

Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Juliana Junqueira da Silva

**Potencial dos Reguladores de Crescimento de Insetos (IGRs)
Diflubenzuron e Methoprene, no controle de *Aedes aegypti* (L.)
(Diptera: Culicidae) em Uberlândia - MG.**

Uberlândia - MG
2006

Juliana Junqueira da Silva

**Potencial dos Reguladores de Crescimento de Insetos (IGRs)
Diflubenzuron e Methoprene, no controle de *Aedes aegypti* (L.)
(Diptera: Culicidae) em Uberlândia - MG.**

Tese apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-graduação em
Imunologia e Parasitologia Aplicadas
como parte dos requisitos necessários
para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Mendes.

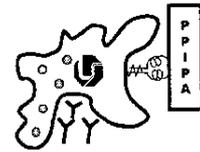
Uberlândia - MG
2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da UFU / Setor de
Catalogação e Classificação

S586p Silva, Juliana Junqueira da, 1975-
Potencial dos reguladores de crescimento de insetos (IGRs) Diflubenzuron e Methoprene, no controle de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) em Uberlândia - MG / Juliana Junqueira da Silva. - 2006.
75 f.: il.
Orientador: Júlio Mendes
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.
Inclui bibliografia.
1. Inseto - Teses. 2. *Aedes aegypti* - Teses. I. Mendes, Júlio. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. III. Título.

CDU: 595.7



Juliana Junqueira da Silva

“Potencial dos Reguladores de Crescimento de Insetos (IGRs) Diflubenzuron e Methoprene, no controle de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) em Uberlândia - MG.”

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do título de Doutor(a).

Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Banca Examinadora:

Uberlândia, 27 de setembro de 2006.

Prof. Dr. Gilson Pereira de Oliveira-UNESP

Prof. Dr. Carlos Henrique Marchiori -
UBRA

Profa. Dra. Cecília Lomônaco - UFU

Prof. Dr. Oswaldo Marçal Junior - UFU

Prof. Dr. Júlio Mendes – UFU
orientador

AGRADECIMENTOS

À Deus pela oportunidade de ter chegado até aqui.

Aos meus pais pelo amor, confiança, apoio e interesse por tudo que eu faço.

Ao meu orientador, acima de tudo pela paciência, mas também pela compreensão, dedicação e amizade.

À Fernanda, uma grande amiga e companheira de trabalho pelas palavras amigas e animadoras, pela companhia e cooperação durante todo o tempo de convivência.

À Dra. Cecília Lomônaco por sua valiosa contribuição na realização deste trabalho, pela paciência e afabilidade, além das sugestões e críticas tão necessárias.

Ao Dr. Oswaldo Marçal Júnior pela gentileza, sinceridade, atenção e alegria que demonstra sempre que nos encontramos e também por suas sugestões, críticas e observações.

Aos Doutores: Gilson Pereira de Oliveira, Arício Xavier Linhares e Carlos Henrique Marchiori pelas observações, críticas e sugestões que muito contribuíram para o enriquecimento deste trabalho.

À Champion Farmoquímico Ltda. pela doação do Diflubenzuron e pelo auxílio financeiro em parte do trabalho e à Novartis Saúde Animal Ltda. pela doação do Methoprene.

À agência de fomento CAPES pela bolsa de estudos durante todo o Curso.

Aos colegas e companheiros de laboratório, Carina, Thiago, Luíza, Micaela, Daniele e Lucas pelos dias divertidos, pelas sugestões e auxílio. À minha amiga Rosângela Maria pela sua amizade e incentivo. À Scheila, técnica do Laboratório de Entomologia por seus conselhos e palavras de estímulo.

Aos Professores deste Programa de Pós-graduação, especialmente ao Prof. Dr. José Roberto Mineo por suas sugestões e disposição em me auxiliar sempre que precisei.

Aos funcionários do Laboratório de Parasitologia pela assistência em vários momentos de necessidade. Aos funcionários da coordenação do curso de pós-graduação, Neto e Luceleide pela boa vontade e atenção.

Às pessoas que com tanta boa vontade e interesse contribuíram para a realização deste trabalho, permitindo a utilização de suas residências para colheita de imaturos de *Aedes aegypti* quinzenalmente durante dois anos consecutivos: Gisele, minha irmã e Ulisses, seu esposo, Maria José e sua filha Valéria, Rita e família, Roberto e sua esposa Celi e também aos amigos, vizinhos e parentes da Fernanda.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que estiveram ao meu lado durante todo este período e que contribuíram direta ou indiretamente para o meu crescimento e aprendizagem.

RESUMO

Aedes aegypti (L.), vetor da febre amarela urbana e da dengue, é controlado no Brasil utilizando-se principalmente o organofosforado Temephos. Tem-se registrado a ocorrência de resistência deste mosquito ao Temephos aqui e em outros países. Os Reguladores de Crescimento de Insetos (IGRs) Diflubenzuron (inibidor de síntese de quitina) e Methoprene (análogo ao hormônio juvenil) são um grupo de inseticidas que afetam o desenvolvimento do inseto. A susceptibilidade de *A. aegypti* a estes IGRs foi investigada em Uberlândia a partir da obtenção das concentrações letais para 50% e 95% da população de mosquitos (CL50 e CL95) e sua atuação nas formas imaturas deste mosquito. Também foram investigados outros aspectos da susceptibilidade tais como, atividade residual destes IGRs e efeitos de dosagens subletais sobre a simetria, tamanho, peso, fecundidade, fertilidade e longevidade de adultos. Os experimentos foram realizados em laboratório com indivíduos de uma colônia originária de ovos colhidos na região urbana de Uberlândia. O número de réplicas dos grupos tratados e controles se manteve em seis em todos os experimentos. Foi adotado o nível de confiança de 95% em todas as análises estatísticas. As CL50 e CL95 obtidas para Diflubenzuron e Methoprene foram: 5,19 e 12,24 ppb; 19,95 e 72,08 ppb, respectivamente. Diflubenzuron mostrou-se efetivo em todos os estádios larvais, enquanto Methoprene causou maior mortalidade quando o mosquito foi exposto a partir do início do quarto estágio larval. As formulações comerciais dos IGRs apresentaram maior atividade residual que suas respectivas formulações técnicas. Níveis aumentados de assimetria flutuante foram observados nos mosquitos expostos ao Diflubenzuron. Fêmeas tratadas com Methoprene apresentaram menor peso que as não tratadas. Por outro lado, a longevidade do mosquito foi reduzida nos grupos tratados com ambos os produtos. Os valores das CL50 e CL95 registrados para Diflubenzuron estão dentro do intervalo de variação observados na literatura para este IGR. Já os valores registrados para Methoprene estão acima dos observados em outros locais, indicando uma relativa tolerância natural da população de *A. aegypti* de Uberlândia a este IGR. No entanto, os resultados aqui obtidos indicam Diflubenzuron e Methoprene como alternativas para o controle do vetor da dengue na região de Uberlândia.

Palavras-chaves: *Aedes aegypti*, IGRs, Diflubenzuron, Methoprene, susceptibilidade.

ABSTRACT

Aedes aegypti (L.), the vector of urban yellow fever and dengue, is controlled in Brazil mainly by the use of the organophosphate Temephos. Resistance to Temephos has been described in Brazil and in other countries as well. Insect Growth Regulators (IGRs), Diflubenzuron (chitin synthesis inhibitor) and Methoprene (juvenile hormone analog), are insecticides that affect the development of insects by affecting adult emergence. *A. aegypti* susceptibility to Diflubenzuron and Methoprene was investigated in Uberlândia, by studying the 50% and 95% lethal concentrations of both IGRs for the *A. aegypti* population (LC50 and LC95) and their action on the immature stages. In addition, other aspects, such as IGRs residual activity and the effect of sublethal dosages upon adult symmetry, size, weight, fecundity, fertility and longevity were investigated. The experiments were done in laboratory conditions using individuals from a colony originated from eggs collected in the urban area of Uberlândia. The number of replicates was six in all assays. The confidence level adopted in all the statistical analysis was 95%. The LC50 and LC95 of Diflubenzuron and Methoprene were 5.19 and 12.24 ppb; 19.95 and 72.08 ppb, respectively. Diflubenzuron was effective in all larvae instars and Methoprene caused greater mortality when the mosquito was exposed from the early fourth instar larvae on. Concentrations of commercial IGRs presented greater residual activity than did the technical formulations. Increased levels of fluctuating asymmetry were observed in the mosquitoes exposed to Diflubenzuron. Females treated with Methoprene showed smaller weight than did the untreated females. On the other hand, the longevity of the mosquito was reduced in the groups treated with both IGRs. The LC50 and LC95 of Diflubenzuron obtained here are compatible with the values observed for this IGR in other studies, while the LCs of Methoprene were higher than those generally reported in the literature. However, the results obtained here indicate that Diflubenzuron and Methoprene are potential tools to control this mosquito in the region of Uberlândia.

Key words: *Aedes aegypti*, IGRs, Diflubenzuron, Methoprene, susceptibility.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	07
2 OBJETIVOS	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 População de <i>Aedes aegypti</i> testada e sua manutenção em laboratório	24
3.2 Verificação da susceptibilidade de <i>A. aegypti</i> aos IGRs Diflubenzuron e Methoprene .	27
3.3 Determinação das CL50 e CL95 dos produtos para a população de <i>A. aegypti</i>	28
3.4 Verificação do efeito de Diflubenzuron e Methoprene nas formas imaturas de <i>A. aegypti</i>	28
3.5 Avaliação da atividade residual de Diflubenzuron e Methoprene	28
3.6 Verificação do efeito dos IGRs na simetria e tamanho dos adultos sobreviventes às concentrações subletais	29
3.7 Averiguação do efeito dos IGRs no peso, na fecundidade, fertilidade e longevidade de <i>A. aegypti</i>	32
3.8 Normas de Biossegurança	33
4 RESULTADOS	34
5 DISCUSSÃO	47
6 CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

A humanidade tem enfrentado duas grandes dificuldades para controlar insetos de importância médico-veterinária e econômica com o uso de inseticidas químicos convencionais: o amplo espectro de ação destes praguicidas e a capacidade das espécies alvos de desenvolver resistência (WILLIAMS, 1967; GEORGHIOU, 1980; GRAF, 1993). Tem-se observado o surgimento e o aumento de resistência a inseticidas ao longo dos anos entre artrópodes de importância agropecuária (SHEPPARD; TORRES, 1998; BARROS; OTTEA; FOIL, 2001) e em espécies de importância na saúde pública (LIU; SCOTT, 1997; RODRIGUEZ et al., 2001; CAMPOS; ANDRADE, 2003; CARVALHO et al., 2004; RANSON et al., 2004). O uso de inseticidas de amplo espectro causa forte impacto ao meio ambiente, uma vez que coloca em risco outras espécies de animais, incluindo os seres humanos (WILLIAMS, 1967; KNIGHT; NORTON, 1989; NUNES; TAJARA, 1998).

A intoxicação causada por praguicidas tem sido uma preocupação ao longo das últimas décadas, principalmente nos países em desenvolvimento, onde se estima em 25 milhões o número de envenenamentos de trabalhadores agrícolas a cada ano (WESSELING; CORRIOLS; BRAVO, 2005). Estima-se também que o seu uso cause cerca de 220 mil fatalidades anualmente em todo mundo (UNEP, 1997 apud PAOLETI; PIMENTEL, 2000). O contato direto ou a inalação de alguns desses praguicidas pode causar não só intoxicações, mas outras seqüelas graves de caráter crônico, como efeitos teratogênicos e/ou carcinogênicos, genotoxicidade, problemas de fertilidade e distúrbios hormonais (PAIGE; TOLLEFSON; MILLER, 1999; ROJAS; OJEDA; BARRAZA, 2000; AIUB et al., 2002; DAHLGREN et al., 2004, PELAEZ et al., 2004; RECIO et al., 2005; MENEGAUX et al., 2006). Esses efeitos são de difícil detecção devido às limitações dos estudos realizados e podem estar subestimados (NUNES; TAJARA, 1998; ESKENAZI et al., 2004; WESSELING; CORRIOLS; BRAVO, 2005).

Assim, deve-se buscar desenvolver e empregar inseticidas menos perigosos à saúde humana e ao meio ambiente, mais específicos e que não induzam resistência nas espécies alvos. Uma alternativa que poderia auxiliar na solução destes problemas começou a surgir já na década de 30 com estudos básicos da fisiologia dos insetos (WILLIAMS, 1967; CHAMBERLAIN, 1975). Em 1936, Wingglesworth, estudando diferentes estágios de *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859) (Hemiptera: Reduviidae), descobriu que o hormônio juvenil possui duas funções principais na fisiologia e ciclo de vida de insetos: controlar a metamorfose e regular a reprodução em adultos (HARTFELDER, 2000; NORIEGA, 2004). No entanto, somente em 1956 foi isolado o hormônio juvenil do extrato cru do abdome de machos da mariposa *Hyalophora cecropia* (L.) (Lepidoptera: Saturniidae) e observado que sua aplicação tópica impedia a metamorfose e a reprodução do inseto. Contudo, a possibilidade do emprego deste hormônio como controlador do desenvolvimento de insetos foi estudada apenas em 1965 (TUNAZ; UYGUN, 2004). O termo hormônio juvenil refere-se a uma classe de hormônios reguladores da muda e reprodução pertencente ao grupo dos sesquiterpenóides, sintetizados e liberados por um par de glândulas endócrinas conectadas ao cérebro, os corpos alados (LI et al., 2003; NORIEGA, 2004; WILSON, 2004). Após o isolamento e identificação do hormônio juvenil I (HJI), presente principalmente nos lepidópteros, foram isolados e identificados pelo menos mais três compostos homólogos ao hormônio juvenil, o HJ0, observado somente em embriões de lepidópteros, o HJII, encontrado ocasionalmente em lepidópteros e o HJIII, detectado nas outras ordens de insetos. Outros compostos derivados de hormônio juvenil, como ácidos e derivados não metilados também circulam na hemolinfa de mariposas e uma nova classe, denominada versão biseóxido do HJIII, está presente em dípteros ciclorrafos e em alguns hemípteros (HARTFELDER, 2000). Este mesmo autor, em detalhada revisão sobre o hormônio juvenil, destaca suas funções pleiotrópicas, entre as quais a regulação da metamorfose dos insetos e da fertilidade de

fêmeas. As fêmeas de mosquitos necessitam de altos níveis de hormônio juvenil para prepará-las para a digestão do sangue ingerido e para a oogênese, enquanto o processo de digestão e a vitelogênese acontecem com baixos títulos deste hormônio (NORIEGA, 2004).

Os principais hormônios envolvidos no desenvolvimento, metamorfose e reprodução em insetos são os neuro-hormônios ou neuro-peptídeos, ecdisteróides ou hormônios de muda e os hormônios juvenis (HOFFMANN; LORENZ, 1998). No entanto, na maioria dos insetos, o ecdisteróide 20-hidroxiecdisona é o responsável pelo controle destas funções numa interação com o hormônio juvenil (ZHU; CHEN; RAIKHEL, 2003). Este modula o processo de muda afetando a ação da ecdisona de forma que altos títulos de hormônio juvenil promovem a muda de um instar larval para outro, enquanto os baixos níveis ou sua ausência estimulam a ecdisona a promover a muda para adultos (HARTFELDER, 2000; WILSON, 2004).

A muda nos insetos é um evento complexo no qual grande parte das ações do hormônio juvenil ocorre em interação com a ecdisona. Esse processo é iniciado por um aumento de 20-hidroxiecdisona na hemolinfa e concluído após seu declínio e a liberação de um hormônio de eclosão (HOFFMANN; LORENZ, 1998). Quando os títulos de hormônio juvenil estão altos, a nova cutícula formada será larval, mas na ausência deste hormônio que ocorre no final do estágio larval, a 20-hidroxiecdisona induzirá a metamorfose para a forma adulta (ZHU; CHEN; RAIKHEL, 2003). Em insetos holometábolos há um grupo de células denominadas discos imaginais (imaginal discs) que carregam características do adulto, como asas e genitálias, inibidas pelo hormônio juvenil (HOFFMANN; LORENZ, 1998; ZHU; CHEN; RAIKHEL, 2003). Durante o último estágio larval, o comando para ocorrência da transformação da larva para pupa requer a ação do ecdisteróide na ausência de hormônio juvenil, enquanto que a produção da cutícula pupal é induzida na sua presença (HOFFMANN; LORENZ, 1998; ZHU; CHEN; RAIKHEL, 2003). A presença deste hormônio na hemolinfa

do inseto durante o desenvolvimento larval previne uma transformação precoce da larva em adulto, o que justifica sua denominação pelos entomologistas de hormônio “*status quo*” (HARTFELDER, 2000; WILSON, 2004). Finalmente, a transformação de pupa para adulto ocorre com o aumento dos títulos de ecdisteróides e diminuição nos níveis de hormônio juvenil (HOFFMANN; LORENZ, 1998; ZHU; CHEN; RAIKHEL, 2003).

Deve-se ressaltar que um dos principais componentes da cutícula dos insetos é a quitina, um polímero de N-acetilglucosamina e glucosamina que serve de matriz para a deposição de escleroproteínas e também faz parte da membrana peritrófica destes artrópodes (CHAPMAN, 1982; MERZENDORFER; ZIMOCH, 2003; CHEN et al., 2005). Merzendorfer e Zimoch (2003), em uma revisão sobre o metabolismo de quitina em insetos, destacam a importância deste aminopolissacarídeo para a sua sobrevivência. A cutícula dos insetos forma um exoesqueleto com estrutura mais ou menos rígida devido à presença de escleroproteínas, limitando o crescimento do inseto. Desta forma, para crescer e se desenvolver, os insetos devem substituir periodicamente sua cutícula velha por uma nova que, antes de se esclerotizar, é suficientemente flexível para permitir alguma expansão (CHAPMAN, 1982; MERZENDORFER, ZIMOCH, 2003). Para que isso ocorra, eles devem perder a cutícula velha durante a muda, iniciada por uma multiplicação celular na epiderme seguida pela apólise, processo que separa as células epidermais da cutícula precedente pela secreção do fluido de muda e formação da membrana de ecdise (CHAPMAN, 1982; MERZENDORFER; ZIMOCH, 2003). O fluido de muda contém proteases e quitinases que digerem a endocutícula velha cujos componentes são reciclados. A formação da nova cutícula começa após o espaço de ecdise se abrir como resultado da secreção das proteínas da cutícula e fibras de quitina pelas membranas apicais das células epidermais. Há a formação de uma cutícula quitinosa não esclerotizada, a procutícula e da epicutícula externa. Esta fecha a epiderme e a protege contra as enzimas digestivas do fluido de muda. Finalmente, ocorre a ecdise, saída do farado da

cutícula antiga. No final da ecdise ou imediatamente após este processo, o inseto expande a nova cutícula antes de seu enrijecimento por esclerotização (CHAPMAN, 1982; MERZENDORFER; ZIMOCH, 2003). Dessa forma, o crescimento e o desenvolvimento são totalmente dependentes da capacidade dos insetos de remodelar estruturas quitinosas. Eles sintetizam e degradam a quitina de forma altamente controlada para permitir não somente a ecdise, mas também a regeneração da membrana peritrófica presente no epitélio do intestino médio e importante para o processo de digestão de alimentos e proteção contra patógenos (CHAPMAN, 1982; MERZENDORFER; ZIMOCH, 2003).

Portanto, qualquer interferência na ação dos hormônios envolvidos nos processos de muda e desenvolvimento, seja por fontes exógenas de hormônios ou de seus análogos sintéticos, poderia resultar na interrupção ou até mesmo, anormalidade no desenvolvimento e reprodução de insetos (HOFFMANN; LORENZ, 1998). Da mesma forma que os análogos ao hormônio juvenil, o desenvolvimento e aplicação de compostos químicos que interferem no metabolismo da quitina têm tido especial interesse para o controle de pragas (MERZENDORFER; ZIMOCH, 2003; CHEN et al., 2005).

