



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
 INSTITUTO DE BIOLOGIA

(m7b)

ECOLOGIA DE SUPRESSÃO DE
 POPULAÇÕES DE
 CULICÍDEOS E SIMULÍDEOS

S.
 CARLOS FERNANDO SALGUEIROSA DE ANDRADE

*Este exemplar corresponde à
 redação final da Tese defendida
 pelo candidato Carlos Fernando
 Salgueiros de Andrade e aprovada
 pela Comissão Julgadora.*

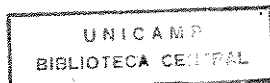
M. Habib

Tese apresentada à Universidade
 Estadual de Campinas, para a
 obtenção do grau de DOUTOR em
 BIOLOGIA (Área de ECOLOGIA).

Orientador:
 Professor Doutor:
 MOHAMED E. M. HABIB

CAMPINAS

1989





ÍNDICE

	página
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO HISTÓRICA.....	06
2.1. ENTOMOLOGIA MÉDICA, URBANA E VETERINÁRIA.....	06
2.2. ECOLOGIA DE PERNILONGOS, BORRACHUDOS E DA SUPRESSÃO DE SUAS POPULAÇÕES.....	21
2.2.1. ECOLOGIA DE CULICÍDEOS.....	21
2.2.1.1. AUTOECOLOGIA DE <u>CULEX</u> , <u>AEDES</u> E <u>ANOPHELES</u>	27
2.2.2. ECOLOGIA DE SIMULÍDEOS.....	37
2.2.2.1. SUBFAMÍLIA PARASIMULIINAE.....	38
2.2.2.2. SUBFAMÍLIA SIMULIINAE.....	39
2.2.3. SINECOLOGIA DE PERNILONGOS E BORRACHUDOS.....	46
2.2.4. ECOLOGIA DA SUPRESSÃO DE PERNILONGOS E BORRACHUDOS.....	51
2.2.5. O MANEJO INTEGRADO DE PERNILONGOS E BORRACHUDOS.....	60
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	68
3.1. IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES.....	68
3.2. AGENTES DE SUPRESSÃO.....	69
3.3. AVALIAÇÕES.....	71
3.3.1. SUSCEPTIBILIDADE.....	73
3.3.2. EFICIÊNCIA.....	75
3.3.3. APLICAÇÕES.....	76
3.3.4. COMPATIBILIDADE.....	78



X

3.3.5. RESISTÊNCIA.....79

3.4. TRATAMENTO MATEMÁTICO E ESTATÍSTICO.....81

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....83

4.1. ECOLOGIA DA SUPRESSÃO DE POPULAÇÕES DE CULI-
CÍDEOS.....83

4.1.1. RESPOSTAS A FATORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS
DE MORTALIDADE.....83

4.1.1.1. SUSCEPTIBILIDADE ABSOLUTA DE LARVAS DE
CULEX QUINQUEFASCIATUS A AGENTES QUI-
MICOS E MICROBIANOS.....84

4.1.1.1.1. SUSCEPTIBILIDADE ABSOLUTA AO DIFLU
BENZURON.....85

4.1.1.1.2. SUSCEPTIBILIDADE ABSOLUTA AO TEME-
FÓS.....89

4.1.1.1.3. SUSCEPTIBILIDADE ABSOLUTA AO BACIL
LUS SPHAERICUS.....92

4.1.1.1.4. SUSCEPTIBILIDADE ABSOLUTA AO BACIL
LUS IHURINGIENSIS VAR. ISRAELENIS.....97

4.1.1.2. SUSCEPTIBILIDADE RELATIVA DE LARVAS DE
CULEX QUINQUEFASCIATUS A AGENTES QUI-
MICOS E MICROBIANOS.....102

4.1.1.2.1. SUSCEPTIBILIDADE RELATIVA AO DIFLU
BENZURON.....103

4.1.1.2.2. SUSCEPTIBILIDADE RELATIVA AO TEFLU
BENZURON.....108

0/1



4.1.1.2.3.	SUSCEPTIBILIDADE RELATIVA AO TEMEFÓS.....	112
4.1.1.2.4.	SUSCEPTIBILIDADE RELATIVA AO BACILLUS THURINGIENSIS VAR. ISRAELEN- SIS.....	116
4.1.1.2.5.	COMPATIBILIDADE E SINERGISMO ENTRE LARVICIDAS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS.....	120
4.1.1.2.6.	AValiação DO EFEITO DE SÓLIDOS EM SUSPENSÃO NA SUSCEPTIBILIDADE DE CULEX QUINQUEFASCIATUS AO BACILLUS THURINGIENSIS VAR. ISRAELEN- SIS.....	127
4.1.1.3.	SUSCEPTIBILIDADE DE LARVAS DE CULEX ROROIAENSIS AO BACILLUS THURINGIENSIS VAR. ISRAELEN- SIS.....	133
4.1.1.4.	SUSCEPTIBILIDADE DE LARVAS DE Aedes Aegypti AO TEMEFÓS E AO BACILLUS THURIN- GIENSIS VAR. ISRAELEN- SIS.....	137
4.1.1.5.	SUSCEPTIBILIDADE DE LARVAS DE Anophles triannulatus AO TEMEFÓS E AO BACILLUS THURINGIENSIS VAR. ISRAELEN- SIS.....	142
4.1.2.	SUPRESSÃO DE POPULAÇÕES DE CULEX QUINQUE- FASCIATUS POR AGENTES BIÓTICOS E ABIÓTICOS.....	147
4.2.	ECOLOGIA DA SUPRESSÃO DE POPULAÇÕES DE SIMULÍ- DEOS.....	160
4.2.1.	SUSCEPTIBILIDADE DE SIMULÍDEOS A UM AGENTE MICROBIANO E UM QUÍMICO.....	161
4.2.1.1.	SUSCEPTIBILIDADE DE LARVAS DE SIMULIUM PERLINAX AO TEMEFÓS E AO BACILLUS THU-	



RINGIENSIS VAR. ISRAESENSIS.....	162
4.2.1.2. SUSCEPTIBILIDADE DE LARVAS DE SIMULIUM INCRUSTIATUM AO TEMEFÓS E AO BACILLUS THURINGIENSIS VAR. ISRAESENSIS.....	176
4.2.1.3. SUSCEPTIBILIDADE DE LARVAS DE SIMULIUM INAEQUALIUM AO TEMEFÓS E AO BACILLUS THURINGIENSIS VAR. ISRAESENSIS.....	179
4.2.1.4. INFLUÊNCIA DO TIPO DE RIACHO NA EFICI- ÊNCIA DO CARREAMENTO DE BACILLUS THURIN- GIENSIS VAR. ISRAESENSIS E DOIS LARVICI- DAS QUÍMICOS.....	186
4.2.1.5. DETECÇÃO DE RESISTÊNCIA AO TEMEFÓS EM POPULAÇÕES DE SIMULIUM PERTINAX.....	195
5. CONCLUSÕES.....	206
6. RESUMO.....	211
7. SUMMARY.....	215
8. LITERATURA CITADA.....	218

AGRADECIMENTOS

A realização dessa tese, mais do que fruto de um esforço individual, é resultado da colaboração de muitas pessoas também preocupadas com os problemas relativos à pesquisa de novas opções para o controle de pernilongos e borrachudos.

A não citação nominal de qualquer desses "colaboradores" não significa de modo algum qualquer ponderação na ajuda prestada, no entanto gostaria de registrar aqui meus agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Mohamed Habib, pela orientação, profunda amizade e pela natural capacidade de nos guiar por novos caminhos dentro da ciência entomológica.

Aos amigos-estagiários Armando Castello Branco Jr., Luiz Fernando D. P. Moreira, Lenice Medeiros, Maria Cristina Esposito, Márcio N. Vitale, Maurício Modolo, Claudia Waib e Elaine Mendeleck; que em diferentes etapas desse trabalho estiveram comigo.



NICAMP

Ao Sr. Gilson Tangerino, ex-Prefeito de Ilhabela e aos Srs. François Van Sebroeck (e família), Mário Volkoff, Dr. Stélio Maroja Filho, Dr. Felício Waib, Márcio Duarte Ribeiro, Hanz Scavenious, Profa. Márcia, Profa. Mariza Braga, Sra. Luiza Tangerino e Carlos Alberto Andrade por auxílios prestados nos trabalhos de campo.

Agradeço ainda à minha família e aos colegas e funcionários do Deptº de Zoologia, pelo constante apoio durante minha carreira.

Ao Paulinho, meu filho, dedico.

1. INTRODUÇÃO

Mesmo encarando a questão do controle aos insetos de importância médica e epidemiológica sob o prisma de uma guerra, algumas considerações são muito importantes. Em qualquer tipo de guerra, todo bom estrategista sabe que a base para se ter algum sucesso é o conhecimento acerca do inimigo.

A idéia de guerras, batalhas e confrontos contra insetos serve entre outras coisas para o cidadão comum entender as complexas avaliações que são feitas nas "baixas" causadas aos inimigos. Essas baixas são hoje avaliadas em termos de bioensaios de susceptibilidade e de Dinâmica Populacional, uma vez consolidados os conceitos de Manejo Integrado (entre 1950 e 1960). Originário do Controle Integrado (uso conjunto de um agente químico e um biológico compatíveis), o Manejo trouxe fortes componentes ecológicos às lutas contra os insetos. Foi descrito por Geier & Clark (1961) como um programa unificado para o controle de uma população praga, de forma que os danos econômicos seriam evitados e os efeitos colaterais adversos ao ambiente seriam minimizados. O termo PRAGA, um rótulo dado pelo homem, passou a existir com significado científico na Ecologia Quantitativa de populações. Geier (1966) voltou a caracterizar a prática do Manejo Integrado na agricultura como : 1) a determinação de como o sistema de vida da praga precisa ser modificado para reduzir sua população a níveis aceitáveis, isto é, abaixo do "limiar econômico de dano". 2) a aplicação dos conhecimentos biológicos e da tecnologia disponível para se processar essas modificações; ou

seja, Ecologia Aplicada. E 3) desenvolvimento de procedimentos tecnológicos compatíveis com os aspectos econômicos e ambientais, ou seja, adequação econômica e social.

A princípio, voltados para a Entomologia Econômica, aos poucos os conceitos de Manejo Integrado foram sendo adaptados para a área de Saúde Pública e Entomologia Médica. Na maioria dos países desenvolvidos, suas bases já estão solidificadas e a idéia tornou-se popular. Nos países do terceiro mundo existe ainda a premência do controle dos vetores de graves doenças humanas, como as malárias, leishmanioses, filaríoses, tripanosomíases, encefalites, tifo e oncocercose.

A questão mais crítica desta adaptação para os insetos de importância médica, está justamente nas "baixas" causadas ao inimigo. Enquanto na Entomologia Agrícola (ou Econômica em geral) pode-se trabalhar com níveis ou limiares econômicos, muitas vezes permitindo populações expressivas do inseto alvo, na área de saúde e principalmente se o inseto é vetor de doença, os níveis populacionais aceitáveis são muito baixos, ou mesmo nulos. Arata (1986) ao se reportar aos altos índices de controle que normalmente se deseja nas populações vetorais, salienta que interessa mais saber que proporção foi deixada sobreviver, do que o tanto que foi morto; uma pertinente questão de ponto de vista.

Outro aspecto que diferencia o manejo das pragas agrícolas para o dos vetores é o componente relativo aos agentes etiológicos. Aos estudos do inseto transmissor somam-se toda a dinâmica do agente patogênico, o estudo dos ciclos extrínsecos e intrínsecos. São envolvidas ainda mais tabelas de vida,

taxas de picadas, proporção de vetores infectados, proporção de pessoas afetadas que se recuperam, proporção de imunes, valores limites, a questão dos reservatórios vertebrados silvestres ou não. São tantos outros parâmetros que tornariam os modelos e o próprio manejo, quando exequíveis, bastante complexos (Sheppard et al., 1969 e DMS, 1972).

Quando não lidamos com quadros graves de doenças transmitidas por insetos, aonde a questão envolve controle no seu sentido mais forte (supressão ou erradicação), a saída hoje seria o manejo do sistema todo. Uma abordagem multidisciplinar do inimigo "incômodo". Aos entomólogos e ecólogos, nisso que estamos chamando uma guerra, caberia entre outras coisas, a incansável tarefa de desenvolver e testar munições e armas para o combate.

A idéia de uma guerra declarada aos insetos daninhos serve também para essas analogias em relação às munições e armas. Estima-se que as diversas indústrias do ramo avaliam entre 5.000 a 10.000 novos compostos por ano para o controle em geral, passando por 7 etapas distintas (Wright, 1971). O campo da saúde pública não é dos mais privilegiados, pois o mercado relativamente pequeno (10 a 12% do total produzido) não oferece muitos incentivos à indústria de desenvolvimento de inseticidas a esse fim. Desta forma, o batalhão de controle de vetores, pragas de importância médica-veterinária ou urbana e na saúde pública em geral, muitas vezes se aproveita do desenvolvimento dos princípios ativos para a agricultura. Faz parte da munição ainda o desenvolvimento de novas formulações. Pós-molháveis, concentrados



emulsionáveis, suspensões aquosas, granulados flutuantes ou não, pastilhas efervescentes e tabletes impregnados, estão entre as formas de se apresentar um mesmo agente letal, seja químico ou biológico.

As armas para o lançamento dessa munição muitas vezes também são adaptadas, outras vezes são desenvolvidas especificamente para as lutas contra os vetores. Pulverizadores, dispersores, nebulizadores e outros aparatos com as mais diversas características são montados em carros, helicópteros e ironicamente, até em aviões bombardeiros da II Guerra Mundial. Impossível evitar a idéia bélica.

Seguindo-se estas idéias, o presente trabalho pretende avaliar a relação de susceptibilidade de algumas espécies de pernilongos e borrachudos a alguns agentes de controle que se colocam em destaque como promissores.

Os estudos envolvem entre outras, quatro importantes espécies da Ordem Diptera: Culex quinquefasciatus Say, a espécie mais antropofílica de pernilongo entre nós, Simulium pertinax Kollar, igualmente o mais antropofílico dos borrachudos, além de Aedes aegypti (L.) vetor potencial do dengue e da febre amarela e Anopheles triannulatus (Neiva & Pinto), recentemente apontado como vetor secundário de malária.

Entre os agentes avaliados, incluem-se larvicidas químicos, agentes biológicos como Bacillus thuringiensis var. israelensis Goldberg & Margalit e Bacillus sphaericus (Neide), e ainda produtos à base de benzoilfeniluréia, conhecidos co-

mo reguladores de crescimento.

Aspectos ecológicos para cada bioensaio ou aplicação de campo também serão analisados.

Como base para um possível controle integrado, também pretendeu-se avaliar a associação entre a bactéria *B. t. var. israelensis* (daqui para frente referida como Bti) e dois larvicidas químicos

Considerando-se ainda a importância da detecção de resistência em programas de manejo, dois métodos práticos são avaliados e discutidos para os programas contra borrachudos.

Com esses estudos, o presente trabalho pretende acrescentar informações para o possível estabelecimento de programas de manejo integrado dessas pragas, nos casos aonde essa estratégia se constitua como opção mais adequada.

2. REVISÃO HISTÓRICA

2.1. ENTOMOLOGIA MÉDICA, URBANA E VETERINÁRIA

Dentro dessa área da Entomologia, pode-se tentar caracterizar os insetos que afetam o homem e suas criações animais rapidamente em duas categorias (Metcalf, 1975). A primeira incluiria os insetos que a ferroam ou picam, na maioria das vezes para respectivamente se defender ou alimentar de sangue, e ainda os que de várias maneiras irritam ou incomodam pela simples ocorrência. Nessa primeira categoria temos como exemplo várias espécies de formigas, abelhas, vespas, moscas, mosquitos, borrachudos, o percevejo de cama *Cimex lectularius* L., o barbeiro, e o chato *Phthirus pubis* (L.). As baratas e moscas (Muscidae) estariam segundo esse critério, entre os incômodos.

Numa segunda categoria de insetos de importância ao homem estariam os clássicos vetores de doenças, muitas vezes de extrema gravidade. Os mosquitos transmissores das malárias, febre amarela, encefalites, dengue e leishmaniose, a pulga *Xenopsylla cheopis* (Rotsch.) vetora da peste, a mosca tsé-tsé vetora da doença do sono, os barbeiros vetores da doença de Chagas e os borrachudos vetores da oncocercose são exemplos.

Essa caracterização, embora tentadora, super-simplifica as várias maneiras como os insetos podem diretamente nos afetar ou aos animais do nosso interesse, pois várias espécies podem cair em qualquer das categorias dependendo do contexto ecológico a que estão associadas, como suas densidades populacio-

nais e a presença ou não do patógeno que podem potencialmente transmitir. Outros insetos igualmente importantes à saúde humana teriam que ser arranjados numa terceira categoria. É o caso do berne, bicho de pé e bicheira, cujos problemas causados, tipicamente nas áreas rurais, não podem ser ignorados. O relacionamento entre os insetos e o homem na área de saúde é dinâmico. Tem sido assim em função das diferentes regiões do mundo, das condições socio-econômicas e em função do próprio tempo.

Evolutivamente falando, a espécie *Homo sapiens* L. é de origem recente, e cerca de 200 espécies de parasitas em geral são registradas para esse hospedeiro. Parte das doenças parasitárias que sofremos foram adquiridas dos nossos ancestrais pré-humanos, outras dos animais domésticos como o gato, cachorro ou porco, e outras ainda dos animais silvestres.

No começo do século ⁽¹⁹²⁹⁾ Hegner já assinalava as afinidades entre os protozoários parasitas do homem aos do macaco, ressaltando que chegavam a ser morfologicamente indistinguíveis. Poucas espécies de parasitas foram filogeneticamente passadas para a espécie humana a ponto de serem hoje exclusivas. O helminto *Enterobius vermicularis* é um exemplo, que segundo Cameron (apud Pessoa & Martins, 1982) conseguiu isso graças ao seu modo peculiar de transmissão (direto do ânus para a boca), com poucas oportunidades de explorar outros hospedeiros.

A maioria dos parasitologistas aceita que em geral, os parasitas humanos foram mais provavelmente adquiridos dos animais próximos filogeneticamente e fisiologicamente; os macacos.

Testes sorológicos têm mostrado que a maioria dos macacos contrai febre amarela durante sua vida e sem dúvida podem morrer disso. Epizootias dessa arbovirose transmitida por mosquitos, ceifou populações inteiras de macacos no Brasil em 1947 e foram provavelmente as responsáveis pelo marcante decréscimo nas populações de símios da Ilha Barro Colorado entre 1934 e 1952 (Cloudsley-Thompson, 1976).

Segundo este último autor, no Novo-Mundo os registros de problemas que os insetos causam na área da saúde humana são bem mais recentes, no entanto o bicho de pé *Sarcoptes penetrans* (= *Iunqa penetrans*) e o piolho, já eram conhecidos na era pré-colombiana. Das doenças transmitidas por insetos, a malária e a leishmaniose no México e América do Sul foram as que causaram maior impressão nos conquistadores espanhóis.

A malária é provavelmente originária da África e posteriormente se espalhou pelas áreas tropicais e subtropicais do mundo todo. Seus registros são muito antigos e chegam a ser pré-históricos. Alguns de seus efeitos, isquemia e anemia, ficam registrados nos ossos por um alargamento dos poros, conhecido como hiperostose parótica. Esses sintomas são registrados em mais de 30 % dos quase 170 esqueletos adultos encontrados nos sítios pré-históricos do Mediterrâneo Oeste, e foram creditados à malária, amebíase e ataque por ancilostomatídeos, entre 6.000 e 5.000 anos atrás (Cloudsley & Thompson, 1976). A esplenomegalia, também sintoma dessa parasitose, é registrada em múmias egípcias com mais de 3.000 anos; sendo descrita clinicamente já por Hipócrates (314-370 a.c.). Seu agente etiológico *Plasmodium* sp, só

veio a ser conhecido em 1880, quando Laveran o observou nos primitivos mas eficientes microscópios da época. Sua forma de transmissão por mosquitos foi suspeita primeiro por Manson, nos seus estudos sobre elefantíase publicados em 1894. Posteriormente, Ross investigou na Índia a malária dos pássaros, causada pelo *P. praecox* e transmitida pelo *Culex fatigans*. Alguns anos após, viria a publicar suas investigações sobre os estádios de desenvolvimento dos parasitas da malária humana nos mosquitos. Finalmente os pesquisadores italianos Grassi, Bastianelli e Bignami, de acordo com Pessoa & Martins (1982), "tiveram a glória de conseguir pela primeira vez o desenvolvimento das três espécies de parasitas da malária nos anofelinos". Daqueles tempos até hoje, toda uma ciência foi evoluída, a Malariologia, e milhares de trabalhos científicos foram publicados. A cada volume do periódico trimestral de divulgação da Associação Americana para o Controle de Mosquitos, até 1984 pelo menos, listava uma média de 120 trabalhos realizados só nessa área; compilados e organizados por H. Sollers-Riedel (e.g. Sollers-Riedel, 1984), resultando em aproximadamente 500 trabalhos por ano.

Segundo os registros da Organização Mundial de Saúde, já tivemos uma população de 1,8 milhões de habitantes em áreas malarígenas do mundo, que por volta de 1920 era registrada desde um extremo norte (64°N) em Achangel (URSS) até um extremo sul (32°S) em Córdoba, na Argentina (Sambasivan, 1975). Nos Estados Unidos aonde a malária é atualmente rara, estimou-se 900 mil casos em 1935, com 4 mil mortes. Na Índia, para uma população de 350 milhões de pessoas, 100 milhões de casos eram comuns

anualmente, com 3 milhões de mortes (Pessoa & Martins, 1982).

No Brasil, de acordo com Deane (1986) a primeira referência sobre a malária é de 1587, quando Gabriel Soares de Souza registrou a febre terçã e quartã entre os índios Tupinambá. Durante o período colonial não há registros de epidemias, até o final da década de 1870 quando começou a migração de nordestinos para exploração da borracha na Amazônia. Grandes surtos ocorreram ainda com a abolição da escravatura em 1888, principalmente no Rio de Janeiro, no começo do século, com a construção da estrada de ferro Madeira-Mamoré e no final da década de 30, nos Estados do Rio Grande do Norte e Ceará, devido à introdução da espécie vetora africana *Anopheles gambiae* que posteriormente (1940) foi erradicada. Nessa época, estimou-se que o impaludismo ocorria em 85 % do território nacional, com 6 milhões de pessoas sofrendo a doença anualmente, ou seja, 1/7 da população na época (Barreto, 1940). Atualmente, os registros de casos de malária vêm aumentando no nosso país. Em 1978 foram 121.577 casos oficialmente registrados contra 104.436 casos em 1977 e 64.320 casos em 1974. Dez anos após essa última data, em 1984, tivemos 378.257 casos (Pessoa & Martins, 1982; WHO, 1986). Os Estados do Pará, Amazonas, Acre e ainda Amapá, Roraima e Rondônia, além de Mato Grosso, Goiás e Maranhão estão na área endêmica, no entanto a ocorrência de focos extra-endêmicos também tem preocupado. Foram pelo menos 21 casos no Guarujá /SP em 1986, 221 em Campinas/SP (SUCEN, ofício 261/86), 65 em Presidente Prudente/SP e assim por diante (Andrade, 1987).

Os mosquitos anofelinos vetores da malária no Brasil são agora melhor conhecidos. Admite-se mais de 50 espécies desse gênero no nosso País, sendo que destacam-se como vetores atualmente An. darlingi, An. aquasalis, An. albitarsis, An. nuneztovari, An. oswaldoi, An. triannulatus, An. strodei, e An. evansae; todos do subgênero Nyssorbynchus. No subgênero Kerteszia apresentam-se ainda como vetores as espécies An. cruzi, An. bellator e An. homunculus (Deane, 1986). Embora a eficiência vetorial de An. triannulatus tenha sido questionada (Faran & Linticum, 1981 e Gorhan et al., 1973), a espécie foi também considerada na Venezuela como vetora de malária, pois durante uma epidemia naquele país, suas densidades populacionais eram muito altas (Benarroch, 1931), e já havia sido encontrado fêmeas naturalmente infectadas com oocistos do protozoário (Gabalón & Cova Garcia, 1946).

Apesar da possibilidade de vir a entrar no mercado no ano passado ter sido precipitadamente noticiada (Jornal Folha de São Paulo, 11-12-1985), a vacina contra a malária ainda não está sendo comercializada até hoje.

Graças à descoberta da propriedade antigênica de proteínas circum-esporozoíto, a possibilidade de sua utilização na fabricação de vacinas contra a malária tem sido intensamente estudada. O casal Nussenzweig (Dr. Victor e Dra Ruth), brasileiros trabalhando no Centro Médico da Universidade de Nova York desde 1964, são os principais geradores dessas pesquisas. As possibilidades estão entre : 1) Uma vacina sintética (seria a primeira a ser usada no homem), aonde um peptídeo associado a uma

proteína carregadora atuam como antígeno. 2) Por Engenharia Genética, a possibilidade de se obter grandes quantidades da proteína circum-esporozoíto em bactérias ou leveduras e o seu uso conjunto a hidróxido de alumínio, adjuvante que estimularia a ação antigênica. E 3) com a introdução do gene da proteína circum-esporozoíto no vírus da vacínia, que por sua vez se encarregaria de imunizar as pessoas inoculadas, da mesma forma como foi feita a vacina contra a varíola. Essas idéias e os resultados já obtidos aparecem em publicações recentes (Nussenzweig & Nussenzweig, 1985a, 1985b; Anônimo, 1986; Bialy, 1986 e Miller, 1986).

A febre amarela, doença virótica também veiculada pelos mosquitos, tem igualmente registros antigos. Ao que parece a primeira epidemia identificada foi em 1648 em Yucatan. A partir daí a doença se espalhou pelo México, Antilhas e Estados Unidos, desde o norte como a Filadelfia (1793) e Memphis (1878) até o sul, como Galveston e Nova Orleans (1905) (Manson-Bahr, 1967). Nessa última cidade 8 epidemias foram registradas no século passado, cada uma matando pelo menos 2.000 pessoas, e uma delas vitimando 13.000 americanos (Horsfall, 1962).

A hipótese da transmissão da febre amarela pelos mosquitos foi levantada inicialmente por Finlay (1881) e posteriormente confirmada por Reed (1901). Nessa época os pesquisadores brasileiros A. Lutz e E. Ribas conseguiram por autoinoculação demonstrar definitivamente que o Ae. aegypti era o vetor. Conseguimos assim erradicar a epidemia que nos atingia principalmente em Santos, Campinas, Ribeirão Preto e outras cidades do interior do Estado de São Paulo, controlando o mosquito vetor atra-

vés de campanhas de saúde.

Em 1928-29 foi registrado o último grande surto da forma urbana de febre amarela no nosso continente, na cidade do Rio de Janeiro (Soper, 1935 e 1942). Depois de controlada, passaram-se vários anos até ser novamente registrada, em 1948-49 no Panamá (Manson-Bahr, 1967) e em 1954 em Trinidad (Forattini, 1965). A forma silvestre da febre amarela, por sua vez, pode ocorrer tanto endêmica como epidemicamente. É principalmente transmitida entre os macacos pelo Ae. africanus na África e por Haemagogus sp na América do Sul (Giles, 1975). Foi Manson em 1911 quem primeiro sugeriu que os macacos serviam como reservatório dos vírus e Balfour quem confirmou, após notar grande mortalidade em macacos ("red howler") antes de um surto em Trinidad e na Venezuela. Em 1935, macacos com anticorpos para o vírus foram detectados na América do Sul e na África Central. Em 1938, Soper pode notar durante um surto de febre amarela nos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro um aumento de mortalidade entre macacos, avaliando o papel desses reservatórios silvestres na manutenção dessa arbovirose (Manson-Bahr, 1967).

A erradicação da forma urbana da febre amarela no mundo todo foi conseguida via o controle de seu vetor Ae. aegypti, e o desenvolvimento da vacina utilizando-se o vírus 17D, apatogênico. A forma silvestre por sua vez nunca foi erradicada e o risco de epidemias devido à sua urbanização é sempre grande. O mosquito Ae. aegypti está novamente entre nós sendo frequentemente registrado. A doença também ocorre, e ao que parece em números crescentes. Foram 13 casos em 1974 contra 45 em 1984. A competên-

cia de Ae. albopictus como vetor, também recentemente detectado no Brasil, ainda está pouco estudada (Knudsen, 1986 e Filho, 1987). Tonn (1982) registra alguns dos problemas mais importantes a serem estudados na nossa região, no sentido de não haver um retrocesso nas conquistas obtidas contra as doenças transmitidas pelos insetos.

O dengue constitui-se numa doença que na verdade pode ser causada por quatro tipos antigenicamente diferentes de vírus do gênero Flavivirus (Família Flaviviridae) (Westaway et al., 1985). Na forma de febre hemorrágica é ainda a maior causa de mortalidade entre crianças em muitos países do sudeste da Ásia, e tem aumentado sua expressão tanto nas ilhas do Pacífico (Rosen, 1984) como nas Américas (Guzman et al., 1984).

De acordo com Manson-Bahr (1967) historicamente T. H. Bancroft parece ter sido o primeiro a publicar, em 1906, evidências da transmissão do dengue por mosquitos, sendo que Graham, na Síria, creditou precipitadamente tal transmissão ao Cx. fatigans. Segundo aquele autor ainda, foram Cleland, Bradley e MacDonald, na Austrália, que definitivamente demonstraram ser o Ae. aegypti o principal vetor. Em outras regiões do mundo no entanto, Ae. albopictus, Ae. scutellaris polynesiensis e Ae. s. hawaiiensis também podem transmitir. Em geral a doença não é fatal, no entanto reduz drasticamente a força trabalhadora entre as populações atingidas. Na Turquia e Grécia, a epidemia que ocorreu em 1928, mais de 250 mil casos foram registrados, com uma taxa de mortalidade de 1:61.000 (Manson-Bahr, 1967). Após a sua erradicação no início da década de 60, centenas de milhares de casos

ocorreram ainda na região do Caribe, só nas últimas duas décadas (Tonn et al., 1982 e Gratz, 1985). O custo financeiro e social de uma epidemia é alto. Von Allmen et al. (1979) estimaram entre 6 e 15,6 milhões de dólares de prejuízos na epidemia de dengue que ocorreu em 1977 em Porto Rico, não considerando ainda questões como a escolar, turística e outras.

No Brasil, Causey e Theiler (1958) obtiveram testes sorológicos positivos para o vírus entre indivíduos na Amazônia, sugerindo que a doença ocorreu no passado e desapareceu posteriormente devido ao controle do vetor. Em abril de 1986, foi considerada como sendo uma das formas benignas de dengue, a doença que atingia mais de 2.000 moradores em Nova Iguaçu/RJ. Nos meses seguintes os jornais iriam registrar mais de 500.000 vítimas no Estado de Rio de Janeiro, além de algumas dezenas de casos exportados para os Estados vizinhos. Dois casos de forma hemorrágica foram confirmados pela imprensa no Rio de Janeiro em 1986.

Desde a sua criação em 1947, a Organização Mundial de Saúde tem dado prioridade para a assistência técnica aos países em desenvolvimento, no controle de doenças transmitidas por insetos. Entre elas, encontram-se ainda relacionadas aos mosquitos, as filarioses linfáticas, Brugia e Wuchereria, encefalites virais; principalmente a Japonesa B., São Luís, Venezuelana equina, e equina do oeste e do leste (Umenai, 1985 e Anônimo, 1985).

A importância epidemiológica dos borrachudos, está ligada principalmente à oncocercose humana, causada pelo verme filarídeo Oncocerca volvulus (Oncocercidae). Historicamente,

mente a doença parece ter sido descrita pela primeira vez por um médico missionário alemão, manifestada em negros africanos de Ghana, sendo que foi Blanchard em 1899 quem demonstrou a presença do helminto nos espaços linfáticos, causando os típicos tumores na pele (Manson-Bahr, 1967). Em 1915 Robles encontrou a doença na Guatemala, sendo que o verme, originariamente descrito em 1893 por Leukart como *Eilaria volvulus*, foi redescrito por Brumpt com o nome de *Oncocerca caecutiens*.

Na África, a oncocercose é principalmente transmitida por *Simulium damnosum*, e em áreas localizadas no leste africano pelo *S. neavei*. A hipótese mais aceita antigamente era de que a doença teria sido introduzida nas Américas por escravos trazidos do oeste africano, durante o século XVI (Reyes, 1952). A doença está hoje definitivamente estabelecida desde o sul do México, Guatemala, Venezuela e até a Colombia (WHO, 1971), no entanto, devido ao fato dos vetores nestes países, *S. ocraceum*, *S. metallicum* e *S. exiguum* não se infectarem com a cepa africana do helminto e vice-versa, a origem africana da doença nas Américas tem sido posta em dúvida (Leon & Duke, 1966 e Duke et al., 1967 apud Duke, 1970). No Brasil também Rassi e colaboradores (apud Pessoa & Martins, 1982) julgaram ser os focos americanos autóctones. De qualquer forma, o número de pessoas atacadas parece ter sido sempre muito expressivo. Alguns registros relatam cerca de 200 mil casos no oeste africano colonizado pelos franceses. Outros chegam a arriscar 20 milhões de casos (WHO, 1969). Dela Torre descreveu a doença no México acusando cerca de 15 mil casos no Estado de Chiapas e 5 mil em Oxaca. No Brasil felizmente

são poucos casos. Bearzoti et al. (1967) assinalaram pela primeira vez a doença em uma criança de Roraima. Alguns anos depois (1972) Moraes & Dias registraram novamente a oncocercose em missionárias americanas na região do rio Toototobi, na Amazônia. Ao todo, foram poucos casos, também em índios, e segundo Ramirez-Perez e Ramirez (apud Rassi et al., ⁷⁵1974) a transmissão estaria sendo feita pelo S. amazonicum. Na Guatemala e Venezuela, mais recentemente têm sido desenvolvidos vários estudos sobre a oncocercose e seus transmissores (Takaoka, 1980, 1981a, 1981b, 1982a, 1982b; Takaoka et al., 1984 e Ramirez-Perez, 1984 apud Coscarón, ¹⁹⁸⁹no prelo). OK

A oncocercose é caracterizada pelo aparecimento de tumores fibrosos sub cutâneos, que quando se localizam próximos aos olhos, ou quando as microfilárias migram e invadem o nervo óptico podem causar cegueira parcial ou total (Pessoa & Martins, 1982). Em algumas epidemias, como a detectada no Senegal em 1961, taxas de cegueira acima de 15% foram registradas (Jamnback, 1973). Ainda na África, uma campanha maciça no vale do rio Volta foi iniciada em 1974 para o controle dessa doença, que envolvia na época cerca de 10 milhões de pessoas, das quais 1 milhão estavam infectadas (WHO, 1973a) e 70.000 total ou parcialmente cegas (Youdeowei & Service, 1983).

