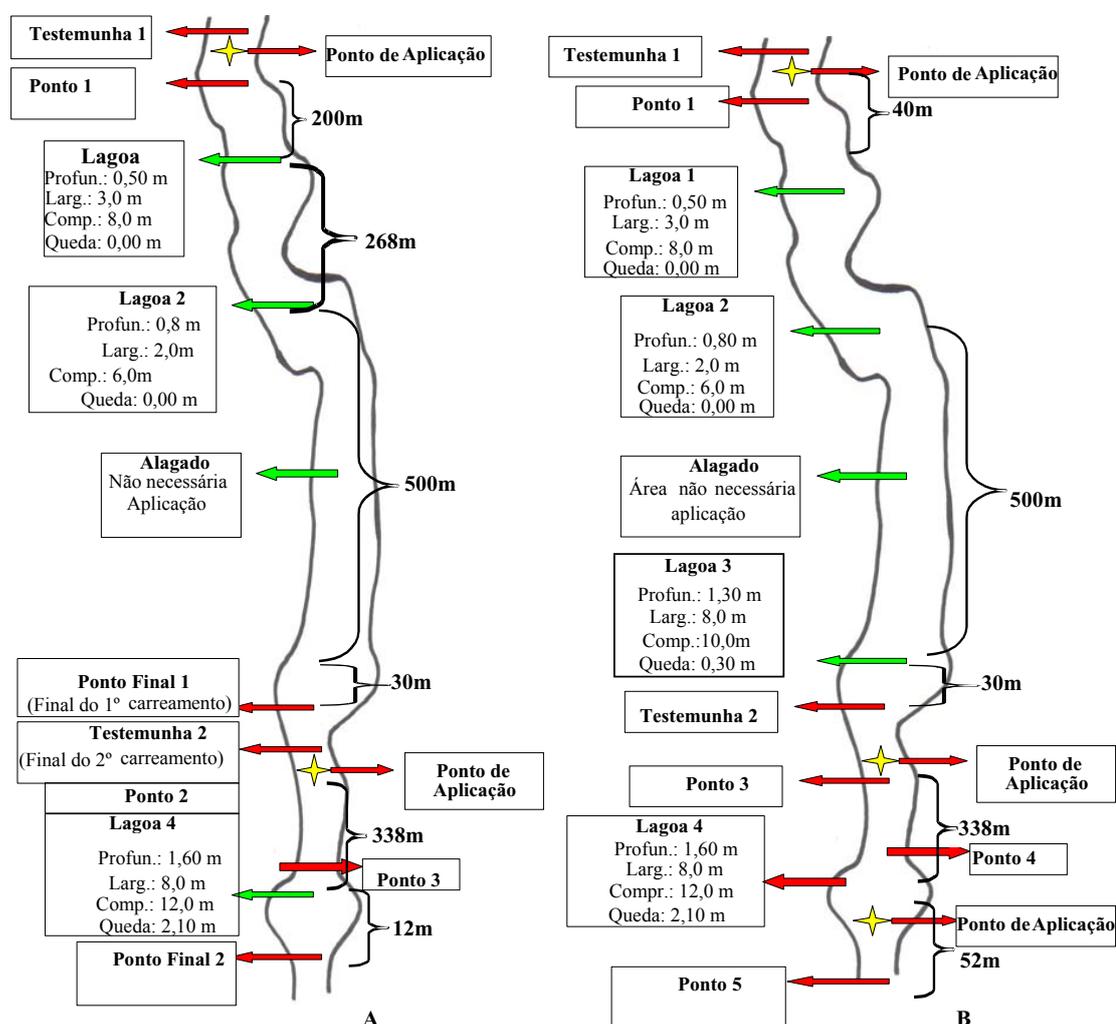


Figura 2. Geomorfolgia do ribeirão Cambé, indicando as variações no seu leito, os pontos de aplicação do *B. thuringiensis israelensis* e os pontos de coleta de imaturos de Simuliidae. A) Metodologia tradicional; B) Nova Metodologia