O entendimento dos mecanismos envolvidos nos processos de muda dos insetos e a descoberta de que aplicação do hormônio juvenil e de seus análogos poderia interferir no desenvolvimento dos insetos e até eliminá-los, acabou resultando no surgimento dos Reguladores de Crescimento de Insetos (IGRs) (WILLIAMS, 1967; WILSON, 2004), pertencentes a uma classe de agentes controladores que diferem amplamente dos inseticidas convencionais por atuarem provocando mudanças morfofisiológicas durante o processo de desenvolvimento e metamorfose do inseto, além de induzirem efeitos morfogenéticos que podem resultar em completa inibição da emergência de adultos (GRAF, 1993; FOURNET et al., 1995; PAWAR; PISALE; SHARMA, 1995; HOFFMANN; LORENZ, 1998). Os IGRs são considerados, segundo alguns autores, a “terceira geração de inseticidas” (WILLIAMS,

1967; CHAMBERLAIN, 1975; GRAF, 1993) e podem ser divididos em três categorias de acordo com seu modo de ação: os análogos ao hormônio juvenil, os inibidores da síntese e/ou deposição de quitina e os derivados do composto orgânico triazina que também interferem na muda e pupação (GRAF, 1993; CHAVASSE; YAP, 1997). Algumas de suas vantagens são: espectro de ação mais restrito, ausência ou baixa toxicidade para a maioria dos organismos não alvo como insetos benéficos e vertebrados, incluindo o homem e animais domésticos (FINCHER, 1991; MULLA; DARWAZEH; SCHREIDER, 1989; MULLA, 1995; CHAVASSE; YAP, 1997, WILSON, 2004; CHEN et al., 2005). Têm como alvo outros órgãos que não os do sistema neural e, devido a sua atuação em sistemas específicos dos insetos, são caracterizados como produtos seletivos, apresentando-se como alternativa em programas de controle de vetores e no manejo de resistência a inseticidas convencionais (GRAF, 1993; MULLA, 1995; VELLOSO et al., 1999).

Os IGRs têm-se mostrado eficazes no controle de várias espécies alvos. Alguns deles vêm sendo estudados como alternativas para o controle de culicídeos como *Culex* spp., *Aedes* spp. e *Anopheles* spp. (PHONCHEVIN et al., 1985; BARUAH; DAS, 1996; BATRA et al., 2005), insetos pragas de lavouras (LYRA; FERRAZ; SILVA, 1998; VELLOSO et al., 1999), de produtos estocados (KOSTYUKOVSKY et al., 2000), moscas simbovinas como *Stomoxys calcitrans* (L.), *Musca autumnalis* De Geer e *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) (WRIGTH; CAMPBELL; HESTER; 1973; MILLER; UEBEL, 1973; THOMAS, 1984; SILVA; MENDES, 2002) e também no controle de pulicídeos (MILLER et al., 1999; ZAKSON; GREGORY; SHOOP, 2000) e insetos de importância sanitária como mosca doméstica e baratas (MULLA; AXELROD, 1983; GINARTE; DORTA, 1996; AGUILERA; MARQUETTI; NAVARRO, 2001).

Dentre as diversas classes de IGRs, os análogos ao hormônio juvenil ou juvenóides, principalmente Methoprene, estão entre os mais amplamente estudados visando o controle de

mosquitos (PAWAR et al., 1995; BARUAH; DAS, 1996; SOARES et al., 1996; RITCHIE; ASNICAR; KAY, 1997; PINKNEY et al., 2000; GELBIČ; OLEJNÍČEK; GRUBHOFFER, 2002; NAYAR; ALI; ZAIM, 2002). Uma característica comum destes compostos é não provocarem mortalidade rápida nas larvas. Embora consigam sobreviver nesta fase, morrem no estágio de pupa ou durante o processo de emergência do imago (GORDON; BURFORD, 1984; MULLA, 1995). A atuação destes juvenóides em mosquitos se dá principalmente durante um período de maior susceptibilidade larval, chamado janela de susceptibilidade, que ocorre geralmente durante o quarto estágio (MULLA, 1995).

Diferentemente dos análogos ao hormônio juvenil, os inibidores de síntese de quitina agem nas larvas durante o processo de muda (VASUKI; RAJAVEL, 1992; MULLA, 1995). Estas, em processo de muda, não conseguem se libertar completamente da cutícula precedente, possivelmente devido à inibição na deposição de quitina, não conferindo a estabilidade necessária para que as mesmas se livrem da cutícula (GROSSCURT, 1978; MULLA, 1995). Diflubenzuron é um dos IGRs pertencentes ao grupo das chamadas benzoilfenilureias, descobertos na década de 70 (CHEN et al., 2005). Este IGR tem a capacidade de inibir a síntese de quitina, possuindo atividade ovicida e larvicida (GROSSCURT, 1978; GRAF, 1993). Como no caso de Methoprene, vem sendo estudado como alternativa em programas de controle de mosquitos (DORTA et al., 1989; ALI; NAYAR; XUE, 1995; BARUAH; DAS, 1996; MARTINS; SILVA, 2004).

Os IGRs têm se tornado importante ferramenta para o controle de mosquitos desde a década de 1970 nos Estados Unidos, quando o juvenóide Methoprene começou a ser empregado para este fim e dez anos depois, também com a utilização de Diflubenzuron (ESTRADA; MULLA, 1986). Nesse e em outros países, tem-se investigado ao longo dos últimos anos, a ação de vários outros IGRs sobre os insetos (ESTRADA; MULLA, 1986; PAWAR et al., 1995; MULLA, 1995; LONERSHAUSEN et al., 1996; SAGAR; SEHGAL;

AGARWALA, 1999; LEE, 2001; MULLA et al, 2003; SU; MULLA; ZAIM, 2003). No Brasil, ainda há poucos estudos sobre estes produtos e o emprego em campo de alguns deles se restringe a poucas espécies, tais como: moscas em granjas com Cyromazine (Larvadex®) (PINTO; PRADO, 2001), controle de pulgas de cães e gatos com Lufenuron (Program®) e Methoprene (PEREIRA; SANTOS, 1998) e nas pragas de lavoura com Diflubenzuron e outros inibidores de formação de cutícula (VELLOSO et al., 1999).

Aedes aegypti (L.) (Diptera: Culicidae) está entre os mais importantes insetos transmissores de doenças ao homem. É o vetor da febre amarela urbana e da dengue em vários países tropicais (VAUGHAN; CHADEE; FRENCH-CONSTANT, 1998; CICCIA; COUSSIO; MONGELLI, 2000). Esta última doença é alvo de uma das maiores campanhas de saúde pública realizadas no Brasil (FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE - FUNASA, 2002). Este díptero possui quatro estádios larvais, após os quais se transforma em pupa da qual dois a três dias depois, emerge o adulto. Utiliza como criadouro os mais variados tipos de reservatórios de água limpa, preferencialmente os artificiais como latas, frascos de vidro, caixas d'água e pneus (HONÓRIO; OLIVEIRA, 2001). Prefere ovipôlar na parede ou borda dos recipientes (GADELHA; TODA, 1985; CONSOLI; OLIVEIRA, 1998; FORATTINI, 2002), mas também pode realizar a ovipostura diretamente na superfície da água (MADEIRA; MACHARELLI; CARVALHO, 2002). Possui hábitos diurnos e é eclético quanto ao hospedeiro, mas tem preferência pelo homem. Uma característica peculiar deste culicídeo é a persistência da fêmea para conseguir completar o repasto sanguíneo, mesmo quando repelida pelo hospedeiro (CONSOLI; OLIVEIRA, 1998; FORATTINI, 2002). Além disso, ela pode realizar vários repastos antes de completar seu ciclo gonotrófico (DONALÍSIO; GLASSER, 2002). Este fato é altamente relevante, uma vez que a probabilidade de transmissão de um patógeno para um hospedeiro depende parcialmente da frequência de repastos sanguíneos (MACCLELLAND; CONWAY, 1971).

Atualmente a dengue é uma das principais doenças reemergentes e um dos mais importantes problemas de saúde pública no mundo. Além disso, possui ampla distribuição geográfica e é a principal arbovirose humana em importância epidemiológica (TEIXEIRA et al., 2005), atingindo mais de 100 países, sendo endêmica em quase toda América, Sudeste Asiático, Oeste do Pacífico, África e Leste do Mediterrâneo (GUZMÁN; KOURI, 2002). Devido à ausência de uma vacina eficaz e dificuldades no tratamento, o principal meio de reduzir sua transmissão continua sendo o combate ao vetor (GUZMÁN; KOURI, 2002; TAUIL, 2002).

A. aegypti foi introduzido nas Américas durante o período da colonização e encontrou um meio ambiente favorável à sua manutenção, como clima e acúmulo de água em diferentes tipos de recipientes disponibilizados pelos hábitos humanos, expandindo-se geograficamente pelo país (SILVA; SILVA, 2000; PENNA, 2003). No Brasil, segundo dados da FUNASA (2001), a primeira epidemia de febre amarela urbana se deu no ano de 1685 em Recife. A partir de 1850 começou a disseminação de *A. aegypti* por todo o país, até que em 1903, Oswaldo Cruz iniciou a luta contra a doença criando o Serviço de Profilaxia da Febre Amarela. A partir de 1947, o DDT foi empregado no combate ao mosquito e em 1955 foi eliminado o último foco de *A. aegypti* no país. Em 1967 houve reintrodução do vetor no Pará sendo novamente erradicado em 1973. No entanto, ocorreu nova reintrodução em 1976 na Bahia. A partir de 1978, o vetor se dispersou por todo território nacional e em 1998 já era encontrado em todos os estados brasileiros. Em 1999 houve registro de transmissão de dengue em 23 estados e no Distrito Federal. Ainda de acordo com dados da FUNASA (2002) o número de casos de dengue tem aumentado nos últimos anos no país, alcançando 421.574 casos registrados em 2001, com 28 óbitos e até julho de 2002, 672.371 casos, sendo que a região sudeste ocupava o segundo lugar em número de casos. De 1980 a 2003, o número de casos confirmados somente em Minas Gerais alcançou 330.930. Dados da Secretaria de

Vigilância em Saúde (BRASIL, 2005) mostraram que até a décima quarta semana epidemiológica de 2005 foram notificados 38.989 casos de dengue em todo Brasil.

A atual organização dos grandes centros urbanos tem contribuído para o aumento da população deste mosquito e inviabilizado sua erradicação. Desta forma, o Ministério da Saúde passou a recomendar o seu controle e não mais a eliminação (PENNA, 2003). As estratégias de controle de *A. aegypti* adotadas pelo Programa Nacional de Controle da Febre Amarela e Dengue no Brasil baseiam-se principalmente na utilização de inseticidas químicos entre os quais, organofosforados e piretróides e que busca reduzir a densidade populacional deste vetor. Outra medida adotada é a eliminação de latas, pneus usados e outros recipientes que servem de criadouro para o mosquito, bem como a aplicação de larvicidas nos criadouros e nos depósitos de água potável dos domicílios (SOARES et al., 1996; FUNASA, 2001; LUNA et al., 2004).

Em 1996, o Ministério da Saúde lançou o Programa de Erradicação de *A. aegypti* (PEAa), que visou a descentralização das ações na área de controle de endemias com os repasses de recursos federais diretamente a estados e municípios, o que resultou em um fortalecimento das ações de combate ao vetor e significativo aumento dos recursos utilizados para essas atividades. No entanto, as ações de prevenção continuaram centradas quase que exclusivamente nas atividades de campo com o uso de inseticidas contra o mosquito e não têm se mostrado eficazes no controle da dengue (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002). Devido ao aumento da incidência de dengue a partir do final dos anos 90 e à introdução e rápida disseminação do sorotipo DEN-3, o Ministério da Saúde lançou, em agosto de 2001, o Plano de Intensificação das Ações de Controle da Dengue (PIACD) que incorporou elementos como a mobilização social, a participação comunitária e a criação do “Dia D” de combate à dengue (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002). Em julho de 2002 foi instituído o Programa Nacional de Controle da Dengue que se propôs a não só redirecionar a política para controle do vetor, mas

também estabelecer objetivos e metas mais consistentes (FUNASA, 2002). Apesar de todas estas medidas, o número de casos de dengue alcançou índices epidêmicos em quase todo Brasil e somente em Uberlândia o número confirmado de casos em 2005 alcançou 2969 e, até meados de junho de 2006, chegou a 5186 casos (VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA - PREFEITURA MUNICIPAL DE UBERLÂNDIA - VIGEP- PMU, 2006).

Em todo o país, a FUNASA utiliza desde a década de 80, o organofosforado Temephos (Abate[®]) para o controle das larvas de *A. aegypti* e recomenda a substituição deste por produtos à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) ou IGRs, como Methoprene somente nos casos em que a resistência ao Temephos é verificada (CHAVASSE, YAP, 1997; CAMPOS, ANDRADE, 2001; FUNASA, 2001). O controle dos adultos é realizado basicamente pelo sistema de aplicações aeroespaciais, ultrabaixo-volume (UVB) e termonebulização (FUNASA, 2001; PINHEIRO; TADEI, 2002).

A resistência de *A. aegypti* aos inseticidas químicos convencionais (organofosforados e piretróides) utilizados rotineiramente em seu controle vem sendo monitorada e registrada em alguns países (RAWLINS; WAN, 1995; VAUGHAN; CHADEE; FFRENCH-CONSTANT, 1998; WIRTH; GEORGHIOU, 1999; RODRIGUEZ et al., 2002). Também no Brasil o problema tem se tornado crescente nos últimos anos (CAMPOS; ANDRADE, 2001; CAMPOS; ANDRADE, 2003; LIMA et al., 2003; MACORIS et al., 2003; CARVALHO et al., 2004; CUNHA et al., 2005). O desenvolvimento de resistência de insetos aos IGRs tem sido registrado em alguns estudos (PINTO; PRADO, 2001; KRISTENSEN; JESPERSEN, 2003), inclusive a resistência de mosquitos (DAME; WICHTERMAN; HORNBY, 1998; CORNEL et al., 2000; CORNEL et al., 2002). No entanto, apesar de o desenvolvimento de resistência não poder ser evitado, deve-se observar se ela reflete apenas uma situação temporária e se atinge nível de importância biológica ou econômica (PINTO; PRADO, 2001; KRISTENSEN; JESPERSEN, 2003). No caso da resistência apresentada por *A. aegypti* aos

inseticidas organofosforados, principalmente ao Temephos em várias partes do mundo, verifica-se que há a necessidade da busca de novas alternativas de controle.

Diante da importância epidemiológica deste vetor e dos problemas enfrentados com seu controle em todo o mundo, estudos têm apresentado a viabilidade de adoção de medidas adicionais, entre as quais a utilização de inimigos naturais (MICIELI; MARTI; GARCIA, 2002; KAY et al., 2002; KOSIYACHINDA; BHUMIRATANA; KITTAYAPONG, 2003) e com substâncias naturais de origem vegetal (CICCIA; COUSSIO; MONGELLI, 2000; CAVALCANTI et al., 2004; SIVAGNANAME; KALYANASUNDARAM, 2004).

Embora estejam sendo estudadas diversas medidas alternativas para o controle de mosquitos, os inseticidas químicos ainda se mantêm fundamentais e amplamente utilizados nos programas de controle deste e de outros mosquitos (PHONCHEVIN et al., 1985). A eficácia dos inseticidas rotineiramente empregados, assim como o desenvolvimento de resistência pelos vetores e seus mecanismos são parâmetros que devem ser sempre avaliados e monitorados não só como medida de segurança para a população envolvida, mas também para a formulação e ajustes nas estratégias de controle (CAMPOS; ANDRADE, 2001). Não se devem desconsiderar os problemas advindos do uso dos inseticidas convencionais, tais como, a resistência e/ou tolerância das pragas, sua ação sobre espécies não alvo, inclusive sobre seus inimigos naturais (SOARES et al., 1996) e as conseqüências da exposição ambiental e humana aos mesmos.

Soares e colaboradores (1996), no Rio de Janeiro, realizaram um estudo comparativo com o larvicida organofosforado Abate[®] e o análogo ao hormônio juvenil, Altosid[®] (Methoprene) no controle de *A. aegypti*. Os autores observaram menor efeito residual de Altosid quando comparado com o Abate e, segundo eles, como conseqüência disso haveria a necessidade de ciclos de tratamento menores que o utilizado até então pela FUNASA (intervalos de três meses), caso viessem a utilizar o IGR no controle de *A. aegypti*. Entretanto,

deve-se salientar que o efeito residual de um inseticida pode sofrer variação de acordo com a formulação e maneira de aplicação (MULLA, 1995). Além do efeito residual, há vários outros aspectos que devem ser analisados para definição do uso de um inseticida como, seu espectro de ação, estabilidade sob condições externas, compatibilidade com outras estratégias de controle e sua toxicidade para humanos e outros animais (HOFFMANN; LORENZ, 1998).

Dentre as etapas do ciclo de vida dos mosquitos, a oviposição é um evento fundamental e sua ocorrência depende tanto do controle fisiológico quanto genético (VASUKI, 1999). Vários autores têm verificado os efeitos dos IGRs neste e em outros aspectos fisiológicos de *A. aegypti* e demais mosquitos vetores de doenças em todo o mundo. Sawby, Klowden e Sjogren (1992), nos Estados Unidos, registraram redução na longevidade de fêmeas de *A. aegypti* expostas durante o estágio larval a concentrações subletais de Methoprene, assim como uma redução nas reservas de glicogênio em pupas de ambos os sexos. Gelbič, Olejníček e Grubhoffer (2002), na República Tcheca, submetendo larvas de *Culex quinquefasciatus* Say e *C. molestus* Forskal ao Methoprene registraram alta mortalidade das larvas, alterações morfológicas e prolongamento no período entre as mudas de cada estágio larval. Esses autores também observaram uma diminuição da atividade de hemaglutinação no intestino dos adultos. Mulla e colaboradores (2003), avaliando Novaluron contra *A. aegypti* em laboratório e campo nos Estados Unidos e Tailândia, registraram alta mortalidade de larvas de segundo e quarto estádios em laboratório e alta inibição de emergência do mosquito em campo nas maiores concentrações usadas. Também nos Estados Unidos, Nishiura, Ray e Murray (2005) observaram que larvas de quarto estágio de *A. aegypti* tratadas com Methoprene conseguiam empupar, mas o intestino posterior das pupas se apresentava morfológicamente similar ao das larvas e o nível de alteração era dose-dependente.

Na Índia, há um número considerável de estudos sobre a ação de IGRs sobre mosquitos. Pawar, Pisale e Sharma (1995) registraram redução na fecundidade e fertilidade de adultos de *A. aegypti* que foram tratados durante o quarto estágio larval com quatro IGRs produzidos a partir do composto geraniol. A sobrevivência de adultos também foi reduzida em ambos os tratamentos. Vasuki (1999) verificou o efeito subletal de Hexaflumuron em três espécies de mosquitos, *C. quinquefasciatus*, *A. aegypti* e *Anopheles stephensi* Liston e observou uma redução significativa na oviposição de fêmeas originárias de larvas de quarto estágio e pupas tratadas com este composto. Houve redução também na quantidade de sangue ingerido em fêmeas expostas à concentração letal para 50% da população (CL50). Mittal, Adak e Batra (2001) fizeram comparações entre a toxicidade dos IGRs, Methoprene e Pyriproxyfen e dos larvicidas à base de *Bacillus thuringiensis* (Bti) contra *An. stephensi* e *A. aegypti* e observaram que os IGRs foram altamente tóxicos às duas espécies. Ansari, Razdan e Sreehari (2005) testaram a eficácia de duas formulações de Hilmilin (Diflubenzuron) sobre *An. stephensi*, *An. culicifacies* Giles, *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*. Estes autores observaram que todas as espécies foram susceptíveis a ambas as formulações do produto, tanto em campo como em laboratório e sugerem mais estudos com este IGR para seu possível emprego nas áreas urbanas daquele país, endêmicas para várias doenças transmitidas por estes vetores.