Segundo Cerqueira (1959), os borrachudos seriam ainda responsáveis pela transmissão de um outro helminto no Brasil, embora de menor importância. A mansonelose, doença causada pela Mansonella ozzardi (Dipetalonematidae) foi originalmente descrita em 1897 por Manson quando estudou o sangue de índios do Caribe. Nessa região, a transmissão é creditada ao Culicoides fu-



rens (Buckley, 1934). Deane (1949) e Mangaburu (1959) assinalaram a encefalose ^{menção veloz} respectivamente no Brasil e no Peru. No nosso país, ¹⁹⁸⁵ OK na cidade de Manaus, entre 2.405 moradores a taxa de infecção era de 0,6%.

Na área da veterinária os borrachudos também têm representado problemas na transmissão de filárias para o gado (Steward, 1937; Duke, 1967), além de filárias e hemosporídeos Leucocytozoon spp para aves (Anderson, 1956; Jones & Rickey, 1956 e O'Roke, 1934). A importância dos ataques hematófagos dos borrachudos, independentemente da transmissão de doenças parasitárias, também tem sido motivo de preocupação nas áreas de saúde pública e veterinária. Enormes perdas foram registradas nos rebanhos do vale do rio Mississippi (E.U.A.). Nessa região, os ataques eram devidos a Cnephia pecuarum (Riley, 1887), que no entanto parece ter deixado de ser problema sério desde a década de 30 (Bradley, 1935). Em 1931, cerca de 1.000 mulas morreram nessa região devido ao ataque (Cloudsley-Thompson, 1976). Segundo esse último autor, em 1932, mais de 16 mil animais domésticos morreram na Romênia pelo ataque de S. colombaschense, sendo que metade das perdas ocorreu no gado. Além do efeito direto do ataque causando mortes, perdas na produção de leite, carne e ovos também foram avaliadas (Anderson & Voskuil, 1963; Freedon, 1969 e Edgar, 1953). Recentemente, Lancaster Jr. & Meisch (1986) abordam esses aspectos, principalmente em relação à produção animal nos E.U.A.

Na área de saúde pública, o ataque dos simuliídeos tem sido mais problemático devido à irritação que sua picada causa; principalmente quando em algumas épocas as densidades po-

pulacionais são altas. As picadas são seguidas normalmente de forte prurido, dor e inchaço. Nas pessoas mais sensíveis pode-se estabelecer um quadro sistêmicos mais generalizado, acarretando dores de cabeça, febre, náuseas e adenites. Erupções populacionais de Boophthora erythrocephala foram responsáveis por causar problemas clínicos em mais de 2.000 pessoas na Iugoslávia (Zivkovic & Byurany, 1972); e nos Estados Unidos (Maine), o ataque de borrachudos também foi responsável por sérios problemas de saúde em moradores e turistas (Sleeper, 1975). O mesmo tipo de problema foi também abordado por LaScala & Burger (1981) em New Hampshire, com grandes perdas econômicas e sociais tanto para moradores como para o turismo.

No Brasil ocorrem constantes problemas desse nível, causados principalmente por S. pertinax, desde a região litorânea dos Estados do Rio de Janeiro e São Paulo, até o interior do Rio Grande do Sul. Autores como Pinto (1938) e Ihering (1939) já descreveram a voracidade desta espécie. Souza (1984) e Guimarães & Medeiros (1987) abordam essa questão nos Estados do Rio Grande do Sul e Paraná respectivamente. Na região da usina de Angra dos Reis / RJ, pesquisadores do Instituto Oswaldo Cruz chegaram a coletar até 600 fêmeas por hora, por homem. Nos Estados de São Paulo (litoral norte) e Santa Catarina (interior) esses números oscilam normalmente entre 150 e 400, segundo relatos de técnicos, mesmo em áreas sob controle químico periódico dos órgãos oficiais de saúde. Infelizmente faltam maiores detalhes a respeito dos impactos sociais e econômicos no nosso país, ficando a discussão do problema restrita. Recentemente, Habib (no ~~prelo~~ ¹⁹⁸⁹)

propõe uma política nacional integrada para a questão dos borrachudos no Brasil, e ainda esperamos pelos seus efeitos. A recente fundação de uma sociedade para estudos sobre borrachudos, a nível latinoamericano (ALAS), parece ter sido de certa forma um avanço, conquistado como consequência dos Seminários sobre Insetos Vetores e Animais Sinantrópicos, e os Encontros sobre Simulídeos realizados em São Paulo, Campinas e Porto Alegre. Esse penúltimo, coordenado pelo autor.

2.2. ECOLOGIA DE PERNILONGOS, BORRACHUDOS E DA SUPRESSÃO DE SUAS POPULAÇÕES

R

Sem dúvida nenhuma o grande avanço pelo qual a humanidade passou na solução de todos os seus problemas, reside no desenvolvimento das nossas ciências e na aplicação dos conhecimentos obtidos durante séculos. Os estudos básicos de Biologia, Bionomia, Ecologia e Sistemática dos mosquitos em geral serviram, e obviamente ainda servem como fundamental base para a luta anti-vetorial e para o controle cada vez mais racional dos pernilongos e borrachudos.

2.2.1. ECOLOGIA DE CULICÍDEOS

A Família Culicidae tem sido dividida de diferentes maneiras, por vários autores, desde os trabalhos básicos sobre a sistemática do grupo feitos por Theobald no início do século. Alguns admitem na Família apenas a Subfamília Culicinae, que abrangeria os mosquitos verdadeiramente ditos. Outros admitem as Subfamílias Culicinae e Chaoborinae, e outros ainda, como a maioria, adotam a classificação de Edwards, que inclui também Dixinae no grupo, sendo que esses dois últimos não são mosquitos

picadores (Pessoa & Martins, 1982). De acordo com Horsfall (1962), Culicinae abrange cerca de 30 gêneros, com pelo menos 10 deles apresentando importância epidemiológica.

De cerca de 75.000 espécies descritas para a Ordem Diptera, no mundo todo ocorrem umas 3.000 espécies de mosquitos (DMS, 1967). Essa diversidade grande dentro do grupo permitiu uma enorme expansão em todas as regiões zoogeográficas da Terra. Segundo Horsfall (1962), pode-se encontrar mosquitos até 3.600 metros de altitude ou no fundo de minas, a 900 metros de profundidade, desde a região Ártica até a Antártica.

As Tribos mais aceitas para Culicinae são: Toxorhynchitini, Sabethini, Culicini e Anophelini; mesmo utilizando-se diferentes caracteres dos adultos para a sistemática (Bittencourt & Alves, 1977).

A Tribo Toxorhynchitini inclui apenas o gênero Toxorhynchites. As larvas podem ocorrer tanto em ambientes naturais como bromélias e ocos de árvores (Bai et al., 1981; Frank et al., 1984 e Steffan & Evenhuis, 1981) quanto em ambientes urbanos (Gordon & Peterson, 1980 e Focks et al., 1983). Diversos estudos sobre a Bionomia (Frank et al., 1984), Biologia e Ecologia (Trimble & Smith, 1978, 1979 e Lamb & Smith, 1980) desse grupo têm sido feitos nos últimos anos. Segundo Pessoa & Martins (1982), o conhecido hábito de predação de larvas de outros mosquitos, típicos das larvas de Toxorhynchites, já vem sendo observado há muito, desde Adolpho Lutz em 1898 nos seus estudos. Os adultos são mosquitos grandes, normalmente com pintas ou cores metálicas brilhantes. Possuem tromba longa e curva e não são hematófagos, ali-

mentando-se de néctar e frutas. Tal é o caso de L. violaceus, observado por Pessoa & Galvão (apud Forattini, 1965) alimentando-se de uma Borriginaceae; a Cardia corymbosa. No Brasil ainda, recentemente grupos de pesquisadores do Instituto Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e Departamento de Zoologia da Unicamp vêm desenvolvendo trabalhos sobre a criação de diferentes espécies desse gênero.

A Tribo Sabethini é infelizmente ainda pouco conhecida. Agrega segundo Forattini (1965) oito gêneros, dos quais três pertencem ao Velho Mundo e cinco ao Continente Americano. Desses últimos, apenas Wyeomyia possui espécies neárticas ou que ocorrem até o extremo sul da região Neotropical. Os outros gêneros são tipicamente dos trópicos (Limatus, Phonimosia, Sabethes e Trichoprosopon). Estudos de Bionomia sobre algumas espécies têm mostrado que os ovos são em geral na forma de losangos ou fusiformes (Galindo, 1958 e Forattini et al., 1963). As larvas criam-se em plantas como bromélias e musáceas ou mesmo em depósitos artificiais (Kumm, 1933 e Lane, 1945). Os adultos são silvestres, de cores metálicas devido às suas escamas, sendo ainda as fêmeas hematófagas. As do gênero Sabethes são incriminadas como transmissoras da febre amarela silvestre (Horsfall, 1962) e de várias outras arboviroses (Pessoa & Martins, 1982).

A Tribo Culicini abriga dez gêneros (Forattini, 1965) e ao menos para os seis com importância epidemiológica: Haemagogus, Mansonia, Culiseta, Psorophora, Culex e Aedes, existem mais estudos ecológicos. Os gêneros Orthopodomyia, Uranotaenia, Deinocerites e Aedeomyia têm suas ecologias pouco conheci-

das, embora alguns trabalhos no Brasil abordem o assunto para algumas espécies (Lane, 1937, 1943 e Forattini, 1958, 1965).

Os mosquitos do gênero Haemagogus são praticamente exclusivos da região Neotropical. Seus ovos são resistentes, eclodindo as larvas apenas na presença de água e sob condições microclimáticas por vezes bem definidas (Hovanitz, 1946); principalmente em coleções d'água naturais. Os adultos são de hábitos essencialmente silvestres, com as fêmeas apresentando atividade hematófaga predominantemente diurna e em geral na copa das árvores. A partir dos estudos de Shannon et al. (1938) que primeiro demonstraram o papel dos mosquitos Haemagogus como vetores da febre amarela silvestre e como reservatórios naturais do vírus, há uma crescente preocupação no seu controle. No Panamá, o uso de armadilhas luminosas New Jersey para o estudo da dinâmica da transmissão dessa virose mostrou bem a importância desses mosquitos naquela região, exatamente por serem diurnos (Blanton et al., 1955).

O gênero Mansonia se destaca entre os culicídeos devido ao fato de suas larvas e pupas dependerem de plantas aquáticas para obter oxigênio. Quanto a esta questão, existe uma diversidade dentro da Subfamília e Goma (1966) caracteriza para os culicídeos em geral três estratégias para a respiração da fase imatura: 1) Captação do ar direto na superfície da água. 2) A partir de bolhas ou filmes de ar aprisionados na superfície de plantas aquáticas ou semi aquáticas e 3) dos tecidos das plantas aquáticas, como em Mansonia spp.

Segundo Forattini (1965) o gênero Mansonia é essencialmente neotropical, com cerca de 25 espécies. Em geral os ovos são depositados em posturas com aspecto de massas circulares, rosetas ou jangadas na superfície líquida, ou abaixo da mesma na vegetação. As larvas vivem presas às plantas submersas e podem mudar de lugar com facilidade; ao contrário das pupas que em alguns casos só se fixam uma vez, ao empuparem (Horsfall, 1955). As fêmeas preferem coleções médias ou grandes de água, parada ou com pouco movimento, para oviporem; mas sempre com plantas aquáticas como Eichhornia ou Pistia. São de atividade noturna, hematófagas e vorazes. Segundo Haddow (apud Goma, 1966) enquanto algumas espécies silvestres da floresta Zika (Uganda) picam preferencialmente em lugares altos (e.g. M. aurites; 36 metros), outras atacam ao nível do solo, como M. africana. Boorman (1960) definiu, em função desse fato, 5 locais diferentes de coleta para o estabelecimento do habitat preferencial de ataque dos culicíneos, no seu trabalho em vilas do oeste africano: 1) Uma plataforma a 20 metros de altura, 2) na base das árvores, 3) na margem das trilhas a 400 metros do centro das vilas, 4) no centro das vilas e 5) dentro das cabanas. Forattini (1965) salienta ainda que embora sejam em geral silvestres, são bastante atraídos pela luz; voam distâncias consideráveis (MacCreary & Stearns, 1937) e por isso podem ocorrer intradomiciliariamente. Devido a esse fato, além de serem incriminadas como reservatórios de viroses e transmissores de vermes filarídeos no sudeste da Ásia, acabam tendo importante papel em epidemiologia.



Segundo Belkin (1962), o gênero Culiseta constitui-se num grupo de mosquitos com características tipicamente híbridas de outros gêneros, como Culex, Orthopodomyia e Aedes, constituindo-se num ramo ^{de onde} daonde poderia filogeneticamente ter se originado alguns gêneros de culicíneos. De qualquer forma, considera-se hoje apenas cerca de 9 espécies para o Continente Americano, com algumas se distribuindo até áreas Neotropicais. As outras espécies pertencem ao Hemisfério Norte, com algumas ocorrendo mesmo em áreas paleárticas (Forattini, 1965). Culiseta impatiens, por exemplo, tem adaptações importantes para as condições frias do Alasca, aonde as fêmeas fecundadas hibernam e dão origem a uma só geração por ano (Frohne, 1954).

A Ecologia das espécies da nossa região é pouco conhecida, concentrando-se os estudos sobre algumas espécies norte-americanas de importância epidemiológica na transmissão de encefalites (Burbutis & Lake, 1956; Burbutis & Jobbins, 1957; Bickley & Birne, 1960; Jamback, 1961 apud Meyer & Washino, 1978). A espécie Culiseta melanura, por ser incriminada como vetor tanto da encefalite equina do leste (Scott et al., 1984 e Pennington & Newson, 1985) como do oeste (Hayes, 1979) tem sido mais estudado, principalmente devido a preocupação quanto a sua afinidade ao ambiente humano (Rupp, 1977). Segundo ainda Forattini (1965) as fêmeas de algumas espécies são tidas como bastante agressivas e com notada ornitofilia, fato também revelado por outros pesquisadores (Crosby, 1978 e Jaenson, 1984).

O gênero Psorophora é de distribuição exclusiva do Novo Mundo, com poucas espécies conhecidas. Os ovos são

alongados, colocados isoladamente e resistentes à seca; apresentam conforme definiu Forattini (1965) "diapausa precedente à eclosão". A fase imatura é de ciclo curto (Forattini et al., 1963) e tipicamente se desenvolvem em pequenas coleções d'água podendo apresentar as espécies vários ciclos anuais (Horsfall, 1963). Quanto à alimentação, as larvas de Psorophora, subgênero Psorophora, têm as peças bucais transformadas em escovas preênsais, podendo como outros culicíneos predares. As fêmeas são hematófagas e sua picada é dolorosa. Podem durar poucos dias, se o repasto sanguíneo ocorre logo após a emergência, ou como no caso de P. varipes, por 6 semanas sob condições naturais (Horsfall, 1955).

A importância epidemiológica que tem sido dada a esse gênero é pequena quando comparada à de outros culicídeos, pois não se conhece exatamente a extensão do seu papel na veiculação de doenças. De qualquer forma, apenas pela sua atividade hematófaga, algumas espécies já tem se constituído em problema social (Kuyp, 1954 e Carpenter & LaCasse, 1955) ou veterinário, chegando a causar até morte no gado (Bishop, 1933 e King et al., 1960).

Os gêneros Culex e Aedes compreendem um número muito grande de espécies arranjadas em vários subgêneros, "grupos" e raças biológicas (ou "complexos"), com distribuição mundial. Devido principalmente à sua importância para o Homem, existe uma infinidade de trabalhos sobre sua Ecologia; esta será tratada junto com a dos mosquitos do gênero Anopheles.

A Tribo Anophelini, que pode ser diferenciada das outras Tribos de Culicinae pela ausência de tufo de escamas no primeiro tergito abdominal e pelo comprimento dos palpos das fêmeas, apresenta para um dos seus três gêneros, Anopheles, igualmente uma quantidade muito grande de estudos ecológicos. Nessa Tribo, o gênero Birondella por ter apenas sete espécies na Nova Guiné, e Chagasia com quatro espécies neotropicais e zoófilas, são menos estudadas (Pessoa & Martins, 1982).

Os aspectos bioecológicos de Anopheles serão abordados aqui em conjunto com Aedes e Culex, dando-se mais ênfase às questões e espécies mais pertinentes ao presente trabalho.

2.2.1.1. AUTOECOLOGIA DE CULEX, AEDES E ANOPHELES

De acordo com Bates (1949) e Laird (1956), os ambientes aquáticos possíveis de se encontrar mosquitos em geral podem ser de quatro tipos : 1) águas paradas permanentes ou semi-permanentes como brejos, pântanos, alagados e lagoas, 2) águas lentas de pequenos riachos, 3) coleções d'água temporárias como poças de chuva e poças nos leitos dos rios que secam e 4) pequenos recipientes naturais ou artificiais como bromélias, bambús, pneus e latas.

As larvas de Cx. quinquefasciatus (= Cx. fatigans Wied.) são consideradas euritópicas (OMS, 1972), pois podem

ocorrer nos quatro tipos de ambientes. Estão plenamente adaptadas à águas servidas domésticas, industriais e urbanas, ocorrendo tanto em pequenos ambientes artificiais como em outros maiores e bastante poluídos, como tanques de depuração de esgoto, fossas assépticas e galerias fluviais (Forattini, 1965; Rutz & Axtell, 1978; Barrera et al., 1981; Mulligan III & Schaefer, 1981; e Ouda & Al-Chalabi, 1986).

O local de desenvolvimento das larvas da forma mais comum de Ae. aegypti também está intimamente associado a ambientes humanos, ocorrendo quase exclusivamente em pequenos recipientes urbanos, dentro ou fora de habitações. Tal preferência acentuada por um tipo particular de criadouro, caracteriza a estenotopia para essa espécie (OMS, 1972). Ainda assim, Burton (1963) lista diversos criadouros artificiais possíveis para a espécie, e outros autores descrevem criadouros naturais (Shannon, 1931; Haddow, 1948; Philip, 1962; Shetty & Geevarghese, 1977 e Parker et al., 1983). Bastante típico para esta espécie, ao contrário de Cx. quinquefasciatus, é o fato de as larvas criarem-se em águas não poluídas, embora isso pareça ser também possível (Babu et al., 1983).

Dentro do gênero Anopheles há uma grande variação quanto ao habitat das larvas, sendo que no subgênero Kerteszia é típica a associação às águas aprisionadas em vegetais, como bromélias e bambús. As larvas de An. (Nyssorhynchus) tritaenulatus, que se distribui da América Central até a Argentina, são frequentemente encontradas em grandes coleções de água, normalmente expostas ao sol e com abundante vegetação, como Pistia



stratiotes e Eichhornia sp (Deane, 1986). Segundo Forattini (1962) também podem ser encontradas em pantanais, charcos e outros criadouros temporários como alagadiços, valas e poças diversas. Tadei et al. (1983) puderam coletar esta espécie nos mais diversos tipos de criadouros naturais, permanentes ou temporários, com águas ensolaradas ou não e com variável quantidade de matéria orgânica.

Com relação às características químicas dos criadouros, segundo Goma (1966) pelo menos para gases dissolvidos, poluição orgânica, salinidade e concentração de íon hidrogênio, parece haver uma correlação com o desenvolvimento das larvas de culicíneos. Anofelinos em geral parecem preferir águas com mais oxigênio dissolvido, embora a ausência total não implique necessariamente em problemas respiratórios (Goma, 1960). Os registros citados acima para Cx. quinquefasciatus em águas servidas caracterizam para essa espécie uma nítida preferência para águas com bastante matéria orgânica em decomposição. O contrário acontece com as larvas de Ae. aegypti e An. triannulatus. Essa mesma relação de tolerância parece ocorrer também para salinidade, sendo que Cx. quinquefasciatus suporta e An. triannulatus não suporta água salobra (Bruce-Chwatt & Fitz-John, 1951 e Forattini, 1962). Para acidez e alcalinidade as evidências de preferência são poucas e o efeito do pH estaria mais associado à microflora do criadouro (Goma, 1966).

As características físicas dos criadouros mais relacionadas à diversidade e abundância das larvas de mosquitos são a temperatura, iluminação, estrutura física e movimento da

água; fatores diretamente associados aos sítios preferenciais de oviposição das fêmeas (Manefield, 1951). *Ae. triannulatus* parece preferir águas ensolaradas (Forattini, 1962). Segundo Shannon & Putnan (1934) a duração da fase larval de *Ae. aegypti* a 23 ou 26°C não varia, indicando igualmente alguma tolerância a esse fator. Quanto ao movimento da água, apenas para *Cx. quinquefasciatus* parece haver tolerância, uma vez que é comumente coletado às margens de pequenos riachos poluídos, de águas lentas. Segundo Goma (1966) as larvas nesses casos apresentam acentuada timotaxia, tendência a se associarem a substratos como pedras ou galhos emergentes para se abrigarem.

Com relação ao comportamento, convém salientar que há uma marcante diferença quanto à postura das larvas de Anopheles, Culex e Aedes. As primeiras assumem uma posição dorsal paralela à superfície da água, as segundas de forma oblíqua com a lateral do corpo voltada para cima e as últimas também oblíquas, só que voltadas com o dorso para cima.

O deslocamento das larvas nos três gêneros é semelhante e baseia-se em natação, conseguida pelos movimentos rápidos do corpo, ou em movimentos lentos; pela ação dos leques cefálicos (Harbach, 1977). Reagem da primeira forma, principalmente em função de estímulos como a intensidade de luz, contato, movimento da água, perturbações mecânicas e temperatura (Bates, 1949; Horsfall, 1955; Christophers, 1960; Clements, 1963 e Goma, 1966).

De acordo com Pucat (1965), a classificação de Surtees (1959) para os diferentes modos de alimentação das larvas

de Culicinae parece ser a mais aceita até hoje. Assim, as larvas das diferentes espécies podem ser filtradoras, pastadoras ou predadoras. O primeiro tipo, também chamado de livre ou rodamoinho, é característico das larvas dos gêneros Anopheles e Culex, sendo que as primeiras o fazem principalmente na superfície e as últimas mais no fundo (Harbach, 1977 e Wallace & Merritt, 1980). As larvas de Aedes alimentam-se igualmente no fundo, no entanto são pastadoras. Nesse caso raspam material sólido para obter partículas, que necessitam ainda ser manipuladas pelas peças bucais antes da ingestão (Pucat, 1965). Ainda dentro do gênero Culex (subgênero Lutzia) e Aedes (subgênero Mucidus), ocorrem espécies com típico hábito predador (Forattini, 1965 e Goma, 1966) e para Ae. aegypti foi demonstrado que também podem se alimentar de larvas mortas (Zaritsky & Khawaled, 1986).

As larvas de Culicidae filtradoras ingerem partículas dentro de uma variação muito grande de tamanho, desde coloidal com $0,09 \mu\text{m}$ até maiores com $50 \mu\text{m}$ de diâmetro (Wallace & Merritt, 1980). A captura de partículas menores, segundo pesquisas recentes (Merritt & Craig, 1987), seria feita graças ao aprisionamento por mucosubstâncias produzidas pelos leques palatais, enquanto que as maiores simplesmente são varridas para a região bucal. Cx. pipiens ingere dentro de uma faixa ótima variando de $0,5$ a $2 \mu\text{m}$ (Dadd, 1971). As larvas de Anopheles sp podem comer desde algas filamentosas, utilizando-se de movimentos assíncronos, até partículas pequenas, com movimentos sincrônicos dos leques labrais; nesse caso com velocidades de mais de três "remadas" por segundo (Smith, 1917 e Jones, 1960). Os diferentes estádios

de Ae. triseriatus ingerem partículas de tamanhos diferentes, variando entre menores que 2 μm (I e II estádios), até entre 10 e 25 μm (IV estádio) (Merritt et al., 1978 e Merritt, 1987). De qualquer forma, é certo que a maior parte do alimento ingerido pelas larvas de mosquitos constitui-se de microrganismos e detrito orgânico (Clements, 1963; Ameen & Iversen, 1978 e Fish & Carpenter, 1982).

Com relação à respiração, existem variações dentro da Subfamília Culicinae, passando por espécies com adaptações para respiração cuticular (Hopkins, 1952 e Clements, 1963; apud Goma, 1963) ou para a obtenção de ar de tecidos vegetais, como foi mencionado para Mansonia spp. Para os gêneros Culex, Aedes e Anopheles a captação de oxigênio é feita diretamente da atmosfera via sifão, nos dois primeiros casos, ou via um par de espiráculos no dorso do oitavo segmento abdominal para os anofelinos.

Em termos ecológicos, as pupas dos mosquitos diferem das larvas praticamente apenas pelo fato de não mais se alimentarem. Frequentam obviamente o mesmo tipo de habitat, respiram igualmente por sifões (mesmo as de anofelinos) e reagem aos mesmos estímulos. Seus deslocamentos são no entanto mais rápidos e sem aparente controle de direção (Bates, 1949 e Horsfall, 1955).

Por ser a fase adulta dos mosquitos a que está mais diretamente relacionada aos problemas que eles acarretam, um número maior de observações e estudos pode ser compilado. Além disso, é a fase adulta que determina importantes aspectos



ecológicos dos estágios imaturos, pela seleção dos habitats para oviposição. De acordo com Nelson (1978) o principal obstáculo no estudo da Ecologia dos artrópodos de importância médica, é que quase nunca as espécies têm uma distribuição exclusivamente urbana. Quanto a esse aspecto, a determinação do habitat e hábito, seja doméstico (ou domiciliar), peridoméstico (ou peridomiciliar) ou silvestre (ou feral) nos estudos sinecológicos sobre pernilongos, trouxe um grande avanço na solução de alguns problemas epidemiológicos.

O local de repouso dos adultos foi também categorizado por Forattini (1962) como intradomiciliar (espécie endófilas) ou extradomiciliar (espécies exófilas); podendo ser nesse caso o comportamento estrito, facultativo ou ainda obrigatório. Segundo Deane et al. (1948), An. triannulatus não tem grandes tendências à endofilia, embora quando a oferta de domicílios é alta, tal hábito se expresse. Tadei et al. (1983) estudando anofelinos amazônicos, registra que apenas essa espécie, além de An. darlingi foi coletada dentro de residências, embora em populações muito menores. Para An. aegypti, considerando-se a taxonomia definida por Mattingly (1957), as três subespécies, formosus, aegypti e queenslandensis, apresentariam importantes diferenças comportamentais quanto às suas associações aos abrigos humanos, caracterizando-se pelo hábito silvestre, o peridomiciliar e por fim o domiciliar respectivamente (Mattingly, 1962). Quanto a Cx. quinquefasciatus, popularmente conhecido como "pernilongo doméstico", os altos níveis de endofilia de suas populações constituem-se fato bem documentado (Causey et al., 1945; Deane, 1951 e Ra-

chou et al., 1956, 1957, 1958; apud Forattini, 1962).

A alimentação dos culicíneos, sejam machos ou fêmeas, é sempre constituída de líquidos, conseguidos graças à adaptação do seu aparelho bucal, constituído de seis estiletos abrigados dentro do lábio. Este, forma uma bainha protetora que não penetra nos tecidos do hospedeiro, ficando voltada para trás. Os líquidos são ingeridos via labro (Horsfall, 1962) e WHO, 1972).

Quanto à dieta dos adultos, é certo que os machos não são capazes de picar os animais, obtendo portanto alimento das plantas. Sugam frutas, nectar, soluções açucaradas de nectários extraflorais e de feridas do vegetal (Horsfall, 1962). As fêmeas de diferentes espécies podem ou não depender de dietas de sangue para maturação dos ovos. Para as espécies que não necessitam, o fenômeno tem sido universalmente chamado de autogenia, uma vez definido por Roubaud (1929), enquanto que a situação contrária tem sido denominada de anautogenia ou de concordância gonadotrófica, como estabeleceu Swellengrebel (1929). O conceito de autogenia facultativa foi sendo abandonado nas últimas décadas. Spielman (1971) reviu a bionomia das espécies de mosquitos autógenos, dando ênfase aos envoltimentos genéticos, fisiológicos e de distribuição geográfica.

Dentro do complexo Cx. pipiens considerado por Forattini (1965) como sinónímia para Cx. quinquefasciatus, ocorrem raças autógenas, com o fenômeno sendo regulado por genes em pelo menos 2 ou 3 pares de cromossomos. (Spielman, 1957 e Laven, 1967). No Japão, as populações autógenas simpátricas de Cx. pipiens podem ser diferenciadas das anautógenas pela morfologia

do edeago. As primeiras são consideradas como Cx. p. pipiens (biótipo "molestus"), enquanto que as hematófagas são denominadas de Cx. p. pallens; muito semelhantes ao conhecido Cx. p. quinquefasciatus das regiões tropicais (Sasa et al., 1966 apud Kurihara, 1983).

As fêmeas de Ae. aegypti na natureza são ao que parece sempre hematófagas, embora no laboratório já se tenha conseguido variantes autógenos (Lea, 1964). Espécies insulares ecologicamente equivalentes, como Ae. albopictus nas Bahamas ou Ae. togoi em Formosa, também podem apresentar autogenia (Laurence, 1964 e Spielman & Weyer, 1965).

Com relação ainda à alimentação das fêmeas, Forattini (1965) categoriza também as diferentes espécies anautógenas em relação ao fato de picarem dentro de residências (endófagas) ou fora (exófagas). O primeiro tipo corresponderia à Ae. aegypti e Cx. quinquefasciatus, enquanto que An. triannulatus, por ser também zoófilo, estaria numa situação intermediária. A preferência pelo ataque diurno, noturno ou no período crepuscular, também caracteriza bem essas três espécies, respectivamente (Forattini, 1965 e Tadei et al., 1983).

O acasalamento nos mosquitos é comumente feito após um "enxameamento", muitas vezes não monoespecífico em ambientes abertos e próximos a um referencial, estático ou não (Nielsen & Haeger, 1960 e Goma, 1966). Sabe-se que para as raças autógenas do complexo pipiens, o acasalamento pode ocorrer em locais fechados (estenogamia), e que ao menos para An. quadrimaculatus, podem ser obtidas linhagens de laboratório com essas ca-

racterísticas (Roubaud, 1935).

Os ovos dos anofelinos são típicos por serem depositados isoladamente na superfície da água e possuírem duas projeções laterais flutuantes. O equilíbrio entre áreas hidrofílicas e hidrófobas do córion, além do menisco positivo que se forma ao seu redor, permitem que se orientem na superfície, ao redor de gravetos ou de outros ovos (Horsfall, 1962).

Os ovos de Ae. aegypti são também depositados isoladamente tanto na água como superfícies laterais dos criadouros, dependendo de suas propriedades como textura, flexibilidade e presença ou não de água (O'Grower, 1957). Como já foi mencionado para os mosquitos do gênero Haemagogus, os ovos dessa espécie também são resistentes e graças à impermeabilidade do córion, permanecem inativos ou dormentes por períodos de estiagem de até mais de um ano, sendo que normalmente eclodem em cerca de 4 dias (Christophers, 1960).

A eclosão dos ovos de Cx. quinquefasciatus ocorre após diferentes períodos dependendo da temperatura. Sob condições ótimas entre 20 e 30°C, o tempo de incubação ocorre entre 24 e 36 horas (Forattini, 1965). São depositados em posturas com cerca de uma centena de ovos, unidos entre si, dispostos verticalmente de modo a só ficar em contato com a água a sua metade inferior (Horsfall, 1962).

2.2.2. ECOLOGIA DE SIMULÍDEOS

Apesar de ser uma Família relativamente pequena, com cerca de 1.300 espécies reconhecidas, tem sido mais difícil de se fazer a sistemática de Simuliidae do que de outras famílias de Diptera, e a razão disso parece ser a acentuada homogeneidade morfológica dentro do grupo, apresentando muitas espécies crípticas.

Diferentes autores têm trabalhado na taxonomia supragenérica de Simuliidae, dando maior ou menor peso aos caracteres morfológicos. O sistemata russo Rubtsov (1974; apud Crosskey, 1981a) usa um sistema complexo, subdividindo a Família em quatro Subfamílias, sendo que Simuliinae é ainda dividida em cinco Tribos. Crosskey (1969), dando mais peso às similaridades do que à diversidade, estabeleceu uma classificação que é atualmente a mais aceita, e que divide a Família nas Subfamílias Parasimuliinae e Simuliinae, sendo esta última subdividida nas Tribos Prosimuliini e Simuliini.

A nível subgenérico por sua vez, não há dúvida de que muitas revisões precisam ainda ser feitas, no sentido de se desmembrar espécies dentro dos chamados "complexos". Recentemente, Coscarón (1986a) ^{1986b} apresentou uma estruturação para os grupos supraespecíficos do gênero *Simulium* da região Neotrópica.

De acordo com Rothfels (1981), com o avanço dos primeiros estudos de citotaxonomia, várias morfoespécies até agora estabelecidas pela sistemática convencional, compreendem na verdade espécies crípticas. Estes estudos começaram com Prosimulium hirtipex (Rothfels, 1956; Basrur, 1959; 1962 e Rothfels & Freeman, 1977) e Eusimulium aureum (Dunbar, 1959), e levam a crer que por critérios citomorfológicos, bioquímicos e zoogeográficos, S. damnosum (sensu lato) por exemplo, seria na verdade um conjunto de 25 ou 26 espécies crípticas (Dunbar, 1976 e Dunbar & Vajine, 1981).

O estudo apurado da Ecologia dos simulídeos, certamente viria a corroborar no desmembramento das espécies crípticas dentro de cada complexo, pois a grande convergência morfológica dentro da Família é um natural reflexo da similaridade de hábitos das espécies. Ainda assim, ao menos para o complexo S. damnosum, existem critérios morfológicos para melhor definição das espécies (Peterson & Dang, 1981).

2.2.2.1 SUBFAMÍLIA PARASIMULIINAE

Essa Subfamília abriga segundo Crosskey (1981) apenas o gênero Parasimulium Malloch, do qual só se conhe-

ce os macho. Estes têm características bastante distintas a ponto de terem sido sempre colocados numa Subfamília própria. Ocorrem na região Neártica (Peterson, 1977).