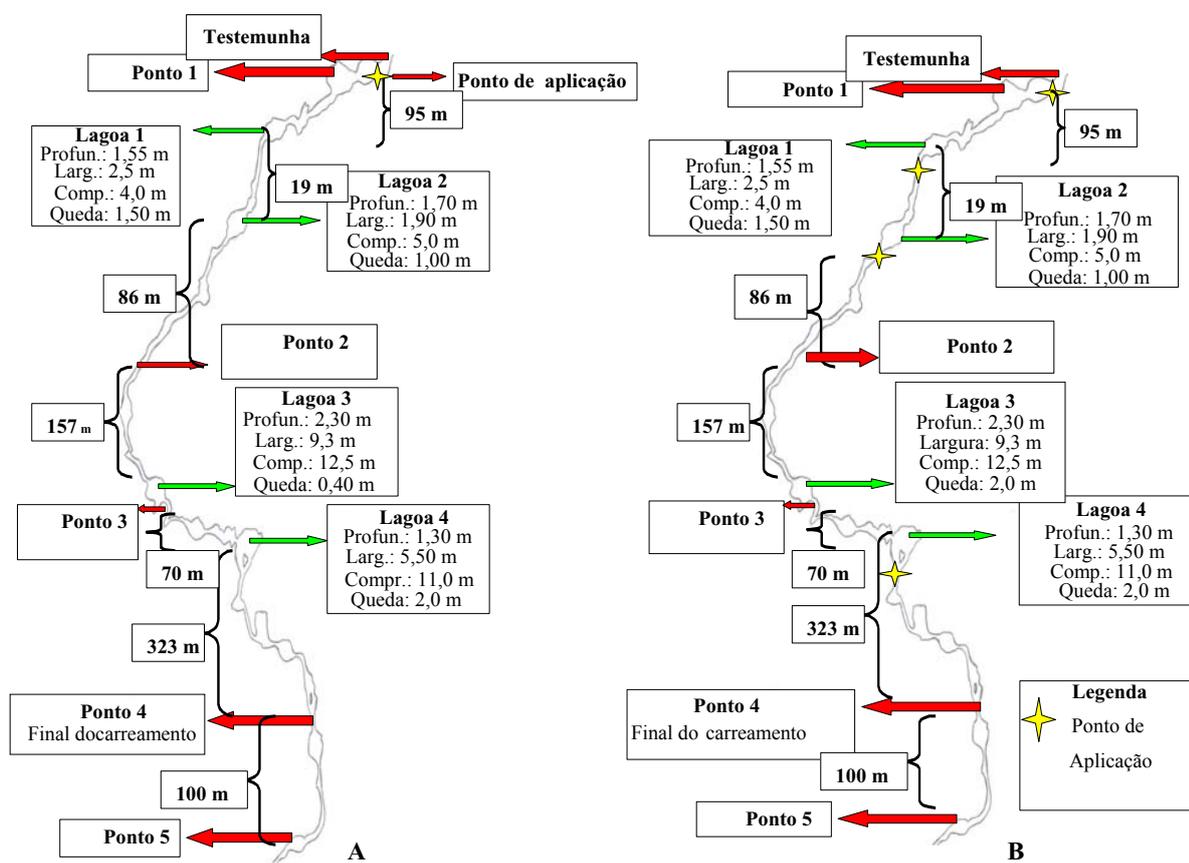


Figura 3. Geomorfologia do ribeirão Tamapuã, indicando as variações no seu leito, os pontos de aplicação do *B. thuringiensis israelensis*, e os pontos de coleta de imaturos de Simuliidae. A) Metodologia tradicional; B) Nova Metodologia.

O experimento no ribeirão Tamapuã foi semelhante ao do alto Ribeirão Cambé, ou seja, foi dividido em duas etapas: em um primeiro momento que compreendeu de 13 de outubro de 2006 a 04 de novembro do mesmo ano, e em um segundo momento que foi de 10 a 25 de novembro de 2006. Este ribeirão foi utilizado como uma repetição do experimento realizado no ribeirão Cambé para validação da nova proposta de metodologia.

Para o primeiro momento foram feitas as medidas de vazão, obtendo-se um valor de 750m de carreamento para 170mL de produto a ser aplicado (Figura 3A). Instalou-se 6 pontos de análise ao longo do ribeirão. Após 10m da testemunha instalou-se o ponto I de coleta de dados, o ponto II foi localizado a 250m do ponto zero, o ponto III a 500m, o ponto

IV a 600m, o ponto V a 750m e o ponto VI a 850m. Este último ponto foi instalado com o objetivo de verificar o possível aumento no carreamento do produto.

Desta forma seguindo os cálculos da nova proposta de metodologia o trecho do ribeirão Tamapuã foi subdividido em cinco pontos de aplicação com as seguintes doses: ponto I: 131mL; ponto II: 26mL; ponto III: 112mL; ponto IV: 83mL e ponto V: 92mL, para carreamento de 95m, 19m, 86m, 227m e 482m, respectivamente. (Figura 3B).

As amostras de larvas e pupas coletadas em todos os experimentos foram contadas com o auxílio de uma lupa Olympus®, e posteriormente armazenadas. Em cada procedimento de coleta cerca de 10% (dez) das larvas e pupas eram montadas em

lâminas para identificação específica dos imaturos. A identificação foi baseada em características morfológicas específicas das manchas de apótemas cefálicos e em ramificações dos filamentos branquiais contidos em histoblastos. As chaves dicotômicas de Coscarón e Wygodzinsky (1984), Coscarón (1991), Strieder, Corseuil e Py-Danyel (1992) e Hamada, Ale-Rocha e Luz 2003, serviram de suporte técnico para esta identificação. Uma amostra das larvas foram enviadas para especialista para confirmação das espécies.