No Brasil, Martins e Silva (2004) avaliaram a atividade inibidora de Diflubenzuron na edcdisse das larvas de *A. aegypti* e constataram que este IGR apresentou atividade larvicida em todos os estágios, tanto em laboratório quanto em campo, sendo a concentração 1 ppm (parte por milhão) letal para 100% das larvas. Braga e colaboradores (2005a) analisaram o efeito de Methoprene sobre *A. aegypti* em laboratório e registraram grande mortalidade, principalmente em pupas, além de diferentes graus de alterações morfológicas.

Os indivíduos resistentes à exposição aos inseticidas nas concentrações subletais podem apresentar padrões de aptidão inferiores aos observados em populações não expostas. Aspectos como longevidade, fecundidade e fertilidade podem sofrer alterações em decorrência desta exposição, como descrito anteriormente. Desta forma, os efeitos subletais de inseticidas podem ser tão importantes quanto o efeito letal e conhecê-los seria de grande utilidade no desenvolvimento de programas de controle integrados de pragas (ROBERT; OLSON, 1989). É possível fazer inferências sobre alguns dos aspectos fisiológicos de mosquitos, a partir de análises morfométricas comparativas de indivíduos expostos e não expostos ao fator em estudo.

Mudanças genômicas ou ambientais podem ocasionar alterações na estabilidade do desenvolvimento de um indivíduo, reduzindo a homeostase ou aumentando a instabilidade (PARSONS, 1990; MARKOW, 1995). Estressores tais como, temperaturas extremas, densidade larval, poluição química e deficiência nutricional podem aumentar os níveis de assimetria flutuante (AF) em uma população (MPHO; HOLLOWAY; CALLAGHAN, 2001) fornecendo uma medida de instabilidade no desenvolvimento (PARSONS, 1990; PALMER; STROBECK, 1996; MØLLER; SWADDLE, 1997). AF é definida como pequenos desvios aleatórios da simetria perfeita de qualquer caráter de um organismo com simetria bilateral (VAN VALEN, 1962; FLOATE; FOX, 2000; ANTIPIN; IMASHEVA, 2001) e é um parâmetro muito utilizado para estudar variações fenotípicas causadas por um ruído ambiental (LOMÔNACO; GERMANOS, 2001). O grau de assimetria de um organismo serve como uma medida do quanto ele conseguiu tamponar seu desenvolvimento contra condições estressantes (DEL LAMA; GRUBER; GODÓY, 2002). Além disso, AF também chama atenção de estudiosos pelos registros de sua correlação negativa com componentes de aptidão dos indivíduos (MITTON; GRANT, 1984; PALMER; STROBECK, 1986; LEARY; ALLENDORF, 1989; PARSONS, 1990). A relação entre a exposição aos inseticidas, AF e

aptidão de insetos submetidos ao tratamento vem sendo fonte de atenção de vários estudos (MACKENZIE; CLARKE, 1988; CLARKE; RIDSDILL-SMITH, 1990; MPHÓ; HOLLOWAY; CALLAGHAN, 2001; SILVA; MENDES; LOMÔNACO, 2004). Populações de moscas e mosquitos expostas e resistentes a concentrações subletais de inseticidas convencionais podem sofrer aumento no índice de AF (MCKENZIE; CLARKE, 1988; CLARKE; RIDSDILL-SMITH, 1990; MPHÓ; HOLLOWAY; CALLAGHAN, 2001).

Além da AF, outros parâmetros podem ser avaliados para se fazer inferências sobre a aptidão de um indivíduo; entre eles, tamanho e peso. O tamanho de mosquitos adultos pode ser um determinante para fatores tais como, fecundidade, longevidade e frequência de repastos sanguíneos que contribuem para a eficiência da transmissão de um patógeno pelo vetor (SCHNEIDER et al., 2004). Indivíduos expostos a concentrações subletais de inseticidas podem sofrer alterações em seu tamanho (BJORKSTEN, 2000; SILVA; MENDES; LOMÔNACO, 2004; MPHÓ; HOLLOWAY; CALLAGHAN, 2001) e conseqüentemente em sua aptidão, incluindo potencial reprodutivo, longevidade e outros, uma vez que tamanho também está usualmente relacionado à aptidão de um indivíduo.

Devido à importância epidemiológica de *A. aegypti* e às dificuldades encontradas atualmente no controle deste vetor, é necessário buscar alternativas para seu controle, preferentemente menos ou não danosas a organismos não alvos e à saúde humana. Diante do potencial dos IGRs como alternativa de controle deste e de outros insetos de importância médica no Brasil, propôs-se neste estudo investigar a atuação de dois representantes deste grupo de larvicidas, Diflubenzuron e Methoprene, em populações de *A. aegypti* na região de Uberlândia.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

-Verificar a susceptibilidade de *Aedes aegypti* a diferentes concentrações de dois Reguladores de Crescimento de Insetos, Diflubenzuron e Methoprene.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar as concentrações letais destes produtos para 50% e 95% (CL50 e CL95) da população.

- Observar a atuação destes produtos nas formas imaturas de *A. aegypti*.

- Avaliar a atividade residual destes IGRs.

- Verificar os efeitos de concentrações subletais destes produtos na simetria, no tamanho e no peso dos adultos emergidos.

- Obter e comparar dados referentes à fertilidade, fecundidade e longevidade de adultos tolerantes a concentrações subletais destes produtos com dados de indivíduos não expostos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 População de *Aedes aegypti* testada e sua manutenção em laboratório

Foram realizadas colheitas em três bairros da cidade de Uberlândia com auxílio de armadilhas de oviposição (ovitrapas) para obtenção de formas imaturas de *A. aegypti* com a finalidade de manter a colônia em laboratório. A obtenção de oviposturas no campo ocorreu quinzenalmente durante dois anos - fevereiro de 2003 a março de 2005 - e mensalmente durante o restante do ano de 2005 para manutenção da colônia. As ovitrapas constituíram-se de um frasco plástico de cor preta, com cerca de 15cm de diâmetro por 15cm de altura e furos laterais a 5cm da borda, contendo água limpa e uma palheta de Duratex[®] parcialmente mergulhada na água (Figura 1). As armadilhas ficavam expostas no campo por, no máximo, cinco dias e, em seguida, eram recolhidas ao Laboratório de Entomologia do Instituto de Ciências Biomédicas da UFU para verificação da presença de ovos, larvas e/ou pupas. No Laboratório, as palhetas de Duratex[®] eram examinadas com auxílio de microscópio estereoscópico e aquelas que continham ovos de *A. aegypti* eram transferidas individualmente para frascos de vidro transparentes (14cm x 8cm) contendo a mesma água da ovitrapa, porém inicialmente, sem submergir os ovos (Figura 2). Após um período de 48h, tempo necessário para embrionamento dos ovos, estes eram submersos para estimular a eclosão das larvas. Cerca de 30mg de ração para roedores macerada (Nuvilab CR1, Nuvital[®] S/A, Brasil) eram adicionados em cada frasco como fonte de alimentação larval. Os frascos eram cobertos com um pedaço de organza branca presa por um elástico e monitorados até a emergência de adultos (F0). Os imagos eram transferidos para gaiolas entomológicas à medida que emergiam (45cm x 50cm x 50cm).

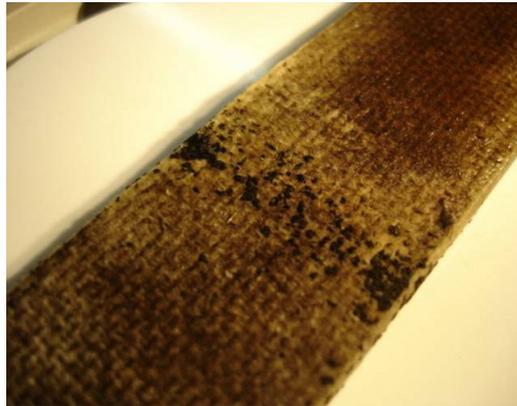
Uma ovitrapa era colocada em cada gaiola com o objetivo de obter oviposturas das fêmeas presentes. A cada três dias, um roedor era acondicionado em uma pequena gaiola

(25cm x 15cm), que, em seguida, era colocada e mantida por cerca de três horas dentro da gaiola contendo os mosquitos adultos, viabilizando o repasto sanguíneo das fêmeas. Também era oferecida *ad libitum* aos adultos uma solução de água com açúcar contida em frascos de plástico, renovada a cada cinco dias. Os ovos obtidos em condições de laboratório foram submetidos aos mesmos procedimentos acima descritos para os ovos provenientes do campo. Os adultos obtidos (geração F1) eram liberados em outras gaiolas e sua progênie (F2) foi utilizada na realização dos testes. Frequentemente eram feitas novas introduções de indivíduos (F1) visando manter a variabilidade genética da colônia mantida em laboratório similar à da população do campo, no decorrer do período em que os experimentos foram realizados.



Figura 1. Ovitampa utilizada para colheita de imaturos de *Aedes aegypti* em campo.

a)



b)



Figura 2. Palheta com ovos de *Aedes aegypti* (a) e frasco de vidro para o qual eram transferidas as palhetas positivas (b).

3.2 Verificação da susceptibilidade de *A. aegypti* aos IGRs Diflubenzuron e Methoprene.

Foram preparadas duas soluções estoques com os respectivos produtos técnicos testados: Diflubenzuron a 99,4%, formulação em pó (Champion Farmoquímico Ltda.) e Methoprene a 94,7%, emulsão concentrada (Novartis Saúde Animal Ltda). Estas soluções foram preparadas a partir da diluição em acetona de uma quantidade dos produtos previamente pesada em balança analítica. A seguir, foram feitas diluições seriadas das soluções em 2L de água destilada, obtendo-se as concentrações desejadas dos produtos em partes por bilhão (ppb). As concentrações utilizadas para Diflubenzuron foram: 2; 3; 3,5; 5; 10; 15 e 20 ppb e as concentrações utilizadas para Methoprene foram: 5; 10; 15; 20; 25; 30; 35; 45; 70; 100, 200 e 300 ppb. As concentrações inicialmente testadas foram definidas a partir de informações obtidas na literatura. As demais foram definidas a partir dos resultados obtidos quanto ao grau de susceptibilidade às concentrações precedentes até a obtenção de 100% de mortalidade. Foram montadas seis réplicas para cada concentração e produto em frascos de vidro contendo 250mL da solução e transferidas 20 larvas de quarto estágio para cada um dos frascos. Os frascos controles tinham o mesmo número de réplicas e larvas do grupo tratado e continham somente água destilada e as respectivas quantidades de acetona adicionadas aos frascos contendo a solução de IGR. Em seguida, 30mg de ração para roedores previamente macerada foram adicionados em cada um dos frascos. Estes eram cobertos com um pedaço de organza fixo por um elástico e transferidos para uma estufa para B.O.D. à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ de umidade relativa e fotoperíodo 12:12h. Os indivíduos foram acompanhados diariamente até a emergência de adultos ou morte de todos os indivíduos.

3.3 Determinação das CL50 e CL95 dos produtos para a população de *A. aegypti*.

Para o cálculo das concentrações letais de Diflubenzuron e Methoprene para 50% e 95% da população de mosquitos (CL50 e CL95) foi utilizada a análise de regressão de Probit (FINNEY, 1971) com o emprego do software Minitab[®] realize 14 for Windows.

3.4 Verificação do efeito de Diflubenzuron e Methoprene nas formas imaturas de *A. aegypti*.

Para realização deste experimento, foram escolhidas concentrações subletais próximas às CL95 de cada produto. Foram utilizadas larvas recém-eclodidas (até 2h de vida), larvas com 24, 48, 72 (quarto estágio recente), 96, 120, 144h e pupas com até 24h de idade. Para cada tempo de desenvolvimento, 20 imaturos foram adicionados a cada um dos frascos de vidro contendo 250mL da solução com a concentração testada (grupo tratado) ou contendo somente água destilada e a mesma quantidade de acetona utilizada como solvente nas respectivas concentrações (grupo controle). Foram utilizadas seis réplicas e duas repetições para cada produto. Os indivíduos foram acompanhados diariamente até a emergência de adultos ou morte de todos os indivíduos.

3.5 Avaliação da atividade residual de Diflubenzuron e Methoprene.

Para avaliação do efeito residual de Diflubenzuron e Methoprene, foram utilizadas duas formulações de cada produto: a formulação técnica com grau de pureza já mencionados anteriormente e a formulação comercial, Difly[®] 25% i.a., pó (Diflubenzuron) e Altosid XR-G[®] 1,5% i.a., grânulos (Methoprene). Acetona foi utilizada como diluente na preparação das soluções estoques elaboradas com os produtos técnicos, enquanto as soluções estoques originárias dos produtos nas suas respectivas formulações comerciais foram diluídas diretamente em água destilada. Para cada produto e formulação, 20 larvas em início de quarto

estádio foram transferidas para 1L de solução aquosa com concentrações próximas às CL95 de cada produto, contida em frascos plásticos com capacidade para 1,5L. Foram utilizadas seis réplicas dos grupos tratados e controles para cada produto e formulação. Os indivíduos foram mantidos em estufa a $25 \pm 1^\circ \text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de umidade. Após a emergência de todos os adultos nos grupos controles, fato que ocorria em média uma semana após a introdução das larvas, novas baterias de 20 larvas de quarto estágio eram transferidas para cada frasco. Larvas e/ou pupas remanescentes nos frascos do grupo tratado, no momento da transferência do novo grupo de larvas, eram descartadas antes da introdução, consideradas inviáveis e registradas como mortas (NAYAR; ALI; ZAIM, 2002). A introdução de novos grupos de larvas foi encerrada quando a emergência de imagos nos grupos tratados se mostrou similar à dos grupos controles.

3.6 Verificação do efeito dos IGRs na simetria e tamanho dos adultos sobreviventes às concentrações subletais.

Foram utilizados para a análise morfométrica, mosquitos adultos sobreviventes às diferentes concentrações subletais de Diflubenzuron e Methoprene testadas para determinar os parâmetros CL50 e CL95. Os indivíduos foram separados por sexo e tiveram suas asas direita e esquerda removidas e montadas entre lâmina e lamínula. Foram utilizados 30 indivíduos - 15 machos e 15 fêmeas sobreviventes às concentrações: 2, 3 e 3,5 ppb de Diflubenzuron e o mesmo número de indivíduos sobreviventes às concentrações: 5, 10 e 20 ppb de Methoprene, totalizando 90 indivíduos utilizados para cada IGR. Foram também escolhidos aleatoriamente, cinco indivíduos pertencentes aos grupos controles de cada concentração totalizando 15 machos e 15 fêmeas para cada IGR. Cada asa foi fotografada individualmente utilizando uma câmera digital DP70 com resolução de 12 megapixels acoplada a um microscópio Olympus com a objetiva de 4x. Em seguida, cada imagem foi ampliada e arquivada num aumento de

20x. Foram definidos quatro pontos para a medição de duas distâncias entre eles (Figura 3): **Medida A** = distância entre ponto de bifurcação da nervura CuA em CuA₁ e CuA₂ até a extremidade da nervura R₄₊₅ na margem da asa; **Medida B** = distância entre ponto de encontro da extremidade distal da nervura R₁ na costa até extremidade da CuA₁ na margem da asa. Cada medida foi efetuada três vezes com auxílio do programa de análise e processamento de imagens, Image J 1.35 S. Os valores obtidos na repetição das medidas foram utilizados para determinar a dimensão do erro nas medições.

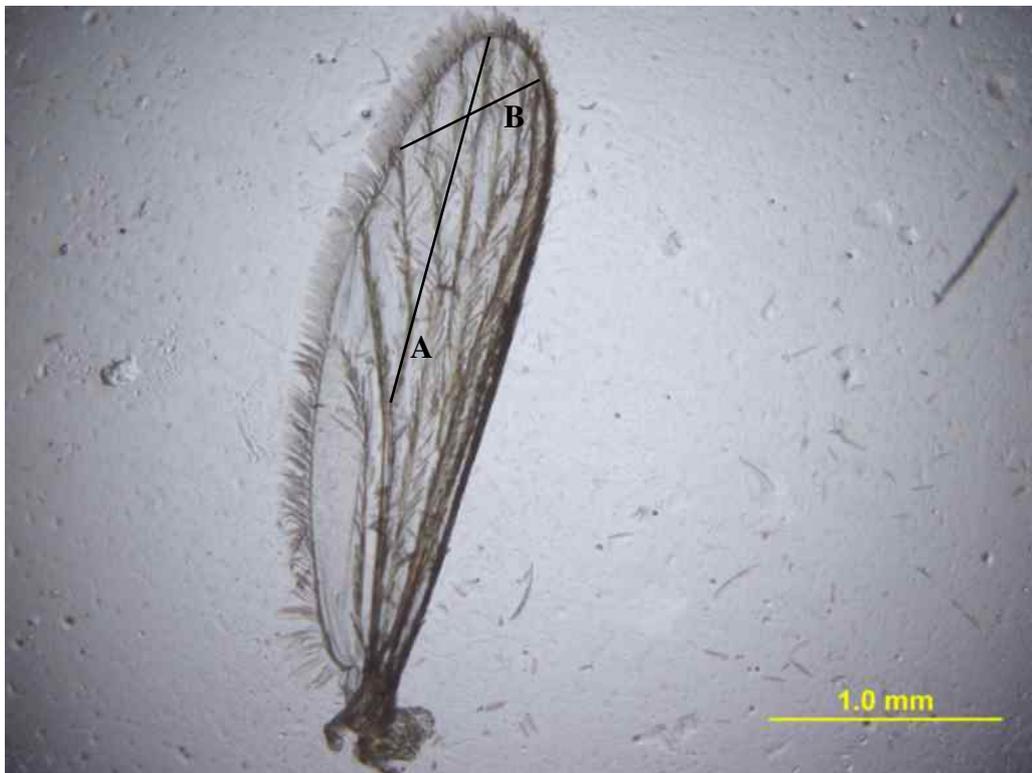


Figura 3. Asa direita de uma fêmea de *Aedes aegypti* mostrando as distâncias medidas para cálculo da assimetria flutuante e do tamanho dos indivíduos pertencentes aos grupos expostos ao Diflubenzuron e Methoprene e aos respectivos grupos controles.

As diferenças entre as medidas dos lados direito e esquerdo foram consideradas para se avaliar a ocorrência de assimetria flutuante (AF) que foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula: $[(\sum |D - E|)/n]$. Primeiramente, utilizou-se uma análise de variância de dois fatores (ANOVA) para determinar se a variação entre os dois lados era significativamente maior que o erro das medidas (WOODS; HERCUS; HOFFMANN, 1998; PERFECTTI; CAMACHO, 1999). Como os erros mostraram-se insignificantes para ambas as medidas nos indivíduos expostos aos dois IGRs e respectivos controles, ou seja, houve interação significativa lado x repetição, decidiu-se utilizar o valor da primeira medida nas análises subsequentes (Diflubenzuron - Medida A: $F = 1965,91$, $p < 0,001$; Medida B: $F = 49,93$, $p < 0,001$; Methoprene - Medida A: $F = 114,19$, $p < 0,001$; Medida B: $F = 353,77$, $p < 0,001$). De acordo com Palmer e Strobeck (1986), faz-se necessário a distinção entre AF e assimetria direcional, que é a tendência do maior desenvolvimento de um dos lados. Para descartar a ocorrência de assimetria direcional, aplicou-se o teste-t para verificar se a distribuição das médias do lado direito menos o esquerdo (DE) não diferiam de zero. Segundo estes mesmos autores, a ocorrência de antissimetria, definida como uma diferença significativa entre os lados onde o lado maior é distribuído aleatoriamente dentro de uma amostra, é testada utilizando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov, ou seja, verificando-se o ajuste da distribuição DE a uma curva normal. A correlação entre assimetria e tamanho também foi verificada utilizando-se a análise de correlação de Pearson. Quando esta relação de dependência é encontrada, deve-se obter uma medida relativa de AF que é feita dividindo-se o valor de AF pela medida do caráter de um dos lados (PALMER; STROBECK, 1986; EGGERT; SAKALUK, 1994). Finalmente, optou-se por utilizar o teste de Kruskal-Wallis para verificar se havia diferenças nos níveis de AF entre os tratamentos.