2.2.2.2. SUBFAMÍLIA SIMULIINAE

Essa Subfamília compreende a grande maioria dos simulídeos, dividida das Tribos Simuliini e Prosimuliini. Essa última com gêneros distribuindo-se pelas regiões Holártica, Neártica, Afrotropical e Neotropical, apresenta 15 gêneros (Crosskey, 1981b).

Wygodzinsky & Coscarón (1973) apresentam uma revisão das espécies centro e sul americanas dessa Tribo, que de acordo com Coscarón (1987) tem 96% das suas espécies ocorrendo na região Andina, desde o México até o sul da Argentina e Chile.

Estudos bionômicos e ecológicos sobre Prosimuliini têm evidenciado o caráter primitivo do grupo. Os ovos embrionados de algumas espécies, como *Stegoptera mulata*, podem à semelhança de outros simulínios, sobreviver e eclodir após passarem por temperaturas bem baixas (-15°C) (Colbo & Wotton, 1981). Os ovos de *Prosimulium mixtum* / *fuscum*, segundo Ross & Merritt (1978), podem permanecer inativos, eclodindo as larvas em função de distúrbios no leito do riacho, como enchentes. As larvas dessa

espécie, segundo os mesmos autores, poderiam passar por 6 ou 7 estádios dependendo da duração do desenvolvimento larval. O modo pelo qual obtêm alimento também evidencia em Prosimuliini caracteres primitivos. Representantes do gênero Twinnia e Gymnopsalis, bem como Crozetia crozetensis (gênero monotípico da Ilha Crozet, no Oceano Índico), ao contrário da maioria dos simuliídeos mais evoluídos, ao invés de filtrarem plancton, alimentam-se raspando matéria orgânica dos substratos (Davies, 1974; Wallace & Merritt, 1980). As pupas podem se formar isoladamente ou em grupos, no entanto nas espécies mais primitivas desse grupo falta um casulo bem definido (Colbo & Wotton, 1981).

Ao contrário dos culicídeos, a anautogenia facultativa parece ser comum entre os simuliídeos (Downes, 1958), chegando algumas espécies dessa Subfamília a nem sequer picar e serem partenogenéticas. Tal é o caso de P. ursinum, tida como espécie de distribuição mais ao norte que se conhece (74°30'N) (Crosskey, 1981b). Outras espécies no entanto são bem conhecidas pela sua hematofagia, constituindo-se problema sério; como já foi mencionado para a espécie Cnephia pecuarum. Ainda C. ornithophilis e P. mixtum oferecem problemas, pela transmissão de leucocitoozonoses à aves e pela antropofilia respectivamente (Fallis et al., 1974 e Crosskey, 1981b). Para a região Neotropical, três espécies (entre 84) de Prosimuliini são confirmadamente hematófagas, sendo Kempfsimulium simplicolor a mais agressiva (Coscarón, 1989, no prelo).

A Tribo Simuliini, embora com apenas dois gêneros apenas bem definidos, apresenta um número grande de subgê-

neros e espécies. Segundo Crosskey (1981a) o gênero Austrosimulium é típico da Austrália e Nova Zelândia, e é composto de só dois subgêneros: Austrosimulium e Novaustrsimulium. Para o outro gênero da Tribo, Simulium, esse autor lista 38 subgêneros. Coscarón (1986a) lista para a região Neotropical 16 subgêneros (mais três não denominados ainda) como subdivisão para Simulium, com 226 espécies neotropicais.

São poucos os estudos bioecológicos sobre as espécies neotropicais de simulídeos, e na sua maioria voltados para as espécies importantes como vetoras da oncocercose. Recentemente, Coscarón (1986a e 1987)⁸⁹ reviu o assunto e salientou a importância do trabalho de alguns grupos de pesquisadores no Brasil. Com relação aos subgêneros e espécies envolvidas no presente trabalho, S. (Inaequalium) inaequale, S. (Psaroniocomesa) incrustatum, S. (Chirostilbia) distinctum e S. (C.) pertinax, pode-se dizer que principalmente essa última espécie tem sido mais visada devido à sua acentuada antropofilia.

De maneira geral, os subgêneros de Simulium podem ser caracterizados pelos diferentes aspectos físico-químicos e bióticos dos riachos criadouros. Estudos ecológicos dessa natureza são portanto fundamentais, e ao menos para simulídeos da Amazônia, Dellome Filho (1978 e 1983) aborda esse assunto, enquanto que em Santa Catarina, Pegoraro & Moreira (1986) tratam dessa avaliação para as diferentes espécies da região, incluindo S. inaequale, S. distinctum e S. pertinax.

As larvas do subgênero Chirostilbia são típicas por ocorrerem em águas limpas e em riachos de tamanho médio e

bastante encachoeirados. Suas larvas fixam-se em geral sobre pedras ou galhos. No Estado do Paraná no entanto, Guimarães & Medeiros (1985) relatam a ocorrência de *S. pertinax* em águas poluídas. Seus estudos sobre Biologia comparada no laboratório indicam um ciclo mais curto para larvas mantidas em água com despejo orgânico ($DBO_5 = 10 \text{ mg/l}$) do que em água limpa ou menos poluída ($DBO_5 = 5 \text{ mg/l}$). Estudos \approx foram feitos por Regorano (1982) em Santa Catarina.

As propriedades físico-químicas dos riachos igualmente caracteriza os alimentos disponíveis. As larvas de simúlídeos ingerem independentemente da quantidade, material suspenso na água (seston) com tamanho variando entre menos de 100 μm (coloidal) até 350 μm (Wallace & Merritt, 1980). Segundo a revisão desses autores, diversos trabalhos têm registrado como dieta natural das larvas de borrachudo diferentes bactérias, algas e outras diatomáceas, além de detritos e até insetos. A ingestão de bactérias como fonte alimentar pelas larvas de borrachudo é fato já conhecido há bastante tempo (Petersen, 1924), e sua utilização para criações em laboratório tem sido recomendada (Freeden, 1959 e 1964).

As larvas de *S. pertinax* são também conhecidas por se alimentarem de algas e sobre esse aspecto Dellome Filho (1986) e Lozovei et al. (1986) têm desenvolvido importantes estudos ecológicos no Estado do Paraná.

Segundo Coscarón (1987) as larvas de *S.* (*Psaroniocomesa*) e de *S.* (*Inaequalium*) são típicas de pequenos cursos d'água menos caudalosos e em geral mais turvos que os riachos típicos criadouros de *S.* (*Chirostilbia*). Fixam-se ainda preferen-

cialmente sobre folhas e ramos da vegetação aquática.

Os dados biológicos e ecológicos sobre os adultos de simulídeos se concentram principalmente sobre as fêmeas, pois apenas elas se alimentam de sangue. Fallis (1964) apresenta de acordo com Wenk (1981) uma boa revisão de literatura sobre as fêmeas de simulídeos. De acordo ainda com esse segundo autor, as fêmeas das espécies anautógenas após o acasalamento fazem vários deslocamentos entre os sítios de oviposição (riacho ou rio) e de alimentação (hospedeiro vertebrado), uma vez que cada dieta de sangue está associada a um ciclo oogenético.

O acasalamento normalmente ocorre próximo ao local de emergência dos adultos, podendo ocorrer "enxameamento" junto a um referencial proeminente do ambiente, como uma pedra, galho ou árvore (Wenk, 1956 e Service, 1972), fato também já observado para espécies amazônicas (Py-Daniel; com. pessoal).

Para as espécies mamalofílicas, ao que parece, a atividade hematófaga das fêmeas se dá principalmente no início e no fim do dia. Estudos sobre a atividade circadiana das fêmeas indicam que o principal estímulo para o comportamento alimentar é a luz (Dalmat, 1955 e Wolfe & Peterson, 1960). S. perti-
Dax por exemplo, mostra preferência de ataque entre 15 e 18 horas (Maia-Herzog & Felipe-Bauer, 1986).

Com relação à atividade sazonal, os níveis populacionais acompanham os períodos mais secos ou chuvosos, podendo segundo Wenk (1981) apresentarem variação sincrônica, com os picos das densidades populacionais das formas imaturas e adultas nos mesmos meses, ou uma variação inversa, onde uma redução



na água dos criadouros e portanto das larvas, corresponde a um aumento da ocorrência de adultos. Ainda, segundo Hughes (1952), uma variação bimodal pode ocorrer; típica das zonas de savanas e rios com canais profundos onde nota-se uma grande atividade de adultos tanto na estação mais seca como na chuvosa. No Brasil, Maia-Herzog & Felipe-Bauer (1986) detectaram tais picos para populações de *S. pertinax* no Rio de Janeiro nos meses de fevereiro, junho e setembro. Nesses meses os ataques por essa espécie no Rio Grande do Sul são menos expressivos (Souza, 1984).

Estudos sobre o comportamento de localização do hospedeiro têm mostrado que diferentes estímulos estão envolvidos, entre eles cor, odor, movimento, forma e eliminação de CO₂. Diversos autores têm estudado a respeito, propondo inclusive diferentes padrões de seleção do hospedeiro desde à longa distância, até após entrar em contato com a pele (Wenk & Schlorer, 1963; Peschken & Thorsteinson, 1965; Fallis et al., 1976; Bellec, 1974; Brandbury & Bennett, 1974b; Fallis & Raybould, 1975 and Wenk, 1981).

A preferência por diferentes partes do corpo principalmente pelas espécies que atacam o homem é bem conhecida. Enquanto que algumas espécies como *S. amazonicum* e *S. incrustatum* (sensu lato) preferem a parte superior do corpo (Rambajan, 1981), no Rio Grande do Sul *S. pertinax* em 63,1% dos casos costuma atacar só membros inferiores (Souza, 1984). Quando considerados os ataques só nos membros, tanto inferiores como superiores, a ocorrência foi de 87,3%.

Enquanto que a longevidade das larvas está intimamente associada a alimentação, a das pupas varia de acordo com a temperatura (Needham et al., 1937).

Das espécies estudadas no presente trabalho, S. pertinax e S. incrustatum são apontados por Coscarón (1987) como antropofílicas no Brasil, sendo esta última já conhecida desde o começo do século (Lutz, 1910). S. inaequale é apontada atacando o gado tanto na Argentina como no Brasil (Coscarón, 1987), e dotada de pouca antropofilia (Coscarón, com. pessoal). No Rio de Janeiro, Maia-Herzog & Felipe-Bauer (1986) indicaram S. pertinax como sendo a única espécie coletada com isca humana em estudo de um ano de duração, confirmando a importância da espécie como alvo de campanhas de controle. No litoral do Estado de São Paulo, Araújo-Coutinho et al. (1988) indicaram ser as larvas dessa espécie a de mais ampla distribuição em 108 localidades pesquisadas (91,6% de ocorrência positiva) e também a mais abundante. O presente autor, verificou em 1983 que de 1.323 fêmeas coletadas em isca humana nessa região, apenas uma não era dessa espécie (não publicado).

2.2.3. SINECOLOGIA DE PERNILONGOS E BORRACHUDOS

Os estudos ecológicos sobre as populações de pernilongos e borrachudos têm sido fundamentais para o conhecimento das dinâmicas das espécies de importância para o homem. Os trabalhos sobre os inimigos naturais entomófagos (predadores e parasitos) tanto quanto sobre microrganismos patogênicos destes dípteros, serão tratados aqui uma vez que são, via de regra, fatores de mortalidade dependentes da densidade populacional.

Os esforços para se encontrar na natureza agentes biológicos de controle de mosquitos são antigos. De acordo com Laird (1983) já em 1889 o Prêmio Lamborn nos Estados Unidos enfocava como tema "Métodos para Destruição de Mosquitos e Mosca Doméstica", incentivando estudos sobre a eficiência das libélulas, aves, morcegos, peixes, aranhas e doenças para o controle de mosquitos. No começo do século as atenções se voltaram para os peixes larvívoros. Os trabalhos mais clássicos dessa época registram já a criação em massa de Gambusia affinis e Poecilia articulata. Gerberich & Laird (1968) compilaram esses trabalhos para o período de 1901 a 1966. O progresso nesse campo foi tanto que hoje G. affinis já é comercializado nos Estados Unidos. No Brasil os primeiros trabalhos sistemáticos de Ihering no início da década de 30 abriram as portas para a avaliação do potencial larvófago dos peixes Cyprinídeos (Ihering, 1930, 1931 e 1932).



Posteriormente, Proença (1937) e Carvalho Franco (1940a e 1940b) também estudaram peixes como agentes naturais de controle, sendo que em 1949 coube a Martins da Cruz, de acordo com Papavero & Guimarães (1964), a elaboração de uma lista de espécies larvófagas de peixes do Brasil, com extensos comentários e estudos sobre suas zonas de criação e disseminação.

O levantamento de patógenos de mosquitos tem se intensificado muito nas últimas décadas, começando pelas listas elaboradas pela Organização Mundial de Saúde. A partir de 1960, quando essa compilação foi feita por Jenkins (1964), até meados da década de 70, houve um empenho maior dos órgãos de pesquisa sendo que a revisão de Roberts & Strand (1977) já contou com a colaboração de 25 autores para o levantamento dos trabalhos sobre patógenos de artrópodos de importância médica. Igualmente em 1980 (Roberts & Castillo, 1980), novas relações de trabalhos sobre viroses, bacterioses, micoses, protozooses e helmintoses foram compilados pela OMS para artrópodos de importância médica.

A principal consequência desse empenho geral no estudo dos fatores naturais bióticos de mortalidade de pernilongos foi a descoberta de patógenos com grande potencial para o uso no Controle Biológico. O isolamento das bactérias Bacillus thuringiensis var. israelensis (Bti) e B. sphaericus (Bsp) bem como de protozoários (Kellen, 1962) e fungos Coelomonas (Laird, 1971) são típicos exemplo. Boa parte de importantes isolamentos de patógenos do mundo todo foram concentrados na Universidade Estadual de Ohio, no Centro Internacional de Referências para Diagnose e Vetores da OMS, graças à distribuição de "kits" para a co-

leta e envio de material de praticamente todos os lugares do mundo (Cantwell & Laird, 1966).

Para os agentes naturais no controle de borrachudos, alguns autores têm salientado serem os patógenos os mais importantes (Ezenwa, 1974a, 1974b e Weiser & Undeen, 1981). No entanto, pesquisadores têm indicado que a predação pode chegar a níveis muito altos em alguns casos, como os observados por Speir (1976). Esse autor notou até 82,6% de predação nos seus estudos sobre dinâmica populacional de quatro espécies de simulídeos.

Embora já há algum tempo seja conhecido o papel de peixes (Allen, 1941 e Hynes, 1950), larvas de Trichoptera (Miall, 1895) e ninfas de Plecoptera (Crisp, 1956) na dinâmica populacional dos borrachudos, para outros grupos de predadores faltam ainda maiores estudos. Os trabalhos de levantamento de Jenkins (1964) e Davies (1981) indicam que certamente o papel da predação no controle de larvas, pupas e adultos de simulídeos por diversos grupos zoológicos é em geral subestimado. Nesse sentido, Gorayeb & Pinger (1978) trabalhando no Brasil salientam a importância dos métodos sorológicos na detecção de restos de simulídeos no tubo digestivo de insetos aquáticos predadores.

Quanto aos patógenos, de acordo com Weiser & Undeen (1981), as enzootias são típicas nas formas imaturas e mais evidenciáveis na fase pré-pupal, entre o 4º e 6º estádios. No caso de muitas doenças, essa faixa de período larval típico pode se ampliar por mais até duas semanas, passando as larvas por até quatro estádios adicionais. Estudos ecológicos nessas condições podem superestimar o impacto dos patógenos, uma vez que a

saída de indivíduos sadios da população (via pupa e adulto) resultaria em taxas de infecção muito altas nos restantes. São conhecidas muitas viroses e protozooses de borrachudos, salientando-se nesse último grupo o ataque por espécies de Thelohania, Pleistophora, Amblyospora e Polydispyrenia (Microsporida) já conhecidos também no Brasil há muito tempo (Lutz & Splendore, 1904). Recentemente, Castello Branco Jr. et al. (1987) e Castello Branco Jr. & Andrade (1988) puderam registrar a ocorrência de Thelohania sp; Amblyospora bracteata; Polydispyrenia simulii e Nosema sp em larvas de borrachudo do Estado de São Paulo.

Ao lado dos protozoários, em importância, estão alguns fungos e nematódeos mermitídeos comumente registrados em populações de borrachudos. Tal é o caso de Coelomycidium sp (Saprolegnaceae) e Isomermis, Gastromermis e Mesomermis (Mermithidae) conhecidos também a bastante tempo (Debaisieux, 1919 e Poinar Jr., 1981). Segundo Coscarón ¹⁹⁸⁹ (no prelo), diversos trabalhos na região da Argentina desenvolvidos por Carmino e colaboradores, tratam da descrição e Ecologia de mermitídeos sobre borrachudos acrescentando importantes conhecimentos sobre como esse grupo regula suas populações.

Dos patógenos de simulídeos, os menos registrados são certamente as bactérias que, em geral, são patógenos facultativos que favorecidos por desequilíbrios no habitat das larvas, invadem a hemocele e causam septicemia e morte em poucas horas. Segundo ainda Weiser & Undeen (1981) isso ocorre frequentemente com linhagens cromogênicas de Serratia marcescens, que graças à rodopsina torna as larvas avermelhadas e o diagnóstico

fácil.

A Ecologia Populacional de pernilongos e borrachudos ganhou mais impulso nas últimas décadas, embora Papavero & Guimarães (1964) cite diversos trabalhos no Brasil, que indicam já desde o início do século a preocupação com as dinâmicas de algumas espécies vetoras.

De acordo com Metcalf (1975), o sucesso espetacular resultante do emprego do DDT contra os vetores de doenças humanas obscureceu na época a necessidade de maiores estudos ecológicos. Além desse atraso nesses estudos, sofremos ainda duas outras consequências: o desenvolvimento de resistências muitas vezes cruzadas e o nocivo acúmulo desses produtos que, como se sabe, são bastante persistentes.

Os estudos de Dinâmica Populacional baseados na Ecologia Numérica, tornaram possível alguma previsibilidade, principalmente com o aperfeiçoamento dos Modelos e Tabelas de Vida, que tanto quanto os princípios do moderno Manejo, nasceram voltados para as pragas agrícolas (Coulman et al., 1972 e Price & Waldbauer, 1975). Os primeiros problemas surgidos no caso da Ecologia Populacional dos vetores foram com relação às técnicas de amostragem. Nesse sentido, tanto para os pernilongos como para os borrachudos, concentraram-se muitos estudos e revisões com abordagens por vezes bastante específicas e voltadas para os diferentes estádios (Muirhead-Thomson, 1968; Disney, 1972; Gillies, 1974; Service, 1976, 1977a, 1977b, 1981, 1983; Carlsson et al., 1981 e Walsh, 1983).

A adaptação dos modelos para os vetores envolve dificuldades consideráveis, pois ainda devem ser considerados fatores do hospedeiro vertebrado, reservatórios silvestres ou não e do próprio patógeno. Assim, em todo o sistema com população vetorial autóctone, acaba-se por considerar quatro submodelos básicos: 1) o sucesso das fases imaturas do vetor, 2) a infecção deste, 3) o ciclo extrínseco e 4) a infecção do hospedeiro (homem) (OMS, 1972). De acordo ainda com Metcalf (1975), para a população vetora os fatores densidade populacional, dispersão, contato com hospedeiro, hábitos e sítios de repouso, além da própria capacidade vetorial são fundamentais. A quantidade de informações que entra nos modelos é tanta e com tamanho interrelacionamento, que poucas são as situações onde o volume de pesquisa permitiu a estruturação de um programa de controle bem apoiado pela Ecologia Populacional quantitativa. Provavelmente um dos melhores exemplos seja o da transmissão do vírus do dengue pelo Ae. aegypti na Tailândia (Shephard et al., 1969; Southwood et al., 1972 e Mathis, 1983a).

2.2.4. ECOLOGIA DA SUPRESSÃO DE PERNILONGOS E BORRACHUDOS

Supressão é o mesmo que repressão, contenção ou retenção. Com esse significado, o homem vem tentando suprimir o incômodo que os pernilongos e os borrachudos causam, provavel-

mente desde que ele começou a dominar o fogo, e percebeu o efeito repelente da fumaça. Nos mais primitivos escritos chineses constam receitas dos sábios para produção de fumaças repelentes, a partir dos rizomas de Atractylodes chinensis e sementes de Wistaria sinensis (Luh & Zuh, 1983). No Japão, a prática de se queimar folhas de cedro, casca de laranja e Artemisia spp para repelir mosquitos também é muito antiga (Kurihara, 1983), tanto quanto a queima de pó de serra misturado com enxofre em pó, que pode ser considerado como primitivo precursor dos inseticidas fumegantes atuais.

Empiricamente ou não, as mais primitivas medidas de supressão de mosquitos sempre dependeram de conhecimentos com fundo ecológico. Seja o formato das cabanas dos nativos do Labrador, as torres altas onde os egípcios passavam as noites ou as pinturas e óleos que índios de todos os continentes desenvolveram (Lacey et al., 1981 e Laird, 1983), essas medidas sempre estiveram atreladas a algum conhecimento das espécies nocivas e do seu comportamento de picar.

A supressão de mosquitos, no sentido de controle mesmo, começou com o uso de larvicidas químicos inicialmente contra os pernilongos; sendo a utilização de petróleo até ilustrada no trabalho de Lamborn em 1890 (apud Laird, 1983). O óleo tanto asfixiava as larvas, impedindo a exposição do sifão à superfície quanto as envenenava, ao penetrar pelas traquéias que são lipofílicas (Goma, 1966). Não eram, entretanto, eficientes contra as larvas de Mansonia sp, devido ao seu hábito peculiar de respirar.

Na sequência histórica, o uso de Paris-Green (Acetoarsenito de cobre) tornou-se corrente, inclusive participando de campanhas de erradicação no Brasil, em 1940 e no Egito em 1945 (Soper, 1966). Era aplicado na superfície da água na forma de pó bem fino, atuando apenas contra as larvas dos anofelinos filtradoras de superfície e não tendo ação contra as larvas filtradoras ou pastadoras do fundo. Nessa época o controle de borrachudos era de acordo com Jamback (1981), notavelmente ineficiente, baseando-se na trabalhosa escovação do leito dos rios e remoção da vegetação marginal, ou na aplicação de substâncias nocivas à fauna não alvo, como emulsões de óleos, xilol, querosene e arsenicais.

Com o advento do DDT na época da II Grande Guerra Mundial e dos outros inseticidas clorados como o Gama-Exano (BHC ou hexacloroeto de benzeno) e Dieldrin, uma nova página no controle de vetores foi aberta. Na forma de pó ou soluções oleosas estas substâncias eram mais eficientes contra anofelinos e na forma de emulsões ou suspensões, contra os culicíneos. (Goma, 1966). Uma avaliação criteriosa dos benefícios e prejuízos do emprego desses clorados é muito difícil, e normalmente o que se encontra na literatura são posições que advogam pontos de vista ora críticos, ora exaltados. Jukes (1983) aborda bem o assunto, comentando a inconsistência de muitas críticas contra o DDT, cujas "três letras maiúsculas mágicas" por si só seriam ainda hoje, segundo ele, um bom chamativo no título de um trabalho.

Contra os borrachudos, os primeiros e mais consistentes trabalhos sobre o uso do DDT, segundo Jamback

(1981), são de Fairchild, Barreda, Garnham e McMahon entre 1945 e 1947, desenvolvidos no Panamá e no oeste africano. Nessa época entretanto, ninguém poderia supor que em cerca de duas décadas o DDT seria abolido do controle de borrachudos, devido ao surgimento de resistência e seu impacto à fauna não alvo. Ainda de acordo com Janmback, os dois mais efetivos substitutos do DDT descobertos foram o Temefós e o Metoxiclor, ambos amplamente testados e estudados quanto à sua eficiência e quanto ao impacto ambiental (Fredeen, 1975; Escafffe et al., 1976; Wallace et al., 1976; Dejoux, 1978; apud Janmback, 1981).

O esforço coletivo coordenado pela OMS levou vários centros de pesquisa a se empenharem na triagem de novos larvicidas. Como exemplo McDuffie & Weidhaas (1967) citam que em apenas um laboratório particular americano, entre 100 a 150 novos compostos eram avaliados anualmente como larvicidas de mosquitos. Entre 1963 e 1965 a OMS investiu na avaliação de 2.000 compostos químicos para a luta antivetorial. De acordo com Muirhead-Thomson (1971) o grupo dos Organofosforados representado pelos produtos Baytex (Fention), Dursban e Abate (Temefós) foi o mais estudado.

Ainda na sequência histórica, apareceu o desenvolvimento de novos larvicidas e formulações, incluindo os comumente chamados reguladores de crescimento e os inseticidas microbianos. O potencial dos compostos do tipo hormônio juvenilizantes como inseticidas, foi pela primeira vez apreciado na década de 50, nos trabalhos feitos por Williams com extratos feitos com machos de Hyalophora cecropia, mariposa americana da seda (Rathburn Jr. & Boike Jr., 1975). Os primeiros trabalhos sobre o

regulador de crescimento Diflubenzuron surgiram no início da década de 70 (Jakob, 1973; Hsieh & Steelman, 1974; Mulla et al., 1974 e Schaefer et al., 1974) abrindo todo um campo para desenvolvimento dos produtos a base de feniluréia. Inúmeros trabalhos surgiram nas revistas especializadas nessa última década, com periódicas revisões, caracterizando a descoberta de um novo grupo de produtos como opção para o controle químico de insetos (Dame et al., 1976 e Crosscut, 1978).

A utilização de adulticidas contra os mosquitos antecede historicamente a ampla utilização dos larvicidas. De acordo com Fontaine (1983) já na década de 30 o combate à malária em vilas da área rural da África do Sul e Índia era feito com aplicações intradomiciliares de Piretro. Outros autores registram aplicações semelhantes no leste africano já em 1911 e na época da construção do Canal do Panamá (Balfour, 1913; Clyde, 1967; apud Fontaine, 1983). Os primeiros ensaios práticos de utilização do DDT como inseticida residual para o controle de Anopheles quadrimaculatus foram na Flórida (Gahan et al., 1945). O mesmo autor salientou a eficiência do tratamento de casas em Arkansas, e Thompson (1947) do uso tanto do DDT como do Piretro em casas do oeste africano. Devido à simplicidade, custo e rapidez das aplicações, o uso do DDT em áreas abertas começou a ser feita, no entanto, em doses muito altas (Madden et al., 1947 e Ludvik, 1950). Atualmente existem vários produtos e métodos para o combate de pernilongos adultos (Sollers-Riedel, 1984). No entanto devido ao alto custo e ao fato de só se justificarem em casos bastante específicos, essas aplicações não são normalmente feitas

contra borrachudos (Jamback, 1981 & Dubitskii, 1981).

Os inseticidas biológicos começaram igualmente a ser mais extensivamente avaliados nessa última década. Considerando-se os excelentes resultados obtidos com o B. thuringiensis contra pragas agrícolas e florestais, as primeiras pesquisas envolveram variedades já conhecidas dessa bactéria (Reeves & Garcia, 1970 e Laird, 1971), que no entanto não mostravam ainda grandes qualidades para o controle de borrachudos e pernilongos. Da mesma forma, B. sphaericus, uma bactéria comumente encontrada em vários tipos de solos e ambientes aquáticos (Davidson, 1982), começou a receber maior atenção quando foi isolada por Kellen et al. (1965) uma linhagem patogênica para mosquitos. Novas linhagens dessas duas bactérias hoje industrializadas e empregadas rotineiramente contra pernilongos e borrachudos, constituem-se sem dúvida na maior contribuição do Controle Biológico no assunto. No entanto, muitas outras pesquisas têm avaliado agentes bióticos, desde predadores e parasitos até patógenos de ação epizootica. A simples menção das mais importantes revisões e artigos genéricos sobre Controle Biológico de culicídeos e simulídeos produziria uma grande lista de citações, confirmando a importância desses agentes ou de sua participação nos programas de Manejo Integrado. Considerando como início a revisão de Jenkins (1964); Legner e Sjogren (1984) a partir dessa data citam 19 outras revisões nesses 20 anos. Na revisão mais recente, de Lacey & Underen (1986), são relacionados 270 artigos sobre o Controle Biológico de pernilongos e borrachudos.

No Brasil, embora o emprego do Bti já tenha se fixado como opção ou obrigação, em casos aonde a resistência ao Temefós foi comprovada, ainda são poucos os trabalhos de revisão de literatura sobre o assunto, tal como o de Ruas Neto & Oliveira (1985). Habib & Andrade (1986) tratam desse assunto também no único livro especializado sobre Controle Microbiano no nosso País.

Apesar da resistência aos inseticidas químicos ser quase tão antiga quanto eles próprios, com registros já em 1947 para Ae. taeniorhynchus e Ae. sollicitans na Flórida (Brown, 1986), o seu sucesso de certa forma obscureceu esse problema nos anos seguintes. Atualmente são conhecidas dezenas de espécies resistentes a praticamente todos os princípios ativos químicos, excetuando-se talvez agentes como Paris-Green de natureza inorgânica e os óleos de petróleo pela sua atuação, mais física do que química contra os mosquitos. Revisões recentes como a de Brown (1983 e 1986), Dover & Croft (1986) e WHO (1986) listam estas espécies e as diferentes regiões do mundo onde a resistência foi detectada. Os mecanismos genéticos que levam as populações a criarem resistência, tanto quanto a questão da resistência cruzada e das particularidades ecológicas que aceleram o surgimento do fenômeno, são hoje bem conhecidos (OMS, 1976; Plapp, 1976; Comins, 1977; Curtis et al., 1978 e Taylor, 1986).

Segundo Brown (1986), sempre que se suspeitou da ocorrência de resistência em populações de campo foi possível a sua demonstração no laboratório, por pressão de seleção, em apenas cerca de 12 gerações do inseto alvo. Trabalhando com Cx.

quinquefasciatus, Georghiou et al. (1983) conseguiram demonstrar que Diflubenzuron não induz essencialmente resistência; Temefós induz uma resistência que rapidamente se reverte quando é relaxada a pressão de seleção; Permetrina induz uma resistência que se reverte mais gradualmente e Propoxur, uma resistência relativamente estável. Dados não publicados de Vazquez-Garcia & Georghiou (Brown, 1986) indicam que a seleção para a toxina de Bti induziu apenas 70% de aumento na tolerância em 15 gerações, subindo eventualmente para uma resistência de 12 a 17 vezes durante 45 gerações consecutivas de seleção. Outros autores já haviam revisto a possibilidade do desenvolvimento de resistência aos microrganismos, como Briese (1981), no entanto ela só é conhecida a nível de laboratório e está num patamar quase tão baixo quanto a "produzida" para o Diflubenzuron em Cx. p. pipiens; de 7 vezes em 5 gerações (Brown et al., 1973). Tais patamares não são nada comparáveis à resistência aos Organofosforados e Carbamatos, aonde existem casos de linhagens multiresistentes de Cx. quinquefasciatus com uma resistência cruzada ao Temefós de 117 vezes, quando sujeita ao tratamento por Clorpirifós no campo (Ranasinghe & Georghiou, 1979). Essa mesma linhagem (Hanford), quando selecionada no laboratório para o Temefós, respondeu com uma resistência de 750 vezes em apenas 5 gerações (Brown, 1983).

Georghiou et al. (1983) indicam que 4 populações de Cx. quinquefasciatus sujeitas à pressão de seleção por Bti entre 11 e 32 gerações, não apresentaram também a "espetacular" resistência que seria de se esperar no caso dos inseticidas sintéticos convencionais.

Para os borrachudos, de acordo com Kurtak et al. (1987), a resistência ao Temefós de algumas citoespécies do complexo S. damnosum, no programa africano de controle da onco-cercose, é conhecida desde 1980 (Guillet et al., 1980), o que levou ao uso em larga escala do Bti (Kurtak, 1986) e a procura de larvicidas alternativos. No Brasil, os programas de aplicação do Temefós no Rio Grande do Sul (Ruas Neto, 1984a) e em algumas regiões do Paraná, Santa Catarina e litoral de São Paulo, passam pelo mesmo problema.

2.2.5. O MANEJO INTEGRADO DE PERNILONGOS E BORRACHUDOS

O Manejo Integrado de Pragas (MIP), no que se refere à questão do controle ou combate de insetos daninhos, é uma área natural da Ecologia Aplicada. A revisão de Levins & Wilson (1980), sobre a teoria ecológica e o manejo de pragas, discute dezenas de trabalhos nas mais diversas áreas da Ecologia, desenvolvidos no sentido de promover suporte ao MIP. Igualmente, Garcia (1983) aborda o assunto e Price & Waldbauer (1975), forneceram bases conceituais de Ecologia que na época serviram como ponto de partida para muitos desses estudos.

O MIP teve suas bases primeiramente lançadas para as pragas agrícolas entre 1950 e 1960, e posteriormente para os insetos na área de Saúde Pública (Metcalf, 1975; Axtell, 1979; Olson, 1979; Steelman, 1979 e Womeldorf, 1979). De acordo com Axtell (1979) o MIP é um estágio evolucionário na sofisticação e conceitualização das estratégias humanas de controle de pragas. Seus precursores naturais foram o Controle Químico, Controle Biológico (Chapman, 1978), o Controle Integrado (Laird & Writ, 1966) e o Manejo de Pragas (Metcalf & Luckmann, 1975).

Segundo Olson (1979), já em 1972 a Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos, em um painel sobre as perspectivas dos métodos de controle de mosquitos, adequados aos

países em desenvolvimento, propôs critérios que na verdade atenderiam perfeitamente ao MIP nessa área. Resumidamente esses critérios seriam : 1) O conhecimento das ecologias dos mosquitos envolvidos e de sua importância relativa ao homem. 2) Uma análise quantitativa dos custos e benefícios que os programas teriam ao homem e ao seu ambiente. 3) A implementação de programas de redução de criadouros, quando possível. 4) Desenvolvimento e implementação de programas suplementares envolvendo a integração de métodos de controle que se complementam. 5) Desenvolvimento de um sistema de monitoramento que poderia detectar mudanças nos efeitos do programa de controle. E 6) constantes avaliações no programa de controle para se detectar mudanças ecológicas nos mosquitos alvo.