As espécies identificadas foram nomeadas de acordo com Strieder (2004), onde sugere a elevação de subgênero para o nível de gênero para as espécies de Simuliidae Newman, 1834.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey no nível 5% de significância como forma de comparar as duas metodologias de controle. A diversidade e abundância das espécies existentes também foram apresentadas.

Resultados e Discussão

Foram coletados 229.251 imaturos de Simuliidae, dos quais 189.950 (82,86%) de larvas e 39.301 (17,14%) de pupas. Foram identificados cerca de 10% (22.925 imaturos, entre estágio de pupa e larvas de último estágio) do total coletado. Ao se estudar a ação do bioinseticida a ser utilizado no controle de insetos, faz-se necessário conhecer as espécies alvo.

As espécies coletadas no ribeirão Cafezal foram *Chirostilbia pertinax* Kollar, 1832 com 81,72%, *Inaequalium inaequale* Paterson e Shannon, 1927 com 8,22%, *Chirostilbia subpallida* Lutz, 1910 com 7,54%, *Psaroniocompsa incrustata* Lutz, 1910 com 1,73% e *Grenieriella pruinorum* Lutz, 1910 com 0,76%. No ribeirão Cambé obteve-se as seguintes espécies: *G. pruinorum* representando 70,73%, *C. subpallida* com 20,78%, *C. pertinax* com 7,18%, *I. inaequale* com 0,84%, *P. incrustata* com 0,36% e

Hemicnetha rubrithorax Lutz, 1909 com 0,09%. Já no ribeirão Tamapuã as espécies foram: *C. pertinax* com 78,36%, *G. pruinorum* com 13,28%, *C. subpallida* com 5,45%, *P. incrustata* com 1,29%, *H. rubrithorax* com 0,81% e *I. inaequale* com 0,78%. *G. pruinorum* foi a espécie predominante no ribeirão Cambé. Segundo Coscarón (1991), referindo-se a esta espécie, afirma que é comumente encontrada em cursos d'água com pouca profundidade, águas cristalinas e fortes correntezas. Neste experimento a espécie foi a mais coletada no ribeirão Cambé que está dentro da área urbana e recebe descarga de esgoto industrial e doméstico. *C. pertinax* parece ser uma das espécies mais favorecidas com o aumento da poluição dos ribeirões em áreas rurais. Um dos problemas ambientais que favorecem o desequilíbrio populacional das espécies é o elevado despejo de matéria orgânica nos cursos d'água, principalmente devido ao tratamento inadequado dos dejetos oriundos da criação de animais domésticos (STRIEDER; SANTOS JUNIOR; PES, 2002; STRIEDER, 2005). Esta adaptabilidade pode justificar ser esta a espécie dominante nos ribeirões Cafezal e Tamapuã que recebem resíduos orgânicos oriundos da área urbana. Esta espécie é fortemente antropofílica e é incriminada como a de maior importância médica sanitária na região sul do país (STRIEDER; SANTOS; VIEIRA, 2006).

As espécies encontradas nesta região de estudo são semelhantes as coletadas no estado do Rio Grande do Sul (STRIEDER; SANTOS; VIEIRA, 2006) e de Curitiba – Paraná (PETRY et al., 2004; LOZOVEI; PETRY; SANTOS NETO, 2004).

No ribeirão Cafezal, considerado mais uniforme, obteve-se mortalidade de 99,13% quando aplicado 150mL de produto Teknar® com análise 24 horas após a aplicação, para um carregamento de 250m (Tabela 2). Pode-se observar que o carregamento estabelecido pela metodologia tradicional foi eficiente, havendo mortalidade por todo o trecho estabelecido pela fórmula de cálculo de carregamento, mas não controlou no ponto estabelecido além da distância

calculada (que consistia em um ponto localizado 100m abaixo do carreamento determinado). Para as condições de fluxo contínuo de água do ribeirão,

como no Cafezal, o resultado de controle foi ideal, podendo ser utilizada a metodologia tradicional com sucesso (Tabela 2).

Tabela 2. Controle de imaturos de Simuliidae no ribeirão Cafezal, Rolândia-Pr, pelo produto Teknar®, pela metodologia tradicionalmente utilizada para cálculo de dosagem

Pontos de coleta	Datas de Coleta											
	15/Mai – 0 hr		16/Mai – 24 hr		29/Mai – 0 hr		30/Mai – 24 hr		12/Jun – 0 hr		13/Jun – 24 hr	
	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa
Testemunha1	1184	30	1098	33	984	0	979	0	514	119	503	131
Ponto 1	2670	0	3	0	1804	1	13	0	878	51	9	33
Ponto 2	1198	3	15	1	838	0	19	2	522	16	8	9
Ponto 3	1231	5	12	0	1108	0	17	3	977	4	2	20
Ponto 4	1077	0	894	0	871	19	766	0	411	39	377	55
TOTAL	5099	8	30	1	3750	1	49	5	2377	71	19	62

Observação: o ponto 4 está localizado 100m além do carreamento. O total não inclui os pontos: testemunha e ponto 4.