A análise multivariada de Componentes Principais foi utilizada para verificar a natureza e a magnitude das variações nas características morfológicas. Estimou-se um índice

geral de tamanho a partir da matriz de correlação dos caracteres originais. Os caracteres usados para obtenção dos escores do primeiro componente foram aqueles correlacionados significativamente - medidas A e B da asa direita. Na análise morfológica, o primeiro componente é interpretado como uma representação de tamanho (MANLY, 1994). Diferenças de tamanho entre os grupos tratados e controles foram averiguadas pelo teste de Kruskal-Wallis, uma vez que os escores obtidos não apresentaram distribuição normal.

3.7 Averiguação do efeito dos IGRs no peso, na fecundidade, fertilidade e longevidade de *A. aegypti*

Larvas de quarto estágio foram expostas a uma concentração próxima às CL50 dos dois IGRs: Diflubenzuron em sua formulação técnica e Methoprene na formulação comercial. Os adultos sobreviventes foram liberados em gaiolas entomológicas (45cm x 50cm x 50cm) na razão sexual de 1:1 - 12 machos e 12 fêmeas em cada gaiola. As fêmeas foram pesadas individualmente após a emergência e antes de serem liberadas nas gaiolas. Machos e fêmeas foram mantidos juntos por um período médio de cinco dias, quando então foi colocado um roedor dentro de cada gaiola por 8h para repasto sanguíneo das fêmeas. Dois dias após a retirada do roedor, as fêmeas presentes em cada gaiola foram recontadas e duas ovitrampas foram colocadas e deixadas por 48h em cada gaiola. A fecundidade foi calculada por meio do número médio de ovos produzidos por fêmea neste período. As gaiolas contendo os adultos foram mantidas dentro do laboratório em temperatura ambiente. Os ovos foram armazenados por sete dias em estufa a $25 \pm 1^\circ \text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de umidade e a fertilidade foi calculada a partir da proporção de ovos viáveis que resultaram em eclosão de larvas até 24h após submersão. Os estudos de fecundidade e fertilidade também foram realizados utilizando-se seis réplicas para cada grupo e produto. Após a retirada das ovitrampas, machos e fêmeas expostos aos produtos foram recontados e transferidos para uma única gaiola. O mesmo aconteceu com os

indivíduos do grupo controle. A longevidade foi determinada a partir do registro diário de mortalidade em cada gaiola desde a emergência dos imagos. O único alimento oferecido aos adultos após a obtenção dos dados referentes à sua fecundidade e fertilidade foi uma solução de água com açúcar, renovada a cada cinco dias até a morte de todos os indivíduos.

Os pesos das fêmeas dos grupos tratados e controles foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis. Para análise dos dados referentes à fecundidade, as médias de ovos por fêmea obtidas em cada gaiola (réplicas) foram transformadas para Log_{10} e, em seguida, submetidas ao teste-t. Nos testes de comparação de fertilidade, as proporções de larvas eclodidas dos ovos foram transformadas para arco-seno e, em seguida, também foram submetidas ao teste-t. Os dados referentes à longevidade também foram transformados para Log_{10} e submetidos à análise de variância (ANOVA). Os procedimentos estatísticos foram realizados usando o pacote estatístico SYSTAT for Windows, versão 10.2 (2002). O nível de significância adotado para todas as análises foi igual a 0,05.

3.8 Normas de Biossegurança

Todos os procedimentos laboratoriais referentes à manipulação dos agentes químicos (larvicidas e acetona), bem como dos mosquitos em todos os seus estágios de desenvolvimento seguiram as normas de biossegurança descritas por Chaves-Borges e Mineo (1997).

4 RESULTADOS

As percentagens de emergência de adultos obtidas nos grupos controles ficaram próximas de 90% em todos os testes e foram utilizadas para correção da mortalidade dos grupos tratados de acordo com Abbott (1925).

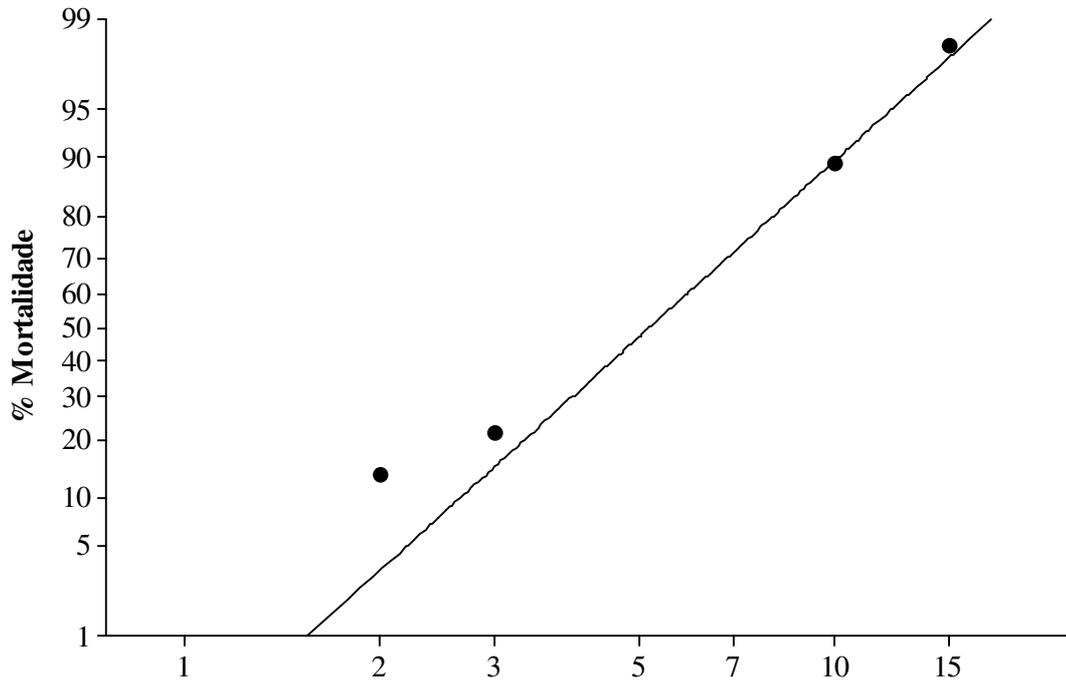
Observou-se que *A. aegypti* mostrou distinta susceptibilidade aos dois IGRs. Após análise de resíduos das retas geradas preliminarmente pela regressão probítica, dois pontos de cada reta foram descartados e os testes de Pearson e Deviance indicaram um melhor ajuste dos pontos de Diflubenzuron ($p = 0,777$; $p = 0,656$) e Methoprene ($p = 0,373$; $p = 0,422$) às respectivas retas preditas (Figura 4). Foram observadas diferenças significativas entre as inclinações das retas dos dois IGRs ($p < 0,001$). Os valores das CL50 e CL95 dos dois produtos e seus respectivos intervalos de confiança, assim como os valores de inclinação das retas são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Concentrações letais de Diflubenzuron e Methoprene para 50% e 95% (CL50 e CL95) da população de *Aedes aegypti* exposta em Uberlândia - MG.

IGR	CL50 (ppb)	IC - 95%	CL95 (ppb)	IC - 95%	Inclinação da reta (b)
Diflubenzuron	5,19	4,59 - 5,79	12,24	10,77 - 14,30	$1,91 \pm 0,15$
Methoprene	19,95	18,39 - 21,54	72,08	62,85 - 85,29	$1,28 \pm 0,08$

ppb = partes por bilhão; IC = Intervalo de Confiança.

a)



b)

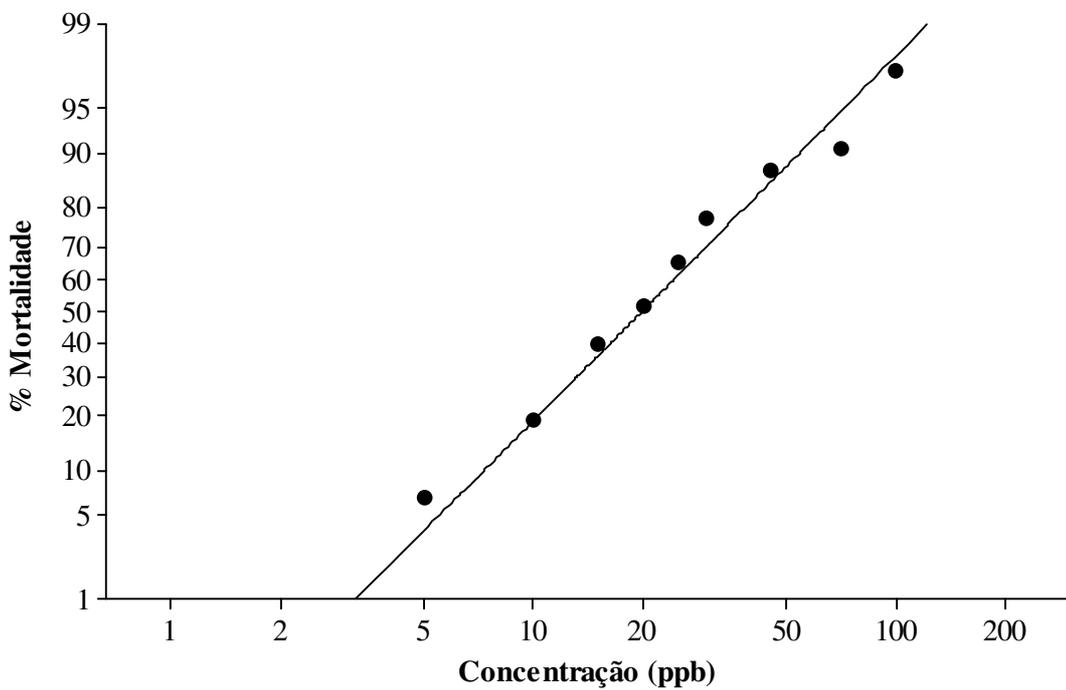


Figura 4. Mortalidade de *Aedes aegypti* sob ação de diferentes concentrações de Diflubenzuron (a) e Methoprene (b) em Uberlândia - MG.

Enquanto as maiores concentrações de Diflubenzuron causaram mortalidade nos mosquitos principalmente nas primeiras 48h de exposição, as menores concentrações, 2 e 3 ppb promoveram menor mortalidade e de forma mais lenta (Tabela 2). Parte das larvas expostas a este IGR prolongou seu desenvolvimento por vários dias e morreu somente quando todos os indivíduos do grupo controle já haviam emergido. Uma pequena quantidade de indivíduos (0,7%) emergiu de forma incompleta e morreu presa à exúvia.

Tabela 2. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* a diferentes concentrações de Diflubenzuron em Uberlândia – MG.

Concentração (ppb)	n	Mortalidade (%)	
		Grupo controle	Grupo tratado *
2	120	5,0	8,7
3	120	9,0	13,9
3,5	120	7,5	64,8
5	120	9,2	82,6
10	120	12,5	87,6
15	120	10,0	98,1
20	120	8,3	100,0

* Valores de mortalidade ajustados segundo Abbott (1925).

Methoprene causou 100% de mortalidade na concentração de 300 ppb (Tabela 3) e em todas as concentrações testadas a mortalidade ocorreu principalmente durante o período de pupa. Uma pequena parte de imagos (3,6%) que ficou presa à exúvia no momento da emergência, também foi considerada inviável e somada aos indivíduos que morreram no estágio de pupa.

Tabela 3. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* a diferentes concentrações de Methoprene em Uberlândia – MG.

Concentração (ppb)	n	Mortalidade (%)	
		Grupo controle	Grupo tratado *
5	120	0,8	5,9
10	120	0,8	18,5
15	120	2,5	38,5
20	120	5,8	48,7
25	120	7,5	63,0
30	120	5,8	76,1
35	120	2,5	84,6
45	120	6,7	86,6
70	120	5,0	90,3
100	120	9,2	97,2
200	120	3,8	99,2
300	120	8,5	100,0

* Valores de mortalidade ajustados segundo Abbott (1925).

O efeito dos IGRs nos diferentes tempos de desenvolvimento de *A. aegypti* mostrou-se distinto para os dois produtos. A concentração letal próxima a 95% de Diflubenzuron, 10 ppb, promoveu alta mortalidade sobre larvas de todas as idades e estádios (Tabela 4). Quase todas as larvas acima de 72h de idade (início de quarto estágio) expostas a este IGR morreram num período de 48h. Sua ação em larvas de quarto estágio mais velhas (acima de 72h) promoveu mortalidade principalmente durante a forma intermediária entre larva e pupa (larva-pupa). As larvas mortas geralmente permaneciam presas à cutícula precedente e o abdome permanecia com formato similar ao das larvas naqueles indivíduos que morriam apresentando a forma intermediária de larva-pupa.

Methoprene causou maior mortalidade quando as larvas de *A. aegypti* foram expostas a este IGR a partir de 72h de idade (Tabela 4) e as mortes ocorreram principalmente quando elas alcançaram a fase de pupa recém formada (pupas brancas). Aquelas larvas expostas com menor tempo de desenvolvimento apresentaram menor mortalidade (Tabela 4) e as mortes

ocorreram principalmente quando as pupas estavam mais velhas e mais pigmentadas. Dentre as aberrações morfológicas apresentadas pelos indivíduos mortos estão a ocorrência de intermediários larva-pupa e pupa-adulto, pupas desmelanizadas com abdome semelhante ao das larvas e adultos incompletamente emergidos.

Os indivíduos expostos ao Diflubenzuron e Methoprene durante o estágio de pupa mostraram-se tolerantes aos dois IGRs (Tabela 4).

Tabela 4. Susceptibilidade de imaturos de *Aedes aegypti* de diferentes idades ao Diflubenzuron e Methoprene em Uberlândia, MG.

IGRs	Diflubenzuron 10 ppb		Methoprene 70 ppb	
	Mortalidade (%)		Mortalidade (%)	
Tempo de desenvolvimento (horas)	Grupo Controle	Grupo Tratado*	Grupo Controle	Grupo Tratado*
≤ 2	8,9	96,8	7,6	75,6
24	3,3	99,6	4,6	39,3
48	9,7	99,6	2,9	55,8
72	3,3	97,4	2,1	90,7
96	0,8	98,4	0,4	91,3
120	11,2	98,2	1,7	100,0
144	7,9	86,4	2,1	98,3
Pupas	2,2	0,0	1,7	1,3

*Valores de mortalidade ajustados segundo Abbott (1925).

As concentrações próximas às CL95 das formulações técnica e comercial de Diflubenzuron (10 ppb) e Methoprene (70 ppb) apresentaram variações em sua atividade residual a partir da segunda semana de exposição das larvas (Figura 5). As formulações comerciais (Fc) dos dois IGRs apresentaram maior efeito residual que suas respectivas formulações técnicas (Ft) e as diferenças entre as formulações foram observadas a partir de uma semana (Figura 5). A mortalidade provocada pelas Ft dos IGRs ficou próxima à dos

grupos controles três semanas após o início dos ensaios e uma semana antes que suas respectivas Fc. A redução no efeito residual das duas formulações de Diflubenzuron e Methoprene induziu mortalidade mais lentamente, fato também observado nos testes de susceptibilidade nas menores concentrações utilizadas.

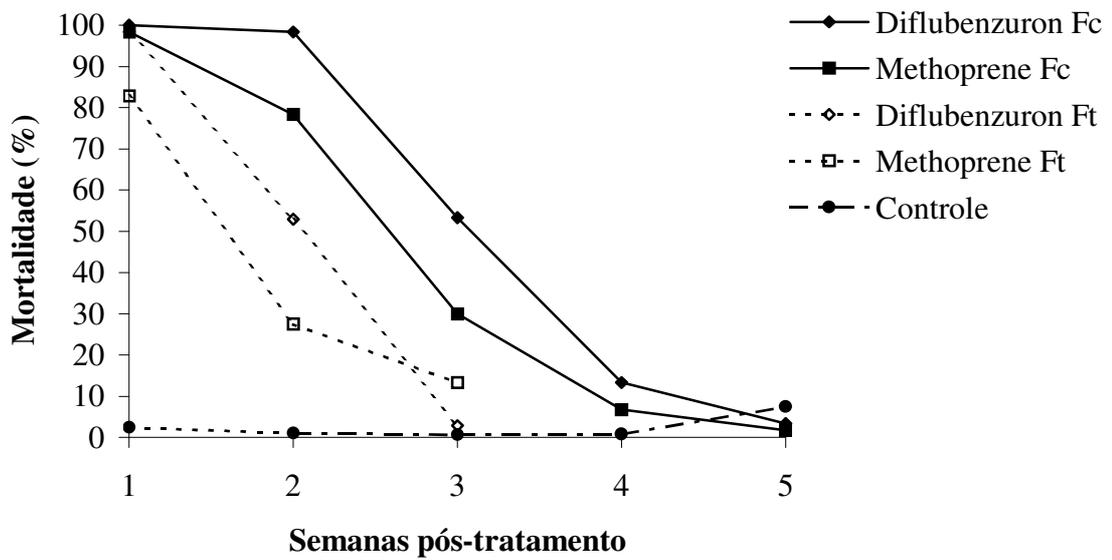


Figura 5. Mortalidade de *Aedes aegypti* decorrente do efeito residual de Diflubenzuron e Methoprene nas concentrações de 10 e 70 ppb, respectivamente em Uberlândia, MG. Fc = Formulação comercial; Ft = formulação técnica.

A Tabela 5 apresenta os valores médios e desvios-padrões da diferença de medidas dos lados direito e esquerdo (DE), assim como os resultados dos testes de assimetria direcional, antissimetria e correlação da assimetria com tamanho observados nas asas de *A. aegypti*.

Tabela 5. Resultados dos testes de assimetria direcional, antissimetria e correlação da assimetria com tamanho em dois caracteres de *Aedes aegypti* para Diflubenzuron e Methoprene.

IGR	Média DE \pm DP (n) [*]	Assimetria direcional		Antissimetria		Correlação de assimetria com tamanho	
		t	P	Dif. _{máx}	P	r	P
Diflubenzuron							
Medida de asa A	0,001 \pm 0,005 (116)	2,982	0,003	0,497	< 0,001	- 0,017	0,858
Medida de asa B	0,002 \pm 0,010 (116)	1,663	0,099	0,486	< 0,001	- 0,112	0,232
Methoprene							
Medida de asa A	0,000 \pm 0,004 (107)	0,585	0,560	0,496	< 0,001	0,029	0,766
Medida de asa B	0,003 \pm 0,012 (107)	2,655	0,009	0,493	< 0,001	0,146	0,133

*DE = valor direito - valor esquerdo; DP = desvio-padrão; n = número de indivíduos.