A questão sobre o uso das terminologias manejo integrado ou controle integrado, com relação aos mosquitos e borrachudos, tem ainda criado certas polêmicas na literatura por serem consideradas por alguns autores como práticas distintas. Segundo Laird, no seu capítulo introdutório do livro que editou em co-autorias com Miles (Laird & Miles, 1983), o Manejo seria aplicável apenas à Entomologia Agrícola e Florestal, que toleram para as suas pragas limiares populacionais de controle em níveis maiores, além de poderem contar com a vitalidade de uma estrutura já bem montada de controle biológico, como a produção em larga escala de dípteros e himenópteros parasitos, por exemplo. Por outro lado, Service no seu capítulo Manejo de Vetores do livro que edita em co-autoria (Youdeowei & Service, 1983), salienta que devemos abandonar a idéia de que os mosquitos, em qualquer caso, pos-



sam ser controlados por um único método e propõe, da mesma forma que Laird uma abordagem holística e mais real que a erradicação, só que no entanto indica que deveria ser preferencialmente chamada de "Manejo Integrado de Vetores".

Embora esses autores discordem na terminologia, são unânimes em salientar as óbvias implicações que a dinâmica populacional e os níveis de controle impõem na diferenciação de uma praga desfolhadora por exemplo, um inseto hematófago apenas incômodo, e um vetor. Para Service, o termo "manejo" se aplicaria por exemplo, tanto no controle dos vetores da malária em várias áreas da Ásia e América do Sul, onde uma redução da população vetora de 5 vezes seria suficiente, quanto em outras situações na África, onde a malária é holoendêmica e muito estável; onde 1 em 20 ou 100 dos vetores que picam o homem estão infectados com o agente, e seria necessária uma redução no mínimo de 1000 vezes na população dos mosquitos. Laird considera para esse último caso, o termo "manejo", embora atrativo, com um apelo ambientalista demais, pouco técnico e satisfatório apenas para a sociedade em geral. Ao seu ver, do ponto de vista técnico nesses casos, o que se deseja seria CONTROLE mesmo. A visão de Laird no entanto se generaliza para todos os casos no combate aos borrachudos no seu livro sobre o assunto (Laird, 1981), sejam eles vetores ou não; demonstrando uma não aceitação generalizada do termo "manejo" para os insetos de importância médica, urbana ou veterinária. Discordando desse ponto de vista, Axtell (1979) salienta que o MIP é na verdade mais do que controle, e seria realmente uma abordagem holística com uma mistura de filosofias e

ciências aplicadas, com o que igualmente concordamos (Andrade, 1989
prelo).

A prática do MIP, como já havia sido proposta por Geier (1966) mostrava a interdisciplinaridade do conceito, onde estariam envolvidos : 1) A determinação de como o sistema de vida de uma praga precisaria ser modificado para reduzir seu número a níveis toleráveis, ou seja, abaixo dos limiares de dano. 2) A aplicação dos conhecimentos biológicos e da tecnologia disponível para se conseguir essas modificações, ou seja, Ecologia Aplicada. E 3) o desenvolvimento de procedimentos de controle adequados à tecnologia disponível e compatível com os aspectos econômicos e de qualidade ambiental, ou seja, aceitação econômica e social.

De acordo com Luckmann & Metcalf (1975), as principais ferramentas para os programas de MIP já haviam sido enumeradas no início da década de 50 (Metcalf et al., 1951) e envolveriam em ordem de complexidade : 1) Métodos culturais ou o uso de práticas agronômicas (para o caso de pragas agrícolas). 2) Métodos mecânicos. 3) Métodos físicos. 4) Métodos biológicos. 5) Métodos químicos. 6) Métodos genéticos. E 7) métodos regulatórios. Com relação aos métodos que não foram ainda abordados nessa revisão, alguns trabalhos são mais relevantes e serão comentados a seguir.

Dentro de métodos mecânicos, já em 1902 Ross (apud Laird, 1983) radicalizava a questão, defendendo a idéia de que "as águas que podem ser envenenadas são aquelas não utilizáveis e portanto devem ser eliminadas de uma vez". O fato é que

naquela época, os larvicidas químicos disponíveis eram realmente venenos. Dessa época para cá, vários autores têm abordado a importância da redução dos focos de criação de mosquitos ou do uso de armadilhas, apontadas como os métodos mais simples e também muito importantes, na medida em que geralmente envolvem uma participação da comunidade diretamente atingida pelo problema (Hackett et al., 1938; Boyd, 1949; Davey & Lightbody, 1956; Christopher & Bowden, 1957 e King et al., 1960, apud Goma, 1966; Luh & Zhu, 1983; Kurihara, 1983 e Sweeney, 1983). As possibilidades de utilização desses métodos têm sido bastante exploradas e dezenas de trabalhos aparecem listados na seção "water management" das revisões de literatura publicadas por H. Sollers-Riedel e W. E. Bickley que aparecem nos fascículos da revista "Mosquito News", da Associação Americana para Controle de Mosquitos. Uma série de outros trabalhos envolvendo o controle químico/mecânico, através de filmes de superfície, de natureza orgânica e mononuclear são listados em Sollers-Riedel (1984).

Para os borrachudos, os métodos mecânicos, como foi dito, precedem a utilização em larga escala dos produtos químicos, sendo abordados por vários autores desde o início do século (Weed, 1904; Wilhelmi, 1920; O'Kane, 1926; Quélenec et al., 1968; apud LaScala & Burger, 1981). No Brasil, como forma alternativa para o controle de populações de S. pertinax resistentes aos Temefós, o método mecânico de se escovar as paredes das barragens em riachos do Rio Grande do Sul, também foi considerado (Melo et al., 1984).

Os métodos de controle genético estão hoje já bastante adiantados, e não se restringem apenas às técnicas de liberação em massa de machos estéreis, revistas para os mosquitos por Rai (1969 e 1971). Rai et al., (1974) indicam ainda a distorção da razão sexual por fatores genéticos [descoberta por Hickey & Craig Jr. (1966)] e o aumento na proporção de machos estéreis pela liberação de machos translocados, como possibilidades no controle genético.

A partir da descoberta em 1937 de que o cruzamento de Cx. pipiens coletados em diferentes áreas geográficas produziam ovos que não eclodiam, coube a Laven a proposta de utilização desse fenômeno no controle de mosquitos. Embora várias hipóteses tenham sido elaboradas para essa incompatibilidade (Smith-White & Woodhill, 1954; Laven, 1957 e 1967; McClelland, 1967; French, 1970; Jost, 1970 e 1971; Yen & Barr, 1971, apud Yen & Barr, 1974), apenas Yen & Barr (1974) puderam oferecer evidências experimentais de que a incompatibilidade estava associada a um microrganismo tipo rickettsia, Wolbachia pipientis, encontrada no citoplasma dos ovos de Cx. pipiens. Da mesma forma que para o controle mecânico, dezenas de trabalhos sobre genética e controle genético têm sido desenvolvidos no mundo todo, e vários aparecem relacionados pela revista "Mosquito News" nos últimos anos.

As abordagens dentro dos métodos regulatórios e mesmo sobre os aspectos sócio-econômicos relacionados aos programas de manejo de pernilongos e borrachudos por sua vez, têm sido escassas. Uma série de medidas legislativas devem acompanhar

tanto na área agrônômica como na de saúde, os programas de manejo, controle ou mesmo erradicação das pragas e vetores. No caso específico do Brasil no entanto, ainda é notável a falta desse tipo de suporte legal, a despeito da oportunidade que estamos tendo com o período constituinte que passamos. Em outros países, principalmente em áreas insulares, os métodos regulatórios atuam sabidamente de maneira muito rígida e contribuem bastante para os programas anti-vetoriais. Womeldorff & Keast (1978) abordam a questão para os Estados Unidos.

Do ponto de vista sócio-econômico, embora alguns autores já tenham abordado os problemas de custo de determinadas operações, como Opp et al. (1981), ou de programas inteiros, como Sarhan et al. (1980), Fleetwood & Craven (1978) e Candeletti (1985); os trabalhos que visam determinar as perdas econômicas devidas ao ataque de pernilongos e borrachudos são raros e ao mesmo tempo fundamentais, pois essas avaliações é que irão definir a relação custo-benefício de qualquer medida de controle.

Os trabalhos de Steelman & Schilling (1977), Townsend Jr. et al. (1977) e Riha et al. (1979 e 1981) tratam desse assunto. Para o caso das pragas e vetores tropicais, a abordagem de Rosenfield et al. (1983) sobre as considerações sócio-econômicas no manejo, indicam que em alguns casos extremos, propostas tecnicamente perfeitas podem falhar na prática, pela pouca consideração ou total descuido com esse fator. Dentro dessa visão, uma das questões fundamentais é a educação da sociedade envolvida, como tratam alguns trabalhos (Beams, 1978; Hansen, 1978 e Minjas, 1985). No litoral do Estado de São Paulo, como parte dos estudos para a im-

plementação do Manejo Integrado de *S. pertinax*, o presente autor e colaboradores distribuíram entre todos os estudantes de 1º e 2º graus do Município de Ilhabela, cartilhas ilustradas sobre Biologia, Ecologia e controle dos borrachudos (ANEXO 01), incluindo um questionário para avaliação dos limiares de controle (nível suportável de picadas) entre este segmento dos moradores. Os trabalhos de Yang (1982a e 1982b) tratam adequadamente da contribuição que a comunidade pode oferecer nos programas de controle de mosquitos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado sob condições tanto de campo como de laboratório. As avaliações do potencial de supressão de diferentes agentes bióticos e abióticos, foram feitas por meio de ensaios de susceptibilidade ou ensaios de eficiência. Os primeiros, graças a diferentes modificação nos procedimentos básicos para bioensaios, seguindo-se sempre os padrões propostos por ^{Thomson} Burges & Hussey (1971) e Pinnock & Brand (1981). Os ensaios de eficiência foram feitos considerando-se as avaliações pré e pós aplicação, em termos da porcentagem de controle após períodos suficientes para a expressão total da ação inseticida do agente.

As investigações de laboratório foram realizadas simulando-se situações equivalentes às encontradas na natureza ou padronizando-se critérios para permitir comparações.

3.1. IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES

As espécies de culicídeos avaliadas no presente estudo, exceptuando-se Ae. aegypti, foram identificadas pe-

X Tabela 1 Pg. 70 e 71

lo Dr. Almério de Castro Gomes (Depto de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública/USP/ São Paulo). As larvas de Ae. aegypti foram coletadas em um foco urbano no Município de Americana/SP e tiveram a identificação confirmada pelo Biólogo Maurício Modolo (Estagiário UNICAMP-SUCEN; Campinas).

Os simulídeos foram identificados pelos Drs. Victor Py-Daniel (Depto de Entomologia/INPA/ Manaus) e Sixto Coscarón (Depto de Parasitologia/USP/ São Paulo).

3.2. AGENTES DE SUPRESSÃO

Os agentes bióticos e abióticos utilizados no presente trabalho, na forma de amostras experimentais ou produtos comerciais, aparecem listados com suas características na TABELA 01.

TABELA 01. Relação dos agentes de controle avaliados e suas características.

NOME	PRINCÍPIO ATIVO	FORMULAÇÃO	POTÊNCIA	USO
Bactimós ¹	Bti (H:14)	Pó molhável	6000 UI/mg*	EXP.
Bactimós SC ²	Bti (H:14)	Conc. emuls.	1000 UI/mg	COM.
ABG-6108 ³ Lote nº 8278-123	Bti (H:14)	Pó molhável	2000 UI/mg	EXP.
ABG-6193 ³ Vectobac 12 AS; Lote nº 88-590-CD	Bti (H:14)	Susp. aquosa	1200 UI/mg	EXP.
Vectobac AS ³ Lote nº 88-042-BA	Bti (H:14)	Susp. aquosa	600 UI/mg	EXP.
BSP-1 ⁴	Bsp (H:5a-5b)	Conc. emuls.	20x10 ⁶ e/mg**	EXP.
Nomolt ⁵	Teflubenzuron	Conc. emuls.	150 g i.a./l	EXP.
Dimilin ⁶	Di-flubenzuron	Pó molhável	250 g i.a./kg	EXP.
Abate 500 E ⁷	Temefós	Conc. emuls.	500 g i.a./l	COM.

* Unidades Internacionais de Potência, avaliadas em bioensaios padrão contra larvas de início de IV estágio de *Ae. aegypti*;

** Esporos viáveis; ¹Salsbury Laboratories; ²Indústria Química Eletrocloro; ³Abbott Laboratories; ⁴Solvey & Cie Laboratories; ⁵Celamerck/Hoechst; ⁶Basf Bras. S/A Ind. Quím.; ⁷Cyanamid Quím. do Brasil.



X
Tabela 1
B6-70?

3.3. AVALIAÇÕES

Os ensaios com larvas de Culicidae foram desenvolvidos em águas com diferentes características. Nos bioensaios de susceptibilidade absoluta de Cx. quinquefasciatus, foi padronizada a utilização de água mineral, de marca comercial Fontagua, cujas características físico-químicas (segundo o distribuidor) aparecem na TABELA 01.

TABELA 01. Composição química provável (mg/l) e características físico-químicas da água mineral usada nos ensaios de susceptibilidade absoluta de Cx. quinquefasciatus.

CLORETO DE SÓDIO.....	3,2	pH.....	6,0
BICARBONATO DE CÁLCIO.....	7,6	CONDUTIVIDADE (25°C).....	
BICARBONATO DE MAGNÉSIO.....	9,0	= $5,3 \times 10^{-5}$ ohms
BICARBONATO DE SÓDIO.....	14,9	RADIOATIVIDADE NA FONTE	
BICARBONATO DE POTÁSSIO.....	2,9	...22,24 Unidades Mache	
NITRATO DE POTÁSSIO.....	6,6	RESÍDUO DE EVAPORAÇÃO A 180°C.	
SÍLICA.....	16,0	0,0608 g/l

Nos bioensaios de susceptibilidade relativa, foram utilizadas as águas dos próprios criadouros das larvas, alteradas ou não. Para o caso dos bioensaios em água de esgoto bru-

to ou esgoto pré-tratado, as análises físico-químicas foram desenvolvidas pela Seção de Análises e Controle, do Laboratório de Águas Residuárias e Laboratório de Hidrobiologia da SANASA- Sociedade de Abastecimento de Água e Saneamento S/A (sob a responsabilidade técnica de Nyara Cassaro Mendes e de Sueli Losch Giudici, respectivamente).

Os sólidos em suspensão avaliados foram a formulação pó-molhável ABG-6108 autoclavada e a alga verde unicelular Chlorella minutissima Fott (Chlorococcales; Chlorellaceae), quantificados em termos de miligramas por litro e número de células por mililitro respectivamente, nesse último caso, avaliado por contagem em hematímetro. Nesses ensaios e nos outros conduzidos nas águas dos criadouros naturais, registrou-se o pH com auxílio de papel indicador Merck de precisão 0,2 ou 0,5. A temperatura foi tomada com um termômetro comum usado em aquários.

Todos os ensaios realizados no presente trabalho com larvas de simulídeos foram desenvolvidos em água corrente, natural do próprio riacho criadouro do inseto e em condições semi-naturais, considerando-se as recomendações da OMS (1976). Temperatura e pH foram igualmente obtidos como no caso dos ensaios com pernilongos.



3.3.1 SUSCEPTIBILIDADE

As unidades utilizadas para os ensaios de susceptibilidade com pernilongos, foram bacias plásticas de 32 cm de diâmetro, consideradas para as dosagens como tendo 800 cm² de superfície e contendo 2 ou 3 litros de água, dependendo do ensaio. Também, dependendo do número de repetições, foram utilizadas cubas de polietileno de 18x28 cm, consideradas como tendo 500 cm² de superfície e igualmente com volume variável de água, dependendo do ensaio.

Para os ensaios de susceptibilidade com larvas de simulídeos (*S. inaequale* e *S. incrustatum*) foi desenvolvido um sistema de rampas de madeira, com 1,2 m de comprimento por 15 cm de largura, que recebiam quantidade controlada de água do riacho, previamente armazenada em um balde de lona de 90 l de capacidade. Essas rampas eram dispostas sobre um suporte de tubos de alumínio (FIGURA 01) de modo a terem aproximadamente a mesma inclinação que o leito do riacho aonde estavam localizados os criadouros. As vazões nas rampas eram calculadas com uma proveta, para produzirem condições de velocidade da água semelhantes ao criadouro. O volume assim desejado era fixado com o auxílio de torneiras plásticas ligadas a um cano de distribuição. Na abertura de saída das rampas foi colocado ainda peneiras metálicas finas (malha de 1 mm²), recobertas ou não com um pedaço de tecido de algodão. Para os ensaios com *S. pertinax* e *S. distinctum*, essas mesmas rampas de madeira, ou outras mais curtas com 60 cm, foram instaladas entre as pedras do riacho, de modo a manterem as suas características quanto à velocidade da água e permitirem o



cálculo de vazão, coletando-se com um balde a água na extremidade das rampas (FIGURA 02).

FIGURA 01. Sistema de rampas instaladas sobre armação de tubos para os ensaios de susceptibilidade de *S. inaequale* e *S. incrustatum*.

FIGURA 02. Sistema de rampas instaladas no riacho para ensaios de susceptibilidade de *S. pertinax* e *S. distinctum*.

3.3.2. EFICIÊNCIA

Os ensaios de eficiência contra larvas de Cx. quinquefasciatus foram desenvolvidos na Estação de Tratamento de Água Cambuí, da SANASA (Campinas), em dois tanques escavados no chão, com paredes e fundo de terra, medindo cada um 5,6 m de largura por 35,4 m de comprimento. A lâmina d'água variou em torno de 60 cm, estando a superfície completamente coberta por aguapé, Eichhornia crassipes (Mart.) Solms. (Pontederiaceae, Liliiflorae). Um dos tanques recebia água de esgoto residencial bruto, enquanto o outro, o mesmo tipo de água após tratamento convencional em tanque aeróbico de sedimentação. Três entradas e três saídas, constituídas de canos de 7 polegadas, permitiam o fluxo contínuo da água ao longo dos tanques, determinando um tempo médio de retenção de 36 horas, tomado antes da colonização pelo aguapé.

Os ensaios de eficiência contra S. pertinax foram realizados em um riacho na Baía de Castelhanos, Município de Ilhabela e em um outro curso d'água, no Bairro da Cachoeira, Município de Guarujá; áreas não sujeitas ao controle periódico de borrachudos pela SUCEN (Superintendência de Controle de Endemias). A vazão nos riachos foi calculada pela relação entre a velocidade da água e o tamanho médio do riacho, pelas fórmulas propostas por Leitritz (1959) e Needham & Needham (1972). Nesse caso, as rampas de 60 cm ou de 120 cm foram dispostas uma abaixo da

outra no curso d'água, distantes mais de 10 metros no primeiro caso, aonde o riacho era maior, e distantes 2 a 3 m no outro riacho menor.

3.3.3. APLICAÇÕES

Nos ensaios de susceptibilidade de culicídeos e notonectídeos, as concentrações dos agentes de controle eram aplicadas sobre a superfície da água, com o auxílio de uma pipeta, diluídas em 5 ou 10 ml de água. Para a avaliação da susceptibilidade absoluta de *Cx. quinquefasciatus* foram utilizadas em todos os casos, larvas no início do quarto estágio, sem qualquer suprimento alimentar.

Nos ensaios de eficiência nos tanques de aguapé, as aplicações foram feitas através de um cano de ferro galvanizado de uma polegada de diâmetro, com 4,8 m de extensão, contendo a cada 30 cm uma perfuração de 0,7 cm de diâmetro, voltada para cima. Os produtos (ou suas misturas) diluídos em 20 litros de água comum de torneira foram bombeados com o auxílio de um pulverizador costal manual para a barra de aplicação, enquanto esta era deslocada próxima ao fundo, por baixo do aguapé, ao longo do comprimento dos tanques.

Contra os borrachudos as aplicações foram sempre por gotejamento, tanto nos ensaios de susceptibilidade como de eficiência. As concentrações foram diluídas em 0,5 ou 1 litro de água do próprio riacho e as aplicações foram feitas com frascos de polietileno munidos de torneiras calibradas para o tempo de gotejamento desejado. As aplicações eram feitas na região superior das rampas quando estas estavam em paralelo. Quando estavam montadas em série no leito do riacho, os produtos eram aplicados entre elas. Neste caso, as concentrações foram estabelecidas em sequência crescente em relação ao curso d'água, de modo que a sobreposição das aplicações acima de cada rampa formasse a concentração final desejada nelas.

Os insetos utilizados nos ensaios, em todos os casos foram sempre coletados nos seus criadouros pouco antes dos experimentos e transferidos para as unidades de bioensaio, sendo que um período de não menos que 30 minutos era aguardado para a adaptação dos insetos e eventual reposição.

As larvas de *Culex* foram coletados com o auxílio de peneira metálica de malha fina. Os Anophelini e as larvas de *Aedes* foram coletados individualmente, com o auxílio de um tubinho de vidro. Os simuliídeos foram coletados junto com seu substrato de fixação (folhas, raízes e gravetos) como no caso de *S. inaequale* e de *S. incrustatum* ou passando-se um pano ou mesmo a mão sobre as pedras do riacho, no caso de *S. pertinax* e *S. distinctum*. Nas unidades de testemunha e no próprio criadouro foram feitas coletas para posterior identificação ou confirmação específica dos insetos.

As avaliações dos ensaios, excetuando-se o caso da eficiência dos agentes nos tanques de aguapé, foram feitas sempre pela contagem direta do número de indivíduos mortos nas cubas, bacias ou rampas. No caso exceção, as avaliações tanto pré como pós tratamento, foram feitas pesando-se o total de larvas vivas coletadas por meio de uma peneira de 20-cm de diâmetro, em 10 pontos ao redor de cada tanque. O material foi pesado fresco, em balança analítica, considerando-se até os centésimos de grama.

3.3.4. COMPATIBILIDADE

A avaliação do crescimento vegetativo de *Bacillus sphaericus* na presença de Diflubenzuron ou Temefós, foi feita no laboratório avaliando-se o desenvolvimento da bactéria em meio de cultura Caldo Nutriente (Azevedo & Costa, 1973), pelo método de densidade óptica (French & Hebert, 1980).

Foram avaliadas 4 concentrações de cada inseticida químico, tomando-se como referencial as indicadas para uso no campo. Os produtos foram adicionados a 25 ml de meio de cultura, com inóculo de 1 ml de suspensão bacteriana contendo $3,5 \times 10^5$ esporos. Esse número de esporos na suspensão de inóculo foi previamente avaliado pelo método de "pour plate"; semeando-se o for-



X ?
inoculadora
ou
em tubo de cultura ?

mulado em meio de cultura sólido sem nutrientes.

X
A

Foram feitas 4 repetições de cada tratamento, avaliando-se em espectrofotômetro após 8, 24 e 48 horas, o crescimento bacteriano em tubos mantidos em estufa encubadora (28°C) quando comparados com igual tratamento mantido em refrigerador a 5°C (Testemunha). Três repetições desse mesmo inóculo foram feitas em meio de cultura sem a presença dos químicos (Controle) para servir de parâmetro do crescimento sem inibição.

3.3.5. RESISTÊNCIA

Os ensaios utilizando-se adultos de borrachudos para a detecção de resistência ao larvicida Temefós foram adaptados do método proposto por Kurtak & Oedraogo (1984), para que pudessem ser feitos sob condições de campo. Fêmeas adultas de Simulium perflavum foram coletadas com puçá entomológico, enquanto as de S. pertinax foram coletadas com frasco aspirador, utilizando-se isca humana.

Após as coletas, grupos de cerca de 20 indivíduos eram transferidos para frascos de vidro com 8 cm de altura por 2,5 de diâmetro, tampados com rolha de látex, recebendo como alimento uma tira de papel de filtro seca, previamente impregnada com solução açucarada a 20%.

Para a aplicação individual, os adultos de cada frasco eram transferidos para uma pequena tela colocada na entrada de um aspirador de pó (12 v), aonde permaneciam imobilizados por cerca de 1 minuto; o suficiente para o tratamento de todos. As soluções em acetona do Temefós eram feitas imediatamente antes do uso, e aplicadas com o auxílio de um microcapilar de vidro com 6 mm de comprimento, contendo um volume total de 0,5 µl de solução. As aplicações foram feitas sobre o tórax (noto) ou o abdômen (esterno) dependendo da posição em que se encontrava o adulto imobilizado na tela. Foram feitas três repetições para cada concentração do larvicida, perfazendo um total de cerca de 60 indivíduos por tratamento. A testemunha recebia apenas acetona nas aplicações. A FIGURA 03 mostra as soluções do larvicida sendo aplicadas nos adultos de borrachudos.

FIGURA 03. Aplicação tópica de Temefós no campo, em adultos de borrachudo imobilizados por aspiração.

A avaliação dos níveis de esterase em populações de borrachudos resistentes ou susceptíveis ao Temefós, foi feita adaptando-se o método de Pasteur & Gerghiou (1981).

Um volume fixo de larvas de último estágio (0,4 ml) era congelado por alguns minutos (-79°C; gelo seco) e macerado contra uma malha fina de metal, imersa em 0,5 ml de água bidestilada. O extrato obtido era então gotejado (10 a 15 gotas distintas) sobre um papel de filtro Watman nº2. A seguir o papel era submerso em uma solução acetônica substrato composta de α -Naftilacetato (Nº Sigma 6750) em tampão fosfato pH= 6,5. Após esse período o papel era enxuto, sendo comprimido entre várias folhas de papel sulfite comum e transferido para a solução corante de Sal Fast Garnett GBC a 0,1% (Nº Sigma F-8761) por 60 segundos. A fixação era feita com uma passagem rápida por solução de ácido acético glacial (P.A.) a 10%.

3.4. TRATAMENTO MATEMÁTICO E ESTATÍSTICO

Os bioensaios de susceptibilidade foram montados de forma a permitir em geral os cálculos de Tempo Letal Mediano (TL₅₀) e, dependendo das respostas aos diferentes tratamentos, ainda os cálculos da Concentração Letal mediana (CL₅₀) ou da Dose Letal Mediana (DL₅₀) após um determinado período da aplicação.

O estabelecimento das diferentes doses, concentrações e dos tempos para as leituras de mortalidade, seguiu uma progressão geométrica de fator "q", variável de acordo com o modo de ação de cada agente de controle. Os cálculos das DLs, CLs e TL₅₀ foram feitos pelo método de regressão linear e correlação (Snedecor & Cochran, 1967) ou pelo método adaptado de Thompson, conforme descrito por Habib (1982). As doses, concentrações ou tempos foram transformados em logarítmo de base "q" e as porcentagens de mortalidade, após a correção pela fórmula de Henderson & Tilton (1955), nos seus próbites; utilizando-se as tabelas de Fisher & Yates (1971).

Os valores letais medianos com os seus parâmetros estatísticos à nível de 95% de probabilidade (intervalo de confiança, desvio padrão, variância e coeficiente de correlação), bem como os gráficos para a relação log-próbite e os cálculos pelo método de Thompson, foram obtidos por meio de programas em Basic (desenvolvidos pelo autor); rodados em microcomputador padrão Sinclair e IBM-PC. As retas das regressões foram traçadas manualmente pelo critério dos desvios mínimos, respeitando-se os valores letais medianos.

A comparação entre as inibições de crescimento de H. sphaericus quando em contato com diferentes concentrações de Temefós ou Diflubenzuron, foi feita aplicando-se o teste de "F", com as diferenças mínimas significativas (Snedecor & Cochran, 1967).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ECOLOGIA DA SUPRESSÃO DE POPULAÇÕES DE CULICÍDEOS

No presente trabalho a Ecologia da supressão de populações de culicídeos foi avaliada principalmente em termos das respostas de espécies de importância epidemiológica, no laboratório e/ou no campo, a agentes letais convencionalmente utilizados e outros ainda em fase experimental.

4.1.1. RESPOSTAS DE CULICÍDEOS A FATORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS DE MORTALIDADE

A susceptibilidade de qualquer população de organismos vivos a um fator de mortalidade que se pretende avaliar como possível agente de controle, precisa ser verificada de maneira lógica e padronizada, de forma a permitir diversas comparações. Nesse sentido, vários pesquisadores ou mesmo instituições normalizadoras têm proposto para os culicídeos, adultos ou larvas, procedimentos básicos de bioensaios. A Organização Mundial



de Saúde (OMS) no entanto, por meio de seus documentos sobre Biologia dos Vetores e Luta Antivetorial, tem frequentemente revisto certos procedimentos, propondo e estimulando modificações nos bioensaios, de modo a torná-los mais aprimorados. Assim, os resultados apresentados a seguir são discutidos tanto entre si, como em relação às informações bibliográficas pertinentes, que permitem comparações em função de metodologias semelhantes.

4.1.1.1. SUSCEPTIBILIDADE ABSOLUTA DE LARVAS DE Culex quinquefasciatus A AGENTES QUÍMICOS E MICROBIANOS

A importância da determinação da susceptibilidade absoluta das larvas de Cx. quinquefasciatus se prende ao fato dessa espécie, por apresentar ampla distribuição pelo mundo todo, poder igualmente apresentar populações localizadas ou ecótipos com diferentes respostas a um mesmo princípio ativo de controle. Soma-se a isso a importância que tais resultados teriam quando se busca detectar o desenvolvimento de resistência numa dada população, se lhe é imposta uma pressão de seleção por algum desses agentes de controle, ou ainda quando se pretende dentro de um programa de manejo, verificações periódicas da eficiência de

um larvicida ou de misturas de larvicidas.

4.1.1.1.1 - SUSCEPTIBILIDADE ABSOLUTA AO DIFLUBENZURON

A susceptibilidade absoluta ao Diflubenzuron foi avaliada em termos de TL_{50} , para cinco concentrações variando entre 0,0125 e 0,2 mg i.a./l. O pH da água após a adição do agente foi de 6,8 e a temperatura média durante o ensaio foi de 18,5°C. Foram usadas 100 larvas por concentração, com duas repetições.

A TABELA 03 apresenta os valores em horas dos TL_{50} com seus respectivos limites de confiança inferior (LI) e superior (LS). As retas das regressões lineares entre Log (tempo) e próbite (% de mortalidade) bem como os outros parâmetros estatísticos se encontram no ANEXO 02.

TABELA 03. Tempos letais medianos e intervalos de confiança, para larvas de Cx. quinquefasciatus tratadas com Diflubenzuron.

CONCENTRAÇÃO mg l.a./l	0,0125	0,025	0,05	0,1	0,2
TL ₅₀ (horas)	120,9	117,8	106,7	86,5	84,7
LI	112,2	112,1	96,9	79,9	83,0
LS	130,4	123,8	115,2	93,6	86,5

O princípio ativo Diflubenzuron, também encontrado na literatura pelo código TH-6040 ou pela denominação OMS nº 1804, é um composto da classe dos Reguladores de Crescimento; característicos por atuarem via oral em doses bastante baixas causando mortalidade após períodos relativamente grandes, dependendo principalmente do estágio alvo. Pode ser encontrado no mercado sob o nome de produto comercial "Dimilin". Esses compostos à base de Benzoilfeniluréia, por interferirem na síntese de quitina, levando à morte por ocosição da muda (Jakob, 1973 e Schaefer et al., 1975), fazem com que as larvas dos estágios iniciais tendam a ser mais susceptíveis, no entanto, a utilização de larvas no início do IV estágio para os bioensaios também têm sido comum, e permite a comparação com outros ensaios no presente estudo.

Pelos resultados obtidos, as três menores concentrações do Diflubenzuron empregadas não diferiram entre si, causando 50% de mortalidade, tanto na fase de larva como de pupa, em cerca de 5 dias após a aplicação. Para as concentrações maiores, 0,1 e 0,2 mg i.a./l, também não houve diferença significativa entre os seus TL_{50} , ficando por volta de 3 dias e meio, valor altamente significativo quando comparado com o das concentrações menores.

Os valores encontrados na literatura para as larvas dessa espécie ou outras correlatas indicam igualmente uma alta susceptibilidade, mesmo quando não expostas continuamente a esse princípio ativo. Assim, Sharma et al. (1975) indicam uma CL_{50} da ordem de 0,0005 mg i.a./l para larvas de III e início de IV estágio misturadas, sob uma temperatura de 29°C e com suprimento alimentar constante, o que não foi oferecido no presente estudo. Esse valor de CL_{50} , por envolver mistura de larvas de duas idades e ainda condições diferentes das do presente trabalho, não permite comparações diretas; no entanto reforça o fato desse princípio ativo atuar em doses bem baixas. Ainda para essa espécie, Sales & Hervy (1976) indicam que a exposição de larvas no III estágio por 24 horas à concentração de 0,04 mg i.a./l é suficiente para provocar 100% de mortalidade pré-imaginal. No presente trabalho, a concentração de 0,05 mg i.a./l, que causou TL_{50} em 106 horas, também foi capaz de provocar mortalidade total ao final do experimento.

Subespécies do complexo Cx. pipiens apresentam igualmente susceptibilidades semelhantes às até aqui discuti-

das. De acordo com Rettich (1978), a CL_{50} para larvas de III ou início e fim de IV estádios, variam entre 0,00013 e 0,00034 ou 0,00019 e 0,00073 mg i.a./l, respectivamente para *Cx. p. pipiens* e *Cx. p. molestus*. No presente trabalho, não foi verificada a ocorrência de emergência de adultos para qualquer das concentrações experimentadas, uma vez que foram estabelecidas doses relativamente altas.

Enquanto que os fabricantes sugerem a utilização de concentrações entre 20 e 50 g i.a./ha, dependendo do grau de poluição da água, as concentrações estabelecidas no presente bioensaio corresponderiam à faixa entre 5 e 80 g i.a./ha. A diferença no TL_{50} entre a menor e a maior concentração no entanto, de cerca de apenas um dia e meio, reforça a alta susceptibilidade dessas larvas embora já no início do IV estádio, e sugere a possibilidade de se usar doses mais econômicas nas aplicações de campo.

O modo de ação dos "Reguladores de Crescimento" faz com que a relação dose/mortalidade seja menos direta do que para os Organossintéticos. Os distúrbios que causam por ocasião da ecdise e suas conseqüências como afogamento e desequilíbrio osmótico representam as principais causas para a morte das larvas. Considerando-se esses resultados, pode-se discutir ainda a pertinência em se referir a esses princípios como "desreguladores" de crescimento, o que na verdade melhor caracteriza seu modo de ação.