Já no ribeirão Cambé, na utilização da metodologia tradicional, o ribeirão foi dividido em dois trechos (Figura 2A), com carreamento calculado para 1000m. Utilizou-se de 239mL e 254mL nos trechos 1 e trecho 2, respectivamente, já que a vazão foi diferente para os dois trechos. Obteve-se 59,76% de diminuição da quantidade de larvas de simuliídeos após 24 horas da aplicação (Tabela 3).

Na segunda fase do experimento (somente para os ribeirões Cambé e Tamapuã), o método de aplicação de bioinseticida seguiu a nova proposta de metodologia, já que o leito dos ribeirões apresentavam-se irregulares.

A nova proposta de metodologia, consistiu em calcular os valores de vazão e carreamento da mesma forma como para o método anterior. Obtendo-se o valor do carreamento e conseqüentemente o valor da dose a ser aplicada. Em seguida subdividiu-se esta dose pela distância em metros dos trechos entre duas piscinas naturais, utilizando-se a equação II:

Equação II:

$$D/M = \frac{\text{Dose do produto}}{\text{Carreamento(m)}}$$

D/M = Dose de produto por metro de ribeirão(mL/m)

A dose do produto e o carreamento são valores encontrados segundo a metodologia padrão

Uma vez obtido a quantidade do produto para aquele trecho delimitado, multiplica-se por uma constante seis quando a distância do ponto de aplicação à irregularidade do leito do córrego (piscina natural) for inferior ou igual a 200m. Quando a distância for superior a esta multiplica-se pela constante 2. Estas constantes foram obtidas através de testes preliminares para a obtenção de uma dose letal suficiente para matar 95% da população larval, partindo-se do valor de dose encontrado na relação D/M, visto anteriormente.

Equação III:

$$D/M = \frac{\text{Dose do produto}}{\text{Carreamento(m)}} \times R$$

R = constante (6 para distâncias de carreamento menores que 200m e 2 quando a distância for superior a 200m)

A aplicação foi realizada da seguinte forma: marcou-se o ponto inicial do córrego (ponto de aplicação) e a distância deste até a primeira irregularidade (remanso – dentro do carreamento). O valor desta distância (X) foi multiplicado pelo D/M, obtendo-se a dose a ser aplicada neste

trecho, seguindo-se este procedimento até o final do carreamento. Quando o valor do carreamento alterar, realiza-se novo cálculo de dose seguindo o mesmo procedimento.

Nesta fase, o ribeirão Cambé, formado por áreas alagadas com muita vegetação e pequenas quedas de água com formação de piscinas naturais de águas lânticas. A dose para o trecho 1 foi calculada desconsiderando a área alagada (57,6 mL), e no trecho 2 foi dividida em 2 pontos de aplicação (Figura 2B), sendo aplicado 165,0 mL e 75,0 mL, nos ponto 2 e ponto 3, respectivamente. Nesta, foi obtida um controle de 99,43% quando analisada 24 horas após a aplicação do produto (Tabela 4).

Tabela 3. Controle de imaturos de Simuliidae no ribeirão Cambé, Londrina-PR, pelo produto Teknar®, pela metodologia tradicionalmente utilizada para cálculo de dosagem

Pontos de Coleta	Datas de coleta											
	10/Jan – 0 hr		11/Jan – 24 hr		24/Jan – 0 hr		25/Jan – 24 hr		06/Mar – 0 h		07/Mar – 24 hr	
	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa
Testemunha1	603	77	856	103	524	31	241	334	418	0	433	15
Ponto 1	675	117	25	62	420	302	11	70	416	0	0	0
Ponto Final 1	3653	857	3475	1010	3942	1103	3722	989	2847	632	2612	744
Testemunha 2	326	57	410	37	257	94	288	89	226	0	245	0
Ponto 2	1897	448	16	120	2526	541	28	70	2987	181	13	0
Ponto 3	2020	512	19	498	1912	131	11	120	2638	238	20	225
Ponto Final 2	735	346	412	317	820	280	569	88	527	0	341	16
TOTAL	8980	2280	3947	2007	9620	2357	4341	1337	9415	1051	2986	985

Observação: O total não inclui o ponto testemunha.

Tabela 4. Controle de imaturos de Simuliidae no ribeirão Cambé, Londrina-PR, pelo produto Teknar® utilizando-se da nova metodologia.

Pontos de coleta	Datas de Coleta											
	03/Abr – 0 hr		04/Abr – 24 hr		17/Abr – 0 hr		18/Abr – 24 hr		24/Abr – 0 hr		25/Abr – 24 hr	
	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa
Testemunha 1	588	0	603	0	538	0	522	4	371	2	394	0
Ponto 1	541	3	0	0	308	0	0	0	413	0	0	0
Testemunha 2	2981	23	2812	0	933	3	1010	0	1123	4	1643	0
Ponto 2	428	2	4	0	261	12	0	0	284	0	0	0
Ponto 3	2314	35	19	11	1189	15	4	0	1048	15	16	2
Ponto 4	412	13	0	0	39	21	0	0	277	5	0	0
TOTAL	3695	53	23	11	1797	48	4	0	2022	20	16	2

Observação: O total não inclui o ponto testemunha.