As medidas de asa A dos indivíduos tratados com Diflubenzuron e B daqueles tratados com Methoprene foram omitidas das análises subsequentes, uma vez que o teste-t indicou ocorrência de assimetria direcional (Tabela 5). Verificou-se com o teste de Kolmogorov-Smirnov que as medidas de assimetria não se ajustaram à distribuição normal. Diante disso, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis para comparar os níveis de AF entre os grupos tratados e controles. Nas duas medidas analisadas - B de Diflubenzuron e A de Methoprene - o teste demonstrou não haver diferença significativa nos níveis de AF entre os sexos ($p = 0,151$ e $p = 0,408$). Apenas a medida de asa B dos indivíduos do grupo tratado com Diflubenzuron mostrou diferença nos níveis de AF entre as diferentes concentrações ($p = 0,028$). O teste “a

posteriori” de Tukey (ZAR, 1984) indicou que os indivíduos tratados com Diflubenzuron eram significativamente mais assimétricos que os não tratados (Figura 6).

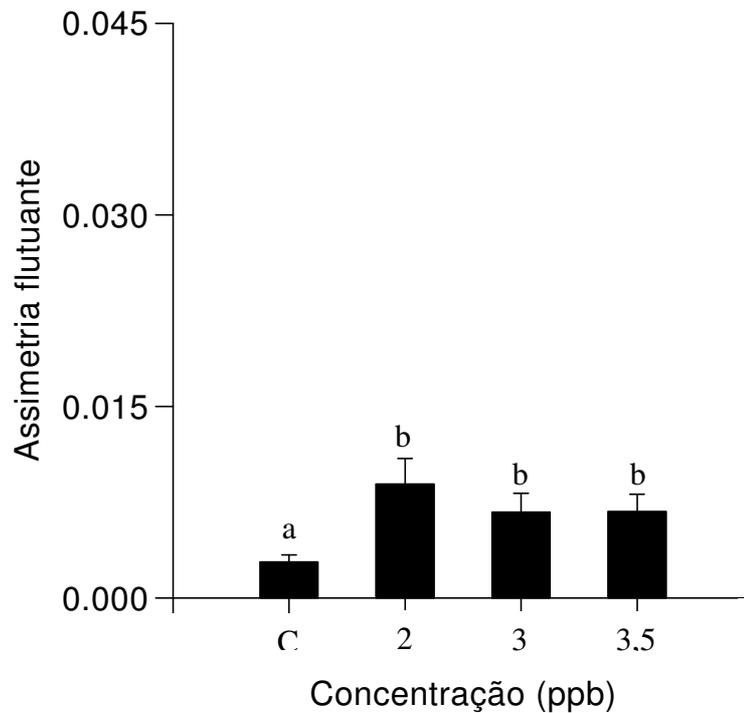


Figura 6. Níveis de assimetria flutuante observados em *Aedes aegypti* sobreviventes às diferentes concentrações de Diflubenzuron e dos controles (C). Diferenças significativas entre os grupos são indicadas por letras diferentes. As barras acima das colunas referem-se ao erro-padrão.

Na análise de Componentes Principais, o primeiro componente, que está relacionado aos eixos que exibem maior variância entre os indivíduos, explicou 97,92% da variância total observada nos indivíduos tratados com Diflubenzuron e 97,03% naqueles tratados com Methoprene (Tabela 6). A análise de Kruskal-Wallis não indicou diferenças de tamanho entre os mosquitos expostos às diferentes concentrações de ambos IGRs e controles. Já entre os sexos, observou-se que machos mostraram-se significativamente menores que as fêmeas independentemente de tratados ou não com Diflubenzuron ($\chi^2 = 86,154$; $p < 0,001$) e Methoprene ($\chi^2 = 56,515$; $p < 0,001$).

Tabela 6. Componentes principais extraídos da matriz de correlação fenotípica dos dois caracteres morfológicos medidos em machos e fêmeas de *Aedes aegypti* usando análise de Componentes Principais.

IGR	Primeiro componente
Diflubenzuron	
Medida de asa A	0,990
Medida de asa B	0,990
Total da variância explicada (%)	97,92
Methoprene	
Medida de asa A	0,985
Medida de asa B	0,985
Total da variância explicada (%)	97,03

O peso médio das fêmeas tratadas com Diflubenzuron foi $1,876 \pm 0,453$ mg e o das fêmeas do grupo controle foi $1,838 \pm 0,416$ mg. Não se observou diferença significativa entre os pesos dos dois grupos ($p > 0,05$). As fêmeas tratadas com Methoprene pesaram em média $1,871 \pm 0,334$ mg e as do grupo controle pesaram $1,973 \pm 0,381$ mg. Considerando que o peso das fêmeas tratadas com Methoprene foi menor que o das não tratadas ao nível de confiança de 94,5%, esta diferença entre os dois grupos será aqui considerada significativa.

Os resultados encontrados referentes à fecundidade - número médio de ovos por fêmea - e fertilidade - proporção de larvas eclodidas destes ovos - das fêmeas de *A. aegypti* sobreviventes à concentração 3 ppb de Diflubenzuron e 20 ppb de Methoprene estão demonstrados nas Tabelas 7 e 8, respectivamente. Observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre a fecundidade ($p = 0,338$) e fertilidade ($p = 0,657$) das fêmeas do grupo tratado com Diflubenzuron com a fecundidade e fertilidade obtidas daquelas do grupo controle. Também não foram encontradas diferenças significativas entre fecundidade ($p = 0,294$) e fertilidade ($p = 0,138$) das fêmeas tratadas com Methoprene com os resultados obtidos do grupo controle.

Tabela 7. Fecundidade e fertilidade de fêmeas de *Aedes aegypti* expostas durante o quarto estágio larval à concentração 3 ppb de Diflubenzuron em Uberlândia, MG.

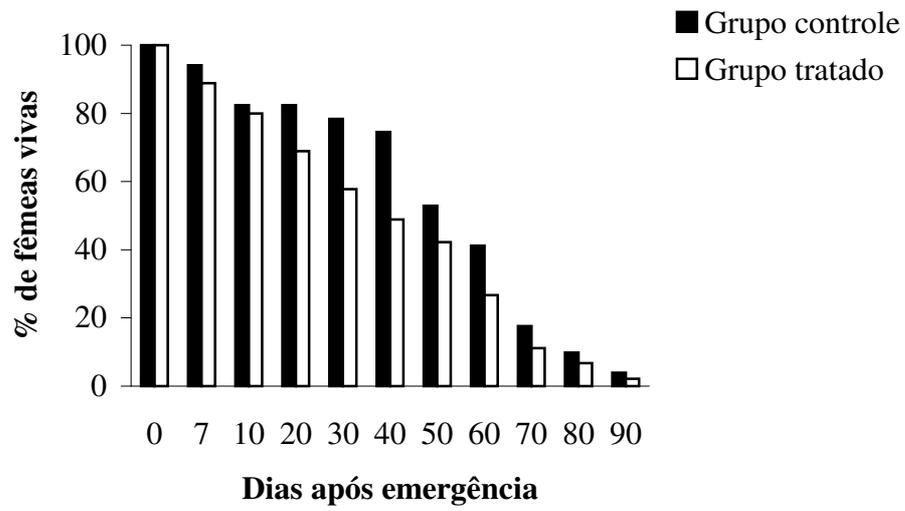
Grupo controle					Grupo tratado				
Gaiola	Número de fêmeas	Número de ovos	Média de ovos/fêmea (\pm DP)	Número de larvas eclodidas (%)	Gaiola	Número de fêmeas	Número de ovos	Média de ovos/fêmea (\pm DP)	Número de larvas eclodidas (%)
1	4	99	24,7	79 (79,8)	1	7	264	37,7	231 (87,5)
2	7	126	18,0	85 (67,5)	2	7	111	15,9	72 (64,9)
3	12	92	7,7	90 (97,8)	3	11	71	6,4	58 (81,7)
4	5	106	21,2	87 (82,1)	4	2	66	33,0	57 (86,4)
5	10	14	1,4	11 (78,6)	5	6	110	18,3	99 (90,0)
6	8	291	36,4	196 (67,3)	6	5	252	50,4	218 (86,5)
Total	46	728	18,2 (\pm 12,4)	548 (75,3)	Total	38	874	26,9 (\pm 16,2)	735 (84,1)

Tabela 8. Fecundidade e fertilidade de fêmeas de *Aedes aegypti* expostas durante o quarto estágio larval à concentração 20 ppb de Methoprene em Uberlândia, MG.

Grupo controle					Grupo tratado				
Gaiola	Número de fêmeas	Número de ovos	Média de ovos/fêmea (\pm DP)	Número de larvas eclodidas (%)	Gaiola	Número de fêmeas	Número de ovos	Média de ovos/fêmea (\pm DP)	Número de larvas eclodidas (%)
1	9	36	4,0	28 (77,8)	1	10	53	5,3	31 (58,5)
2	10	166	16,6	117 (70,5)	2	7	72	10,3	53 (73,6)
3	2	91	45,5	78 (85,7)	3	3	93	31,0	75 (80,6)
4	9	437	48,5	280 (64,1)	4	6	101	16,8	7 (6,9)
5	12	431	35,9	282 (65,4)	5	8	35	4,4	5 (14,3)
6	9	224	24,9	134 (59,8)	6	2	66	33,0	39 (59,1)
Total	51	1385	29,2 (\pm 17,3)	919 (66,4)	Total	36	420	16,8 (\pm 12,6)	210 (50,0)

A longevidade de machos e fêmeas de *A. aegypti* expostos às concentrações subletais 3 ppb de Diflubenzuron e 20 ppb de Methoprene durante o quarto estágio larval é mostrada nas Figuras 7 e 8, respectivamente. No experimento com Diflubenzuron, as fêmeas do grupo controle viveram em média $49,2 \pm 24,8$ dias, enquanto as expostas a este IGR viveram $39,1 \pm 26,0$ dias. Já os machos submetidos ao tratamento viveram em média $21,9 \pm 15,3$ dias, enquanto os não tratados viveram $26,4 \pm 15,3$ dias. Observou-se que machos e fêmeas do grupo tratado viveram menos que machos e fêmeas do grupo controle ($p < 0,05$) e que dentro dos grupos tratados e controles, machos viveram menos que fêmeas ($p < 0,001$). No experimento com Methoprene foi observada situação similar. As fêmeas tratadas viveram em média $28,9 \pm 26,2$ dias, enquanto as do grupo controle viveram $49,5 \pm 23,9$ dias. Já os machos submetidos ao tratamento com este IGR viveram $24,9 \pm 18,8$ dias e os pertencentes ao grupo controle, $35,3 \pm 20,6$ dias. Também aqui se observou menor longevidade de adultos do grupo tratado em relação aos do grupo controle ($p < 0,001$) e menor longevidade de machos em relação às fêmeas em ambos os grupos ($p < 0,05$).

a)



b)

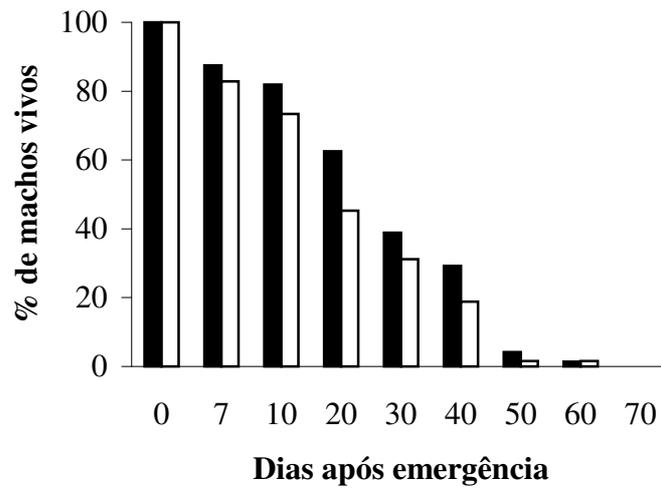
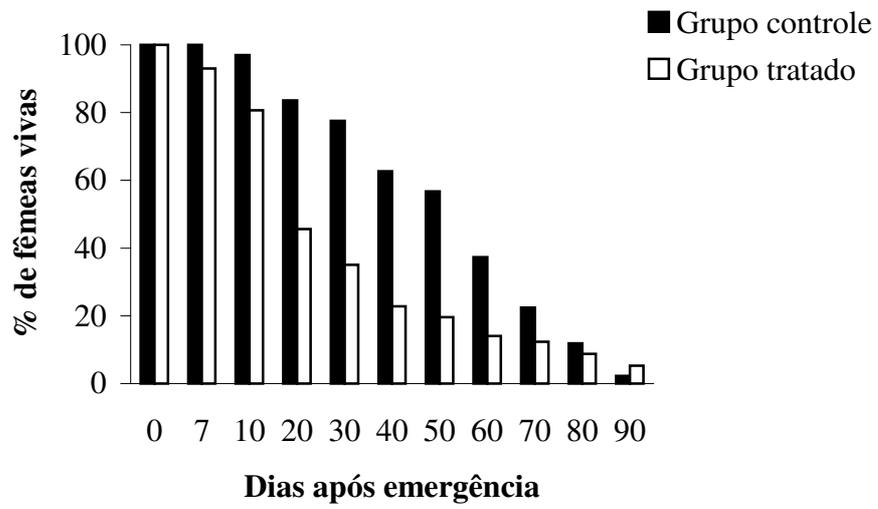


Figura 7. Longevidade de fêmeas (a) e machos (b) de *Aedes aegypti* expostos durante o quarto estágio larval à concentração 3 ppb de Diflubenzuron.

a)



b)

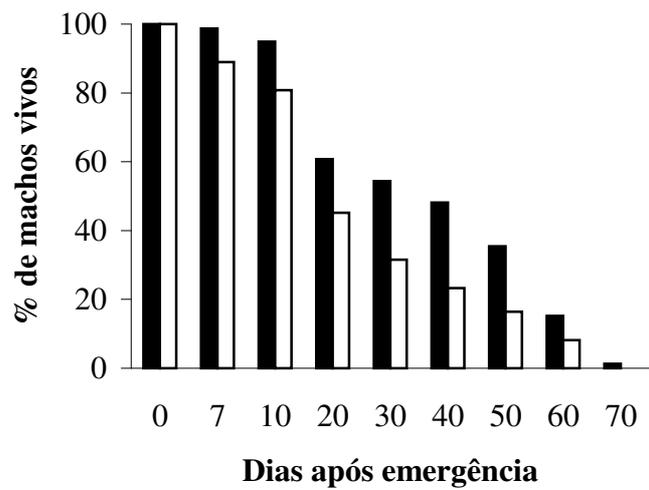


Figura 8. Longevidade de fêmeas (a) e machos (b) de *Aedes aegypti* expostos durante o quarto estágio larval à concentração 20 ppb de Methoprene.

5 DISCUSSÃO

Os resultados da análise de regressão probítica indicam que a susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos IGRs, Diflubenzuron e Methoprene é concentração-dependente, concordando com outros estudos realizados com IGRs em diferentes países (PHONCHEVIN et al., 1985; DORTA et al., 1989; MULLA et al., 2003). A redução na atividade residual ao longo do tempo está relacionada com a redução nas concentrações dos ingredientes ativos dos IGRs no meio (EXTOXNET, 2000). Nesse sentido, os dados obtidos no experimento de poder residual também confirmam essa relação concentração-dependente.

Os valores das CL50 e CL95 de Diflubenzuron aqui obtidos estão dentro do intervalo de variação observado para este inibidor de síntese de quitina em trabalhos realizados em outros países (DORTA et al., 1989; FOURNET; SANNIER; MONTENY, 1993). No entanto, as concentrações obtidas para Methoprene são maiores que aquelas usualmente registradas em outros locais (PHONCHEVIN et al., 1985; SAWBY; KLOWDEN; SJOGREN, 1992; O'DONNELL; KLOWDEN, 1997; RITCHIE; ASNICAR; KAY, 1997; WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2001), incluindo resultados obtidos no Rio de Janeiro utilizando uma cepa reconhecidamente susceptível a este IGR (BRAGA et al., 2005a). Diferenças nas características da água e dos recipientes utilizados nos experimentos, assim como temperatura e umidade nos quais os estudos são desenvolvidos podem ter influenciado os resultados (LIMA; MELO; VALLE, 2005). Outros aspectos tais como, estágio larval utilizado para realizar os testes, critérios adotados para definir indivíduos inviáveis (PHONCHEVIN et al., 1985; FOURNET; SANNIER; MONTENY, 1993; BRAGA et al., 2005a) e utilização de diferentes formulações do IGR também podem explicar parcialmente algumas diferenças nos resultados obtidos em diferentes estudos (MULLA et al., 1989). Além disso, avaliações em campo geralmente mostram diferenças nos valores dos parâmetros de susceptibilidade, quando comparadas àquelas obtidas sob condições de laboratório (NAYAR; ALI; ZAIM,

2002; MARTINS; SILVA, 2004). No entanto, diferenças na metodologia aqui adotadas não são suficientes para explicar a disparidade nos resultados. Desta forma, os valores de CL50 e CL95 maiores que os observados na literatura podem ser atribuídos a uma relativa tolerância natural da população de *A. aegypti* de Uberlândia ao Methoprene.

Resistência de outras espécies de *Aedes* ao Methoprene tem sido observada em alguns países onde o controle com este IGR vem sendo realizado há alguns anos (DAME; WICHTERMAN; HORNBY, 1998; CORNEL et al., 2000). No Brasil, o desenvolvimento de resistência-cruzada entre este IGR e o organofosforado Temephos foi descrita após exposição seqüencial em laboratório de diferentes populações de *A. aegypti* a estes dois produtos (BRAGA et al., 2005b). Contudo, os resultados observados por estes autores mostraram razões de resistência ao Methoprene que não inviabilizariam o uso deste produto para o controle das populações de *A. aegypti* resistentes ao organofosforado em algumas localidades do Brasil. Deve-se ressaltar ainda que Methoprene não é utilizado rotineiramente para o controle de *A. aegypti* em Uberlândia. Portanto, este vetor não estaria sofrendo pressão seletiva de resistência a este IGR. Por outro lado, devido ao fato deste mosquito ter sido submetido à pressão induzida por Temephos em Uberlândia, a expressão de um mecanismo de tolerância cruzada ao Methoprene poderia explicar as CLs aqui obtidas para este IGR. De qualquer forma, estudos mais detalhados devem ser realizados para melhor investigar esta suposição.

A maioria dos efeitos e anormalidades observados nos indivíduos expostos ao Diflubenzuron neste trabalho também tem sido descrita em outros estudos como resultado da exposição de mosquitos ao Diflubenzuron e a outros compostos inibidores de síntese de quitina (GROSSCURT, 1978; VAZUKI; RAJAVEL, 1992; MULLA, 1995; MULLA et al., 2003; SU; MULLA; ZAIM, 2003; MARTINS; SILVA, 2004). Estes efeitos se devem, provavelmente, à interferência de Diflubenzuron sobre a síntese e/ou a deposição de quitina

no decorrer do desenvolvimento do mosquito. As larvas tratadas podem se desenvolver normalmente até uma próxima muda, mas não conseguem completá-la (GROSSCURT, 1978, TUNAZ; UYGUN, 2004). Como consequência, elas tornam-se incapazes de deixar a cutícula precedente morrendo durante ou logo após a ecdise (GROSSCURT, 1978; MULLA, 1995). Porém, o mecanismo molecular preciso da ação deste IGR ainda é pouco conhecido (ABO-ELGHAR; FUJIYOSHI; MATSUMURA, 2004; TUNAZ; UYGUN, 2004). Abo-Elghar, Fujiyoshi e Matsumura (2004) conseguiram demonstrar que em *Blattella germanica* (L.) (Diptera: Blattellidae) e *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae), Diflubenzuron atua no mesmo sítio alvo da glibenclamida, uma sulfoniluréia comumente utilizada para estimular a liberação de insulina em pacientes com diabetes tipo II. Este sítio é constituído por proteínas que compõem o receptor de sulfoniluréias (SUR) e a atuação de Diflubenzuron neste sítio seria a causa do seu efeito inibitório na síntese de quitina. Diflubenzuron atua comumente em todos os estádios larvais de insetos, mas em algumas espécies, os primeiros ou os últimos estádios podem ser mais ou menos susceptíveis (GROSSCURT, 1978). Em *Haematobia irritans* (L.), o terceiro estágio larval é o mais susceptível à ação de Diflubenzuron (HOPKINS; CHAMBERLAIN, 1976; SILVA; MENDES, 2002). Entre os efeitos das concentrações subletais neste díptero, verificou-se principalmente deformações nos pupários (SILVA; MENDES, 2002). Em *B. germanica*, Diflubenzuron provoca maior mortalidade entre a segunda e a terceira semanas de desenvolvimento ninfal decorrente principalmente da adesão das ninfas à exúvia (AGUILERA; MARQUETTI; NAVARRO, 2001). De acordo com revisão feita por Grosscurt (1978), Diflubenzuron atua de forma eficaz contra todos os estádios larvais da maioria das espécies de culicídeos. Esse autor sugere que uma das vantagens deste IGR, principalmente em insetos com comportamento assincrônico, é sua maior atuação em estádios mais jovens que são mais sensíveis. Martins e Silva (2004), em estudo sobre a atividade inibidora de

Diflubenzuron na ecdise das larvas de *A. aegypti*, observaram atividade larvicida deste IGR em todos os estádios larvais, tanto em laboratório quanto em campo, mas notaram maior tolerância no terceiro estágio larval. No presente estudo, observou-se alta mortalidade em todos os estádios do desenvolvimento larval testados com ligeira redução na mortalidade somente em larvas de quarto estágio mais velhas (144h), prontas para pupação. A grande mortalidade de larvas em concentrações subletais mais altas de Diflubenzuron e mortalidade mais lenta em menores concentrações, também foram verificadas por Mulla e colaboradores (2003) em larvas *A. aegypti* tratadas com Novaluron, outro inibidor de síntese de quitina.