4.1.1.1.2-SUSCEPTIBILIDADE ABSOLUTA AO TEMEFÓS

A susceptibilidade absoluta ao Temefós foi avaliada em termos de TL₅₀, para nove concentrações entre 0,00125 e 0,32 mg i.a./l, tanto quanto em termos da CL₅₀ para 4 e 24 horas após o contato inicial com o agente. O pH da água após a adição do princípio ativo foi de 6,0 e a temperatura média tomada durante o teste foi de 19°C. Usou-se também 100 larvas por concentração, com duas repetições. A TABELA 04 apresenta os valores em minutos para os TL₅₀ e os intervalos de confiança para as concentrações a partir de 0,0025 mg i.a./l, uma vez que a menor das concentrações provocou um máximo de apenas 40% de mortalidade, após 4,2 dias. As retas de regressão para as outras concentrações e os parâmetros estatísticos encontram-se no ANEXO 03.

TABELA 04. Tempos letais medianos e intervalos de confiança, para larvas de Cx. quinquefasciatus tratadas com Temefós

CONCENTRAÇÃO	0,0025	0,005	0,01	0,02	0,04	0,08	0,16	0,32
mg i.a./l								
TL ₅₀ (min)	2509,5	1013,6	502,5	472,8	279,5	169,6	142,1	136,9
LI	2375,1	964,6	464,5	406,9	247,9	159,8	130,2	127,8
LS	2651,7	1965,1	543,7	549,4	315,1	179,9	155,0	146,7

O princípio ativo Temefós é um composto Organofosforado, de penetração principalmente por via oral, que por agir sabidamente reduzindo os níveis normais da enzima Acetilcolinesterase, perturba de tal modo a condução dos sinais nervosos que provoca tremores, convulsões e finalmente a morte. O Temefós pode ser encontrado no mercado nacional e estrangeiro com os nomes comerciais de Abate (Brasil), Abat, Abathion, Biothion, Swebat ou Nimitex. Na literatura também pode ser referido pelas siglas AC 52.160, ENT 27165 ou DMS nº 786. É um agente bastante eficiente no controle das larvas de várias Famílias de dípteros aquáticos, bem como das formas imaturas e adultas do piolho do corpo humano e de carrapatos Ixodidae; tendo sido empregado rotineiramente em vários países (Gras & Rioux, 1967; Fox *et al.*, 1968; Dixon, 1971; WHO, 1973; Mulla *et al.*, 1975 e Radda *et al.*, 1974; apud Cyanamid, 1980).

Os dados obtidos no presente trabalho indicam uma variação de cerca de 19 vezes na susceptibilidade das larvas de Cx. quinquefasciatus, para um aumento de 128 vezes na concentração do princípio ativo Temefós. Considerando-se os limites de confiança, os tempos letais medianos para as concentrações intermediárias (0,01 e 0,02 mg i.a./l), bem como para as concentrações superiores (0,16 e 0,32 mg i.a./l) não diferiram entre si.

As menores concentrações experimentadas (0,00125 e 0,0025 mg i.a./l) permitiram ao final do ensaio 60 e 16,6% de sobrevivência respectivamente, indicada pela transformação em pupa das larvas tratadas; na última avaliação 4,2 dias após as aplicações. As duas maiores concentrações permitiram

respectivamente 6,0 e 4,0% de sobrevivência. O maior TL₅₀ ficou em torno de 42 horas, e o menor, para a concentração de 0,32 mg i.a./l, foi de 2 horas e 16 minutos.

Considerando-se as mortalidades 4 horas após as aplicações, a CL₅₀ calculada foi de 0,0478 mg i.a./l, com intervalo de confiança entre 0,0409 e 0,0559 mg i.a./l (ANEXO 04).

Os resultados obtidos, quando comparados com os disponíveis na literatura, indicam ser essa população tão susceptível ao Temefós quanto outras avaliadas sob condições comparáveis. Populações de Cx. pipiens na França apresentaram uma CL₅₀ em 24 horas de 0,0084 mg i.a./l, enquanto que em Burma, populações de Cx. quinquefasciatus mostraram o mesmo para a concentração de 0,0016 mg i.a./l (Gras & Rioux, 1967 e Mathis, 1983b). A população avaliada no presente trabalho mostrou após 24 horas uma CL₅₀ de 0,0036 mg i.a./l (detalhes no ANEXO 04).

O valor da CL₅₀ para 24 horas de exposição, indicado pela DMS para servir como "linha base do nível de susceptibilidade" para subespécies do complexo Cx. pipiens no entanto, da ordem de 0,00039 mg i.a./l (WHO, 1970), revela que uma susceptibilidade 10 vezes maior deveria ser obtida; não compatível com os dados do presente trabalho e com aqueles apresentados por Gras & Rioux (1967) e Mathis (1983b). Ainda, a recomendação da DMS de se usar como "dose diagnóstico" para se suspeitar de desenvolvimento de resistência nessas subespécies a concentração de 0,02 mg i.a./l (WHO, 1980), merece ser reavaliada também. Essa concentração deveria representar a mínima quantidade causadora de 100% de mortalidade, no entanto como foi mencionado, valores

?
como se se
de
larvas
erla
no II ou
início IV
estádios?
?

+

equivalente ou superiores a esse permitiram sobrevivência.

4.1.1.1.3- SUSCEPTIBILIDADE ABSOLUTA AO Bacillus sphaericus

A susceptibilidade absoluta das larvas de Cx. quinquefasciatus à bactéria B. sphaericus (BSP-1) foi avaliada no presente trabalho em larvas no III e no início do IV estádios. Avaliou-se os TL₅₀ para 5 concentrações altas em cada caso, bem como a CL₅₀ para dois horários após o contato das larvas com o microrganismo. O pH da água dos ensaios foi de 6,0 e a temperatura média durante os tratamentos foi de 20°C. Foram usadas 50 larvas por concentração, com duas repetições.

As TABELAS 05 e 06 apresentam os valores dos TL₅₀ em minutos, para as larvas de III e IV estádios, além das CL₅₀ após 9 e 12,6 horas para esses dois estádios respectivamente. As retas de regressão para os valores letais medianos bem como os demais parâmetros estatísticos, encontram-se nos ANEXOS 05 e 06.

TABELA 05. Concentração e Tempos letais medianos com intervalos de confiança, para larvas de Cx. quinquefasciatus (III estágio) tratadas com B. sphaericus (BSP-1).

CONCENTRAÇÃO (mg/l)	4,0	12,0	36,0	108,0	324,0
$\times 10^6$ esp./l	80,0	240,0	720,0	2160,0	6480,0
TL ₅₀ (min.)	679,9	448,3	423,3	393,6	360,6
LI	646,1	433,0	416,1	379,4	351,1
LS	715,5	464,1	430,6	408,4	370,4
CL ₅₀ /540 min (LI-LS)= 9,53 (9,00 - 10,10) mg/l ou 190,6 $\times 10^6$ e/l					

TABELA 06. Concentração e Tempos letais medianos com intervalos de confiança, para larvas de Cx. quinquefasciatus (IV estágio) tratadas com Bacillus sphaericus (BSP-1).

CONCENTRAÇÃO (mg/l)	4,0	12,0	36,0	108,0	324,0
$\times 10^6$ esp./l	80,0	240,0	720,0	2160,0	6480,0
TL ₅₀ (min.)	823,7	753,6	739,5	621,1	467,0
LI	780,6	731,8	732,7	587,0	446,2
LS	869,2	776,0	746,3	657,1	488,8
CL ₅₀ /540 min (LI-LS)= 385,61 (201,47-738,02) mg/l ou 7,7 $\times 10^9$ e/l					
CL ₅₀ /756 min (LI-LS)= 18,72 (13,55- 25,87) mg/l ou 374 $\times 10^6$ e/l					

A bactéria B. sphaericus, devido às toxinas que produz durante o seu crescimento vegetativo e que continuam ativas mesmo quando as células morrem ou esporulam, constituem num dos mais importantes patógenos de larvas de mosquitos conhecidos até hoje (Habib & Andrade, 1986). Embora um número muito grande de linhagens dessa bactéria tenha sido isolado de diversas regiões do mundo (Krych et al., 1980 e Yousten, 1984), as pesquisas sobre a sua utilização em programas de controle, na forma de produtos comerciais, têm se concentrado principalmente nas linhagens 1593 e 2362; ambas pertencentes ao sorotipo flagelar H:5a5b (grupo fago 3). Esse sorotipo, junto com o H:25 (grupo fago 4) são, ao contrário dos outros, característicos por abrigarem linhagens produtoras de típico corpo paraesporal (ou cristal) e graças a isso apresentam uma maior atividade inseticida (Lysenko et al., 1985).

No presente trabalho foi avaliado o potencial de B. sphaericus (BSP-1), formulado na forma de um concentrado emulsionável contendo 12% de pó primário do isolado 2362. As concentrações utilizadas mostraram ser as larvas de III estágio mais susceptíveis do que aquelas no início do IV estágio; em todos os casos, sendo o tempo necessário para 50% de mortalidade maior para essas últimas. Essa relação entre as susceptibilidades variou entre 1,21 e 1,74 vezes; respectivamente para a menor concentração (4 mg/l) e para a concentração intermediária (36 mg/l). Os tempos letais medianos para as larvas de III estágio variaram entre 6,0 e 11,7 horas, sendo que sempre diferiram estatisticamente entre si. Em todos os tratamentos foi atingido 100% de mortali-

dade antes de 24 horas após as aplicações.

As concentrações letais medianas encontradas para o III estágio (9 horas após) e para o início do IV estágio (9 e 12,6 horas após) são comparativamente bem maiores do que as encontradas na literatura para Cx. quinquefasciatus, ou espécies correlatas, uma vez que esses estudos consideram as mortalidades após 48 horas das aplicações (Lacey, 1984). Assim Mulla et al. (1984) indicam para 4 diferentes preparados da mesma linhagem usada no presente trabalho (2362), concentrações letais medianas variando entre 0,006 e 0,014 mg/l, para Cx. quinquefasciatus no IV estágio. Ainda para a linhagem 1593 do mesmo sorotipo, que foi proposta como referência (padrão) internacional do Instituto Pasteur para os ensaios de padronização, Bourgouin et al. (1984) indicam causar uma CL₅₀ de 0,007 mg/l (= 21×10^4 cels. viáveis/l) para larvas de Cx. pipiens pipiens no início do IV estágio, considerando-se como tempo para as leituras também 48 horas após o início do bioensaio. Esse preparado, com 3×10^7 células viáveis por miligrama recebeu o código RB-80 e o valor arbitrário de 1.000 Unidades Tóxicas Cx. p. p. por miligrama.

Os critérios na padronização de preparados de B. subaerius para uso no controle de mosquitos têm sido também nossa preocupação (Habib & Andrade, 1986), e podem ser discutidos frente aos presentes resultados e outros da literatura. De acordo com Ramoska & Hopkins (1981), as larvas de Cx. quinquefasciatus devido ao seu comportamento alimentar, ingerem em poucos minutos grandes quantidades dessa bactéria, chegando até a excretá-la entre 60 a 120 minutos após o contato inicial. A mortalidade, como

Já foi apontada por outros autores também, pode ocorrer tanto em 4 horas (toxemia) quanto em 2 dias (septicemia); dependendo da dose ingerida. Após a ingestão do micorganismo pelas larvas e a solubilização das toxinas, ocorre desagregação do epitélio do tubo digestivo seguida de morte, que no entanto também poderia ocorrer após o período de 2 dias do contato com a bactéria, nesse caso devido à multiplicação do micorganismo e sequelas causadas por doses que seriam inicialmente sub-letais. Considerando-se ainda a grande capacidade dessa bactéria em se reciclar nos insetos mortos, produzindo da ordem de 10^5 a 10^6 esporos em cada larva de Cx. quinquefasciatus (Davidson et al., 1975; Ramoska & Hopkins, 1981; Davidson, 1981; Silapanuntakul et al., 1983 e Davidson et al., 1984; apud Davidson, 1984 e Charles & Nicolas, 1986), pode-se recomendar o uso de concentrações altas nos estudos de padronização ou susceptibilidade comparativa; entre espécies, estádios ou formulados (preparações). Evitaria-se assim a reciclagem do patógeno.

As altas concentrações utilizadas no presente trabalho foram todas capazes de produzir 100% de mortalidade após 24 horas, resultando no entanto TLs distintos para uma faixa grande de concentrações (de 4 a 324 mg/l), justificando a indicação de Habib (1983) de utilização do critério de tempo letal mediano para a padronização de produtos microbianos no controle de mosquitos aquáticos. A possibilidade de se obter também CL₅₀ em períodos bem menores (9 ou 12 horas) do que o convencionalmente proposto (48 horas) para os ensaios com B. sphaericus, traria ainda como vantagem a possibilidade de se obter resultados mais



rapidamente. Soma-se a isso o fato de que o uso corrente da CL₅₀/48 horas conflita com a recomendação de Davidson (1984) de que os bioensaios com essa bactéria estejam "completos" (100% de mortalidade) entre 48 a 72 horas após o seu início.

4.1.1.1.4 - SUSCEPTIBILIDADE ABSOLUTA AO Bacillus thuringiensis var. israelensis.

A susceptibilidade absoluta de larvas de Cx. quinquefasciatus à variedade israelensis de Bt (sorotipo H:14) foi avaliada no presente trabalho utilizando-se dois preparados comerciais dessa bactéria. O primeiro, de origem européia (Bactimós SC), foi na formulação concentrado emulsionável, contendo quando comparado com o padrão internacional do Instituto Pasteur (Paris) 1.000 UI/mg. O segundo (Vectobac 12 AS), na formulação suspensão aquosa com 1.200 UI/mg, é de origem norteamericana. Avaliou-se para o primeiro formulado o TL₅₀ para 5 concentrações, bem como a CL₅₀ para 2 horas após o contato do patógeno com larvas no início do IV estágio. Para o segundo formulado foi determinado o TL₅₀ para uma concentração, contra larvas também no início do IV estágio, além das larvas no final desse estágio e do III estágio. A TABELA 07 apresenta os resultados dessas avaliações.

Nos ensaios do primeiro formulado foram usadas 100 larvas por concentração e na do segundo, considerando-se



a homogeneidade dos resultados, foram usadas 53 larvas; sempre com duas repetições. O pH da água após a adição dos produtos foi de 6,0 e 6,5 respectivamente, e as temperaturas foram de 19 e 18°C. As retas das regressões para esses TL₅₀ e para a CL₅₀, bem como os demais parâmetros estatísticos encontram-se no ANEXO 07.

TABELA 07. Concentração e Tempos letais medianos com intervalos de confiança, para larvas de *Cx. quinquefasciatus* tratadas com 2 formulados de *B. thuringiensis* var. *israelensis*.

Formulado BACTIMÓS CE (in. IV est.)

CONCENTRAÇÃO (UI/l)	325	650	1300	2600	5200
TL ₅₀ (min)	187,1	120,1	94,2	86,9	81,0
LI	182,4	117,3	92,6	84,5	78,8
LS	191,9	112,8	95,8	89,4	83,3
CL ₅₀ /120 min (LI-LS) = 959,44 (540,63-1702,7) UI/l					

Formulado VECTOBAC 12AS

Estádio	III	in. IV	fim IV
CONCENTRAÇÃO (UI/l)	5000	5000	5000
TL ₅₀ (min)	178,2	183,2	431,8
LI	168,0	177,5	397,8
LS	188,9	189,0	468,7

O grande sucesso alcançado pela variedade kurstaki de B. thuringiensis (sorotipo H:3a-3b) na forma de produtos comerciais utilizados contra larvas de Lepidoptera, permitiu que a variedade israelensis tivesse um desenvolvimento muito rápido, após o seu primeiro isolamento do solo de Israel em 1976 (Goldberg & Margalit, 1977). Nos anos seguintes, essa variedade pode igualmente ser isolada em outros países (WHO, 1982) e inclusive no Brasil (Andrade & Habib, 1985). O seu modo de ação nas larvas dos dípteros Nematocera está mais associado ao efeito tóxico do cristal protéico (corpo paraesporal), causando toxemia e morte em pouco tempo (Tyrell et al., 1979; Habib, 1983 e Habib & Andrade, 1986), ao contrário da variedade kurstaki nos lepidópteros. Os dados de Aly (1985) sobre a rápida ingestão do Bti por Ae. aegypti e Ae. vexans, com um máximo entre 80 a 140 minutos, e um posterior pico de formação das células germinativas 24 horas após; quando as larvas já estavam mortas, reforçam o papel da toxemia causada pelo cristal protéico.

Os dados obtidos no presente trabalho indicam uma alta susceptibilidade das larvas de início de IV estágio de Cx. quinquefasciatus, que responderam com tempos letais medianos variando entre 1,35 a 3,11 horas para as concentrações de Bactimós experimentadas. Houve diferença significativa a nível de 95% de probabilidade entre os TL₅₀ obtidos e após 8 horas de contato com a bactéria, em todas as concentrações, a mortalidade foi de 100%. A CL₅₀/2 h. obtida, que foi próxima a 1000 UI/l, indica igualmente uma alta susceptibilidade a esse formulado. No entanto, se considerarmos para condições de campo, essa concentração

seria pelo menos 10 vezes maior do que é normalmente recomendado pelos fabricantes para obter controle satisfatório 24 horas após a sua aplicação.

Com relação ao Vectobac 12AS, quando comparado com o Bactimós, observou-se uma menor patogenicidade ao ser avaliado contra larvas no início do IV estágio, uma vez que para a concentração de 5000 UI/l, o tempo letal mediano foi de 3,05 horas, bem maior do que o encontrado para 5200 UI/l do Bactimós, e equivalente à menor concentração experimentada desse último formulado (325 UI/l com $TL_{50} = 3,11$ h.). Ainda considerando-se o Vectobac, não houve diferença significativa entre os TL_{50} para larvas de III e início de IV estágio. Entre esses e o TL_{50} para larvas no final do IV estágio no entanto, a diferença foi de cerca de 4 horas, confirmando a baixa susceptibilidade dessas últimas já indicada por Habib (1983) em Cx. declarator. Apenas para essas larvas no final do IV estágio houve sobrevivência (21,5%) após 13,5 horas do início do ensaio, representada pela transformação em pupas viáveis.

Embora a utilização do critério de TL_{50} já tenha sido indicada há mais de 12 anos pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 1976), são poucos os trabalhos sobre a susceptibilidade de insetos que o abordam, preferindo a maioria dos autores a $CL_{50}/24$ horas, proposta no caso do Bti por DeBarjac & Larget (1979). Assim, os TL_{50} obtidos para o formulado Bactimós no presente trabalho podem ser comparados com os obtidos por Habib (1983) também para larvas no início do IV estágio de outra espécie, Cx. declarator, para duas concentrações equivalentes. Esse

autor obteve para a maior concentração avaliada (5248 UI/l), um TL₅₀ de 76,6 (70,3-83,4) minutos. Considerando-se os intervalos de confiança, esse TL₅₀ coincide com o encontrado para Cx. quinquefasciatus no presente estudo. Para outra concentração que permite equivalência no entanto, 2624 UI/l, o tempo letal mediano encontrado por Habib (1983) para Cx. declarator foi maior, com valor de 145,6 (131,4-161,4) minutos, sugerindo ou ser essa espécie menos susceptível quando sujeita a doses não tão altas, ou reagir diferentemente aos dois preparados.

Os dados obtidos por Lacey & Lacey (1981), para larvas de Cx. quinquefasciatus tratadas com o padrão IPS-78 em água destilada, permitem igualmente algumas comparações. Contra larvas misturadas de final do III e início do IV estágio, esses autores obtiveram 50 e 100% de mortalidade após cerca de 3,5 e 9,5 horas respectivamente, para a concentração de 400 UI/l; próximo ao obtido no presente estudo para 325 UI/l, que foi de 3,1 e 8 horas.

Com relação às diferenças encontradas entre os dois preparados, para as concentrações de 5200 (Bactimós) e 5000 UI/l (Vectobac), pode-se supor serem devidas a uma soma de fatores, envolvendo a pequena diferença entre as concentrações (de 200 UI/l), a diferença no tipo de formulação, e ainda no caso de serem preparados à base de isolados diferentes; que embora padronizados contra Ae. aegypti, podem atuar diferentemente em Cx. quinquefasciatus. Tal é o caso para diferentes isolados de B. t. var. kurstaki quando avaliados contra duas ou mais espécies de lepidópteros (Dulmage, 1981; Habib & Andrade, 1984; Habib, 1986 e

Habib et al., 1986).

Considerando-se a discussão acima, cabe sugerir para os bioensaios de padronização de produtos à base de Bti, o uso também de Cx. quinquefasciatus como inseto teste. Tal procedimento traria como vantagem maior praticidade nas coletas de campo e criações, de um inseto com menor importância como vetor, além de se poder estabelecer as "taxas de atividade" (Ae. aegypti/Cx. quinquefasciatus), que tão bem servem para caracterizar diferentes isolados. O uso ainda de larvas de III estágio misturadas às de início de IV seria possível, uma vez que suas susceptibilidades não diferiram, e aumentaria a praticidade dos bioensaios.

4.1.1.2. SUSCEPTIBILIDADE RELATIVA DE LARVAS DE Culex quinquefasciatus A AGENTES QUÍMICOS E MICROBIANOS

A conhecida preferência por águas urbanas servidas que a espécie Cx. quinquefasciatus tem, permite que suas larvas se criem numa situação bem particular, onde a quantidade de alimento seria talvez o fator menos limitante do sucesso das populações. Nessas condições as densidades populacionais alcança-

das acabam sendo também bastante altas, acarretando por sua vez conseqüências no desenvolvimento dos indivíduos e demandando níveis maiores de supressão, para se atingir em contra partida níveis populacionais toleráveis. Ensaio sobre a susceptibilidade das larvas de Cx. quinquefasciatus nas condições originais das águas de seus criadouros, ou mesmo simulando-se fatores importantes como a quantidade de sólidos em suspensão, teriam importância no sentido da melhor compreensão da regulação de populações por agentes que atuam via oral. Ainda a verificação do efeito que esse tipo de água muito rica em matéria orgânica, tem nos agentes de controle, permitiria melhor definição das concentrações ótimas para seu uso no campo.

4.1.1.2.1 - SUSCEPTIBILIDADE RELATIVA AO DIFLUBENZURON

A susceptibilidade relativa das larvas de Cx. quinquefasciatus ao Diflubenzuron foi avaliada em termos de TL₅₀, para 7 concentrações variando entre 0,001 e 1,0 mg i.a./l. Foi usada uma média de 255 larvas de IV estágio por tratamento, com duas repetições, permitindo uma área média de 3,1 cm² e um volume de 7,8 ml/larva. Foi utilizada água de esgoto bruto do próprio criadouro das larvas (Estação SANASA- Cambuí/Campinas). O pH da água após a adição do produto foi de 6,8 e a temperatura média durante o experimento foi de 24°C. Devido à heterogeneidade

quanto à fase de desenvolvimento das larvas dentro do IV estágio, e ao modo de ação desse produto, o efeito dos tratamentos foi também avaliado nas pupas e nos adultos, em termos de mortalidade e viabilidade. A TABELA 08 apresenta os valores em horas para os TL50 com seus intervalos de confiança, bem como as porcentagens de mortalidade nos diferentes estágios, para as 7 concentrações experimentadas. As retas de regressão para os TL50 e os outros parâmetros estatísticos da relação tempo/mortalidade encontram-se no ANEXO 08.

TABELA 08. Tempos letais medianos (com intervalos) e mortalidade em larvas, pupas e adultos de *Cx. quinquefasciatus* tratadas com Diflubenzuron em água de esgoto.

CONCENTRAÇÃO	0,001	0,005	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
mg i.a./l							
TL50 (horas)	80,2	54,4	43,7	39,5	39,1	40,9	42,6
LI *	64,4	50,4	41,0	37,3	36,8	38,2	38,8
LS *	99,8	58,8	46,9	41,9	41,5	43,9	46,7
	MORTALIDADE (%)						
LARVAS	33,46	71,36	85,59	94,25	93,96	93,23	93,63
PUPAS	9,56	15,35	6,77	0,38	0,37	1,12	0,00
ADULTOS	31,07	3,31	1,69	0,00	1,88	0,37	0,00
ADULTOS VIÁVEIS (%)	13,16	9,97	5,94	5,36	3,79	5,28	6,37

Diversos autores têm obtido bons resultados com o uso de Diflubenzuron contra várias espécies de mosquitos, utilizando concentrações entre 20 e 50 g i.a./ha em águas com mais de 40 cm de profundidade (Mulla et al., 1974; Schaefer et al., 1974; Steelman, 1975; Rathburn & Boike, 1975 e Dame et al., 1976; apud Maas et al., 1981). Para águas poluídas no entanto, concentrações maiores chegando a 100 g i.a./ha (equivalente a 0,01 mg i.a./l para uma profundidade de 1 metro) ou mesmo a nível de 1 g i.a./l em água de esgoto (Duphar, s.d.) têm sido recomendadas. No presente trabalho foi verificado não haver diferenças significativas entre as concentrações dessa faixa de controle variando de 0,01 a 1,0 mg i.a./l, e o tempo letal mediano ficou próximo a 40 horas para todas essas doses. A eficiência total para essa faixa de concentrações foi alta, variou também pouco e ficou entre 94 e 96%. Uma maior diferença pode ser notada no entanto para a menor concentração dessa faixa, que foi causar uma mortalidade significativamente maior nas pupas do que as concentrações superiores.

Para as duas menores concentrações avaliadas os TL₅₀ obtidos diferiram entre si, e entre os demais, ficando respectivamente próximos a 3,3 e 2,2 dias. A concentração maior entre elas (0,005 mg i.a./l) foi a que causou maior mortalidade nas pupas (15,3%), ficando a eficiência geral próxima a 90%. A concentração mais baixa, apesar de ter causado a menor eficiência contra as larvas, de apenas 33,5%, acabou provocando um nível medianamente satisfatório de controle (87%) graças à mortalidade ou perturbações morfológicas que causou nas pupas e nos adultos. En-

tre esses últimos foi verificado tanto para machos quanto para fêmeas 12,7% de indivíduos que, ao abandonarem os pupários, deixavam presos a eles o último par de pernas. Esse distúrbio em pernilongos deve se constituir em importante comprometimento de sua aptidão, o que em termos de manejo significa, em última análise, controle.

Os resultados obtidos para a sensibilidade ao Diflubenzuron indicam uma forte relação entre as concentrações e o tempo para a manifestação dos efeitos, principalmente considerando-se as etapas de metamorfose que sucedem os tratamentos. Anomalias nas asas e insucesso na emergência de adultos de Cx. quinquefasciatus também foi observado por Sharma et al. (1975), para a mesma concentração (0,001 mg i.a./l), que no entanto foi considerada por esses autores como sendo a CL₉₅ para larvas de IV estágio. Por interferir no processo de formação da quitina, doses relativamente baixas contra larvas no último estágio, podem ter elevada eficiência por ocasião da empupação ou formação dos adultos, situação aonde há uma maior demanda pela formação de tecidos endocuticulares. Fenômeno semelhante foi verificado por Andrade & Ferraz (no prelo) para a lagarta do milho Spodoptera frugiperda, tratadas no laboratório com Diflubenzuron.

Os resultados do presente ensaio indicam ser as larvas de Cx. quinquefasciatus bem mais sensíveis quando sujeitas ao Diflubenzuron em águas de esgoto do que na água limpa dos ensaios de susceptibilidade absoluta (4.1.1.1.1-). As concentrações de 0,05 e 0,01 mg i.a./l permitem uma comparação direta entre os tempos letais, que para a água mineral limpa foram de

106 e 86 horas respectivamente. Quando se considera as recomendações de se usar concentrações mais altas em águas mais poluídas, esses resultados podem parecer discrepantes do esperado, no entanto outros fatores podem ser levados em conta ao compararmos os ensaios em água limpa e de esgoto. No segundo caso as larvas misturadas em diferentes situações dentro do IV estágio (início, meio e fim) anteciparam os TL_{50} , que para o caso do Diflubenzuron ocorre sempre por ocasião das ecdises.

A maior densidade de larvas nas unidades de ensaio com água de esgoto (média= 255), bem como a maior quantidade de nutrientes, aumentam as taxas de filtração das larvas de *Culex* sp (Dadd, 1970a; 1970b; 1973 e Wallace & Merritt, 1980), atuando como fagoestimulantes e fazendo com que as larvas acabem por captar uma maior dose, a despeito da igual concentração na água dos dois ensaios. Os dados de magnificação ecológica do Diflubenzuron para um ecossistema aquático (solo, água, planta, caramujo, peixe e mosquito) (Metcalf et al., 1975) indicam ainda que *Culex* sp concentra esse princípio ativo entre 600 a 1000 vezes, uma quantidade alta, explicada por uma baixa taxa de retenção do alimento ingerido, da ordem de 20 a 40 minutos (Dadd, 1970b) nesses mosquitos. Esse acúmulo do princípio ativo justifica o efeito retardado das menores concentrações. De qualquer forma, os estudos de Schaefer & Dupras Jr. (1976) demonstrando que as concentrações do Diflubenzuron na água decrescem a níveis abaixo do limite de detecção, tanto pelo metabolismo como pela absorção da matéria orgânica, justificam as recomendações do uso de concentrações maiores nas águas de esgoto, no sentido de se compensar

essa maior decomposição do produto.

4.1.1.2.2- SUSCEPTIBILIDADE RELATIVA AO TEFLUBENZURON

A susceptibilidade de *Cx. quinquefasciatus* ao princípio ativo Teflubenzuron foi avaliada em água de esgoto bruto (Estação SANASA- Cambuí/Campinas), onde foram também coletadas as larvas para dois ensaios. Avaliou-se contra o III estágio seis concentrações, variando entre 0,0001 e 0,05 mg i.a./l e contra as larvas no IV estágio, sete concentrações entre 0,0001 e 1,0 mg i.a./l. Para as larvas de III estágio foi usada uma média de 106 indivíduos por tratamento, enquanto que para as larvas de IV estágio foram usados 200 indivíduos; sempre com duas repetições. O pH e a temperatura da água variaram pouco entre os dois ensaios, sendo que no primeiro caso foi de 6,5 e 22,6°C respectivamente, ao passo que no segundo ensaio foi de 6,7 e 25,2°C.

A TABELA 09 apresenta os valores dos Tempos letais medianos e respectivos intervalos de confiança para as larvas no III e IV estádios, sujeitas aos tratamentos pelo Teflubenzuron. As retas das regressões lineares Log-próbite e os outros parâmetros estatísticos se encontram no ANEXO 09.



TABELA 09. Tempos letais medianos com intervalos de confiança, em horas, para larvas de Cx. quinquefasciatus no III e IV estádios tratadas com diferentes concentrações de Teflubenzuron em água de esgoto.

(III ESTÁDIO)									
CONCENTRAÇÃO (mg l.a./l)									
	0,0001	0,0005	0,001	0,005	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
TL ₅₀	74,1	88,5	93,9	79,8	77,8	73,2	-	-	-
LI	71,4	82,2	88,7	77,3	72,8	68,7	-	-	-
LS	76,9	95,3	99,4	82,5	83,2	78,0	-	-	-
(IV ESTÁDIO)									
TL ₅₀	97,2	94,0	58,1	-	-	30,1	29,7	28,7	29,5
LI	91,8	84,8	54,4	-	-	23,9	24,3	22,6	23,8
LS	102,9	104,1	61,9	-	-	37,8	36,3	36,3	36,6

O princípio ativo de nome comum Teflubenzuron também é conhecido pelas siglas experimentais CME-134, CME-13406, FMC-4999, CME-13410, CME-13411, HOE-522 ou pelo nome comercial Nomolt^R. é considerado também um regulador de crescimento, e per-

tence tanto quanto o Diflubenzuron à categoria dos produtos à base de Benzoilfeniluréia. Difere deste no entanto, pela presença de um átomo de cloro e dois de flúor a mais no radical fenílico (nomes químicos e fórmulas estruturais no ANEXO 10), e pelo fato de ter sido descoberto uma década mais tarde (Post & Vincent, 1973 e Becher et al., 1983), uma razão pela qual existem menos publicações a seu respeito.

Os dados do presente trabalho, indicam ser as larvas de III estágio menos susceptíveis do que as de IV estágio, quando se comparam os TL₅₀ para as concentrações 0,0001 e 0,05 mg i.a./l. Para as duas menores concentrações no entanto, as larvas do III estágio mostraram igual ou maior susceptibilidade que as de IV estágio a esse princípio ativo. As quatro maiores concentrações experimentadas contra o último estágio e as três maiores experimentadas contra o III, mostraram ser doses altas, dentro da faixa que poderia ser usada para controle, uma vez que para elas não houve diferença significativa quanto aos TL₅₀. Para as duas idades de larvas no entanto, todas as concentrações acima de 0,001 mg i.a./l, inclusive esta, provocaram acima de 96% de mortalidade final, na ecdise subsequente aos tratamentos. Não foram verificadas alterações morfológicas nos adultos para concentrações menores, experimentadas contra as larvas no IV estágio.

Os valores de TL₅₀ encontrados para o Teflubenzuron indicam ser as larvas de Cx. quinquefasciatus mais susceptíveis a esse princípio ativo do que ao Diflubenzuron. As porcentagens finais de controle para as concentrações 0,001 e 0,05 mg i.a./l obtidas para os dois princípios ativos, de 86,8 e 94,6%

(Diﬂubenzuron) e de 97,9 e 98,6% (Teflubenzuron) conﬁrmam essa maior susceptibilidade. Outros trabalhos comparando esses Regula- dores de Crescimento sozinhos, ou combinados com agentes bióti- cos, têm indicado o mesmo contra larvas de Lepidoptera. Becher et al. (1983) indicam ser o Teflubenzuron mais eficiente, em doses menores que as do Diﬂubenzuron, contra *Plutella maculipennis* (L.) e *Prodenia litura* (F.). Andrade & Ferraz (no prelo) observa- ram situação semelhante para as larvas de *S. frugiperda*; onde pa- ra a concentração de 37,5 g i.a./ha, equivalente à metade da mí- nima recomendada para campo, os produtos não diferiram, no entan- to para concentrações abaixo dessa (18,7; 9,4 e 4,7 g i.a./ha); os tempos letais medianos foram sempre maiores para o Diﬂubenzu- ron. Ainda no controle integrado, Novotny & Svestka (1986) indi- cam que a mistura de uma sub-dose (16,0 l/ha) de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (produto comercial Bathurin) quando combinada com a sub-dose de 7,5 g i.a./ha de Teflubenzuron, teve maior eficiência contra *Limantria dispar* (L.) do que quando o bacilo foi combinado com 12,5 g i.a./ha do Diﬂubenzuron. O próprio fato dos produtos comerciais a base desses princípios serem formulados com diferen- tes quantidades de princípio ativo, 25% no caso do Diﬂubenzuron e 15% no do Teflubenzuron é também indicativo de uma maior efi- ciência desse último.