No ribeirão Tamapuã, também foi utilizada a metodologia tradicional (Figura 3A). Foi aplicado 170mL para um trecho de 750m de carreamento,

obtendo-se uma mortalidade de 13,87% (Tabela 5). Com a utilização da nova metodologia obteve-se uma mortalidade de 99,32% (Tabela 6).

Tabela 5. Controle de imaturos de Simuliidae no ribeirão Tamapuã, Arapongas – PR, pelo produto Teknar, pela metodologia tradicionalmente utilizada para cálculo de dosagem.

Pontos de Coleta	Datas de coleta											
	13/Out – 0 hr		14/Out – 24 hr		20/Out – 0 hr		21/Out – 24 hr		03/Nov – 0 hr		04/Nov – 24 hr	
	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa
Testemunha	781	114	855	90	874	43	779	285	997	76	936	19
Ponto 1	1896	113	11	225	2066	366	8	476	1993	741	7	666
Ponto 2	3258	956	3121	1232	3109	1118	3277	391	3275	632	3387	744
Ponto 3	2633	36	2523	836	2937	744	2716	357	3101	265	3222	312
Ponto 4	1896	126	1965	169	2523	639	2498	183	2723	395	2659	652
Ponto 5	2399	632	2684	657	3742	339	3888	116	3758	552	3611	681
TOTAL	12082	1863	10304	3119	14377	3206	12387	1523	14850	2585	12886	3055

Observação: O total não inclui o ponto testemunha.

Tabela 6. Controle de imaturos de Simuliidae no ribeirão Tamapuã, Arapongas – PR, pelo produto Teknar® utilizando-se da nova metodologia.

Pontos de Coleta	Datas de Coleta											
	10/Nov – 0 hr		11/Nov – 24 hr		17/Nov – 0 hr		18/Nov – 24 hr		24/Nov – 0 hr		25/Nov – 24 hr	
	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa	Larva	Pupa
Testemunha	882	119	971	94	973	112	927	288	1392	175	1005	161
Ponto 1	2741	227	11	211	2074	378	17	628	3776	147	12	98
Ponto 2	4963	915	16	920	3726	1085	10	476	3296	236	8	268
Ponto 3	3985	360	21	342	3993	752	27	244	3568	562	18	426
Ponto 4	4375	285	20	216	4190	666	30	195	3722	409	16	335
Ponto 5	3175	658	13	657	3265	319	31	168	3785	724	10	744
TOTAL	19239	2445	81	2346	17248	3200	115	1711	18147	2078	64	1871

Observação: O total não inclui o ponto testemunha.

Analisando os resultados obtidos, os ribeirões Cambé e o Tamapuã, que apresentavam variações geomorfológicas capazes de influenciar na velocidade e quantidade de transporte de partículas pela água, foi possível verificar que a metodologia tradicional não foi eficiente no controle dos imaturos de simulídeos em toda a distância proposta. Nestas condições, produtos a serem aplicados devem sofrer o efeito de decantação depositando-se no fundo do leito, dificultando o carreamento do mesmo.

A nova proposta de metodologia mostrou-se eficiente, controlando em média 99,43% das larvas de simulídeos no ribeirão Cambé com a redução de 40,49% da quantidade de produto aplicado. Esta redução foi possível pelo fato das condições geomorfológicas do ribeirão terem sido levadas em consideração, uma vez que apresenta cerca de 50% de sua extensão com área alagada, não sendo necessário o controle. Para o ribeirão Tamapuã houve aumento de 61,71% na quantidade de produto

a ser aplicado, devido a presença de piscinas naturais. Portanto o consumo de produto, quando utilizado a nova metodologia, pode aumentar ou diminuir dependendo das características de cada ribeirão, pois se apresentar um alto número de fragmentações de doses, o consumo pode aumentar significativamente.

A mortalidade obtida com esta última metodologia foi semelhante a encontrada por Petry et al. (2004), em riacho localizado na cidade de Almirante Tamandaré no estado do Paraná, onde conseguiram, utilizando controle integrado, uma redução de até 99,97% das larvas de simulídeos. Ruas-Neto (1984), trabalho pioneiro de controle de simulídeos a campo, obteve uma mortalidade inferior a 90% quando a vazão do ribeirão foi superior a $5\text{m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, e mortalidades irregulares quando a vazão foi inferior a $5\text{m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Estes resultados foram inferiores aos obtidos por esta pesquisa, pois as vazões nos três ribeirões estudados foram superiores a $15\text{m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ porém as mortalidade obtidas foram maiores que os 90% do que as encontrados por Ruas-Neto et al. (1985).