A maior ação de Methoprene em larvas de quarto estágio recém formadas é relativamente bem conhecida (PHONCHEVIN et al., 1985; MULLA, 1995; LAN; GRIER, 2004). Os análogos ao hormônio juvenil são mais efetivos no início da metamorfose e da embriogênese nos insetos (TUNAZ; UYGUN, 2004). Esse período é denominado “janela de sensibilidade” (MULLA, 1995, WILSON, 2004). A presença de Methoprene ou de qualquer outro análogo ao hormônio juvenil quando a larva não requer este hormônio endógeno interfere na regulação da metamorfose pela ecdisona, alterando o desenvolvimento e conseqüentemente resultando em morte da pupa ou do adulto, durante o processo de emergência (MULLA, 1995; WILSON, 2004; LAN; GRIER, 2004). As aberrações morfológicas aqui observadas devido à atuação deste IGR, principalmente alterações encontradas nas pupas, são similares àquelas descritas por Phonchevin e colaboradores (1985), por Gelbič, Olejníček e Grubhoffer (2002) e também por Braga e colaboradores (2005a). Esta ação de Methoprene pode ser explicada pelo seu papel como agonista do hormônio juvenil, tornando-o capaz de mimetizar fielmente a ação do hormônio juvenil, HJIII (WILSON, 2004). Assim, Methoprene atuaria afetando diretamente os tecidos por se ligar a proteínas envolvidas no processo de metamorfose, alterando a expressão de genes responsáveis pelo controle do desenvolvimento do inseto (WILSON, 2004). Lan e Grier

(2004) observaram que a aplicação de Methoprene em larvas de *A. aegypti* com até 15h após a muda para o quarto estágio causou um dano significativo na pupação, enquanto o tratamento após 19h não afetou a formação da pupa. Estes resultados levaram os autores à conclusão de que o período crítico para o comprometimento pupal está entre 15 e 19h após a muda para o quarto estágio e que haveria dois picos de ecdisteróides neste estágio, fato observado pela evidência de dois picos de transcrição do gene EcR (receptor de ecdisona). O primeiro pico estaria correlacionado com o período sensível ao hormônio juvenil. Este fato indicaria que o comprometimento pupal em larvas de *A. aegypti* ocorre durante o início do quarto estágio. Desta forma, o dano provocado em pupas originárias de larvas de quarto estágio tratadas com Methoprene é provavelmente causado pela repressão de um grupo de genes expressos especificamente em pupas e adultos.

O menor poder residual das formulações técnicas (Ft) em comparação às respectivas formulações comerciais (Fc) de IGRs sobre mosquitos também foi descrita por Mulla, Darwazeh e Schreider (1989) que utilizaram as duas formulações do IGR XRD-473 contra *A. aegypti* e *Culex quinquefasciatus* Say em laboratório. Todavia, neste mesmo trabalho o IGR AC-291898 (Diflubenzuron) mostrou ação similar em ambas formulações sobre as duas espécies, diferentemente do observado no presente estudo.

A redução do efeito residual de Methoprene a partir da segunda semana após tratamento contra *A. aegypti* também foi observada em campo e laboratório por Nayar, Ali e Zaim (2002) na Flórida, EUA. Os pesquisadores utilizaram as concentrações 20 e 50 ppb de Methoprene, próximas às concentrações aqui utilizadas. Na Índia, Batra e colaboradores (2005) estudaram a atividade residual de Starycide 480 SC (Triflumuron) em campos de arroz, piscinas e tanques de cimento contra diferentes espécies de anofelinos, principalmente *Anopheles culicifacies* Giles e também contra *C. quinquefasciatus* em áreas de água parada em torno da cidade de

Nova Delhi. Os autores registraram 100% de inibição na formação de pupas de todas as espécies nos diferentes locais de criação por 3 a 7 semanas.

Lima, Melo e Valle (2005) registraram, no Rio de Janeiro, uma atividade residual de Methoprene (Metoprag S-2G[®]) sobre *A. aegypti* em condições de semi-campo por 15 dias, com mortalidade acima de 70%, em recipientes de plástico e metal, mas de apenas 7 dias em recipientes de concreto. Segundo esses autores, as diferenças na persistência deste IGR nos diferentes tipos de recipiente podem refletir a afinidade de Methoprene por certos tipos de material. Resultados diferentes foram encontrados por Resende e Gama (2006) em Belo Horizonte, MG ao testarem a persistência e eficácia de outro análogo ao hormônio juvenil, Pyriproxyfen em condições simuladas de campo sobre *A. aegypti*. Os autores observaram que a concentração 0,01 ppm causou uma redução acentuada na inibição de emergência de adultos em baldes de plástico no decorrer de 60 dias após o tratamento, de 100% para 25%; enquanto a redução no efeito residual observada em frascos de vidro, de 100% para 80% e em caixas d'água, de 100% para 68%, ocorreu somente após de 120 dias de tratamento. No presente estudo, os ensaios de atividade residual foram realizados somente em laboratório utilizando-se recipientes de plástico. Ensaios adicionais empregando recipientes de diferentes materiais sob condições de campo devem ser realizados para melhor investigar a influência desta variável sobre a atividade residual destes dois IGRs.

Diversos estudos têm demonstrado uma correlação negativa entre assimetria flutuante (AF) e componentes de aptidão dos indivíduos, tais como potencial reprodutivo, longevidade ou taxa de crescimento (MITTON; GRANT, 1984; PALMER; STROBECK, 1986; LEARY; ALLENDORF, 1989; PARSONS, 1990). No entanto, outros estudos também têm indicado que nem sempre esta correlação negativa entre AF e componentes de aptidão deve ser esperada, pois há circunstâncias em que ela não é detectada (UENO, 1994; ANTIPIM; IMASHEVA, 2001; LENS et al., 2002).

A adoção de procedimento estatístico não paramétrico para verificação de diferença nos níveis de AF, se justifica pelo não ajuste dos dados à distribuição normal. Este fato pode ser decorrente do pequeno dimensionamento da amostra, como sugerido por Babbit, Kiltie e Bolker (2006) que também defendem a não obrigatoriedade de AF apresentar distribuição normal.

Neste trabalho, observou-se um aumento significativo nos níveis de AF entre os indivíduos expostos durante o início do quarto estágio larval às concentrações subletais 2, 3 e 3,5 ppb de Diflubenzuron. Mpho, Holloway e Callaghan (2001) observaram um aumento nos níveis de AF somente em machos de *C. quinquefasciatus* expostos ao Temephos, parcialmente correlacionado com o nível de estresse ou concentração a que o indivíduo foi submetido. Esses autores chamam atenção ao fato de que machos e fêmeas responderam de forma distinta aos estresses ambientais empregados em seus estudos - diferentes temperaturas e exposição a inseticida - e que essas respostas podem ter sido ocasionadas pela maior seleção larval de indivíduos machos durante a realização do experimento, já que estes se desenvolvem mais rapidamente que as fêmeas na maioria das espécies de dípteros. Os mesmos autores aventam a possibilidade de que apenas um sexo tenha sido exposto e este resultado poderia não estar representando uma resposta global como quando ambos os sexos são expostos. Deve-se ressaltar que a proporção de machos e fêmeas submetidos às medições para verificação de AF no presente estudo foi próxima a 1:1, garantindo, assim, a exposição e ação dos dois IGRs sobre membros de ambos os sexos.

A exposição ao Methoprene, independente da concentração, não resultou em aumento concomitante e significativo nos níveis de AF. Geralmente apenas um estresse ambiental relativamente severo pode induzir alterações significativas na AF (PARSONS, 1992). AF também pode ser um indicador da capacidade do indivíduo em tamponar distúrbios ambientais ou qualquer outro problema durante seu desenvolvimento (PARSONS, 1992; CLARKE; OLDROYD; HUNT, 1992; MARKOW, 1995). Desta forma, a ausência de diferença

significativa nos níveis de AF nos caracteres analisados, pode ser resultante do fato da exposição a este IGR não ter sido suficientemente intensa, não gerando a necessidade de tamponamento ou neutralização do estresse por meio de ajustes metabólicos capazes de garantir a estabilidade homeostática nos padrões de desenvolvimento (LOMÔNACO; GERMANOS, 2001). Floate e Fox (2000) também levantam esta hipótese, denominada “mortalidade diferencial”, como uma das explicações por não terem encontrado diferenças nos níveis de AF entre populações de *Musca domestica* (L.) (Diptera: Muscidae) expostas a diferentes concentrações de ivermectina. Segundo os autores, moscas sobreviventes à exposição a este inseticida podem representar um subgrupo mais forte da população, cujas simetrias não são afetadas pelos efeitos do estresse. A outra hipótese considerada por eles é a chamada teoria do “refúgio” na qual moscas podem ter sobrevivido, minimizando ou evitando seu contato com a Ivermectina. Segundo Antipin e Imasheva (2001), o fato de não terem sido encontradas variações significativas nos níveis de AF em populações de *Drosophila melanogaster* expostas a um organoclorado seria decorrente da maior mortalidade dos indivíduos assimétricos em estágios precoces do desenvolvimento. Outra explicação dada pelos autores é a possibilidade do efeito de diferentes estressores químicos ser específico, dependendo do estágio metabólico no qual o estressor atua. Uma vez que as variações na AF de uma população são muito sutis, o tamanho da amostra é outro fator que pode ter contribuído para o não encontro de altos níveis de AF entre as populações expostas ao Methoprene.

O tamanho corporal de fêmeas de mosquitos também pode estar relacionado com vários fatores de importância ecológica e epidemiológica, entre os quais, fecundidade, longevidade, sucesso na hematofagia e conseqüentemente na capacidade vetorial (FOCKS et al., 1993; SCHNEIDER et al., 2004; GAMA et al., 2005). A densidade larval no criadouro leva a uma maior ou menor competição por alimento e é o principal fator responsável pelo tamanho dos mosquitos (FOCKS et al., 1993; BEDHOMME et al., 2003; SCHNEIDER et al., 2004). Assim

como em outras espécies de mosquitos, em *A. aegypti* o tempo de desenvolvimento é o fator mais importante para a aptidão de machos, enquanto tamanho e peso corporal são fundamentais para a aptidão de fêmeas (BEDHOMME et al., 2003). A vantagem de um desenvolvimento mais rápido nos machos seria o de maximizar o acesso às fêmeas virgens e conseqüentemente o maior sucesso reprodutivo, uma vez que fêmeas de mosquitos, geralmente se tornam refratárias a acasalamentos adicionais após uma primeira cópula bem sucedida. Para as fêmeas, conseguir um maior tamanho também é uma garantia de maior aptidão reprodutiva, já que existe uma forte correlação entre tamanho e fecundidade em fêmeas de mosquitos (BEDHOMME et al., 2003). O menor tamanho de machos em relação ao tamanho das fêmeas é bem conhecido em diferentes espécies de insetos. De acordo com Bedhomme e colaboradores (2003), ocorreria, em nível individual, uma “escolha” entre ser um indivíduo maior e emergir precocemente. Isto aconteceria nos dois sexos. Mas, como a correlação entre tamanho corporal e fecundidade é mais acentuada em fêmeas, a “escolha” entre tempo de desenvolvimento e tamanho do adulto combinada à correlação entre tamanho do adulto e fecundidade de fêmeas, levaria a uma seleção de tamanho maior em fêmeas; porém, com desenvolvimento mais lento. Esta mesma “escolha” combinada às vantagens na aptidão reprodutiva de machos em emergir antes das fêmeas, resultaria na seleção de menor tamanho nestes, mas com desenvolvimento mais rápido.

Silva, Mendes e Lomônaco (2004), em estudo sobre o estresse provocado por Diflubenzuron no desenvolvimento de *Haematobia irritans*, registraram redução significativa no tamanho das moscas expostas, proporcional às concentrações usadas. Gelbič, Olejníček e Grubhoffer (2002) observaram que a exposição larval de *Culex quinquefasciatus* ao Methoprene, a partir do primeiro estágio até pupas, causou um prolongamento na duração do último estágio larval e da pupa e que este fato resultou na emergência de adultos maiores. Robert e Olson (1989) verificaram que machos desta espécie expostos ao Methoprene eram maiores que os machos do grupo controle, enquanto as fêmeas submetidas ao tratamento,

exibiram menor tamanho que as não tratadas. Contrariamente, Mpho, Holloway e Callaghan (2001), observaram uma redução no tamanho de machos deste mosquito após exposição a maiores concentrações de Temephos. No presente estudo, machos mostraram-se menores que fêmeas em todos os grupos, tratados e não tratados com os dois IGRs. No entanto, não se observou diferença significativa no tamanho dos indivíduos expostos às diferentes concentrações de Diflubenzuron e Methoprene em relação aos indivíduos do grupo controle.

Fêmeas adultas de mosquitos podem apresentar fenótipos de tamanhos distintos quando originárias de larvas criadas sob diferentes dietas. Noriega (2004) e Caroci, Li e Noriega (2004) verificaram que fêmeas de *A. aegypti* criadas em meio com menores quantidades de alimento, eram significativamente menores e apresentavam reduzidas reservas de lipídios, proteínas e glicogênio que aquelas criadas em meio com maiores quantidades de alimento. Além disso, estas fêmeas com menores reservas nutricionais tinham a síntese de hormônio juvenil reduzida, interferindo, assim, no desenvolvimento previtelogênico do ovário, uma vez que a presença deste hormônio é muito importante na determinação do amadurecimento dos folículos ovarianos. Os autores observaram uma correlação entre reservas nutricionais, desenvolvimento previtelogênico do ovário e síntese de hormônio juvenil em *A. aegypti*.

No presente estudo, observou-se que o peso das fêmeas expostas durante o quarto estágio larval ao Methoprene foi menor que o peso das fêmeas não submetidas ao tratamento. Assim como tamanho, o peso corporal é um dos parâmetros considerados fundamentais para o sucesso reprodutivo de fêmeas (FOCKS et al., 1993; BEDHOMME et al., 2003). Fêmeas com menor peso também apresentariam menores reservas nutricionais, altamente necessárias para o desenvolvimento normal dos ovários, permitindo que uma única alimentação sanguínea seja suficiente para completar a oogênese (FOCKS et al., 1993). Armbruster e Hutchinson (2002) observaram que a fecundidade de *Aedes albopictus* (Skuse) e *A. geniculatus* Olivier aumentou com o aumento do peso pupal ou com o maior comprimento da asa. Concluíram, desta forma,

que qualquer dos dois parâmetros indicadores de tamanho corporal pode ser utilizado com confiança em estudos para estimar fecundidade de mosquitos.

Diversos estudos têm demonstrado a interferência de IGRs sobre o potencial reprodutivo de mosquitos, seja diminuindo a fecundidade e fertilidade de fêmeas, seja alterando a capacidade de acasalamento dos machos (ROBERT; OLSON, 1989; PAWAR; PISALE; SHARMA, 1995; O'DONNELL; KLOWDEN, 1997; VASUKI, 1999). No presente estudo, Diflubenzuron e Methoprene pareceram não alterar a fecundidade e fertilidade de fêmeas tratadas de *A. aegypti*. Resultados similares foram encontrados por Fournet, Sannier e Monteny (1993) que não observaram interferência de Diflubenzuron sobre a fecundidade e fertilidade de *A. aegypti* e também por Braga e colaboradores (2005a) que não verificaram alteração na fecundidade de fêmeas de *A. aegypti* tratadas com Methoprene. Resultados diferentes foram registrados por Robert e Olson (1989) em *C. quinquefasciatus* tratados com Methoprene. Estes autores verificaram redução significativa na fertilidade de fêmeas deste culicídeo sobreviventes à CL50 do IGR. Gaaboub e colaboradores (1981) verificaram que fêmeas desta mesma espécie sobreviventes ao tratamento com Dimilin (Diflubenzuron) e Altosid (Methoprene) apresentaram maior número de folículos ovarianos basais que as fêmeas não tratadas, principalmente quando o tratamento era realizado em larvas de quarto estágio. No entanto, os autores não descartaram a possibilidade deste aumento ser devido a uma casualidade. Eles discutem ainda que há dificuldade em encontrar uma razão para este efeito e que, se esse aumento no número de folículos basais ocorresse em outras espécies de mosquitos, fêmeas sobreviventes às medidas de controle com estes IGRs poderiam ser aquelas com maior aptidão reprodutiva e, como consequência, originariam maior progênie.

Vasuki (1999) fez uma correlação entre a quantidade de sangue ingerido pelas fêmeas de *C. quinquefasciatus*, *A. aegypti* e *Anopheles stephensi* Liston expostas e não expostas à Hexaflumuron, com a fecundidade, pesando individualmente cada uma, antes e depois da

realização do repasto sanguíneo. Este autor verificou uma correlação positiva no número de ovos colocados com a quantidade de sangue ingerido pelas fêmeas tratadas e controles nas três espécies e uma redução considerável na produção de ovos nas fêmeas tratadas, resultante da menor ingestão de sangue quando comparadas com as fêmeas do grupo controle. Segundo esse autor, o tratamento com este IGR afetou adversamente a fecundidade das fêmeas das três espécies, mas de forma mais acentuada a de *A. aegypti*. Reyes-Villanueva, Juarez-Eguia e Flores-Leal (1990) observaram que fêmeas de *A. aegypti* expostas ao Temephos, ovipuseram somente durante os dois primeiros ciclos gonotróficos, enquanto as fêmeas não tratadas puseram ovos até o terceiro ciclo, embora em menor quantidade. A fecundidade foi reduzida proporcionalmente ao aumento das concentrações utilizadas decorrente da menor ingestão de sangue por estas fêmeas, em comparação às do grupo controle.