4.1.1.2.3- SUSCEPTIBILIDADE RELATIVA AO TEMEFÓS

Para as avaliações de susceptibilidade de Cx. quinquefasciatus ao Temefós foram experimentadas 4 concentrações desse princípio ativo Organofosforado, contra larvas no último estágio, em água de esgoto bruto. A susceptibilidade foi estimada em termos dos tempos letais medianos para as concentrações que variaram entre 0,01 e 0,08 mg i.a./l, bem como em termos da concentração letal mediana para 164 minutos após o contato inicial com o princípio ativo. Foram utilizados 200 indivíduos para cada concentração do produto, permitindo nas unidades de ensaio uma relação de 4,2 cm² de superfície e 15 ml de água por larva. A temperatura e o pH médio durante as leituras foram de 22,4°C e 6,5 respectivamente.

Os valores encontrados para os TL₅₀ e para a CL₅₀ pelo método de Thompson, tanto quanto os intervalos de confiança a nível de 95% de probabilidade encontram-se na TABELA 10.

TABELA 10. Concentração e Tempos letais medianos com intervalos de confiança, para larvas de Cx. quinquefasciatus tratadas com Temefós em água de esgoto.

CONCENTRAÇÃO	0,01	0,02	0,04	0,08
mg i.a./l				
TL ₅₀ (minutos)	327,6	232,3	130,7	113,1
LI	285,0	231,2	123,3	109,0
LS	370,2	253,1	138,7	117,4
CL ₅₀ /164 min (LI-LS) = 0,0413 (0,0355-0,0481) mg i.a./l				

O princípio ativo Temefós tem sido amplamente utilizado no mundo todo para o controle de mosquitos do complexo Cx. pipiens, em águas urbanas servidas. Para a sua utilização em águas altamente poluídas como de drenagem e de esgoto, ou muito ricas em matéria orgânica, o fabricante indica no entanto, o uso de concentrações entre 2 a 10 vezes maiores do que as recomendadas para mosquitos em águas limpas.

Os resultados obtidos para os ensaios com Cx. quinquefasciatus em água de esgoto, indicam uma alta susceptibilidade das larvas no último estágio, que para as concentrações entre 0,08 e 0,01 mg i.a./l, responderam com 50% de mortalidade entre aproximadamente 2 e 5,5 horas, havendo diferenças significativas entre os TL₅₀ para as 4 concentrações experimentadas. A

concentração letal mediana encontrada para 2 horas e 44 minutos após o contato das larvas com o princípio ativo, de 0,0413 mg i.a./l, indicam igualmente uma maior susceptibilidade da população estudada nessas condições, uma vez que um valor sem diferença significativa foi obtido para essas larvas quando em água limpa, só que após 4 horas do contato inicial (ver 4.1.1.1.2-).

Considerando-se que do ponto de vista geográfico, o desenvolvimento de resistência por Cx. quinquefasciatus ao Temefós foi apontado recentemente como sendo "geral" (Brown, 1986), e que as concentrações teste para esse princípio ativo propostas pela OMS estão entre 0,625 e 0,005 mg i.a. (WHO, 1970), os resultados obtidos indicam ainda a possibilidade de utilização do Temefós para controle nas condições da população estudada. Isso indica que ainda não se estabeleceu um processo de resistência em Cx. quinquefasciatus na região de Campinas, pois seu emprego ainda é limitado. O mesmo não ocorre entretanto em populações de borrachudos, fato esse documentado no presente trabalho (4.2.).

A maior susceptibilidade das larvas na água de esgoto quando comparado com os valores encontrados na água limpa (4.1.1.1.2-) indicam da mesma forma que para o Diflubenzuron, valores aparentemente discrepantes, considerando-se como naquele caso as recomendações do uso de concentrações maiores em águas poluídas. Comparando os TL₅₀ para as 4 concentrações utilizadas em água de esgoto com iguais valores para água mineral limpa, verifica-se que embora os resultados absolutos sejam maiores no segundo caso, a relação entre o maior e o menor TL₅₀ é praticamente a mesma; 2,96 para água limpa e 2,89 para a de esgoto.

Tal comparação sugere que da mesma forma que para o Diflubenzuron, é apenas a ingestão mais rápida dos princípios ativos dissolvidos ou emulsificados na água que antecipam os tempos para 50% de mortalidade, e que para esses casos a susceptibilidade em termos de dose final de ingrediente ativo ingerida por indivíduo é como deveria se esperar a mesma para as duas águas. Essa susceptibilidade relativamente maior nas águas poluídas naturais dos criadouros, antecipando as mortalidades, é na verdade bastante oportuna, considerando-se que nas nossas condições, em pouco tempo as larvas de último estágio empupam e não mais são susceptíveis ao Temefós.

No presente trabalho, bioensaios contra pupas de Cx. quinquefasciatus, mesmo utilizando-se concentrações relativamente altas como 0,64 e 1,28 mg i.a./l, indicaram não haver ação por contato nesse estágio, representada pela total emergência dos adultos. De qualquer forma, o baixo efeito residual do Temefós, caracterizado pela sua rápida fotólise (Rosen, 1972) e principalmente pela sua metabolização por microrganismos típicos de águas servidas (Bouch & Batterton, 1970 e Darorai & Menzer, 1977) são fatores que justificariam ao nosso ver o uso de concentrações maiores para o controle de mosquitos nesses criadouros.

4.1.1.2.4- SUSCEPTIBILIDADE RELATIVA AO Bacillus thuringiensis var. israelensis

A susceptibilidade das larvas de IV estágio de Cx. quinquefasciatus ao sorotipo H:14 de B. thuringiensis foi avaliada em água de esgoto, nas mesmas condições dos ensaios com Temefós. Foi usado o mesmo número de indivíduos por tratamento permitindo assim a mesma relação entre cada larva e a superfície (4,2 cm²) ou volume (15 ml) de água. Quatro concentrações variando entre 2600 e 20800 UI/l de um produto comercial contendo 2000 UI/mg, na formulação pó molhável, foram avaliadas em termos de tempo letal mediano e também da concentração letal mediana para 164 minutos após o contato das larvas com o preparado. Esses valores com seus intervalos de confiança calculados pelo método de Thompson encontram-se na TABELA 11.

Desde a sua descoberta em 1976 o sorotipo H:14 de B. thuringiensis é conhecido pela sua ação inseticida rápida contra as larvas de mosquitos (Goldberg & Margalit, 1977) e a partir daí, diversos estudos trataram de avaliar a possibilidade de utilização de preparados à base dessa bactéria, no controle de Cx. quinquefasciatus nas águas poluídas de seus criadouros. Baseados nesses estudos, os fabricantes de produtos comerciais são unânimes em recomendar para o controle em águas poluídas ou com elevado crescimento vegetativo, concentrações entre 2 a 4 ve-



zes as indicadas para águas limpas.

TABELA 11. Concentração e tempos letais medianos com intervalos de confiança, para larvas de *Cx. quinquefasciatus* (IV estágio) tratadas com *B. thuringiensis* var. *israelensis* em água de esgoto.

CONCENTRAÇÃO UI/l	2600	5200	10400	20800
TL ₅₀ (minutos)	346,8	169,6	108,0	61,0
LI	333,4	162,1	102,5	59,3
LS	370,2	177,5	113,5	62,7

CL ₅₀ /164 min (LI-LS)=	6450 (5622-7399) UI/l			

No presente trabalho, as quatro concentrações de Bti avaliadas, por serem altas, permitiram tempos letais medianos entre aproximadamente 1 e 6 horas, diferindo esses valores entre si a nível de 95% de probabilidade. Tais valores são no entanto altos quando comparados com os TL₅₀ obtidos para suas concentrações equivalentes (2600 e 5200 UI/l) em água mineral limpa (4.1.1.1.4-), indicando uma menor susceptibilidade das larvas quando na água de esgoto. O valor da CL₅₀ para 164 minutos obtido nestas condições de água de esgoto, da ordem de mais de 6000 UI/l, confirma essa baixa susceptibilidade, uma vez que para um tempo próximo a esse (120 minutos), a CL₅₀ para larvas em

águas limpas foi de apenas cerca de 960 UI/l (TABELA 07). Uma diferença da ordem de 3 vezes na CL₅₀ para larvas de Cx. peus e Cx. pipiens, quando tratadas pelo Bti, também foi observada por Eldridge & Callicrate (1982), quando compararam a susceptibilidade dessas espécies em água destilada e água de um lago entre mediana e altamente poluído.

Ao contrário do que ocorreu com os princípios ativos Diflubenzuron e Temefós, para os quais a susceptibilidade de Cx. quinquefasciatus foi maior na água de esgoto, para a bactéria Bti a susceptibilidade foi menor. A presença de alimento na água atuando como fagoestimulante para as larvas de culicídeos é bem conhecida. Segundo Dadd (1970a), partículas nutritivas como pó de levedo ou algas unicelulares Chlorella sp são ingeridas mais rapidamente e têm um tempo de retenção no tubo digestivo menor do que partículas não nutritivas como sílica gel e terra de diatomáceas. Estes no entanto, são ao contrário filtrados rapidamente se a água contém alimento dissolvido. Os larvicidas avaliados diferem primeiro nesse aspecto. Enquanto que os Reguladores de Crescimento e o Organofosforado na água, dificilmente seriam identificados como nutritivos pelas larvas, bem possivelmente preparados à base de bactérias o são, uma vez que fazem parte normalmente da dieta desses filtradores e segundo Cibulski (no prelo) são formuladas no seu próprio meio de cultura, muito rico de nutrientes.

Pode-se esperar uma diferença menor nas taxas de filtração para água limpa e de esgoto, quando tratadas com Bti ou Bsp do que com Reguladores de Crescimento ou Organofosforados,

fazendo com que esses químicos sejam mais rapidamente assimilados na água poluída. Em segundo lugar, a própria natureza física dos larvicidas avaliados deve ser levada em consideração. Enquanto o Diflubenzuron se dissolve na água (solubilidade entre 20-25°C = 0,02 mg i.a./l) e o Temefós não (1 mg i.a./l), mas o produto comercial se emulsifica, o Bti pode competir em tamanho (na faixa de 1 a 5 μ m) com os coliformes fecais extremamente abundantes na água de esgoto dos ensaios (7×10^7 bactérias/ml; ANEXO 11). Os resíduos insolúveis em quantidade igualmente alta (ANEXO 12), podem também competir em tamanho com o Bti, além de promover uma adsorção da bactéria e sua inativação. Esse último fenômeno foi demonstrado por Margalit & Bobroglo (1984). Em outro trabalho, Margalit *et al.* (1983) mostraram que com a diminuição do tamanho das partículas de lodo na água, num gradiente de 400 para 50 μ m, a eficiência desse bacilo decrescia; no entanto associaram o fenômeno apenas à adsorção da bactéria, não percebendo que partículas menores de lodo poderiam reduzir a proporção de ingestão dos esporos e cristais do Bti. Esse assunto será novamente abordado no presente trabalho (4.1.1.2.6-).

4.1.1.2.5- COMPATIBILIDADE E SINERGISMO ENTRE LARVICIDAS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS

A utilização de mais de um agente de controle em conjunto contra os insetos daninhos é uma idéia antiga dentro da Entomologia Aplicada. De acordo com Benz (1971), o Controle Integrado baseado no uso de agentes microbianos e químicos nasceu da observação dos patologistas de insetos, de que as populações são mais susceptíveis às doenças ou toxemias por toxinas microbianas quando sob stress pelos inseticidas químicos.

Um dos primeiros passos na avaliação de agentes letais combinados contra o inseto alvo é o estudo da compatibilidade entre eles, levando-se em consideração as doses nas quais eles são efetivos e principalmente seu modo de ação. A compatibilidade de *B. t. var. kurstaki* com inseticidas químicos por exemplo, já foi avaliada pelo presente autor (Andrade, 1976) e por Habib & Garcia (1981).

No presente estudo, foram avaliadas *in vitro* as compatibilidades entre o Bsp e dois princípios ativos químicos, Temefós e Diflubenzuron. O efeito combinado de Bti com Temefós também foi avaliado contra as larvas de *Cx. quinquefasciatus* em água de esgoto.

A multiplicação de Bsp quando em contato com quatro concentrações de Temefós e quatro de Diflubenzuron foi verificada por espectrofotometria após 8, 24 e 48 horas de incubação em meio de cultura. Para os dois produtos químicos foi considerada como concentração intermediária 1 mg i.a./l, a máxima re-

comendada pelos fabricantes para o Diflubenzuron (em água de esgoto) e para o Temefós (em água potável, contra *Ae. aegypti*). A concentração superior e as duas inferiores seguiram um fator decimal. A bactéria foi misturada em meio de cultura a essas concentrações permitindo a quantidade de $1,35 \times 10^4$ esporos por ml, avaliada pela técnica de "pour plate". A mesma quantidade de esporos em meio de cultura sem os inseticidas foi incubada servindo como controle.

A TABELA 12 apresenta os valores médios de transmitância após os diferentes horários para o controle (só bactéria) e para os tratamentos quando comparados com as testemunhas; cuja multiplicação foi inibida por refrigeração (5°C).

Pelos dados obtidos pode-se notar que de uma maneira geral, as concentrações dentro da faixa de utilização do Temefós e do Diflubenzuron não interferiram a nível de 95% de probabilidade, com a dinâmica de crescimento do Bsp no mínimo até 8 horas de incubação. Para uma concentração 10 vezes maior do que a máxima recomendada no entanto, passível de acontecer nas aplicações de campo aonde o volume do criadouro a ser tratado é muitas vezes apenas estimado, observou-se uma inibição significativa para o contato com o Diflubenzuron. Para 24 e 48 horas de incubação, todas as concentrações mostraram diferenças significativas em relação ao controle, indicando haver uma inibição na dinâmica de crescimento da bactéria após esses períodos. Não foi verificado no entanto variações entre as diferentes concentrações, a despeito de cobrirem um amplo espectro de doses, salvo no caso do

Temefós 10 mg i.a./l, 48 horas após, que provocou menos inibição do que as concentrações menores.

TABELA 12. Transmitância média (%) do crescimento vegetativo de *B. sphaericus* sujeito a 4 concentrações de Temefós e 4 de Diflubenzuron.

CONCENTRAÇÃO mg i.a./l	TRANSMITÂNCIA (%)		
	8	24	48 horas após
Controle 0,0	90,4a*	60,5a	51,4a
Temefós 10,0	90,7a	72,9b	57,0b
Temefós 1,0	91,8a	70,8b	67,4c
Temefós 0,1	90,6a	70,6b	63,5c
Temefós 0,01	90,4a	72,1b	65,2c
Diflub. 10,0	93,6b	74,3b	62,5c
Diflub. 1,0	90,1a	71,1b	61,2c
Diflub. 0,1	90,9a	68,6b	67,1c
Diflub. 0,01	90,7a	71,0b	63,9c

*Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si a nível de 95% de probabilidade.

Esses resultados indicam uma possível utilização desses princípios ativos químicos associados ao Bsp, principalmente se considerarmos ainda outros fatores. No controle integrado são usadas em geral combinações de sub-doses ou doses não letais dos dois agentes de controle. No caso dos princípios químicos avaliados, essas concentrações poderiam ser próximas ou in-

feriores a 0,01 mg i.a./l, que foi a menor avaliada. O período de 8 horas de incubação, durante o qual não se manifestou *in vitro* uma inibição significativa, é também grande o suficiente para permitir a ingestão pelas larvas, de combinações eficientes da bactéria e do princípio ativo químico, antes que esse último tenha um efeito adverso no microrganismo.

A compatibilidade entre o crescimento de Bti e o Temefós não foi avaliada, tendo em vista que ao contrário do Bsp ou da variedade kurstaki (H:3a-3b), que têm um modo de ação associado à germinação e multiplicação, o Bti provoca rápida toxemia causada pela liberação da δ -endotoxina do corpo parasporal. De qualquer forma, Morris (1977) mostrou que para o Btk ao menos, o tratamento tanto com 1,0 ou 100 mg i.a./l do Temefós não provocou efeito adverso na germinação dos esporos, na integridade dos cristais ou mesmo no crescimento vegetativo dessa bactéria.

A susceptibilidade das larvas de IV estágio de Cx. quinquefasciatus às 9 misturas de Bti com Temefós, foi avaliada em água de esgoto bruto, seguindo-se os mesmos parâmetros dos bioensaios de susceptibilidade relativa, para esses agentes quando sozinhos. Assim, foram usadas 200 larvas por mistura, mantendo-se 4,2 cm² e 15 ml de água para cada larva nas unidades de ensaio. A susceptibilidade foi avaliada em termos do tempo letal mediano, sendo que a maior concentração misturada, tanto do Bti quanto do Temefós, foi a concentração mais baixa experimentada no presente trabalho para eles sozinhos (2.600 UI/l e 0,01 mg i.a./l respectivamente), para permitir comparações. As outras duas concentrações usadas nas misturas foram de 1/2 e de

1/4 destas. A TABELA 13 apresenta os TL_{50} para as misturas, com os respectivos intervalos de confiança para 95% de probabilidade; calculados pelo método de Thompson.

TABELA 13. Tempos letais medianos com intervalos de confiança, para larvas de *Cx. quinquefasciatus* tratadas com nove misturas de Bti com *Temefós*, em água de esgoto.

		<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>		
CONCENTRAÇÃO		650	1.300	2.600 (UI/l)
T	0,0025	415,9	335,6	245,0 min
		(391,5-441,9)	(310,9-362,4)	(230,4-260,7)
e	0,005	376,3	341,9	280,2 min
		(350,1-404,5)	(316,1-369,9)	(259,3-302,9)
m	0,01	368,1	306,9	275,6 min
		(345,8-391,7)	(290,2-324,6)	(259,4-292,9)
s (mg i.a./l)				

Pelos dados obtidos, pode-se notar que há mais variação no tempo para 50% de mortalidade, quando se avaliam as diferenças entre as três concentrações de Bti, sendo que nesses casos, os TL_{50} diferem sempre entre si a nível de 95% de probabilidade. Quando a comparação inversa é feita no entanto, em todos os casos ao menos um TL_{50} cai dentro do intervalo de confiança do outro, não diferindo estatisticamente. Assim, estiman-

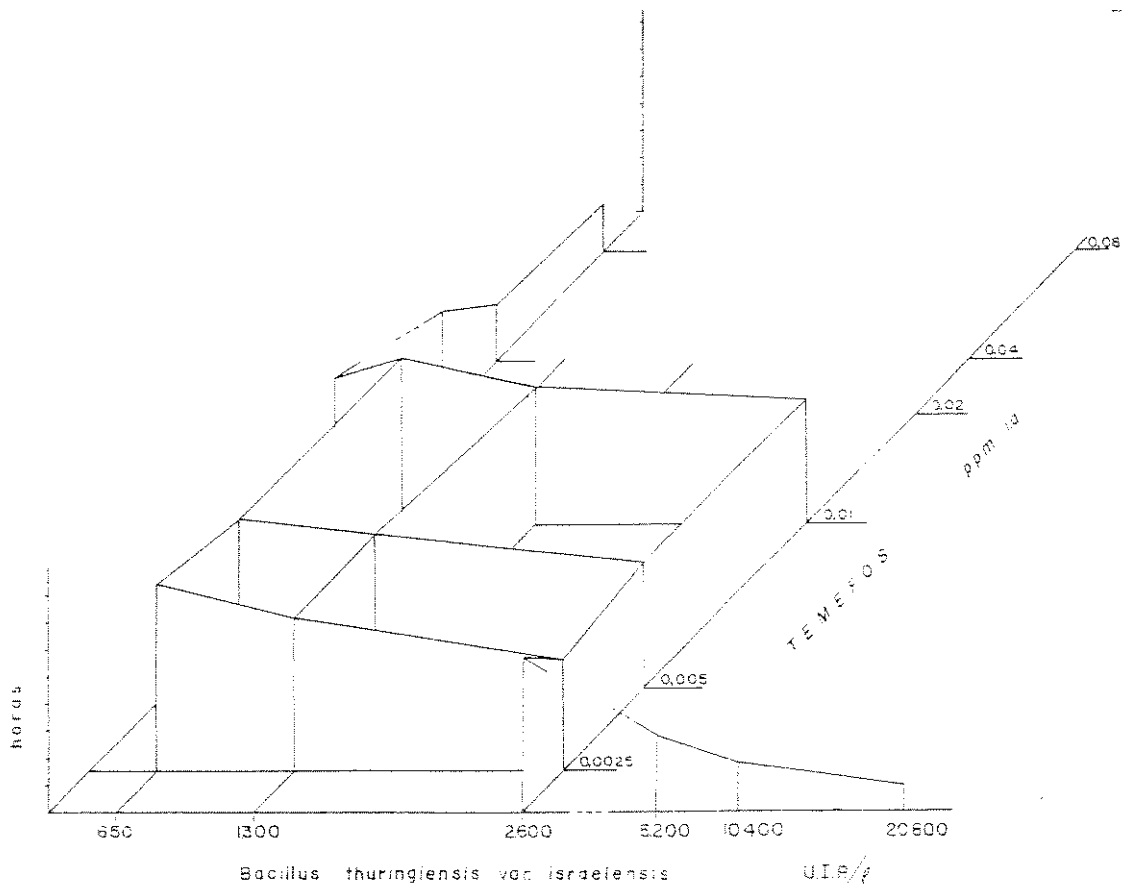
do-se as diferenças entre os tempos letais, observa-se que variando as concentrações de Temefós, os melhores resultados foram obtidos para 650 UI/l do bacilo, com uma antecipação do TL₅₀ em aproximadamente 47 minutos. A maior vantagem no entanto, ocorreu para as diferentes concentrações da bactéria com 0,0025 mg i.a./l do Temefós, antecipando o TL₅₀ em cerca de 170 minutos. A combinação portanto de 2600 UI/l de Bti com 0,0025 mg i.a./l de Temefós seria, entre as experimentadas, a de melhor desempenho, uma vez que provocou o menor TL₅₀.

Dentre as diferentes possibilidades de sinergismo entre um agente microbiano e um inseticida químico descritas por Benz (1971), uma delas é o Sinergismo Temporal, caracterizado quando a utilização de dois agentes combinados antecipa a mortalidade do inseto tratado. Como o TL₅₀ obtido para 2600 UI/l de Bti quando sozinho foi de 346,8 (332,4-370,2) minutos (4.1.1.2.4-), qualquer das misturas dessa concentração com Temefós resultou em sinergismo, antecipando na melhor das combinações o TL₅₀ em mais de 100 minutos. No caso do Temefós, como o TL₅₀ para a sua concentração de 0,01 mg i.a./l, quando sozinho foi de 327,6 (285,0-370,2) minutos (4.1.1.2.3-), apenas para a mistura com 2600 UI/l do bacilo houve sinergismo temporal, sugerindo ainda que concentrações inferiores dessa bactéria quando combinadas poderiam atuar como antagonistas.

A FIGURA 04 representa os TL₅₀ em horas para os ensaios com Cx. quinquefasciatus em água de esgoto, quando tratadas com Bti, Temefós, ou misturas desses dois agentes de controle. Graficamente também pode-se constatar que a combinação

mais eficiente da bactéria com o inseticida químico (2600 UI/l + 0,0025 mg l.a./l) permitiu uma eficiência em termos do tempo para 50% de mortalidade, próxima à do produto químico sozinho quando 10 vezes mais concentrado.

FIGURA 04. Relação entre os Tempos letais medianos para diferentes concentrações de Bti e Temefós quando avaliadas sozinhas ou em conjunto contra larvas de *Cx. quinquefasciatus* em água de esgoto.



Mais recentemente, Jaques & Morris (1981) re-
 viram a compatibilidade entre o uso de patógenos associado à ou-
 tros métodos no controle das pragas agrícolas. No caso do manejo
 integrado de pragas de lavouras, principalmente quando o ataque é
 direto, a antecipação do tempo necessário para o controle pode
 ser importante no sentido de não se permitir que as populações
 alcancem os níveis econômicos de dano, sendo nesse caso o siner-
 gismo temporal também caracterizado como sinergismo econômico.
 Para os pernilongos, tal antecipação reflete-se em vantagem à me-
 dida que larvas prestes a entrar em jejum para a empupação, pode-
 riam também ser controladas, aumentando assim como um todo a efi-
 ciência do tratamento larvicida, além obviamente de barateá-lo.

4.1.1.2.6- AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SÓLIDOS EM SUSPENSÃO NA SUSCEPTIBILIDADE DE Cx quinque fasciatus AO B. thuringiensis var israelensis (H:14)

A grande maioria dos trabalhos que tratam de
 avaliar a influência de sólidos em suspensão atribuem a perda de
 atividade à adsorção do bacilo, avaliada em termos da CL₁₀₀ ou da
 porcentagem final de mortalidade obtida nos ensaios (Ramoska et
 al., 1982; Van Essen & Hembree, 1982; Margalit et al., 1983 e
 Margalit & Bobroglo, 1984).

O tamanho de partículas de terra, argila ou areia em suspensão, conforme diminui de 840 μm para 104 μm de diâmetro, provoca uma correspondente diminuição na porcentagem final de mortalidade das larvas de Cx. quinquefasciatus pelo bacilo (Ramoska et al., 1982). O mesmo foi verificado para partículas de lama decrescendo entre 400 e 50 μm (Margalit et al., 1983). Esse fenômeno parece claro, e segundo Ramoska et al. (1982) o processo de inativação estaria provavelmente relacionado às cargas das partículas no cristal, que à semelhança de outras proteínas, atuariam de maneira anfotérica, se adsorvendo à argila ou terra tanto em meios ácidos como alcalinos. Nesse caso, a desadsorção só ocorreria em condições isoelétricas (no pI das proteínas do cristal); e os cristais adsorvidos, pelo que supõem esses autores, seriam incapazes de se dissolver no tubo digestivo das larvas e liberar sua fração tóxica.

Levando-se em consideração que a faixa de tamanho ótimo de partículas filtradas pelos culicídeos está entre 0,5 a 50 μm (Dadd, 1971 e Merritt et al., 1978), seria de se esperar que partículas menores, nessa faixa, não só pela maior adsorção mas ainda pela competição, teriam efeito mais drástico na diminuição da potência dos preparados à base de Bti.

No presente trabalho foi avaliada a susceptibilidade de larvas no II estágio de Cx. quinquefasciatus ao Bti, quando submetidas à diferentes misturas de um preparado experimental (ABG-6108) intacto da bactéria, com ele próprio autoclavado e com a alga Chlorella minutissima. Os ensaios foram conduzidos em água destilada, com 50 larvas por repetição (3 repeti-

ções). A temperatura média durante o ensaio foi de 16,2°C e o pH da água dos tratamentos foi de 5,5. A TABELA 14 apresenta os valores dos tempos letais medianos com seus intervalos de confiança. As retas de regressão e os demais parâmetros estatísticos aparecem no ANEXO 13.

TABELA 14. Tempo letal mediano com intervalos de confiança, para larvas de *Cx. quinquefasciatus* (II est.) tratadas com misturas de 10.000 UI/l de Bti com Bti autoclavado e com a alga *C. minutissima*.

<i>B. t. var. israelensis</i> AUTOCLAVADO						
CONCENTRAÇÃO	0,0	100	400	1600	6400	mg/l
TL50	7,4	11,9	20,9	47,0	301,1	horas
LI	6,7	11,3	18,7	43,4	92,8	"
LS	8,8	12,7	23,5	50,3	976,4	"

<i>Chlorella minutissima</i>						
CONCENTRAÇÃO	0,0	740	1480	2960	5920	x10 ⁶ cel/l
TL50	7,4	81,7	145,7	156,5	293,5	horas
LI	6,7	78,7	120,7	140,9	220,8	"
LS	8,8	84,8	175,8	173,8	389,9	"

Uma vez que o TL₅₀ obtido nas condições desses ensaios só para o bacilo viável (10000 UI/l) foi de 7,43 horas, os valores obtidos para as misturas tanto com o produto autoclavado quanto com *C. minutissima*, indicam uma acentuada redução na susceptibilidade das larvas, correlata ao aumento das concentrações dos microrganismos não tóxicos.

A mistura com a maior concentração do produto autoclavado (6400 mg/l), para o qual foi estimado um TL₅₀ equivalente a 12 dias (TABELA 14), tornou a concentração de produto viável ineficiente na prática, embora para os padrões normais de utilização no campo fosse uma dose alta. Após 6 dias do início do ensaio, enquanto que as porcentagens totais de mortalidade para as outras três concentrações eram respectivamente 94,4%, 90,9% e 81,9%, para essa maior relação entre produto autoclavado/ produto ativo, apenas 28,5% de mortalidade foi verificada. A maior variação em termos do tempo para 50% de mortalidade ocorreu também entre as duas últimas concentrações do produto autoclavado, onde houve uma variação da ordem de 6,4 vezes no TL₅₀ para um aumento de 4 vezes a quantidade de sólidos inertes.

Os resultados sugerem que em termos práticos, concentrações altas de sólidos em suspensão na faixa de tamanho do Bti podem inviabilizar o seu uso para o controle de culicídeos. No caso de aplicações contra o II estágio, a presença de até 1,6 g/l dessas partículas pequenas permitiria ainda o uso de doses altas de produtos à base do bacilo, no entanto, acima desse valor outras medidas seriam preferíveis.

A avaliação desse fenômeno pelas mortalidades ao final do ensaio, ou mesmo após um só período, poderiam mascarar os resultados. Ramoska et al. (1982) indicam que a dose de 1 ou 0,1 mg i.a./l de Bti (não definida em termos de UI/l), quando misturada com 10000 mg/l de outro bacilo não tóxico (*B. subtilis*) ou ainda farinha, não perde sua potência contra *Ae. aegypti* (III estágio), no entanto referem-se apenas às mortalidades finais após 2 dias, que foram de 100%. O mesmo poderia ser concluído do presente ensaio com Bti autoclavado, se apenas considerássemos a porcentagem final de mortalidade para as três primeiras concentrações após 7 dias, que foi também de 100%. O critério de TL₅₀ nesse caso permite verificar que na verdade há uma marcante diminuição na susceptibilidade das larvas de *Cx. quinquefasciatus*, indicando um efeito antagônico nas águas com elevada quantidade de microrganismos em suspensão, conforme já havia sido referido nos ensaios com água de esgoto (4.1.1.2.4-).

A presença de algas unicelulares do gênero *Chlorella* nas águas dos criadouros naturais dos culicídeos é bastante comum, sendo inclusive indicada por Dadd (1970a) como fagostimulantes para as larvas desses mosquitos. Embora a espécie *C. ellipsoidea* tenha sido indicada possuindo atividade biocida contra as larvas de culicídeos, outras espécies como *C. sorokiniana*, quando experimentadas em concentrações bem mais altas ($2,45 \times 10^{12}$ cel./l), não mostraram qualquer atividade larvicida (Dhillon & Mulla, 1981 e 1982).

As diferentes concentrações de *C. minutissima* utilizadas no presente trabalho, junto com a concentração de

10000 UI/l de Bti mostraram interferir mais acentuadamente com a susceptibilidade das larvas de C. quinquefasciatus do que o próprio bacilo autoclavado, apesar de não diferirem muito de tamanho. Segundo Margalit & Dean (1985) e Ruas Neto & Oliveira (1985), os produtos à base do Bti formulados como pó molhável possuem partículas da ordem de 10 a 40 μm . No presente trabalho, as algas utilizadas mediram em média 11,31 μm de diâmetro quando em células isoladas e 19,93 μm quando em grupos de mais de uma célula.

A concentração mais alta de algas, de 5920×10^6 cel./l foi equivalente à originalmente encontrada nos tanques de criação e manutenção de Cx. quinquefasciatus. Os resultados indicam que mesmo concentrações bem menores, da ordem de 1/16 destas, já são suficientes para retardar o tempo para 50% de mortalidade, quando comparado com as larvas mantidas em água destilada sem algas, a despeito de supostamente estarem atuando como fagoestimulantes. Comparando-se os TL₅₀, nota-se neles uma maior variação entre 0 e 740×10^6 cel./l, da ordem de 11 vezes, do que nos TL₅₀ para 740 e 5920×10^6 cel./l, que foi de aproximadamente 3,6 vezes de aumento. Ainda pode-se verificar que para as concentrações intermediárias da alga não houve diferença significativa entre os TL₅₀ obtidos, ficando ambos por volta de 6 a 6,5 dias. Após esse período, ao menos as duas menores concentrações do Bti autoclavado, mais essa mesma concentração do produto viável, já haviam causado mais de 90% de mortalidade.

Considerando-se os resultados obtidos no presente trabalho, em águas com C. minutissima, pode-se recomendar



que nos casos de controle apenas biológico com o Bti, concentrações mais altas do que 10000 UI/l deverão ser usadas. Já em termos de manejo ou controle integrado nessas águas, o Bti poderia ser associado à algicidas ou mesmo a inseticidas que inibem o desenvolvimento de Chlorella, como é o caso do Temefós ao menos para C. pyrenoidosa (Birmingham & Colman, 1977).

4.1.1.3. SUSCEPTIBILIDADE DAS LARVAS DE Culex rotoaensis AO B. thuringiensis var. israelensis

O trabalho geral mais recente sobre o subgênero Melanoconion, ao qual pertence Cx. rotoaensis indica para esse taxa 160 espécies descritas, com 75 sinônimas (Natal, 1981). A importância epidemiológica dessas espécies está ainda por ser melhor definida; no entanto admite-se que sejam encarregadas da transmissão de viroses no seu ciclo natural, entre os animais silvestres para os quais as fêmeas têm preferência alimentar (Foratti, 1965 e Natal, 1981). Galindo (1963) indica terem essas espécies importância como transmissoras da encefalite venezuelana, sendo que duas delas, Cx. taeniopus e Cx. vomerifer, seriam os principais vetores no Panamá. Ainda em termos de importância para o homem, as espécies Cx. erraticus e Cx. pilosus já

foram apontadas como nocivas nos Estados Unidos, devido à sua abundância no verão e elevada antropofilia (Foote, 1954).