O controle verificado para as diferentes espécies que colonizavam os ribeirões, coincide com o encontrado por Petry (2005), onde em um estudo

de suscetibilidade das espécies de simulídeos a diferentes formulados a base de B.t.i., verificou que as espécies *Simulium perflavum* Roubaud, 1906, *Simulium (Inaequalium) inaequale* Peterson e Shannon, 1927, *S. pertinax*, *Simulium (Inaequalium) subnigrum* Lutz, 1910 e *Simulium (Thyrsopelma) orbitale* Lutz, 1910 responderam de forma semelhante quanto a mortalidade aos produtos. Resultados divergentes, como os de Lacey e Lacey (1981), que ao investigarem a suscetibilidade de seis espécies de *Simulium*, coletadas no campo, concluíram que, dentre outras, *Simulium vittatum* Zetterstedt, 1838 e *Simulium argus* Williston, 1893, foram consideravelmente mais sensíveis aos efeitos do B.t.i.

As eficiências obtidas na utilização das duas metodologias em estudo apresentaram diferenças significativas através do teste de Tukey a nível de 5% de significância (Tabela 7). O ponto Testemunha (ponto isento de ação do larvicida) não foi utilizado para as análises estatísticas e as diferenças entre o coletado em dias diferentes foi, em média inferior a 5%, o que pode ser considerado variação natural influenciada pelo próprio comportamento do animal.

Tabela 7. Controle de larvas de simulídeos obtido pelo produto Teknar®, comparando-se duas metodologias: Metodologia Tradicional e Nova Metodologia com a subdivisão de dose.

Metodologia	Ribeirões Estudados												
	Cambé				Tamuá				Cafezal				
	Pontos		Testemunha		Pontos		Testemunha		Pontos		Testemunha		
	Aplicação	24 hr após	0 hr	24 hr	Aplicação	24 hr após	0 hr	24 hr	Aplicação	24 hr após	0 hr	24 hr	
Tradicional	28015A a	11274Bb	2354Cc	2473Cc	41309Dd	35577Df	2652Ll	2570Ll	11226M	98N	2682P	2580P	
Nova	7514Bb	43 Aa	6534Cc	6984Cc	38334 Gd	260 Ij	3247Ll	2903Ll	*	*			
CV %		5.11				1.02				1.89			
DMS		1.2115429				0.1598702				0			

Número de larvas seguidos pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não difere entre si pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância.

Os fitilhos utilizados foi na cor verde escuro, pois em testes preliminares verificou-se uma maior postura de ovos nesta cor, resultados que diferem de Petry (2005), onde verificou uma preferência por fitilhos de cores claras, tais como amarelos e brancos. A divergência entre os resultados obtidos pelo autor acima citado, pode estar relacionado ao comportamento de diferentes espécies de cada região de estudo.

Barragens feitas nos pequenos ribeirões, principalmente para represamento visando a retirada de água para irrigação ou para abastecimento diverso, pode bloquear totalmente o carreamento. As piscinas naturais podem ser formadas por queda de água com alturas consideráveis. Esta situação leva a formação de “remansos” com maior profundidade e provoca uma circulação da água no sentido horizontal e vertical, com refluxos pelas laterais e a saída é feita pela borda superior da “piscina”. Outras são quedas menores com formação de piscinas mais rasas e com fluxo mais rápido da água. Existem ainda a formação de remansos naturais caracterizando-se por uma área mais profunda, normalmente sem pedras no fundo, com águas lânticas que se segue logo após a um trecho de corredeira. Todas essas situações devem ser levadas em consideração para a determinação do carreamento de produto bioinseticida, utilizado no controle de borrachudos. Desta forma uma vez detectada estas influências, trabalhos minuciosos de mapeamento do ribeirão devem ser realizados.

Em relação ao tempo necessário para aplicação, no ribeirão Cambé foi de 20 min. para a metodologia tradicional, já para a nova proposta, com o aumento de um ponto de aplicação, houve um acréscimo de 10 min. Não foi considerado o tempo de deslocamento entre um ponto de aplicação e outro, já que a extensão não tratada estava entre o ponto inicial e o ponto final, não alterando portanto o tempo de deslocamento. No Ribeirão Tamapuã, pela metodologia tradicional foi gasto 10 min.

na aplicação, considerando que havia apenas um ponto de aplicação do B.t.i. e o produto seria carreado por toda a extensão estudada. Pela nova metodologia, quatro novos locais de tratamento foram acrescentados. Desta forma o tempo de aplicação aumentou para 50 min, acrescido de 40 min. para o deslocamento, o que totaliza 90 min.

Conclui-se que a nova proposta de metodologia de aplicação de bioinseticida é uma alternativa importante para o controle de simulídeos em ribeirões com características topográficas acentuadas. A metodologia tradicional não é recomendada para ribeirões semelhantes aos citados anteriormente, sendo indicada somente para o controle em ribeirões com leito regular.

Mais estudos são necessários para minimizar a mão-de-obra na aplicação da nova proposta de metodologia e para estabelecer qual é a amplitude da influência no carreamento em razão do tamanho, profundidade e característica da “piscina natural”.