No presente estudo, observou-se que tanto Diflubenzuron quanto Methoprene interferiram negativamente na longevidade de adultos sobreviventes às concentrações próximas às CL50. Resultado semelhante foi verificado por Robert e Olson (1989) que verificaram diminuição no tempo de sobrevivência de machos e fêmeas de *C. quinquefasciatus* expostos à CL50 de Methoprene. Já Sawby, Klowden e Sjogren (1992) observaram diminuição na longevidade de fêmeas de *A. aegypti* tratadas com Methoprene, mas não na longevidade de machos. A maior longevidade de fêmeas em relação à dos machos nos grupos tratados e controles também foi registrada por estes mesmos autores. Reyes-Villanueva, Juarez-Eguia e Flores-Leal (1990) registraram fato interessante: fêmeas originárias de larvas expostas ao Temephos viveram mais que as não tratadas. Os autores argumentam que as causas deste efeito são desconhecidas. Como não foram encontrados relatos na literatura sobre o efeito de Diflubenzuron na longevidade de mosquitos, o presente trabalho pode ser o primeiro a relatar este efeito.

A diminuição no tempo de vida de mosquitos, especialmente de vetores, é um fato altamente relevante; uma vez que quanto menor a longevidade dos machos, menores as chances de acasalamento com várias fêmeas. Por outro lado, quanto menor a longevidade de fêmeas, menor o número de ciclos gonotróficos e, conseqüentemente, o número de descendentes e de repastos sanguíneos, diminuindo também a possibilidade de transmissão de patógenos. Assim como em grande parte dos estudos, o presente trabalho estudou a interferência de fatores ambientais na fecundidade e fertilidade de mosquitos tendo como referência a primeira ovipostura das fêmeas. Embora o presente estudo não tenha observado interferência dos IGRs na aptidão reprodutiva das fêmeas, baseando-se na análise da primeira postura, deve-se considerar como provável uma ação indireta destes IGRs na aptidão reprodutiva deste mosquito resultante da redução da sua longevidade.

Lens e colaboradores (2002) afirmam que, em ambientes totalmente isentos de estresse, a qualidade individual pode estar fracamente relacionada à sua aptidão, uma vez que a maioria dos indivíduos pode ser capaz de reservar energia suficiente para os vários componentes de aptidão. Já em ambientes com algum grau de estresse, como a exposição a um inseticida, somente aqueles indivíduos mais capazes estariam aptos a compensar a energia gasta para a sobrevivência, enquanto os menos capazes sucumbiriam. Methoprene e Diflubenzuron, nas concentrações subletais, podem ter selecionado indivíduos capazes de sacrificar um dos seus componentes de aptidão, como sua longevidade, para garantir outros no início da vida adulta, como fecundidade e fertilidade (UENO, 1994). Essa perda de um ou mais componentes de aptidão por parte dos indivíduos tolerantes ao agente estressor pode, num primeiro momento, ser positiva do ponto de vista do controle da espécie alvo. No entanto, a instabilidade no desenvolvimento devido à exposição a inseticidas pode resultar em seleção genética para resistência (MACKENZIE; CLARKE, 1988). Assim, deve-se considerar também a possibilidade de essa exposição a concentrações subletais, se continuada ao longo do tempo, vir

a ser um ponto de partida para o surgimento de resistência em gerações futuras aos estressores estudados (SILVA; MENDES; LOMÔNACO, 2004).

6 CONCLUSÕES

1. A população de *Aedes aegypti* testada mostrou susceptibilidade distinta ao Diflubenzuron e Methoprene. Enquanto Diflubenzuron atuou de forma efetiva em todos os estádios larvais, Methoprene foi mais efetivo nas larvas em início de quarto estágio.
2. Os valores das CL50 e CL95 encontrados para Diflubenzuron estão dentro do intervalo de variação registrado em outros países. Já os valores registrados para Methoprene estão acima daqueles comumente descritos na literatura, indicando uma tolerância relativa de *A. aegypti* a este IGR em Uberlândia.
3. Diflubenzuron e Methoprene mostraram uma redução em sua atividade residual a partir da segunda semana após a exposição de *A. aegypti*. Em ambos IGRs, as formulações comerciais apresentaram maior efeito residual que suas respectivas formulações técnicas.
4. Indivíduos expostos às concentrações subletais sofreram alterações em parâmetros indicadores de aptidão e apresentaram redução em sua longevidade.
5. Embora Diflubenzuron tenha apresentado melhores indicadores para os parâmetros aqui avaliados, os resultados obtidos apontam ambos IGRs, Diflubenzuron e Methoprene, como alternativas para o controle de *A. aegypti* na região de Uberlândia.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 18, p. 265-267, 1925.
- ABO-ELGHAR, G. E.; FUJIYOSHI, P.; MATSUMURA, F. Significance of the sulfonylurea receptor (SUR) as the target of diflubenzuron in chitin synthesis inhibition in *Drosophila melanogaster* and *Blattella germanica*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 34, p. 743-752, 2004.
- AGUILERA, L.; MARQUETTI, M. C.; NAVARRO, A. Biologic effect of Diflubenzuron on *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). **Revista Cubana de Medicina Tropical**, La Habana, v. 53, n. 1, p. 48-52, 2001.
- AIUB, C. A. F.; COELHO, E. C. A.; SODRÉ, E.; PINTO, L. F. R.; FELZENSZWALB, I. Genotoxic evaluation of the organophosphorous pesticide Temephos. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 1, n. 2, p. 159-166, June 2002. Disponível em: <www.funpecrp.com.br>. Acesso em: 26 abr. 2006.
- ALI, A.; NAYAR, J. K. XUE, R. D. Comparative toxicity of selected larvicides and insect growth regulators to a Florida laboratory population of *Aedes albopictus*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 11, n. 1, p. 72-76, Mar. 1995.
- ANSARI, M. A.; RAZDAN, R. K.; SREEHARI, U. Laboratory and field evaluation of Hilmilin against mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 21, n. 4, p. 432-436, Dec.2005.
- ANTIPIN, M. I.; IMASHEVA, A. G. Genetic variability and fluctuating asymmetry of morphological traits in *Drosophila melanogaster* reared on a pesticide-containing medium. **Russian Journal of Genetics**, New York, v. 37, n. 3, p. 247-252, 2001.
- ARMBRUSTER, P.; HUTCHINSON, R. A. Pupal mass and wing length as indicators of fecundity in *Aedes albopictus* and *Aedes geniculatus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v.34, n. 4., p. 699-704, 2002.
- BABBIT, G. A.; KILTIE, R.; BOLKER, B. Are fluctuating asymmetry studies adequately sampled implications of a new model for size distribution. **American Naturalist**, Chicago, v. 167, n. 2, p. 230-245, Feb. 2006.
- BARROS, A. T. M.; OTTEA, J.; FOIL, L. D. Horn fly (Diptera: Muscidae) resistance to organophosphate insecticides. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 96, n. 3, p. 243-256, 2001.
- BARUAH, I.; DAS, S. C. Evaluation of Methoprene (Altosid) and Diflubenzuron (Dimilin) for control of mosquito breeding in Tezpur (Assam). **Indian Journal of Malariology**, New Delhi, v. 33, n. 2, p. 61-66, June 1996.

- BATRA, C. P.; MITTAL, P. K.; ADAK, T.; ANSARI, M. A. Efficacy of IGR compound Starycide 480 SC (Triflumuron) against mosquito larvae in clear and polluted water. **Journal of Vector Borne Diseases**, New Delhi, v. 42, p. 109-116, Sept. 2005.
- BEDHOMME, S.; AGNEW P.; SIDOBRE, C.; MICHALAKIS, Y. Sex-specific reaction norms to intraspecific larval competition in the mosquito *Aedes aegypti*. **Journal of Evolutionary Biology**, Basel, v. 16, p. 721-730, 2003.
- BJORKSTEN, T. A.; FOWLER, K.; POMIANKOWSKI, A. What does sexual trait FA tell us about stress? **Trends in Ecology Evolution**, Oxford, v. 15, p. 163-166, 2000.
- BRAGA, I. A.; MELLO, C. B.; PEIXOTO, A. A.; VALLE, D. Evaluation of methoprene effect on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) development in laboratory conditions. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 4, p. 435-440, July 2005a.
- BRAGA, I. A.; MELLO, C. B.; MONTELLA, I. R.; LIMA, J. B. P.; MARTINS-JÚNIOR, A. J.; MEDEIROS, P. F. V.; VALLE, D. Effectiveness of Methoprene, na Insect Growth Regulator, against Temephos- resistant *Aedes aegypti* populations from different Brazilian localities, under laboratory conditions. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 42, n. 5, p. 830-837, Sept. 2005b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde. **Dengue**: boletim da semana 14/2005. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/saude>>. Acesso em 30 abr. 2005.
- CAMPOS, J.; ANDRADE, C. F. S. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 232-236, 2001.
- CAMPOS, J.; ANDRADE, C. F. S. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* a inseticidas químicos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 4, p.523-527, 2003.
- CAROCCI, A. S.; LI, Y.; NORIEGA, F. Reduced juvenile hormone synthesis in mosquitoes with low teneral reserves reduces ovarian previtellogenesis in *Aedes aegypti*. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 207, p. 2685-2690, 2004.
- CARVALHO, M. S. L.de; CALDAS, E. D.; DEGALLIER, N.; VILARINHOS, P. T. R.; SOUZA, L. C. K. R.; YOSHIZAWA, M. A. C.; KNOX, M. B.; OLIVEIRA, C. Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to the insecticide Temephos in the Federal District, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 1-6, 2004.
- CAVALCANTI, E. S. B.; MORAIS, S. M.; LIMA, M. A. A.; SANTANA, E. W. P. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 5, p. 541-544, Aug. 2004.
- CHAMBERLAIN, W. F. Insect growth regulating agents for control of arthropods of medical and veterinary importance. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 12, n. 4, p. 395-400, Oct. 1975.

CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function.** 3rd ed. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 1982. 919 p.

CHAVASSE, D. C.; YAP, H. H. **Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance.** Geneva: World Health Organization, 1997. WHO/CTD/WHOPES/97.2.

CHAVES-BORGES, F. A.; MINEO, J. R. **Medidas de biossegurança em laboratórios.** Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 1997, 56 p.

CHEN, L.; WANG, Q.; HUANG, R.; CHUNHUI, M.; SHANG, J.; BI, F. Synthesis and insecticidal evaluation of propesticides of benzoylphenylureas. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Davis, v. 53, p. 38-41, 2005.

CICCIA, G.; COUSSIO, J.; MONGELLI, E. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 72, p. 185-189, 2000.

CLARKE, G. M.; RIDSDILL-SMITH, T. J. The effect of avermectin B₁ on developmental stability in the bush fly, *Musca vetustissima*, as measured by fluctuating asymmetry. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 54, p. 265-269, 1990.

CLARKE, G. M.; OLDROYD, B. P.; HUNT, P. The genetics basis of developmental stability in *Apis mellifera*: heterozygosity versus genetic balance. **Evolution: International Journal of Organic Evolution**, Lancaster, v. 46, n. 6, p. 753-762, 1992.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil.** Rio de Janeiro: Fiocruz, 1994. 225 p.

CORNEL, A. J.; STANICH, M. A.; FARLEY, D.; MULLIGAN, F. S. 3rd; BYDE, G. Methoprene tolerance in *Aedes nigromaculis* in Fresno Country, California. **Journal of the American Mosquito control Association**, Fresno, v. 16, n. 3, p. 223-228, Sept. 2000.

CORNEL, A. J.; STANICH, M. A.; FARLEY, D.; MULLIGAN, F. S. 3rd. High level methoprene resistance in the mosquito *Ochlerotatus nigromaculis* (Ludlow) in Central California. **Pest Management Science**, Sussex, v. 58, n. 8, p. 791-798, Aug. 2002.

CUNHA, M. P. da; LIMA, J. B. P.; BROGDON, W. G.; MOYA, G. E.; VALLE, D. Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations collected between 2001 and 2003. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 4, p. 441-444, July 2005.

DAHLGREN, J. G.; TAKHAR, H. S.; RUFFALO, C. A.; ZWASS, M. Health effects of diazinon on a family. **Journal of Toxicology Clinical Toxicology**, New York, v. 42, n. 5, p. 579-591, 2004.

DAME, D. A.; WICHTERMAN, G. J.; HORNBY, J. A. Mosquito (*Aedes taeniorhynchus*) resistance to methoprene in an isolated habitat. **Journal of American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 14, n. 2, p. 200-203, June 1998.

DEL LAMA, M. A.; GRUBER, C. V.; GODOY, I. C. Heterozigozidade e assimetria do número de hámulos em operárias adultas de *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 46, n. 4, p. 591-595, 2002.

DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 5, n. 3, p. 259-272, 2002.

DORTA, D. M.; CHIONG, R. T.; ORTEGA, A. N.; GARCIA, F. A.; QUIÑONES. Estudio de la sensibilidad al Dimilin (Diflubenzuron) en una cepa de *Aedes (S) aegypti* Linnaeus, 1762 y de *Culex (C) quinquefasciatus* Say, 1823 criadas en el laboratorio. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, La Habana, v. 41, n. 1, p. 56-63, enero/abr. 1989.

EGGERT, A. K.; SAKALUCK, S. K. Fluctuating asymmetry and variation in the size of courtships food gifts in decorated crickets. **American Naturalist**, Chicago, v. 144, p. 708-716, 1994.

ESKENAZI, B.; HARLEY, K.; BADMAN, A.; WELTZIEN, E.; JEWELL, N. P.; BARR, D. B.; FURIONG, C. E.; HOLLAND, N. T. Association of in utero organophosphate pesticide exposure and fetal growth and length of gestation in an agricultural population. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 112, n. 10, p. 1116-1124, July 2004.

ESTRADA, J. E.; MULLA, M. S. Evaluation of two new insect growth regulators against mosquitoes in the laboratory. **Journal of American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 2, n. 1, p. 57-60, Mar. 1986.

EXTOXNET, 2000. **Pesticide Information Profiles: Methoprene**. Disponível em <<http://extoxnet.orst.edu/pips/methoprene.html>>. Acesso em 14 maio 2006.

FINCHER, G. T. Sustained-release bolus for horn fly (Diptera: Muscidae) control: effects of Methoprene and Diflubenzuron on some nontarget species. **Environmental Entomology**, College Park, v. 20, n. 1, p. 77-82, 1991.

FINNEY, D. J. **Probit analysis**. 3rd. ed. London: Cambridge University Press, 1971. 321 p.

FLOATE, K. D.; FOX, A. S. Flies under stress: a test of fluctuating asymmetry as a biomonitor of environmental quality. **Ecological Applications**, Tempe, v. 10, n. 5, p. 1541-1550, 2000.

FOCKS, D. A.; HAILE, D. G.; DANIELS, E.; MOUNT, G. A. Dynamic life table model for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): analysis of the literature and model development. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 30, n. 6, p. 1003-1017, Nov. 1993.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia médica**. São Paulo: EDUSP, 2002. v. 2, 860 p.

- FOURNET, F.; SANNIER, C.; MONTENY, N. Effects of the insect growth regulators OMS 2017 and Diflubenzuron on the reproductive potential of *Aedes aegypti*. **Journal of American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 9, n. 4, p. 426-430, Dec. 1993.
- FOURNET, F.; SANNIER, C.; MONIERE, M.; PORCHERON, P; MONTENY, N. Effects of two insect growth regulators on ecdysteroid production in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 32, n. 5, p. 588-593, 1995.
- FUNASA. **Dengue: instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas**. 3 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2001, 84 p.
- FUNASA. **Programa Nacional de Controle da Dengue**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002, 32 p.
- GAABOUB, I. A.; RAWASH, I. A.; EL-GAYAR, F. H.; TRABOULSI, A. F. The delayed effects and the basal follicle numbers developed by females of *Culex pipiens* L. emerged from treatments of larvae with partially-lethal concentrations of Altosid and Dimilin. **Toxicology**, Limerick, v. 19, p. 269-274, 1981.
- GADELHA, M. G.; TODA, A. T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Brasília, v. 37, p. 29-36, 1985.
- GAMA, R. A.; ALVES, K. C.; MARTINS, R. F.; EIRAS, A. E.; RESENDE, M. C. Efeito da densidade larval no tamanho de adultos de *Aedes aegypti* criados em condições de laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 1, p. 64-66, 2005.
- GELBIČ, I.; OLEJNÍČEK, J.; GRUBHOFFER, L. Effects of insect hormones on hemagglutination activity in two members of the *Culex pipiens* complex. **Experimental Parasitology**, San Diego, v. 100, n. 1, p. 75-79, 2002.
- GEORGHIOU, G. P. Insecticide resistance and prospects for its management. **Residue Reviews**, New York, v. 76, p. 131-145, 1980.
- GINARTE, A. C.; DORTA, M. D. Influence of growth development inhibitors on the reproduction of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). **Revista Cubana de Medicina Tropical**, La Habana, v. 48, n. 1, p. 21-25, 1996.
- GORDON, R.; BURFORD, I. R. Effects of Methoprene, a juvenile hormone analogue, on the larval and pupal stages of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 30, n.4, p. 279-286, 1984.
- GRAF, J. F. The role of insect growth regulators in arthropod control. **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 9, n. 12, p. 471-474, 1993.
- GROSSCURT, A. C. Diflubenzuron: some aspects of its ovicidal and larvicidal mode of action and an evaluation of its practical possibilities. **Pesticide Science**, Oxford, v. 9, p. 373-386, 1978.

GUZMÁN, M. G.; KOURÍ, G. Dengue: an update. **The Lancet Infectious Diseases**, London, v. 2, p. 33-42, Jan. 2002.

HARTFELDER, K. Insect juvenile hormone: from “status quo” to high society. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 33, n. 2, p. 157-177, 2000.

HOFFMANN, K. H.; LORENZ, M. W. Recent advances in hormones in pest control. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 26, n. 4, p. 1-8, 1998.

HONÓRIO, A. N.; OLIVEIRA, R. L. de. Frequência de larvas e pupas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em armadilhas, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 385-391, 2001.

HOPKINS, D. E.; CHAMBERLAIN, W. F. Diflubenzuron: relationship between age of exposure immature horn flies and inhibition of maturation. **Southwestern Entomologist**, Weslaco, v. 1, p. 114-117, 1976.

IMAGE J 1.35 S. USA: National Institutes of Health. Java 1.5.0_06. Disponível em <<http://rsb.info.nih.gov/ij/>>. Acesso em 29 abr. 2006.

KAY, B. H.; NAM, V. S.; TIEN, T. V.; YEN, N. T.; PHONG, T. V.; DIEP, V. T.; NINH, T. U.; BEKTAS, A.; AASKOV, J. G. Control of *Aedes* vectors of dengue in three provinces of Vietnam by use of *Mesocyclops* (Copepoda) and community-based methods validated by entomologic, clinical and serological surveillance. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Mclean, v. 66, p. 40-48, 2002.

KNIGHT, A. L.; NORTON, G. W. Economics of agricultural pesticide resistance in arthropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 34, p. 293-313, 1989.

KOSIYACHINDA, P.; BHUMIRATANA, A.; KITTAYAPONG, P. Enhancement of the efficacy of a combination of *Mesocyclops aspericornis* and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* by community-based products in controlling *Aedes aegypti* larvae in Thailand. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Mclean, v. 69, p. 206-212, 2003.

KOSTYUKOVSKY, M.; CHEN, B.; ATSMI, S.; SHAYYA, E. Biological activity of two juvenoids and two ecdisteroids against three stored product insects. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 30, p. 891-897, 2000.

KRISTENSEN, M.; JESPERSEN, J. B.; Larvicide resistance in *Musca domestica* (Diptera: Culicidae) populations in Denmark and establishment of resistant laboratory strains. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 96, n. 4, p. 1300-1306, Aug. 2003.

LAN, Q.; GRIER, C. A. Critical period for pupal commitment in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 50, p. 667-676, 2004.

LEARY, R. F.; ALLENDORF, F. W. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: implications for conservation biology. **Tree Physiology**, Victoria, v. 4, p. 214-216, 1989.