A susceptibilidade de Cx. rorotaensis ao Bti foi avaliada no presente trabalho para 4 concentrações do formulado experimental ABG-6108 (pó molhável). A concentração letal mediana para três horas e meia após o contato com a bactéria também foi estabelecida em larvas no início do último estágio.

Os ensaios foram realizados em Carajás/PA, aonde foram igualmente coletadas as larvas de um criadouro às margens da Rodovia N.1-Itacaiúnas (Km 18,5). A densidade populacional no criadouro era bastante alta e a população heterogênea em termos de idade das larvas, indicando ser provavelmente uma espécie bastante comum na região.

A TABELA 15 apresenta os valores letais medianos e seus respectivos intervalos de confiança. No ANEXO 14 encontram-se as retas das regressões log-próbite bem como os demais parâmetros estatísticos. Usou-se nos ensaios água do próprio criadouro das larvas, caracterizada por pH 5,0 e temperatura durante as avaliações, de 23,2°C.

TABELA 15. Concentração e tempos letais medianos com intervalos de confiança, para larvas de Cx. rorotiensis tratadas com Bacillus thuringiensis var. israelensis.

CONCENTRAÇÃO (UI/l)	1300	2600	5200	10400
TL ₅₀ (min.)	283,1	187,1	177,4	122,8
LI	237,6	175,4	171,3	114,6
LS	337,5	199,5	184,6	131,6
CL ₅₀ /3,5 horas (LI-LS)	2637,8 (1030,4-6752,5) UI/l			

Os valores obtidos para os TL₅₀ indicam não haver diferença significativa entre as duas concentrações intermediárias avaliadas, no entanto estes diferem do encontrado para a maior e a menor concentrações.

A diferença de susceptibilidade encontrada para Cx. quinquefasciatus no presente trabalho (4.1.1.1.4-), quando sujeito à concentrações próximas de dois formulados (e possivelmente isolados) diferentes (Vectobac 12AS/Abbott e Bactimós CE/Biochem) sugerem que os resultados obtidos para Cx. rorotiensis sejam mais comparáveis aos obtidos para o mesmo formulado e isolado. O formulado experimental usado contra Cx. rorotiensis foi também avaliado no presente trabalho contra larvas de Cx. quinquefasciatus, no entanto em água de esgoto bruto, não permi-

tindo portanto comparações diretas. Habib (1983) avaliou também em termos de TL₅₀, duas concentrações de ABG-6108 contra Cx. declarator, na água limpa de seus criadouros, o que permite comparações diretas.

Enquanto no presente trabalho, para as concentrações 2600 e 5200 UI/l não houve diferença significativa, ficando o TL₅₀ para Cx. rorotaensis próximo a 3 horas, para as concentrações 2624 e 5248 UI/l do mesmo formulado, Habib (1983) encontrou TL₅₀ de respectivamente 145,6 e 76,6 minutos para Cx. declarator, também no início do IV estágio. Essa comparação permite verificar ser a primeira espécie bem menos susceptível, considerando-se ainda que mesmo a maior concentração avaliada contra ela, de 10400 UI/l permitiu 50% de mortalidade após 122 minutos, situação semelhante à causada por 2624 UI/l (concentração 4 vezes menor) nos ensaios de Habib (1983).

As diferenças na susceptibilidade ao Bti por espécies distintas é fato já bem documentado. Da mesma forma, diferenças entre grupos sub-genéricos também têm sido indicadas. Enquanto que 100 UI/l do Bti causou 63,6 ± 5,2% de mortalidade final em larvas de Cx. Cx. mollis, não causou nenhuma mortalidade em larvas de Cx. (Carrollia) sp, nos experimentos desenvolvidos por Lacey & Lacey (1981) com culicídeos da Amazônia. Essa grande diferença de susceptibilidade foi explicada por esses autores como sendo mais em função dos diferentes hábitos alimentares das larvas desses sub-gêneros, do que em função de uma verdadeira resistência fisiológica natural de Cx. (Carrollia) sp.



Os resultados obtidos para Cx. roretanaensis no presente trabalho permitem indicar a forte necessidade de se obter previamente conhecimentos bioecológicos sobre as espécies alvo, no sentido de se determinar a viabilidade do uso do Bti ou mesmo de se poder implementar formulações para que tenham uma maior eficiência.

4.1.1.4. SUSCEPTIBILIDADE DAS LARVAS DE Aedes aegypti AO TEMEFÓS E AO Bacillus thuringiensis var. israelensis

A susceptibilidade de larvas de Ae. aegypti ao Bti foi avaliada no presente trabalho em termos do tempo letal mediano para duas concentrações do produto comercial Vectobac 12AS, dentro da faixa recomendada pelo fabricante para utilização em águas não poluídas. Nessas condições, aonde normalmente se criam as larvas de Ae. aegypti, entre 340 a 1360 ml do produto por hectare é recomendado (Abbott, 1986).

O inseticida Organofosforado Temefós, que tem sido recomendado para o controle de Ae. aegypti na concentração de 1,0 mg i.a./l (mesmo em água potável) foi avaliado em concentrações menores que essa, levando-se em consideração que a reco-

W40, 1973c
 mendação acima (DMS, 1973) é para o produto comercial granulado, que libera lentamente o princípio ativo, e que em avaliações prévias, essas concentrações inferiores já haviam se mostrado também eficientes contra outras espécies. O produto avaliado, Abate 500 E, tem sido recomendado para águas limpas, à razão de 100 a 150 ml/ha (Cyanamid, 1980).

A TABELA 16 apresenta os TL₅₀ obtidos contra larvas de diferentes idades para o bacilo e contra as no início do IV estágio para o Temefós; indicando as concentrações tanto em termos de potência por área como por volume. Os ANEXOS 15 e 16 apresentam as retas de regressão e os demais valores estatísticos. Foram utilizadas em média 58 larvas por tratamento, em água mineral com pH 6,5 e temperatura média de 18°C.

Ao contrário do que foi observado no presente trabalho para as larvas de Cx. quinquefasciatus (4.1.1.1.4-), houve uma diferença significativa entre a susceptibilidade das larvas quando no III estágio ou no início do IV estágio, para as duas concentrações do inseticida biológico. Ainda a diferença entre o TL₅₀ para o início e fim do último estágio, foi menor para as larvas de Ae. aegypti, ficando em cerca de 1 hora. Esses dados sugerem que a definição da idade das larvas dessa espécie empregada nos ensaios deve ser mais criteriosa, ao contrário do que alguns autores têm feito, quando apenas se reportam à idade em dias da população avaliada, ou mesmo misturando larvas de III e de IV estágios nos ensaios. Uma relação semelhante, onde as larvas de III estágio mostraram-se mais susceptíveis que as de início de IV, foi também indicada por Magni & Coz (1985), que no en

tanto trabalharam com a CL₅₀ para 24 e 48 horas, tempo ao nosso ver amplo demais, considerando-se o modo de ação da bactéria.

TABELA 16. Tempos letais medianos com intervalos de confiança para larvas de *Aedes aegypti* tratadas com *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e Temefós.

ESTÁDIO	III		IV (in.)		IV (fim)
CONCENTRAÇÃO					
Bti (UI/l)	2500	5000	2500	5000	5000
Produto (ml/ha)	416,5	833,3	416,5	833,3	833,3
TL ₅₀ (min.)	261,25	234,99	391,45	298,03	362,12
LI	251,76	220,11	379,19	291,52	355,40
LS	271,10	250,87	404,10	304,69	368,96
CONCENTRAÇÃO					
Temefós (mg i.a./l)	-	-	0,025	0,05	-
Produto (ml/ha)	-	-	20,0	40,0	-
TL ₅₀ (min.)	-	-	256,45	244,65	-
LI	-	-	249,27	240,71	-
LS	-	-	263,83	248,66	-

Os tempos letais medianos para as larvas de Ae. aegypti tratadas pelo Bti nessas concentrações recomendadas para controle, ficaram entre aproximadamente 4 e 6,5 horas, e apenas para o tratamento contra as larvas no final do IV estágio houve sobrevivência (3,17%), caracterizada pela transformação em pupas após 12 horas do início do ensaio. Outros autores reportam-se igualmente ao tempo necessário para 50% de mortalidade nessa espécie, quando sujeita no entanto às concentrações maiores da bactéria. Assim, Ignoffo et al. (1980) indicam um TL₅₀ de 12,2 ± 1,1 minutos para a concentração de 900.000 UI/l contra larvas com 4 dias de idade, e Lahkim-Tsrer et al. (1983) mostra ser necessário um período de 25 minutos para 50% de mortalidade pela concentração de 12.000 UI/l em larvas do IV estágio.

O tempo letal mediano para o inseticida Temefós variou pouco entre as duas concentrações experimentadas, ficando por volta de 4 horas; permitindo no entanto sobrevivência. Para a concentração menor houve 3,64% de larvas ou pupas vivas após 18 horas da aplicação, e para a concentração maior 10,2% de pupas vivas após o mesmo período.

A associação do larvicida químico ao biológico foi avaliada também contra larvas no início do IV estágio, combinando-se concentrações equivalentes às menores experimentadas isoladamente e ainda 2,5 vezes inferiores a estas. A TABELA 17 apresenta os TL₅₀ e intervalos de confiança, sendo que os demais parâmetros estatísticos aparecem no ANEXO 17.

A mistura das menores concentrações mostrou uma eficiência mais baixa, com o TL₅₀ por volta de 6,2 horas, e

próximo ao da concentração de 2500 UI/l da bactéria sozinha. Permitiu também 8,77% de sobrevivência, situação semelhante à causada pela concentração de 0,05 mg i.a./l do Temefós sozinho.

TABELA 17. Tempos letais medianos com intervalos de confiança para larvas de Ae. aegypti (início IV estágio) tratadas com duas misturas de Temefós e B. th. var. israelensis.

CONCENTRAÇÃO	Temefós (mg i.a./l)	0,01	0,025
	Bti (UI/l)	1000	2500
TL50	(minutos)	372,87	194,62
LI	"	363,35	188,92
LS	"	382,64	199,26

A mistura das maiores concentrações foi mais eficiente. O TL50 obtido ocorreu praticamente uma hora antes da quele causado pelo produto químico sozinho, e 3,3 horas antes do causado apenas pela bactéria, com apenas 1,6% de sobrevivência na forma de larvas que empuparam 18 horas após a aplicação.

O típico sinergismo temporal observado, da mesma forma como foi discutido para as larvas de Cx. quinquefasciatus no presente trabalho, traria como vantagem uma maior eficiência no uso integrado desses dois larvicidas, além do barateamento no custo da aplicação. Soma-se ainda a essas vantagens a

possibilidade de se dificultar o desenvolvimento de resistência, uma vez que diferentes mecanismos bioquímicos parecem estar envolvidos (Sun et al., 1980 e Georghiou et al., 1983) nos processos de resistência a esses dois larvicidas. No caso específico do controle de Ae. aegypti em regiões aonde os riscos de transmissão de febre amarela ou dengue são altos, e o que se deseja é realmente uma erradicação, combinações de outras concentrações precisariam ser definidas, uma vez que as experimentadas no presente trabalho permitiram sobrevivência.

4.1.1.5. SUSCEPTIBILIDADE DE LARVAS DE Anopheles triannulatus AO TEMEFÓS E AO Bacillus thuringiensis var. israelensis

De acordo com Charlwood & Wilkes (1981), An. triannulatus enquadra-se entre as muitas espécies de anofelinos do Brasil, suspeitas de serem vetoras secundárias da malária. O potencial vetor dessa espécie é ainda pouco conhecido, no entanto sabe-se que pode apresentar elevada antropofilia e domiciliaridade (Gorham et al., 1967). Tem sido ainda encontrado infectado com esporozoítos na Venezuela (Covia-Garcia, 1951) e possivelmente seja também vetor da malária de símios no Brasil (Deane et al., 1971). Devido a estas características, e ao fato de ter sido registrado em altas densidades, Tadei et al. (1983) recomen-

dam seu controle na região de Tucuruí-Marabá (Pará). Mais recentemente, graças às técnicas de anticorpos monoclonais antiesporozoítos, que são espécie-específicos, An. triannulatus foi encontrado infectado por Plasmodium vivax e listado entre as 15 espécies de anofelinos vetores no Brasil (Deane, 1986).

Na área de influência do Projeto Carajás/PA, aonde foram desenvolvidos os presentes ensaios, tem sido preocupação constante a redução dos altos índices de malária encontrados entre as populações envolvidas. Os levantamentos efetuados na localidade de Parauapebas, indicando 27,3% de diagnósticos positivos, sendo destes 70% por P. falciparum (SUCAM, 1985) evidenciam a gravidade do problema.

As larvas utilizadas no presente trabalho foram coletadas de uma pequena poça de água temporária próxima ao Igarapé Pojuca; localidade do mesmo nome na Serra Norte-Carajás. Foi avaliada em termos de TL₅₀, uma concentração de Bti e uma de Temefós contra larvas pequenas (I e II estádios) e grandes (IV estádio). Ainda a mistura de 1/5 dessas concentrações também foi avaliada contra larvas dos dois tamanhos. Nas unidades de ensaio utilizou-se a mesma água do criadouro, caracterizada por pH 5,0 e temperatura média de 25°C.

A TABELA 18 apresenta os resultados dos ensaios com o produto biológico, o químico, e com a mistura dos dois. Os parâmetros estatísticos das regressões, bem como o número de larvas utilizadas em cada experimento aparecem no ANEXO 18.



TABELA 18. Tempos letais medianos com intervalos de confiança para larvas de *An. triannulatus* tratadas com uma concentração de Temefós, uma de *B. thuringiensis* var. *israelensis* e uma mistura de ambos.

LARVAS		PEQUENAS	GRANDES
Bti	TL ₅₀ (min.)	1120,9	1133,4
5000 UI/l	LI-LS	1042,6-1205,1	1033,1-1243,3
Temefós	TL ₅₀ (min.)	342,1	333,9
0,05 mg/l	LI-LS	306,8-381,3	270,1-412,8
Bti + Temefós	TL ₅₀ (min.)	290,6	307,2
1000 UI/l + 0,01 mg/l	LI-LS	249,3-338,6	248,5-379,5

Pelos resultados obtidos, pode-se notar que em nenhum dos casos houve diferença na susceptibilidade entre as larvas pequenas e grandes, ocorrendo sobreposição dos intervalos de confiança dos TL₅₀. Embora os tempos obtidos para a aplicação só do bacilo tenham sido bastante altos, quando comparados com os valores equivalentes para outros culicídeos (fato já observado em outras espécies do gênero *Anopheles* por De Barjac, 1978 e De Barjac & Coz, 1979), não houve nenhum sobrevivente ao tratamento, mesmo contra as larvas grandes. Baseando-se nessa concentração do

bacilo, que corresponderia a 8×10^8 UI/ha, pode-se recomendar para fins de controle uma concentração no mínimo três vezes o seu valor; já que usualmente as concentrações usadas para controle correspondem a até 10 vezes as definidas como eficientes nos bioensaios. Os dados obtidos coincidem também de certa forma com os apresentados por McLaughlin et al. (1982), que recomendam como faixa ótima para o controle de An. crucians concentrações próximas a 20×10^8 UI/ha. Os dados obtidos por Nugud & White (1982) para An. arabiensis revelaram no entanto altíssima susceptibilidade dessa espécie. Esses autores conseguiram, contra larvas no II estágio, 50% de mortalidade em 24 horas, com apenas 0,21 mg/l do formulado ABG-6108, com potência estimada entre 400 a 600 UI/mg (equivalente a 105 UI/l). Contra as larvas utilizadas no presente ensaio, 50% de mortalidade no II estágio (larvas pequenas) foi obtida após cerca de 18 horas, no entanto para uma concentração bem superior, de 5000 UI/l.

A susceptibilidade de An. triannulatus ao Temefós ficou também dentro de parâmetros mais ou menos esperados, com 50% de mortalidade após cerca de 5,5 horas, para a concentração avaliada; período pouco maior que o observado para Cx. quinquefasciatus (4,6 h/0,04 mg i.a./l) e para o Ae. aegypti (4,0 h/0,05 mg i.a./l). Não houve também nesse caso sobreviventes.

Embora doses bem maiores de Temefós tenham sido utilizadas nos programas de controle da malária em diversas regiões do mundo, variando entre 50 a 110 g i.a./ha (WHO, 1973b, Cyanamid, 1980), a estabelecida no presente trabalho corresponderia a apenas 2,03 g i.a./ha. Coincidindo com o encontrado, Georghiou

(1972) estabeleceu para An. albimanus, antes do desenvolvimento de resistência, uma CL₅₀ baixa; de apenas 0,005 mg i.a./l. A concentração utilizada para controle desta espécie (CL₉₅), chegou a ser no início dos programas de controle equivalente a 0,004 mg i.a./l. Com o desenvolvimento da resistência nessa espécie em El Salvador, em 1978, a concentração equivalente à avaliada no presente trabalho (0,05 mg i.a./l) permitia apenas 13,3% de controle após 24 horas (Lowe et al., 1980). Isso indica que embora essa concentração tenha sido eficiente contra An. triannulatus, avaliações periódicas seriam fundamentais no caso do estabelecimento de um programa de controle.

A avaliação dos dois larvicidas em conjunto contra An. triannulatus mostrou uma grande antecipação nos TL₅₀ em relação ao bacilo sozinho, e um maior sinergismo contra as larvas menores do que contra as de último estágio. De qualquer forma, a ocorrência de mortalidade total ao final do experimento indica ser a mistura igualmente viável para a utilização em programas de controle. O rápido desenvolvimento de resistência ao Organofosforado Temefós por espécies de Anopheles fortemente indica a necessidade de se reduzir a pressão de seleção desse princípio ativo nas populações alvo, o que poderia ser conseguido às custas do controle integrado, caso a seleção no laboratório para misturas se mostre promissora.

4.1.2. SUPRESSÃO EM POPULAÇÕES DE Culex quinquefasciatus POR AGENTES BIÓTICOS E ABIÓTICOS

Águas altamente poluídas por matéria orgânica constituem-se sabidamente em criadouros preferenciais das larvas de Cx. quinquefasciatus. A depuração de esgotos em lagoas artificiais de estabilização, prática comumente empregada quando o volume de água servida não é muito grande, como em fazendas e pequenas indústrias, propicia o desenvolvimento de enormes populações desse pernilongo. Nessas condições, pode-se observar que a densidade larvária é nitidamente maior próximo às bordas desses tanques, em geral intermeada à vegetação terrestre ali existente e ainda mais concentrada ao sotavento. Essa situação facilita as necessárias aplicações de larvicidas, até pela distribuição manual de formulações granuladas, e sugere que nem todo o potencial biótico do criadouro é explorado, dado à característica das larvas permanecerem de certa forma abrigadas, a despeito da escassez de predadores nessas condições.

A utilização do aguapé (Eichhornia crassipes) como agente biológico de depuração de esgotos, avaliada e preconizada pelo CENA (Centro de Energia Nuclear na Agricultura-USP/Piracicaba) foi apontada como vantajosa pela capacidade que a planta tem de crescer rápido e absorver metais pesados e fênóis, bem como reduzir a carga orgânica poluente em termos da demanda

biológica e química de oxigênio (Bol. Inf.- CENA, 1984). Além dessas vantagens, a utilização do aguapé como fonte de energia ou como ração animal também foi indicada (Bol. Inf.- Secret. Saúde Est. de S. Paulo, 1984).

A presença de plantas flutuantes em águas servidas propicia no entanto o aumento do potencial criadouro pelo abrigo que oferece às larvas e pupas, apesar de na realidade reduzir o total de superfície líquida disponível. Durante o presente trabalho, densidades de até cerca de 40 g de peso bruto de larvas e pupas puderam ser coletados por unidade de amostra, equivalendo a mais de 400 mil indivíduos por m² de superfície líquida entre o aguapé.

As aplicações de campo contra Cx. quinquefasciatus no presente trabalho foram feitas em dois tanques de depuração de esgoto urbano, colonizados pelo aguapé (Estação Depuradora do Cambuí - SANASA/ Campinas).

Em uma avaliação prévia, o formulado pó-mo-lhável ABG-6108 de Bti foi aplicado à razão de 1666 UI/l (5,0 Kg/ha), o Temefós à razão de 0,0033 mg i.a./l (200 g i.a./ha) e o Diflubenzuron à razão de 0,00416 mg i.a./l (25 g i.a./ha). Essas concentrações correspondem respectivamente a 5 vezes às recomendadas para esse formulado de Bti, à mínima recomendada para o Temefós, ambos em águas poluídas e à indicada para o Diflubenzuron em águas limpas. A determinação das concentrações baseou-se também nos resultados obtidos nos ensaios prévios de laboratório, já apresentados no presente trabalho (4.1.1.2.).

Para a avaliação do efeito combinado do larvívoro Organofosforado e do bacteriano, o primeiro tanque recebeu a concentração de 0,011 mg i.a./l de Temefós junto com 5000 UI/l de Bti, enquanto que o segundo recebeu a mistura de 0,02 mg i.a./l de Temefós com 10.000 UI/l de Bti no seu 2/5 posterior e 0,005 mg i.a./l de Temefós apenas, no resto da sua extensão.

As avaliações pré e pós aplicação foram feitas tomando-se como medida padrão de coleta uma peneira de malha fina, amostrando-se 5 pontos equidistantes (numerados a partir da região de saída da água) nas duas bordas ao longo dos tanques (10 amostras/tanque). A vegetação flutuante era afastada da borda e a amostra tomada a seguir, na superfície da água. As quantidades de larvas e pupas vivas coletadas foram comparadas em termos de peso bruto, e as eficiências de controle ou aumento da população, expressas em termos das porcentagens relativas à pré aplicação.

As TABELAS 19 e 20 apresentam os resultados obtidos com a aplicação do formulado pó-molhável de Bti nas águas de esgoto bruto e pré-tratado.

TABELA 19. Peso em gramas (pré aplicação) e porcentagens de redução ou aumento (+) das larvas de *Cx. quinquefasciatus* após a aplicação de 1666 UI/l de *B. thuringiensis* var. *israelensis* em água de esgoto bruto coberta com aguapé.

PONTO	1	2	3	4	5	Total	
PRÉ APLICAÇÃO	22,03	40,79	29,49	18,83	12,49	146,66	g
DIAS APÓS							
1	63,46	81,02	60,16	21,93	100,00	71,19	%
2	73,26	87,25	78,64	90,92	72,96	84,66	%
4	86,02	81,96	62,67	73,66	82,87	80,53	%
7	80,71	65,80	44,32	87,20	67,33	71,96	%
9	56,20	71,49	48,15	25,86	80,94	63,92	%

TABELA 20. Peso em gramas (pré aplicação) e porcentagens de redução ou aumento (+) das larvas de *Cx. quinquefasciatus* após a aplicação de 1666 UI/l de *B. thuringiensis* var. *israelensis* em água de esgoto pré tratado coberta de aguapé.

PONTO	1	2	3	4	5	Total	
PRÉ APLICAÇÃO	21,55	41,85	25,00	19,12	16,44	123,96	g
DIAS APÓS							
1	+6,17	74,91	87,88	88,96	96,17	68,41	%
2	77,17	83,82	87,96	76,94	84,31	82,50	%
4	25,15	73,95	+6,36	93,25	100,00	55,70	%
7	+40,28	21,10	+26,96	55,70	99,64	16,48	%
9	32,99	41,94	14,12	+31,28	94,10	30,39	%



A análise das Tabelas 19 e 20 permite constatar que não havia uma diferença marcante entre as quantidades de larvas amostradas pré aplicação nos dois tipos de água, considerando-se os pontos ao longo dos tanques. Tal situação estaria possivelmente mais correlacionada a uma semelhante disponibilidade de sítios criadouros para as larvas entre as plantas de água-pé, uma vez que a quantidade de alimento, avaliada em termos de coliformes fecais, foi sempre alta no período desses estudos nos dois tipos de água (TABELA 21).

TABELA 21. Número de coliformes fecais por 100 ml de água, em duas regiões dos tanques de esgoto bruto e pré tratado (valores em 10^{10} coliformes).

DIA-MÊS	9-Ago.	14-Ago.	21-Ago.	18-Set.	2-Out.	9-Out.
	E/S*	E/S	E/S	E/S	E/S	E/S

ESGOTO						
BRUTO	0,7/0,1	6,0/6,0	60,0/30,0	6,0/2,0	20,0/1,0	0,1/1,6
PRÉ-TRAT.	0,3/3,0	6,0/0,1	2,0/1,0	1,0/1,0	1,0/1,0	0,6/6,0

* E= região de entrada ; S= região de saída

Essa TABELA mostra ainda que não houve uma relação constante entre o número dessas bactérias entre as duas águas e tampouco entre os pontos de coleta, seja na região de entrada ou na de saída dos tanques.

Voltando-se às TABELAS 19 e 20, verifica-se que no entanto houve uma variação quanto à eficiência do trata-

mento pelo Bti sendo que, na água de esgoto bruto, as porcentagens médias de redução foram maiores ao longo dos nove dias de avaliação, variando entre cerca de 64 e 85% de eficiência. No tanque de esgoto pré tratado houve um aumento populacional em algumas amostragens, mesmo um dia após a aplicação, provocando médias de eficiência menores, variando entre cerca de 16 e 82% durante os nove dias da aplicação. De qualquer forma, considerando-se que cada grama de larva-pupa corresponderia a cerca de 270 indivíduos em média, os níveis obtidos de controle estariam ainda abaixo do ideal.

Os dados obtidos indicam uma menor eficiência quando comparados aos de Mulla et al. (1982) nos Estados Unidos, que trabalhando com o mesmo formulado contra populações da mesma espécie, obteve para a concentração de 4,48 Kg/ha uma eficiência pós tratamento (24 h) de 81%; embora em esgoto de indústria de leite e sem o aguapé. Para essa mesma concentração do mesmo formulado, Axtell (1982) obteve também resultados melhores em esgotos de pocilgas, com eficiências entre 85,6 e 98,6% até 4 dias após a aplicação contra Cx. pipiens. Contra essa mesma espécie alvo, Joseph et al. (1982) obtiveram 99,0% de eficiência 24 horas após o uso de 2,8 Kg/ha desse formulado em esgoto urbano sem vegetação. Essas comparações permitem sugerir que apesar da aplicação ter sido feita submersa, garantindo uma distribuição mais homogênea do produto, a presença do aguapé com suas raízes profundas prejudicou a eficiência do larvicida. Vale salientar ainda que ao menos nas avaliações de Axtell (1982) e Joseph et al. (1982), os cálculos de dosagem foram feitos para a área total das

lagoas, enquanto que as aplicações foram feitas apenas nas suas bordas, onde as larvas se concentravam, aumentando portanto a concentração de trabalho declarada por esses autores.

Os resultados obtidos com o larvicida Organofosforado foram menos eficientes como um todo (TABELAS 22 e 23).

TABELA 22. Peso em gramas (pré aplicação) e porcentagens de redução ou aumento (+) das larvas de *Cx. quinquefasciatus* após a aplicação de 0,0033 mg i.a./l de Temefós em água de esgoto bruto coberta com aguapé.

PONTO	1	2	3	4	5	Total	
PRÉ APLICAÇÃO	9,65	11,63	15,29	13,96	2,38	52,91	g
DIAS APÓS							
1	26,22	14,53	76,78	95,20	100,00	59,78	%
3	100,00	64,40	85,68	98,07	100,00	87,52	%
4	100,00	39,29	49,44	39,18	11,34	52,01	%

TABELA 23. Peso em gramas (pré aplicação) e porcentagens de redução ou aumento (+) das larvas de *Cx. quinquefasciatus* após a aplicação de 0,0033 mg i.a./l de Temefós em água de esgoto pré tratado coberta com aguapé.

PONTO	1	2	3	4	5	Total	
PRÉ APLICAÇÃO	14,44	24,30	21,47	25,10	0,97	86,28	g
DIAS APÓS							
1	+25,62	11,06	+33,49	+19,08	+409,30	+19,70	%
3	63,09	58,89	51,65	53,75	+409,30	51,03	%
4	100,00	+1,48	35,77	58,96	+2652,5	12,55	%

Na época dessas aplicações a densidade populacional pré tratamento era menor nos dois tanques e relativamente superior no de esgoto já tratado por decantação. A utilização da concentração de 200 g i.a./ha do Temefós permitiu, na melhor das avaliações, 87,5% de redução geral na água de esgoto bruto, caindo para próximo de 50% em quatro dias. No outro tanque, com maior densidade de larvas e pupas, chegou a haver até um aumento de cerca de 20% na densidade populacional após 24 horas do tratamento, e um máximo de 51% de eficiência três dias após. Essas eficiências, quando comparadas às obtidas por Axtell et al. (1980) são também inferiores. Para as concentrações de 336 e 560 g i.a./ha, esses autores obtiveram em lagoas de esgoto de suínos, respectivamente 73,7 e 98,2% de eficiência contra Cx. quinquefasciatus após três ou quatro dias das aplicações. Deve-se atribuir a essa maior eficiência alguns fatores, como o uso das concentrações maiores, calculadas para a lagoa toda (cerca de 500 m²) e aplicadas numa faixa de 3 metros a partir da margem, e novamente a ausência de plantas flutuantes.

As avaliações do Diflubenzuron como larvicida foram feitas até o 7º dia após a aplicação, considerando-se seu modo de ação e o fato de causar mortalidade por ocasião das ecdises. A população pré aplicação encontrava-se em níveis comparáveis aos da aplicação anterior no tanque de esgoto bruto, e pouco superior no de água pré tratada. Apesar de uma concentração semelhante (0,005 mg i.a./l) ter se mostrado eficiente nos bioensaios de laboratório, com 90% de eficiência final (TABELA 08), nas condições de campo houve um fraco desempenho, já com aumento popula-

cional no 7º dia após a aplicação desse produto químico (TABELAS 24 e 25).

TABELA 24. Peso em gramas (pré aplicação) e porcentagens de redução ou aumento (+) das larvas de *Cx. quinquefasciatus* após a aplicação de 0,00416 mg i.a./l de Diflubenzuron em água de esgoto bruto coberta com aguapé.

PONTO	1	2	3	4	5	Total
PRÉ APLICAÇÃO	4,73	10,54	24,23	7,70	5,75	52,95 g
DIAS APÓS						
1	+148,60	+32,70	49,77	22,07	41,29	10,87 %
3	22,19	+12,14	46,59	+40,50	+54,20	9,63 %
7	+627,30	+368,90	+72,43	+321,00	26,57	+206,10 %

TABELA 25. Peso em gramas (pré aplicação) e porcentagens de redução ou aumento (+) das larvas de *Cx. quinquefasciatus* após a aplicação de 0,00416 mg i.a./l de Diflubenzuron em água de esgoto pré tratado coberta com aguapé.

PONTO	1	2	3	4	5	Total
PRÉ APLICAÇÃO	12,87	16,90	25,66	32,79	17,95	106,17 g
DIAS APÓS						
1	8,62	4,67	0,74	34,15	25,45	16,82 %
3	11,88	+26,00	54,87	34,24	61,44	31,52 %
7	+88,73	10,41	+87,10	16,43	+19,50	+38,53 %

A concentração utilizada de Diflubenzuron, equivalente a 25 g i.a./ha é, como foi dito, a mínima recomendada pelo fabricante para o controle de pernilongos em águas limpas. Comparando-se os resultados obtidos com os apresentados por Axtell et al. (1980), observa-se que realmente concentrações bem maiores seriam necessárias para se obter uma eficiência razoável de controle. Nos ensaios desses autores, 60 e 90 g i.a./ha (calculado para a lagoa e aplicado na borda) permitiram ainda respectivamente 32 e 10% de emergência de adultos de Cx. quinquefasciatus. Esses dados confirmam ainda o que já foi discutido no presente trabalho (4.1.1.2.1-). Apesar da susceptibilidade em água de esgoto ser maior do que quando em água limpa para o Diflubenzuron, o efeito adverso da poluição orgânica e o metabolismo por microrganismos (Schaefer & Dupras Jr., 1976) parece justificar a recomendação de se usar até 1 mg i.a./l na água de esgoto, o que equivaleria a 240 vezes o experimentado nesse estudo. Um futuro registro desses produtos no nosso país, para a área de Saúde, certamente desencadeará outras avaliações para as nossas condições.

A possibilidade do uso conjunto de produtos à base de Bti e de Temefós contra Cx. quinquefasciatus em água de esgoto foi discutida no presente trabalho indicando um maior sinergismo temporal nas condições de laboratório para três concentrações do inseticida químico, quando misturadas com 2.600 UI/l da bactéria. Nas condições de campo (esgoto bruto com aguapé) foi utilizada uma mistura de aproximadamente o dobro dessa concentração do bacilo (5.000 UI/l) com também aproximadamente o dobro da

concentração intermediária do produto químico (0,011 mg i.a./l) avaliada no laboratório. A TABELA 26 apresenta os valores em gramas de larvas e pupas para as amostragens pré aplicação, e as porcentagens de redução ou aumento populacional obtidas nos 5 pontos ao longo do tanque. A população inicial encontrava-se em alta densidade, principalmente na região posterior do tanque (saída). A formação de placas de graxa e gordura na superfície da água na região anterior determinou uma densidade bem menor nessa região.

TABELA 26. Peso em gramas (pré aplicação) e porcentagens de redução ou aumento (+) das larvas de *Cx. quinquefasciatus* após a aplicação da mistura de 5.000 UI/l de Bti e 0,011 mg i.a./l de Temefós em água de esgoto bruto com aguapé.

PONTO PRÉ APLICAÇÃO	1	2	3	4	5	Total	
	24,52	22,86	12,31	8,43	4,10	72,22	g
DIAS APÓS							
1	27,16	69,34	52,32	25,74	+62,20	55,07	%
2	90,66	90,33	78,23	0,36	+27,32	71,11	%
4	96,98	96,11	91,31	38,55	+115,80	76,83	%
7	99,88	98,56	88,87	69,40	+50,00	85,51	%
11	84,01	87,80	77,25	79,36	+4,63	78,48	%
18	58,24	86,35	82,13	63,58	28,78	70,16	%
41	10,20	+78,48	+139,60	+135,40	+204,90	+72,60	%

Os resultados obtidos indicam apesar de uma eficiência total menor na primeira avaliação, uma média melhor de



controle com altas eficiências nos pontos de maior abundância. Esse desempenho da mistura foi também mais duradouro do que quando os produtos foram aplicados isoladamente, apresentando eficiência acima de 70% no mínimo até o 18º dia pós tratamento. No 41º dia, praticamente todas as regiões do tanque apresentavam aumento populacional, indicando a necessidade de nova aplicação.