Agradecimentos

Ao programa de pós graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina. Ao CNPq pela concessão de bolsa de estudo. Ao pesquisador Dr. Milton Noberto Strieder pelo auxílio na identificação das espécies e ao acadêmico em Ciências Biológicas Murillo Bernardi, pela ajuda nas atividades de campo.

Referencias

- AOKI, V.; HANS-FILHO, G.; RIVITTI, E. A.; DIAZ, L. A.; ITO, L. M. Perfil histórico da imunopatogenia do pênfigo foliáceo endêmico (fogo selvagem). *Anais Brasileiros de Dermatologia*, Rio de Janeiro, v. 88, n. 3, p. 287-292, 2005.
- BECKER, N.; ZGOMBA, M.; LUDWIG, M.; PETRIC, D.; RETTICH, F. Factors influencing the activity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* treatments. *Journal of the American Mosquito Control Association*, Panama, v. 8, n. 3, p. 285-289, 1992.

- BROWN, M. D.; DARRAN, T.; PAUL, M.; JACK, G. G.; BRIAN, H. K. Laboratory and field evaluation of the efficacy of four insecticides for *Aedes vigilax* (Diptera: Culicidae) and toxicity to the nontarget shrimp *Leander tenuicornis* (Decapoda: Palaemonidae). *Journal of Economic Entomology*, Aimes, v. 92, n. 5, p. 1045-1051, 1999.
- BROWN, M. D.; DARRAN, T.; TONYA, M. W.; BRIAN, H. K. Laboratory and field evaluation of the efficacy of Vectobac 12 AS against *Culex sitiens* (Diptera: Culicidae) larvae. *Journal of the American Control Association*, Panama, v. 14, n. 2, p. 183-185, 1998.
- BROWN, M. D.; TONYA, M. W.; SUSANNAH, G.; JACK, G. G.; DAVID, P. E.; BRIAN, H. K. Toxicity of insecticides for control of freshwater *Culex annulirostris* (Diptera: Culicidae) to the nontarget shrimp, *Caradina indistincta* (Decapoda: Atyidae). *Journal of Economic Entomology*, Aimes, v. 93, n. 3, p. 667-671, 2000.
- CAVADOS, C. F. G.; FONSCCECA, R. N.; CHAVES, J. Q.; ARAÚJO-COUTINHO, C. J. P. C.; RABINOVITCH, L. A new black fly isolate of *Bacillus thuringiensis* autoagglutinating strain highly toxic to *Simulium pertinax* (Kollar) (Diptera, Simuliidae) larvae. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 100, n. 7, p. 795-797, 2005.
- CAVADOS, C. F. G.; FONSCCECA, R. N.; CHAVES, J. Q.; RABINOVITCH, L.; ARAÚJO-COUTINHO, C. J. P. C. Identification of entomopathogenic *Bacillus* isolated from *Simulium* (Diptera: Simuliidae) larvae and adults. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 96, n. 7, p. 1017-1021, 2001.
- CHUNG, Y. K.; PHUA-LAM, S.G.; CHUA, Y. T.; YATIMAN, R. Evaluation of biological and chemical insecticide mixture against *Aedes aegypti* larvae and adults by thermal fogging in Singapore. *Medical and Veterinary Entomology*, Canadá, v. 15, p. 321-327, 2001.
- COSCARÓN, S.; WYGODZINSKY, P. Notas sobre Simulidos neotropicales. VII. Sobre los subgeneros *Psaroniocompsa* Enderlein y *Inaequalim* subgen. nov. *Arquivos de Zoologia*, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 37-103, 1984.
- COSCARÓN, S. *Fauna de agua dulce de la República Argentina*. Fascículo 2. Buenos Aires: Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura. 1991. 297 p.
- CUNHA, M. C. I. Simulídeos (borrachudos). In: MARCONDES, C. B. *Entomologia médica e veterinária*. São Paulo. Atheneu, 2001, p. 31-47.
- FILLINGER, U.; KNOLS, B. G. J.; BECKER, N. Efficacy and efficiency of new *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* formulations against Afrotropical anophelines in Western Kenya. *Tropical Medicine and International Health*, University Logo, v. 8, n. 1, p. 37-47, 2003.
- HAMADA, N.; ALE-ROCHA, R.; LUZ, S. L. B. Description of *Simulium damascenoi* (Diptera: Simuliidae) male and the blackfly species from the state of Amapá, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 98, n. 3, p. 353-360, 2003.
- LACEY, L. A.; UNDEEN, A. H. The effect of formulation, concentration, and application time on the efficacy of *Bacillus thuringiensis* (H14) against black fly larvae under natural conditions. *Journal of Economic Entomology*, Aimes, v. 77, p. 412-418, 1984.
- LACEY, L. A. E.; LACEY, J. M. The larvicidal activity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-4) against mosquitoes on the Central Amazon Basin. *Mosquito News*, New York, v. 41, n. 2, p. 266-270, 1981.
- LOZOVEI, A. L.; PETRY, F.; SANTOS NETO, L. G. Survey of the *Simulium* species (Diptera, Simuliidae), Riacho dos Padres, almirante Tamandaré municipality, Paraná, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, Curitiba, v. 48, n. 1, p. 91-94, 2004.
- NASCIMENTO, E. S.; FIGUEIRÓ, R.; BECNEL, J. J.; ARAÚJO-COUTINHO, C. J. P. C. Influence of temperature on microsporidia infections in a natural population of *Simulium pertinax* Kollar, 1832 (Diptera: Simuliidae). *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 67, n. 3, p. 519-526, 2007.
- NAYAR, J. K.; KNIGHT, J. W.; ALI, A.; CARLSON, D. B. E.; O'BRYAN, P. D. Laboratory evaluation of biotic and abiotic factors that may influence larvicidal activity of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* against two Florida mosquito species. *Journal of the American Mosquito Control Association*, Panama, v. 15, n. 1, p. 32-42, 1999.
- PETRY, F. *Aspectos biológicos de fertilidade e ciclo evolutivo de espécies de Simulium (Diptera, Simuliidae) e susceptibilidade de suas larvas em bioensaios laboratoriais com formulados de Bacillus thuringiensis israelensis em aparato elaborado*. 2005. Tese (Mestrado em Ciências Biológicas) – Departamento de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- PETRY, F.; LOZOVEI, A. L.; EHLERS, S. C. Eggs Fertility and Biological Aspects of the Life Cycle in Natural populations of *Simulium* (Diptera, Simuliidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Brazil, v. 49, n. 5, p. 799-805, 2006.
- PETRY, F.; LOZOVEI, A. L.; FERRAZ, M. E.; SANTOS NETO, L.G. Controle integrado de espécies de *Simulium* (Diptera, Simuliidae) por *Bacillus thuringiensis* e