- LEE, D. K. Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen, against *Aedes togoi* larvae in brackish water in South Korea. **Journal of Vector Ecology**, Santa Ana, v. 26, n. 1, p. 39-42, June 2001.
- LENS, L.; VAN DONGEN, S.; KARK, S.; MATTHYSEN, E. Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: can we bridge the gap between studies? **Biological Review**, Cambridge, v. 77, p. 27-38, 2002.
- LI, Y.; UNNITHAN, G. C.; VEENSTRA, J. A.; FEYEREISEN, R.; NORIEGA, F. Stimulation of JH biosynthesis by corpora allata of adult female *Aedes aegypti* *in vitro*: effect of farnesoic acid and *Aedes* allatropin. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 206, p. 1825-1832, 2003.
- LIMA, J. B. P.; CUNHA, M. F.; SILVA-JÚNIOR, R. C.; GALARDO, A. K.; SOARES, S. S.; BRAGA, I. A.; RAMOS, R. P.; VALLE, D. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Mclean, v. 88, n. 3, p. 329-333, 2003.
- LIMA, J. B. P.; MELO, N. V.; VALLE, D. Persistence of Vectobac WDG and Methoprag S-2G against *Aedes aegypti* larvae using a semi-field bioassay in Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 47, n. 1, p. 7-12, Jan./Feb. 2005.
- LIU, N.; SCOTT J. G. Inheritance of CYP6D1-mediated pyrethroid resistance in house fly (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 90, n. 6, p. 1478-1481, 1997.
- LOMÔNACO, C.; GERMANOS, E. Variações fenotípicas em *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) em resposta à competição larval por alimento. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 223-231, 2001.
- LONDERSHAUSEN, M.; ALIG, B.; POSPISCHIL, R.; TURBERG, A. Activity of novel juvenoids on arthropods of veterinary importance. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v. 32, n. 3-4, p. 651-658, 1996.
- LUNA, J. E. D.; MARTINS, M.F.; ANJOS, A. F.; KUWABARA, E. F.; NAVARRO-SILVA, M. A. Susceptibility of *Aedes aegypti* to Temephos and cypermethrin insecticides, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 6, p. 1-2, 2004.
- LYRA, J. R. M.; FERRAZ, J. M. G.; SILVA, A. P. P. Acción de inhibidores de la síntesis de la quitina en la reproducción de *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepdoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade de Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 27, n. 4, p. 569-576, 1998.
- MACCLELLAND, G. A. H.; CONWAY, G. R. Frequency of blood feeding in the mosquito *Aedes aegypti*. **Nature**, London, v. 232, n. 13, p.485-486, Aug. 1971.

MACKENZIE, J. A.; CLARKE, G. M. Diazinon resistance, fluctuating asymmetry and fitness in the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. **Genetics**, Austin, v. 120, n. 1, p. 213-220, Sept. 1988.

MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; TAKAKU, L.; GLASSER, C. M.; GARBELOTO, V. C.; BRACCO, J. E. Resistance of *Aedes aegypti* from state of São Paulo, Brazil to organophosphates insecticides. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 5, p. 703-708, July 2003.

MADEIRA, N. G.; MACHARELLI, C. A.; CARVALHO, L. R. Variation of the oviposition preferences of *Aedes aegypti* in function of substratum and humidity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 3, p. 415-420, Apr. 2002.

MANLY, B. F. J. **Multivariate statistical methods**. 2nd ed. London: Chapman & Hall, 1994, 215 p.

MARKOW, T. A. Evolutionary ecology and developmental instability. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 40, p. 105-120, 1995.

MARTINS, F.; SILVA, I. G. Avaliação da atividade inibidora do Diflubenzuron na ecdise das larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 2, p. 135-138, mar./abr. 2004.

MENEGAUX, F.; BARUCHEL, A.; BERTRAND, Y.; LESCOEUR, B.; LEVERGER, G.; NELKEN, B.; SOMMELET, D.; HÉMON, D.; CLAVEL, J. Household exposure to pesticides and risk of childhood acute leukaemia. **Occupational and Environmental Medicine**, Baltimore, v. 63, p. 131-134, Feb. 2006.

MERZENDORFER, H.; ZIMMICH, L. Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 206, p. 4393-4412, 2003.

MICIELI, M. V.; MARTI, G.; GARCIA, J. J. Laboratory evaluation of *Mesocyclops annulatus* (Wierzejski, 1892) (Copepoda: Cyclopidea) as a predator of container-breeding mosquitoes in Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 6, p. 835-838, Sept. 2002.

MILLER, R. W.; UEBEL, E. C. Juvenile hormone mimics as feed additives for control of the face fly and house fly. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 67, n. 1, p. 69-70, 1973.

MILLER, R. J.; BROCE, A. B.; DRYDEN, M. W.; THRONE, J. E. Emergence, survival and fecundity of adult cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) exposed as pupae to juvenile hormone mimics. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 36, n. 6, p. 776-779, 1999.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **A sociedade contra a Dengue**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2002, 24 p.

MINITAB® realize 14 Statistical Software for Windows. Version 14. 2004. Disponível em <<http://www.minitab.com/products/minitab/14/hm>>. Acesso em: 14 abr. 2005.

MITTAL, P. K.; ADAK, T.; BATRA, C. P. Comparative toxicity of selected larvicidal formulations against *Anopheles sthefensi* Liston and *Aedes aegypti* Linn. **Journal of Communicable Diseases**, New Delhi, v. 33, n. 2, p. 116-120, 2001.

MITTON, J. B.; GRANT, M.C. Associations among protein heterozygosity, growth rate and developmental homeostasis. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 15, p.479-499, 1984.

MØLLER, A. P.; SWADDLE, J. P. **Asymmetry, development stability and evolution**. Oxford: Oxford University Press, 1997. 302 p.

MPHO, M.; HOLLOWAY, G. J.; CALLAGHAN A. A comparison of the effects of organophosphate insecticide exposure and temperature stress on fluctuating asymmetry and life history traits in *Culex quinquefasciatus*. **Chemosphere**, Oxford, v. 45, p. 713-720, 2001.

MULLA, M. S.; AXELROD, H. Evaluation of the IGR larvadex as feed-through treatment for the control of pestiferous flies on poultry ranches. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 76, n. 3, p. 515-519, 1983.

MULLA, M. S.; DARWAZEH, H. A.; SCHREIDER, E. T. Impact of new insect growth regulators and their formulations on mosquito larval development in impoundment and floodwater habitats. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 5, n. 1, p. 15-20, Mar. 1989.

MULLA, M. S. The future of insect growth regulators in vector control. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v.11, n. 2, p. 269-273, June 1995.

MULLA, M.S.; THAVARA, U.; TAWATSIN, A.; CHOMPOOSRI, J.; ZAIM, M.; SU, T. Laboratory and field evaluation of novaluron, a new acylurea insect growth regulator, against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Vector Ecology**, Santa Ana, v. 28, n. 2, p. 241-254, Dec. 2003.

NAYAR J. K.; ALI, A.; ZAIM, M. Effectiveness and residual activity comparasion of granular formulations of insect growth regulators pyriproxyfen and s-Methoprene against Florida mosquitoes in laboratory and outdoor conditions. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 18, n. 3, p. 196-201, Sept. 2002.

NISHIURA, J. T.; HO, P.; RAY, K. Methoprene interferes with mosquito midgut remodeling during metamorphosis. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 40, n. 4, p. 498-507, 2003.

NISHIURA, J. T.; RAY, K; MURRAY, J. Expression of nuclear receptor-transcription factor genes during *Aedes aegypti* midgut metamorphosis and the effect of methoprene on expression. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 35, p. 561–573, 2005.

NORIEGA, F. G. Nutritional regulation of JH synthesis: a mechanism to control reproductive maturation in mosquitoes? **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 34, p. 687-693, 2004.

NUNES, M. V.; TAJARA, E. H. Efeitos tardios dos praguicidas organoclorados no homem. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 372-383, 1998.

O'DONNELL, P. P.; KLOWDEN, M. J. Methoprene affects the rotation of the male terminalia of *Aedes aegypti* mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 13, n. 1, p. 1-4, Mar. 1997.

PAIGE, J. C.; TOLLEFSON, L.; MILLER, M. A. Health implications of residues of veterinary drugs and chemicals in animal tissues. **The Veterinary Clinics of North América. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 15, n. 1, p. 31-43, Mar. 1999.

PALMER, R. A.; STROBECK, C. Fluctuating asymmetry: measurement analysis, patterns. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 17, p. 391-421, 1986.

PAOLETTI, M. G.; PIMENTEL, D. Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, Dordrecht, v. 12, n. 3, p. 279-303, 2000.

PARSONS, P. A. Fluctuating asymmetry: an epigenetic measure of stress. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, London, v. 65, n. 2, p. 131-145, 1990.

PARSONS, P. A. Fluctuating asymmetry: a biological monitor of environmental and genomic stress. **Heredity: an International Journal of Genetics**, London, v. 68, pt 4, p. 361-364, 1992.

PAWAR, P. V.; PISALE, S. P.; SHARMA, R. N. Effect os some new insect growth regulators on metamorphosis and reproduction of *Aedes aegypti*. **Indian Journal of Medical Research**, New Delhi, v. 101, p. 13-18, Jan. 1995.

PELAEZ, S.; HIERRO, I.; ONA, S.; ALONSO, L.; MATILLA, A. Relationship between pesticide exposure and low-grade superficial bladder urothelial carcinoma. **Clinical Medicine**, London, v. 123, n. 15, p. 571-574, 2004.

PENNA, M. L. E. Um desafio para a saúde pública brasileira: o controle do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 1, p. 305-309, jan./fev. 2003.

PEREIRA, M. C.; SANTOS, A. P. *Ctenocephalides felis felis*: biologia, ecologia e controle integrado (2ª parte - controle integrado). **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 17, p. 31-36, 1998.

PERFECTTI, F.; CAMACHO, J. P. Analysis of genotypic differences in developmental stability in *Annona cherimola*. **Evolution: International Journal of Organic Evolution**, Lancaster, v. 53, p. 1396-1405, 1999.

- PHONCHEVIN, T.; UPATHAM, E. S.; PHANTHUMACHINDA, B.; PRASITTISVK, C.; SUKHAPANTH, N. Effects of Cyromazine and Methoprene on the developmental stages of *Anopheles dirus*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v. 16, n. 2, p. 240-247, June 1985.
- PINHEIRO, V. C. S.; TADEI, W. P. Avaliação da técnica de termonebulização no controle de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) em Manaus (AM). **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 31, n. 1, p. 97-108, jan./jun. 2002.
- PINKNEY, A. E.; MCGOWAN, P. C.; MURPHY, D. R.; LOWE, T. P.; SPARLING, D. W.; FERRINGTON, L. C. Effects of the mosquito larvicides Temephos and Methoprene on insect populations in experimental ponds. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 19, n. 3, p. 678-684, 2000.
- PINTO, M. C.; PRADO, A. Resistance of *Musca domestica* L. to Cyromazine (Insect Growth Regulator) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 6, p. 729-732, July 2001.
- RANSON H, PATON MG, JENSEN B, MCCARROLL L, VAUGHAN A, HOGAN JR, HEMINGWAY J, COLLINS FH INSECT. Genetic mapping of genes conferring permethrin resistance in the malaria vector, *Anopheles gambiae*. **Molecular Biology**, New York, v. 13, n. 4, p. 379-386, 2004.
- RAWLINS S. C.; WAN J. O. Resistance in some Caribbean populations of *Aedes aegypti* to several insecticides. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 11, p. 59-65, 1995.
- RECIO, R.; OCAMPO-GÓMEZ, G.; MORÁN-MARTÍNEZ, J.; BORJA-ABURTO, V.; LÓPEZ-CERVANTES, M. URIBE, M.; TORRES-SÁNCHEZ, L.; CEBRIÁN, M. E. Pesticide Exposure alters follicle-stimulating hormone levels in Mexican agricultural workers. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 113, n. 9, p. 1160-1163, 2005.
- RESENDE, M. C.; GAMA, R. A. Persistência e eficácia do regulador de crescimento pyriproxyfen em condições de laboratório para *Aedes aegypti*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 72-75, jan./fev.2006.
- REYES-VILLANUEVA, F.; JUÁREZ-EGUIA, M.; FLORES-LEAL, A. Effects of sublethal dosages of Abate[®] upon adult fecundity and longevity of *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 6, n. 4, p. 739-741, Dec. 1990.
- RITCHIE, S. A.; ASNICAR, M.; KAY, B. H. Acute and sublethal effects of Methoprene on some Australian mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 13, n. 2, p. 153-155, June 1997.

- ROBERT, L. L.; OLSON, J. K. Effects of sublethal dosages of insecticides on *Culex quinquefasciatus*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 5, n. 2, p. 239-246, June 1989.
- RODRIGUEZ, M. M.; BISSET, J.; de FERNANDEZ, D. M.; LAUZAN, L.; SOCA, A. Detection of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba and Venezuela. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 38, n.5, p. 626-628, Sept. 2001.
- RODRIGUEZ, M. M.; BISSET, J.; RUIZ, M.; SOCA, A. Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides induced by selection with Temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 39, n.6, p. 882-888, Nov. 2002.
- ROJAS, A.; OJEDA, M. E.; BARRAZA, X. Congenital malformations and pesticides exposure. **Revista Medica de Chile**, Santiago de Chile, v. 128, n. 4, p. 399-404, 2000.
- SAGAR, S. K.; SEHGAL, S. S.; AGARWALA, S. P. Bioactivity of ethanol extract of Karanja (*Pongamia glabra*) seed coat mosquitoes. **Journal of Communicable Diseases**, New Delhi, v. 31, n. 2, p. 107-111, 1999.
- SAWBI, R.; KLOWDEN, M. J.; SJOGREN, R. D. Sublethal effects of larval Methoprene exposure on adult mosquito longevity. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 8, n. 3, p. 290-292, Sept. 1992.
- SCHNEIDER, J. B.; MORRISON, A. C.; ASTETE, H.; SCOTT, T.; WILSON, M. Adult size and distribution of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) associated with larval habitats in Iquitos, Peru. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 41, n. 4, p. 634-642, July 2004.
- SHEPPARD, D. C.; TORRES, P. R. Onset of resistance to fenvalerate, a pyrethroid insecticide in Argentine horn flies (Diptera: Muscidae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 35, n. 2, p. 175-176, 1998.
- SILVA, H. H. G. da.; SILVA, I. G. da. Estudos do ciclo evolutivo de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) a partir de ovos com quatro meses de estocagem em laboratório. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 29, n. 1, p. 95-100, jan./jun.2000.
- SILVA, J. J. da.; MENDES, J. Effect of Diflubenzuron on immature stages of *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) in Uberlândia, state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 5, p. 679-682, 2002.
- SILVA, J. J.da.; MENDES, J.; LOMÔNACO, C. Developmental stress by Diflubenzuron in *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 249-253, Mar./Apr. 2004.
- SIVAGNANAME, N.; KALYANASUNDARAM, M. Laboratory evaluation of methanolic extract of *Atlantia monophylla* (Family: Rutaceae) against immature stages of mosquitoes and non-target organisms. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 1, p. 115-118, Feb. 2004.

- SOARES, S. S.; CARVALHO, R. W.; GALHARDO-MELLA, R. C.; GALARDO, A. K. Comparação da efetividade dos inseticidas Abate® (Temephos - organofosforado granulado 1%) e Altosid® (Methoprene - regulador do crescimento 1,3% P/P), no controle do *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762. **Parasitologia al Dia**, Santiago de Chile, v. 20, p. 53-58, 1996.
- SU, T.; MULLA, M. S.; ZAIM, M. Laboratory and field evaluations of novaluron, a new insect growth regulator (IGR), against *Culex* mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 19, n. 4, p. 408-418, Dec. 2003.
- SYSTAT® for Windows®. Version 10.2. [S.l.]: © Systat Software, 2002. 1 CD-ROM.
- TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, São Paulo, v. 18, n. 3, p. 867-871, maio/jun. 2002.
- TEIXEIRA, M. G.; COSTA, M. C. N.; BARRETO, M. L.; MOTA, E. Dengue and dengue hemorrhagic fever epidemics in Brazil: what research is needed based on trends, surveillance, and control experiences? **Cadernos de Saúde Pública**, São Paulo, v. 21, n. 5, p. 1307-1315, set./out. 2005.
- THOMAS, D. B. Influence of a juvenile hormone analog on reproduction of normal and sterilized adult horn flies (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 77, n. 3, p. 666-669, 1984.
- TUNAZ, H.; UYGUN, N. Insect Growth Regulators for Insect Pest Control. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 28, p. 377-387, 2004.
- UENO, H. Fluctuating asymmetry in relation to two fitness components, adult longevity and male mating success in a ladybird beetle, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 19, p. 87-88, 1994.
- VAN VALLEN, L. A study of FA. **Evolution: International Journal of Organic Evolution**, Lancaster, v. 16, p. 125-142, 1962.
- VASUKI, V.; RAJAVEL, A. R. Influence of short time exposure to an insect growth regulator, Hexaflumuron, on mortality and adult emergence of vector mosquitoes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, n. 2, p. 275-283, Apr./June 1992.
- VASUKI, V. Influence of IGR treatment on oviposition of three species of vector mosquitoes at sublethal concentrations. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v. 30, n. 1, p. 200-203, Mar. 1999.
- VAUGHAN, A.; CHADEE, D.; FFRENCH-CONSTANT, R. Biochemical monitoring of organophosphorus and carbamate insecticide resistance in *Aedes aegypti* mosquitoes from Trinidad. **Medical and Veterinary Entomology**, Lanham, v. 12, p. 318-321, 1998.

VELLOSO, A. H. P. P.; RIGITANO, R. L. O.; CARVALHO, G. A.; CARVALHO, C. F. Efeitos de compostos reguladores de crescimento de insetos sobre larvas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). **Ciência e Agrotecnia**, Lavras, v. 23, n. 1, p. 96-101, jan./mar. 1999.

VIGILÂNCIA_UDI. Casos de dengue [informação sobre número de casos confirmados de dengue em Uberlândia no ano de 2005 até junho de 2006]. Mensagem recebida por <julijunqueira@hotmail.com> em 26 jun. 2006.

WESSELING, C.; CORRIOLS, M.; BRAVO, V. Acute pesticide poisoning and pesticide registration in Central America. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 207, p. 697-705, 2005.

WHO. **Report of the fourth WHOPES working group meeting**. Geneva: World Health Organization, 2001. Document WHO/CDS/WHOPES/2001.2.

WILLIAMS, C. M. Third generation pesticides. **Scientific American**, New York, v. 217, n. 1, p. 13-17, July 1967.

WILSON, T. G. The molecular site of action of juvenile hormone and juvenile hormone insecticides during metamorphosis: how these compounds kill insects. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 50, p. 111-121, 2004.

WIRTH M. C.; GEORGHIOU G. P. Selection and characterization of Temephos resistance in a population of *Aedes aegypti* from Tortola, British Virgin Islands. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fresno, v. 15, p. 315-20, 1999.

WOODS, R. E.; HERCUS, M. J.; HOFFMANN, A. A. Estimating the heritability of fluctuating asymmetry in field *Drosophila*. **Evolution: International Journal of Organic Evolution**, Lancaster, v. 52, p. 816-824, 1998.

WRIGHT, J. E.; CAMPBELL, J. B.; HESTER, P. Hormones for control of livestock arthropods: evaluation of two juvenile hormone analogues applied to breeding materials in small plot tests in Nebraska and Florida for control of the stable fly. **Environmental Entomology**, College Park, v. 2, n. 1, p. 69-72, 1973.

ZAKSON, A. M.; GREGORY, L. M.; SHOOP, W. L. Development of an assay for the screening of compounds against larvae of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 37, n. 4, p. 571-574, 2000.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1984. 718 p.

ZHU, J.; CHEN, L.; RAIKHEL, A., S. Posttranscriptional control of the competence factor β FTZ-F1 by juvenile hormone in the mosquito *Aedes aegypti*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.100, n. 23, p. 13338-13343, Nov. 2003.