manejos mecânicos no riacho e nos vertedouros de tanque de piscicultura, Almirante Tamandaré, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, Curitiba, v. 48, n. 1, p. 127-132, 2004.

POLLOM, T. E. V. *Desenvolvimento de bioprocessadores para produção de biomassa de delta-endotoxina com cepa BR01 de Bacillus thuringiensis israelensis Berliner, 1915, visando o controle biológico de Aedes aegypti Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae)*. 2003. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Departamento Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

RIO GRANDE DO SUL (Estado). Secretaria Estadual da Saúde. Centro Estadual de Vigilância em Saúde. Simuliídeos: Programa Estadual Rio Grande do Sul, Brasil. *Guia para orientação aos municípios sobre o manejo integrado, controle e gestão de insetos da Família Simuliidae (Diptera: Nematocera)*. Porto Alegre: CEVS, 2006. 41 p.

RODRIGUES, I. B.; WANDERLI, P. T.; JOSÉ, M. C. S. D. Studies on the *Bacillus sphaericus* larvicidal activity against malarial vector species in Amazonia. *Memosrias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 93, n. 4, p. 441-444, 1998.

RUASNETO, A. L. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* como alternativa no controle de simuliídeos no Rio Grande do Sul. 1- Susceptibilidade a campo. *Boletim de Saúde*. Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 21-26, 1984.

RUAS NETO, A. L.; SOUZA, M. A. T.; SEVERINO, S.; MELO, J. L. B.; SILVEIRA, S. M.; DE FORTES, N. D. F. Controle integrado de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* Kollar, 1832. 1. Utilização de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* em três municípios do Rio Grande do sul. *Boletim de Saúde*, Porto Alegre, v. 12, p. 17-20, 1985.

STRIEDER, M. N. Controle eficiente dos borrachudos. *Ciência Hoje*, Rio de Janeiro, v. 36, p. 70-71, 2005.

_____. Espécies de Simuliídeos (Diptera, Nematocera, Simuliidae) no Rio Grande do Sul, Brasil: Distribuição Geográfica. *Entomologia y Vectores*, Rio de Janeiro, v. 11, n. 1, p. 113-143, 2004.

STRIEDER, M. N.; CORSEUIL, E.; PY-DANYEL, V. Espécies do gênero *Simulium* (Diptera: Simuliidae) ocorrentes no Rio Grande do Sul-Brasil, com chaves para sua identificação. *Acta Biológica Leopoldensia*, São Leopoldo, v. 14, n. 2, p. 53-74, 1992.

STRIEDER, M. N.; SANTOS JUNIOR, J. E.; PES, A. M. O. Diversidade e distribuição de Simuliidae (Diptera, Nematocera) no gradiente longitudinal da bacia do rio dos Sinos, no Rio Grande do Sul, Brasil. *Entomologia y Vectores*, Rio de Janeiro, v. 9, n. 4, p. 527-540, 2002.

STRIEDER, M. N.; SANTOS, J. E. dos; VIEIRA, E. M. Distribuição, abundância e diversidade de Simuliidae (Diptera) em uma bacia hidrográfica impactada no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, Curitiba, v. 50, n. 1, p. 119-124, 2006.