No tanque de esgoto pré tratado foi feita uma aplicação do dobro dessa mistura anteriormente aplicada, no seus 2/5 posteriores (pontos 1 e 2), e apenas Temefós na concentração de 0,005 mg i.a./l no restante do tanque. A população pré aplicação era bastante inferior à do tanque de esgoto bruto e a ausência das placas de graxa na região de entrada permitia uma maior uniformidade e distribuição das larvas (TABELA 27).

TABELA 27. Peso em gramas (pré aplicação) e porcentagens de redução ou aumento (+) das larvas de *Cx. quinquefasciatus* após a aplicação da mistura de 10.000 UI/l de Bti e 0,022 mg i.a./l de Temefós na região posterior, e só Temefós (0,005mg i.a./l) na região anterior, em esgoto pré tratado, com aguapé

PONTO	1	2	3	4	5	Total	
PRÉ APLICAÇÃO	3,97	6,99	4,97	3,32	3,97	23,22	g
DIAS APÓS							
6	93,93	95,99	88,93	84,63	76,32	87,90	%
10	91,18	92,13	83,09	86,14	76,32	85,70	%
17	35,53	93,56	82,09	61,14	29,72	60,80	%
41	+441,56	+497,99	+403,01	+475,30	+313,11	+433,16	%



Nas três primeiras avaliações feitas após a aplicação nos tanques de esgoto pré tratado, pode-se notar que houve uma pequena diferença entre as regiões que receberam a alta concentração dos produtos misturados e a que recebeu apenas o produto químico, ficando a eficiência no primeiro caso acima de 90% ao menos até o 10º dia das avaliações.

As análises físico-químicas da água dos dois tanques de aguapé (ANEXOS 19 e 20) apresentam as variações quanto à eficiência depuradora das lagoas pré aplicação, 1 dia e 8 dias após essas aplicações, para 23 parâmetros analisados. Não foi possível correlacionar qualquer alteração nesses parâmetros, em função dos tratamentos. Tampouco foi notado qualquer efeito fitotóxico nas plantas de aguapé durante qualquer das avaliações.

A idéia do uso conjunto de diferentes princípios ativos no manejo integrado deve ser sempre considerada, e no caso especificamente do Bti e do Temefós, a possibilidade de sinergismo indicada nesse estudo parece reforçar essa chance. Outras informações são ainda relevantes, como os dados de Morris (1977) indicando que o Temefós não tem efeito adverso na integridade dos cristais de B. thuringiensis (variedade kurstaki ao menos). Sun et al. (1980) mostraram ainda que linhagens de Cx. quinquefasciatus resistentes ao Temefós (detoxificação por esterase ou insensibilidade da AchE) são tão susceptíveis ao Bti quanto as linhagens originais e, somado a isso, os dados de Georghiou et al. (1983). Segundo esses autores, a seleção para o Bti nesse mosquito não inibe o rápido declínio de uma resistência já adquirida ao Temefós, que normalmente se observa quando se re-

tira a pressão por esse princípio ativo. Inibição, no entanto, acontece para a resistência a Piretróides e Carbamatos. Esses resultados permitiram aos autores citados sugerir a combinação ou rotação do Bti com Organofosforados, ao invés dos produtos das outras duas categorias mencionadas.

4.2. ECOLOGIA DA SUPRESSÃO DE POPULAÇÕES DE SIMULÍDEOS

No presente trabalho foi avaliada a eficiência de um larvicida Organofosforado e da bactéria *B. thuringiensis* var. *israelensis*, tanto contra uma espécie de borrachudo alvo de campanhas de controle no nosso país, como outras menos ou não antropofílicas. Aspectos ecológicos como a influência do tipo de riacho criadouro na dispersão e eficiência de larvicidas e o desenvolvimento de resistência ao Organofosforado também são abordados.

4.2.1. SUSCEPTIBILIDADE DE SIMULÍDEOS A UM AGENTE MICROBIANO E UM QUÍMICO

O controle de borrachudos, salvo em raras exceções, tem sido mais direcionado para o combate às suas larvas, com a aplicação de inseticidas nos riachos. Isso se deve às dificuldades naturais de se combater a forma alada, cuja ecologia é bem menos conhecida e ao fato de que a água em movimento dos rios e riachos, por si só auxiliam a distribuição dos agentes de combate utilizados contra as larvas. Como já foi mencionado no presente trabalho, o larvicida químico mais amplamente utilizado contra os borrachudos é o Organofosforado Temefós. Nas situações onde houve o desenvolvimento de resistência a esse princípio ativo, os produtos à base de Bti têm se mostrado a melhor opção de controle.

162?

TABELA 28. Tempos letais medianos, mortalidades finais e porcentagens de desprendimento das larvas (4,5 horas após) de *S. pertinax* e *S. distinctum* tratadas com Temefós e *B. thuringiensis* var. *israelensis* (Baía de Castelhanos).

CONCENTRAÇÃO	Temefós (mg i.a./l)		Bti (Vectobac 12 AS) (UI/l)			
	0,1	1240	720	2160	6480	19440
TL ₅₀ (min.)	-	-	-	-	128,5	101,1
LI	-	-	-	-	115,1	84,3
LS	-	-	-	-	143,4	121,2
MORTALIDADE (%)	18,7	113,3	38,4	40,2	66,9	67,8
LARVAS VIVAS DESPRENDIDAS (%)	7,1	9,1	8,0	13,7	3,7	0,0

Os resultados obtidos mostraram haver aparentemente uma atividade muito baixa do Bti contra essas espécies, sendo que para as três concentrações menores, no final das observações (4,5 horas após), foram obtidas mortalidades abaixo de 50%. Ainda as duas concentrações superiores, que poderiam ser consideradas altas para simuliídeos em geral, foram capazes de provocar mortalidades finais estabilizadas em apenas cerca de 67%.

A concentração de Temefós empregada, 0,1 mg i.a./l, deveria igualmente ter resultado em maior eficiência, uma vez que era três vezes mais alta do que as usualmente empregadas

TABELA 28. Tempos letais medianos, mortalidades finais e porcentagens de desprendimento das larvas (4,5 horas após) de *S. pertinax* e *S. distinctum* tratadas com Temefós e *B. thuringiensis* var. *israelensis* (Baía de Castelhanos).

CONCENTRAÇÃO	Temefós (mg i.a./l)		Bti (Vectobac 12 AS) (UI/l)			
	0,1	1240	720	2160	6480	19440
TL ₅₀ (min.)	-	1	-	-	128,5	101,1
LI	-	1	-	-	115,1	84,3
LS	-	1	-	-	143,4	121,2
MORTALIDADE (%)	18,7	113,3	38,4	40,2	66,9	67,8
LARVAS VIVAS DESPRENDIDAS (%)	7,1	9,1	8,0	13,7	3,7	0,0

Os resultados obtidos mostraram haver aparentemente uma atividade muito baixa do Bti contra essas espécies, sendo que para as três concentrações menores, no final das observações (4,5 horas após), foram obtidas mortalidades abaixo de 50%. Ainda as duas concentrações superiores, que poderiam ser consideradas altas para simulídeos em geral, foram capazes de provocar mortalidades finais estabilizadas em apenas cerca de 67%.

A concentração de Temefós empregada, 0,1 mg i.a./l, deveria igualmente ter resultado em maior eficiência, uma vez que era três vezes mais alta do que as usualmente empregadas

Os dados de Guillet et al. (1985a) corroboram com essa idéia, uma vez que esses autores encontraram diferenças significativas na CL₅₀ de Bti contra *S. damnosum* para velocidades mesmo próximas (47 e 51 cm/s) na água dos seus ensaios, não havendo desprendimento de larvas, mesmo após 24 horas (Guillet et al., 1982a). Ensaio prévios desenvolvidos pelo autor (em colaboração) no entanto, não têm indicado diferenças sensíveis quanto ao trânsito alimentar em *S. pertinax* para três velocidades de água. Ainda a observação de que enquanto em movimento, as larvas permanecem com os leques cefálicos recolhidos, leva a supor que era essa a situação quando da aplicação de Bti em Castelhanos.

Com a finalidade de se aproximar mais as condições do ensaio às naturais dos criadouros de *S. pertinax*, os mesmos produtos foram avaliados em dose única contra larvas dessa espécie estabelecidas em rampas menores (60 cm) colocadas entre as pedras do próprio riacho. Os ensaios foram feitos no leito do Rio Promirim, Município de Ubatuba/SP, em área sujeita ao controle periódico pelo Temefós (SUCEN), já há vários anos. O Bti foi utilizado na concentração de 3744 UI/l (10 minutos) e o Temefós, na de 2,5 mg i.a./l (10 minutos). A população larval avaliada era constituída apenas de *S. pertinax* no VI e VII estádios e a água caracterizava-se por pH 6,0 e temperatura de 20°C. A vazão média nessas rampas, supridas agora diretamente pelo riacho, era de 132 l/min determinando uma velocidade e profundidade praticamente iguais à dos locais de coleta adjacentes a ela.

O tempo letal mediano obtido para o Bti foi de 70,90 minutos, com intervalos entre 60,65 e 82,88 minutos (de-

talhes no ANEXO 22). Para a aplicação do Temefós não houve mortalidade alguma até o final das observações. Foram usadas 100 larvas por tratamento.

Os resultados obtidos indicaram uma razoável eficiência dessa concentração do produto bacteriano, que no entanto permitiu ainda uma sobrevivência de 14,5% ao final das observações cerca de 3 horas após a aplicação. Avaliações 12 ou 24 horas após os tratamentos, como é adotado pela maioria dos autores, poderiam resultar em uma eficiência maior ainda, no entanto concordamos com Guillet et al. (1985c) quando assume que na prática, as larvas submetidas às CLs₁₀₀ podem morrer em 15 a 20 minutos após o início do tratamento, e portanto 3 ou no máximo 4 horas seriam suficientes para toda a expressão do efeito larvicida do Bti.

A ausência total de atividade larvicida da concentração de Temefós empregada causou perplexidade mas não surpresa, considerando-se o depoimento de frequentadores da cachoeira do Promirim (atração turística local) e o próprio nível de ataque experimentado na ocasião. A suspeita do desenvolvimento de resistência nessa espécie no litoral de São Paulo confirmou-se. A concentração de Temefós experimentada foi intencionalmente alta, e equivaleria a cerca de 80 vezes as concentrações de controle usualmente empregadas no Brasil (0,03 mg i.a./l).

A eficiência dos dois larvicidas foi também avaliada contra três diferentes idades de larvas de uma população mista de *S. pertinax* (48%), *S. spinibranchium* (40%) e *S. scutistriatum* (12%), no sistema de rampas de 60 cm, colocadas no



próprio leito do riacho. Os ensaios foram feitos no Rio Independência, Km 200 da Rodovia Rio-Santos, próximo à localidade Patrimônio (Município de Paraty/RJ) a 6 Km da divisa com o Estado de São Paulo, portanto em área não sujeita às aplicações periódicas de Temefós pela SUCEN. O Bti foi aplicado também na concentração de 3744 UI/l (10 minutos) e o Temefós, na de 2,5 mg i.a./l (10 minutos). A vazão média nas rampas era de 68,7 l/min, permitindo uma velocidade comparável à do criadouro, e praticamente a metade da estabelecida no Rio Promirim. Tal diferença possivelmente explique a ocorrência das outras duas populações no mesmo criadouro.

Foram usadas nesse ensaio 346 larvas em cada rampa, considerando-se três idades diferentes: larvas pequenas, sem histoblasto aparente; larvas médias, com histoblasto ainda não diferenciado e larvas grandes, dos últimos estádios, com histoblastos já diferenciados em filamentos branquiais.

A TABELA 29 apresenta as porcentagens finais de mortalidade obtidas para os dois larvicidas após 3 horas da aplicação. A temperatura da água era de 17,5°C e o pH 6,0.

Os resultados obtidos indicam para essa população mista uma susceptibilidade ao bacilo bastante comparável à encontrada apenas para *S. pertinax* no Rio Promirim, onde a mesma concentração causou mortalidade final de 85,5% nas larvas grandes. Os dados obtidos confirmam ainda as indicações de outros autores como Guillet & De Barjac (1979), Guillet et al. (1982a e 1985a) e Molloy et al. (1981), de que as larvas jovens dos simúlidos são mais susceptíveis ao Bti do que as mais velhas. No

presente estudo, essa diferença foi de cerca de 20% para 3 horas após o tratamento.

A pequena mortalidade obtida para o Temefós numa concentração, como foi mencionada, 80 vezes maior que as recomendadas para controle, indicou um avançado estado de resistência, apesar dessa área não estar sujeita diretamente à pressão de seleção pelo inseticida, e distar 6 Km de outras áreas tratadas.

TABELA 29. Eficiência (3 horas) de Temefós e *B. thuringiensis* var. *israelensis* (Vectobac 12 AS) contra larvas de 3 idades de *S. pertinax* e *S.* spp no Rio Independência (Paraty/RJ).

CONCENTRAÇÃO	MORTALIDADE			
	LARVAS			
	Pequenas	Médias	Grandes	Geral
/l (10 min)				
Bti 3744 UI	100,00	93,00	81,48	90,43 %
Temefós 2,5 mg i.a.	5,26	4,41	4,90	4,89 %

Segundo Comins (1977), os fatores que influenciam a rapidez com que a resistência se estabelece são: o grau de dominância do gene para a resistência, sua frequência inicial na população (ou a frequência das mutações no caso de genes raros), a periodicidade das aplicações do inseticida e a in-

tensidade de insetos que migram entre as áreas tratadas e não tratadas.

O grau de isolamento relativo da população sob pressão de seleção (pelo inseticida), na forma das taxas de endogamia, dispersão e migração, foi também apontado como importante fator ecológico no desenvolvimento de resistência (OMS, 1976).

Segundo os modelos de Curtis et al. (1978), o fato da resistência estar associada a genes recessivos, ou devido a causarem também uma redução da aptidão ou ainda graças à imigração de indivíduos susceptíveis de áreas não tratadas, são os fatores que auxiliam na reversão da seleção para a resistência.

No caso observado, o inverso desses fatores pode estar ocorrendo, isoladamente ou combinados. A periodicidade das aplicações nas áreas tratadas é alta, e já dura vários anos desde a abertura da rodovia. Ainda a dominância e adaptação do gene de resistência ao *Temefós* podem atuar, junto com a capacidade dos indivíduos adultos em se dispersarem a partir das áreas tratadas; somente assim se justificaria a elevada resistência encontrada nessa área não sujeita à seleção.

Os resultados obtidos com o uso do *Temefós* em outra população de *S. pertinax* parecem confirmar as idéias acima discutidas. O ensaio foi feito no Ribeirão da Lage, na ponta sul da Ilha de São Sebastião, local não tratado pela SUCEN, e 4,7 Km além do outro curso d'água dentro da área tratada. As rampas de 60 cm foram estabelecidas no leito do rio, com vazões de 90 l/min. A temperatura da água era de 20°C e o pH 6,0. Foram ava-

liadas duas concentrações do Temefós, de 0,5 e 2,5 mg i.a./l (10 minutos), contra respectivamente 54 e 79 larvas dos últimos estádios. Não foi observada qualquer mortalidade ou desprendimento de larvas vivas para as duas concentrações, até o final do ensaio (3 horas após a aplicação).

Essa última situação difere apenas em parte da encontrada anteriormente em Paraty. Nesse caso, a maior proximidade da orla permitiria ainda a dispersão dos adultos voando sobre o mar, fato bem conhecido dos pescadores da região em dias de pouco vento.

Registros desse tipo, sobre a ocorrência de resistência em locais aonde nunca foi aplicado inseticida, podem infelizmente ser comparados aos casos de resistência cruzada, onde insetos alvo de programas de controle já eram resistentes a alguns princípios ativos muito antes destes serem descobertos.

A susceptibilidade das larvas de *S. pertinax* ao Bti foi ainda avaliada em outro sistema de ensaio. Nesse caso, entre 4 a 6 rampas de madeira eram montadas em série no leito do riacho. Diferentes quantidades do produto eram aplicadas na água, entre as rampas, de modo a formarem de maneira crescente as concentrações desejadas nas rampas, considerando-se nesse caso os cálculos para a vazão de todo o curso d'água.

No ribeirão da Baía de Castelhanos (Ilha de São Sebastião) foram avaliadas 4 concentrações, entre 792 e 21600 UI/l (10 minutos). A população era mista de *S. pertinax* e *S. distinctum* (cerca de 1:1) e foram usadas em média 75 larvas de últimos estádios por concentração. A TABELA 30 apresenta os resulta-

dos em termos de mortalidade final, 4 horas após as aplicações.

TABELA 30. Eficiência (4 horas) de B. thuringiensis var. israelensis (Vectobac 12 AS) contra larvas grandes de S. pertinax e S. distinctum (Baía de Castelhanos).

CONCENTRAÇÃO (UI/l)	792	2.400	7.200	21.600
(10 min)				
MORTALIDADE (%)	80,6	88,4	100,0	100,0
(4 horas após)				

Os resultados obtidos indicam nessa localidade uma alta susceptibilidade das larvas dessas espécies, compatível com o já apresentado no presente trabalho (Paraty/RJ, TABELA 29 e Ubatuba/SP). Reforçam ainda o efeito adverso que as rampas supridas pelo sistema de torneiras teria, impondo pequenas vazões e velocidades às populações não típicas dessas condições, como foi mostrado na TABELA 28. Esses resultados também coincidem com as eficiências verificadas contra S. pertinax no Rio Grande do Sul, considerando-se no entanto a potência relativa das formulações usadas nos dois casos. Para o formulado Vectobac AS (600 UI/mg), a concentração de 12 mg i.a./l (1 minuto) causou numa série de aplicações, eficiências entre 87 e 100% (Ruas Neto, 1984b). No presente estudo, Vectobac 12 AS (1200 UI/mg) na concentração de 6 mg i.a./l (7200 UI/l - 10 minutos) causou 100% de eficiência.



Segundo ainda Araújo-Coutinho & Lacey (1986), aplicações de 10 mg i.a./l (1 minuto) de Vectobac (potência não especificada pelos autores) permitiriam eficiência de cerca de 80% de controle de S. pertinax no litoral de São Paulo. Também para essa espécie, Guimarães (1986) relata 100% de eficiência no laboratório para as concentrações de 2,4 e 2,0 mg i.a./l (10 minutos), e no campo 80% para a concentração de 1,8 mg i.a./l (10 minutos), no Estado do Paraná. A não citação do produto utilizado, ou a potência em termos de UI/l (tempo) nessas poucas referências sobre o assunto no nosso país, dificulta ou mesmo impossibilita maiores comparações.

Diversos trabalhos têm relatado explosões populacionais de simuliídeos associadas ao aumento de matéria orgânica em suspensão na água (Petersen, 1924; Fredeen, 1959, 1960, 1985; EPA, 1972; apud Guimarães & Medeiros, 1985). Para S. pertinax no Brasil, sua adaptação a essas águas é atípica, e tem sido relatada no Estado do Paraná (Guimarães & Medeiros, 1985, 1987 e Lozovei et al., 1986) em cursos d'água poluídos pela atividade humana. Nessa situação, da mesma forma que para o controle de pernilongos, os larvicidas necessitam ser reavaliados.

Os ensaios foram conduzidos em um pequeno riacho, com 120 l/min de vazão, na localidade Bairro da Cachoeira, Guarujá/SP. No trecho de cerca de 200 m estudado, a água recebia despejo humano de três moradias, além de detritos de criação animal, constituída de cerca de duas dúzias de patos e galinhas. As águas eram relativamente lentas (inverno), apresentando no máximo velocidades de 770 cm/s, correndo sobre um leito misto

de pequenas pedras e areia, e apresentando um aspecto turvo. Nessa época, a temperatura média era de 20°C e o pH 6,0.

Uma alta densidade populacional de *S. perti-nax* (86,4%), *S. (Inaequalium)sp* (10,9%) e *S. (Psaroniocomesa)sp* (2,7%) foi detectada, com as larvas fixadas tanto em pedras como na vegetação marginal ou folhas mortas, além de sacos plásticos de lixo e outros dejetos.

A susceptibilidade ao Bti foi tentativamente avaliada pelos critérios de TL e CL₅₀ para 6 concentrações do formulado Vectobac 12 AS. As rampas (60 cm) foram colocadas em série no riacho, distantes 2 a 3 metros uma da outra, sendo as aplicações feitas entre elas. Foi utilizada uma média de 127 larvas de últimos estádios por rampa.

A TABELA 31 apresenta os resultados de TL₅₀ obtidos para as 3 concentrações que permitiram os cálculos, além das CL₅₀ para três períodos pós aplicação e as eficiências ao final de 4,7 horas da aplicação. Os detalhes estatísticos das regressões encontram-se no ANEXO 23.

Os resultados obtidos indicam uma menor susceptibilidade das larvas dessa comunidade ao produto microbiano, sendo que para as duas menores concentrações, mortalidades finais menores que 50% foram obtidas. Entre essas duas, a maior concentração [3600 UI/l (10 minutos)] permite uma comparação com as utilizadas no Rio Promirim/Ubatuba e no Riacho Independência/Paraty, que foi de 3744 UI/l (10 minutos). Enquanto que na água lenta e turva a mortalidade obtida após 4,7 horas foi de 25,68% (TABELA 31), nos rios de águas rápidas e limpas, foi de 85,5 e

81,48% respectivamente, após 3 horas das aplicações.

TABELA 31. Tempos e concentrações letais medianos com intervalos de confiança, para larvas grandes de *S. pertinax*, *S. (Inaequalium) sp* e *S. (Psaroniocomesa) sp* tratadas com *B. thuringiensis* var. *israelensis* (Vectonaç 12 AS) em um criadouro atípico para a espécie alvo.

CONCENTRAÇÃO (UI/l-10 min)	7.200	14.400	28.800			
TL ₅₀ (min)	248,53	102,12	48,25			
LI	175,92	95,91	43,83			
LS	351,10	108,74	53,12			
TEMPO (min após)	88	158	282			
CL ₅₀ (UI/l-10 min)	19.599,8	7.688,6	5.723,7			
LI	10.158,7	5.299,7	5.040,3			
LS	37.815,1	11.303,6	6.499,7			
CONCENTRAÇÃO (UI/l-10 min)	1800	3600	7200	14400	28800	56600
EFICIÊNCIA (%) (4,7 h após)	3,67	25,68	54,13	94,39	100,00	100,00

As três maiores concentrações avaliadas poderiam ser consideradas satisfatórias para controle, e corresponderiam a 12, 24 e 48 mg/l do produto comercial, próximo ao que o fabricante recomenda para águas poluídas ou barrentas, que seria de 25 mg/l (Abbott, 1986).

A ocorrência da espécie alvo S. pertinax nessas águas atípicas para esse grupo, faz com que um cuidado redobrado seja tomado nos programas de controle. A susceptibilidade de uma espécie característica de águas turvas e lentas, S. (L.) inaequalis será discutida mais adiante, no capítulo 4.2.1.3..

Ainda na localidade Bairro da Cachoeira, o produto Abate 500 E, à base de Temefós, foi também avaliado em concentração diagnóstico única de 2,5 mg i.a./l (10 minutos) em uma rampa colocada no leito do riacho, com 120 larvas grandes. Após o término das observações, 5 horas após a aplicação, não foi observada nenhuma mortalidade ou desprendimento de larvas, indicando novamente uma alta resistência dessa espécie ao Organofosforado. Salienta-se que não se trata de área sob o controle da SUCEN e que, segundo informações dos moradores ribeirinhos, não são feitas aplicações de qualquer larvicida no curso d'água, embora o nível de incômodo, tanto a eles como principalmente aos turistas, seja alto. Segundo ainda Araújo-Coutinho (com. pessoal), frequentadores de condomínios próximos utilizariam esse produto na região, já há algum tempo.

4.2.1.2. SUSCEPTIBILIDADE DE LARVAS DE Simulium incrustatum AO B. thuringiensis var. israelensis E AO TEMEFÓS.

As ^{marginata} fêmeas de S. (Psaroniocompsa) incrustatum Lutz, 1910 são apontadas como antropofílicas e incriminadas como vetoras de oncocercose na região Neotropical.

A susceptibilidade dessa espécie foi avaliada pelo sistema de rampas de 1,2 m supridas com a água do próprio riacho aonde foram coletadas. O ensaio foi desenvolvido no Ribeirão Indaiá, Município de Ubatuba/SP em área sujeita ao programa de combate aos borrachudos (SUCEN). O trecho do riacho aonde foram feitas as coletas corta uma fazenda com criação bovina e embora o nível de borrachudos atacando humanos seja alto na região, apenas S. pertinax foi registrado na época picando pessoas. Essas observações permitem considerar ao menos nessa região, S. incrustatum como espécie alvo secundária.

A captação de água do riacho foi feita através de um cano de 7 pol ligado diretamente ao sistema de torneirinhas, permitindo uma vazão de 6 l/min nas calhas, e uma velocidade comparável à dos sítios criadouros dessa espécie, que são em águas menos rápidas do que os ocupados por S. pertinax ou S. distinctum. A temperatura da água era de 20°C e o pH 6,0. A TABELA 32 apresenta os resultados para 5 concentrações do Bti utilizadas. No ANEXO 24 encontram-se os parâmetros estatísticos e as re-



tas de regressão para os tempos letais medianos.

TABELA 32. Concentração e tempos letais medianos com intervalos de confiança para larvas de *Simulium incrustatum* tratadas com diferentes concentrações de *B. thuringiensis* var. *israelensis* (Vectobac 12 AS).

CONCENTRAÇÃO	2160	3744	6480	11340	19440
UI/l(10 min)					
TL ₅₀ (min)	53,44	42,70	34,87	30,65	16,40
LI	50,51	38,44	33,66	27,72	9,86
LS	56,54	47,43	36,13	33,89	27,29

CL₅₀/64 min (LI-LS) = 2112,0 (1524,0 - 2928,0) UI/l(10 min).

Os resultados obtidos indicam uma alta eficiência do Bti nas larvas dessa espécie, sendo que ao final do ensaio, 4,5 horas após as aplicações, todas as concentrações haviam causado 100% de mortalidade. Para as duas concentrações maiores no entanto, essa mortalidade total já havia sido causada 100 minutos após o tratamento. A CL₅₀ obtida para 64 minutos após o tratamento foi equivalente à menor concentração empregada e pode ser considerada baixa.

Os dados obtidos são bastante comparáveis aos de Guillet et al. (1982) para as larvas do complexo *S. damnosum*,

transmissor da oncocercose na África. São necessárias no entanto transformações para permitir comparar as concentrações em termos de UI/l. Esses autores trabalharam com o produto Teknar e expressam a eficiência em termos de ppm de produto formulado. Considerando-se que o produto é declarado como tendo 600 "Unidades Ae. aegypti" por miligrama e que isso corresponderia a 1500 UI/mg (Andrade, ¹⁹⁸⁹ ~~no prelo~~), para uma aplicação de 2400 UI/l(10 min) os autores obtiveram também 100% de mortalidade em larvas de VI e VII estádios, em ensaios feitos na própria água do riacho. Vale salientar que o produto Teknar avaliado era também formulado como suspensão aquosa e que outras concentrações inferiores a essa [1200, 600 e 300 UI/l(10 min)] não causaram mortalidade total.

O ingrediente ativo Temefós foi experimentado em 4 concentrações [0,02; 0,1; 0,5 e 2,5 mg i.a./l(10 min)] contra uma média de 127 larvas por rampa. Não foi observada qualquer mortalidade ou mesmo desprendimento de larvas vivas até o final das avaliações, 4 horas após os tratamentos. Esses resultados indicam também para essa espécie uma elevada resistência a esse Organofosforado, considerando-se que as concentrações operacionais (3 a 10 vezes a CL_{100}) contra populações susceptíveis em geral estão entre 0,03 e 0,1 mg i.a./l(10 min). No Rio Grande do Sul, quando aplicações na faixa entre 0,015 e 0,15 mg i.a./l(10-30 min) do Temefós deixaram de controlar S. pertinax, os tratamentos foram suspensos (Ruas Neto, 1984a). No Estado de São Paulo o emprego desse larvicida pela SUCEN ainda é corrente (outubro de 1988) e falta um programa de monitoramento de sua eficiência e detecção de resistência.

4.2.1.3. SUSCEPTIBILIDADE DE DE LARVAS DE SIMULIUM INAEQUALE AO B. thurlosiensis VAR. ISRAE- LENSIS E AO TEMEFÓS

As fêmeas adultas de S. (Inaequale) inae-
quale (Paterson & Shannon, 1927) têm preferência pelo gado e de-
vido ainda a uma pequena antropofilia (Coscarón, com. pessoal),
ao nosso ver a espécie poderia apenas eventualmente ser conside-
rado um alvo secundário em programas de controle. As larvas são
típicas de riachos pouco turbulentos, com águas não tão rápidas e
com matéria orgânica em suspensão.

Os ensaios com S. inaequale foram feitos nas
rampas de madeira de 1,2 m de comprimento, montadas sobre o pró-
prio leito do riacho criadouro. Este riacho constituía-se de um
ramal desviado do Ribeirão da Toca, na Ilha de São Sebastião, su-
jeito a aplicações periódicas do Temefós pela SUCEN. É um pequeno
curso d'água com 530 m de extensão, com 34,6 cm de largura e va-
zão de 164,8 l/min em média. Segundo informações de funcionários
daquele órgão, esse riacho recebe aplicações em 5 locais, com o
uso de 5 ou 10 ml do produto comercial Abate 500 E, equivalendo à
concentrações de 2,4 ou 4,8 mg i.a./l (6 min), a cada 15 dias;

considerando-se a vazão média na época desses ensaios (verão).

As larvas de últimos estádios de *S. inaequale* foram coletadas com o próprio substrato ao qual se prendiam, constituído de folhas, caules e raízes da vegetação marginal. Esses substratos foram dispostos nas rampas que recebiam pelo sistema de torneiras 2 l/min de água do próprio riacho, com pH 6 e temperatura média de 26°C.

Uma tentativa prévia de determinação de CL₅₀/12 horas para o bacilo mostrou que concentrações entre 240 e 2000 UI/l(10 min) estavam ao contrário do que poderia ser esperado numa faixa muito baixa; causando mortalidades inferiores a 50%. Para 5 concentrações entre 2160 e 50595 UI/l(10 min) no entanto, foi obtido 12 horas após a aplicação, a CL₅₀ de 3132,0 UI/l(10 min) com intervalo entre 2076,0 e 4716,0 UI/l(10 min) (detalhes no ANEXO 25).

Os tempos letais medianos foram avaliados para duas concentrações de Bti e outras duas menores, associadas ao Temefós. Os resultados aparecem na TABELA 33 e os parâmetros estatísticos das regressões, no ANEXO 25.

Tanto a CL₅₀/12 horas como os resultados de TL₅₀ para as concentrações experimentadas, indicam uma aparente baixa susceptibilidade de *S. inaequale* ao Bti, sendo que nenhuma das concentrações permitiu mortalidade total durante o período de 12 horas de observação. No presente trabalho, enquanto que 3744 UI/l(10 min) causou 50% de mortalidade em cerca de 80 ou 43 minutos respectivamente para *S. pertinax* e *S. incrustatum*, foram necessárias 24000 UI/l(10min) (concentração 6,4 vezes maior) para

que S. inaequale apresentasse essa mesma mortalidade em um tempo próximo (93,5 minutos). O mesmo pode ser observado para S. perti-
nax nas águas lentas e turvas do ensaio do Bairro da Cachoeira /Guarujá. Nessas condições, para 50% de mortalidade na faixa de 40-50 minutos foram necessárias 28800 UI/l(10min), concentração 7,7 vezes maior do que a usada em águas típicas (TL₅₀ = 70 min).

TABELA 33. Tempos letais medianos com intervalos de confiança para duas concentrações de B. thuringiensis var. israelensis e duas misturas dele com Temefós, contra larvas de VI e VII estágio de S. inaequale.

Bti	UI/l	(10 min)	3000	6000	12000	24000
Temefós	mg i.a./l	"	0,0375	0,075	-	-
	TL ₅₀	(min)	261,8	124,9	123,2	93,5
	LI	"	170,6	108,3	120,9	86,8
	LS	"	401,9	144,3	125,5	100,7

O principal fator envolvido nessa pequena eficiência parece ter sido a presença de uma quantidade alta de matéria em suspensão na água, dando a ela um aspecto visivelmente turvo. O leito de terra do riacho bem como resíduos orgânicos carregados de um curral próximo à sua cabeceira seriam os responsáveis pela turbidez das águas. De acordo com Walsh (1985), uma

série de pesquisadores tem estudado os fatores que afetam as taxas de ingestão em simulídeos, indicando tempos para o trânsito alimentar entre 20 minutos e 2 horas. O comportamento alimentar pode assim ser inibido quando o tubo digestivo é rapidamente cheio por partículas de valor nutritivo, ou ao contrário, fazendo com que a maior parte do alimento passe rapidamente pelo intestino sem ser afetado pelo processo de digestão (Colbo & Wotton, 1981). Em qualquer desses casos, a eficiência do Bti estaria prejudicada.

Da mesma forma que o observado para as larvas de Cx. quinquefasciatus no presente trabalho (4.1.1.2.4-) a presença de sólidos em suspensão na forma de partículas inertes ou de valor nutritivo, por influenciarem nas taxas de ingestão ou digestão ou principalmente por competirem com as partículas do produto microbiano, reduziriam a susceptibilidade ao Bti. Guillet et al. (1985d) mostraram que para S. damnosum, enquanto aumentava a turbidez da água dos ensaios de 25 para 45 UTF (Unidades de Título Formaldeídico), a $CL_{50}/24$ horas aumentava de 175 vezes. Nessas condições para uma concentração de 600 UI/l (10 min) (também do produto Vectobac AS), a eficiência caía de 98,9% para 5% contra as larvas de VI e VII estádios daquele simulídeo. Os mesmos autores ainda indicam para esse produto uma queda de eficiência de cerca de 90% para 10% com o aumento de sólidos entre 12 e 130 mg/l de água nos ensaios.

Os tempos letais obtidos para as misturas do Bti com Temefós, poderiam sugerir uma ação sinérgica, uma vez que

a mistura de 6000 UI/l com 0,075 mg i.a. causou um tempo letal mediano que não difere significativamente do provocado apenas por 12000 UI/l (10 min) do bacilo. Essa mistura no entanto, causou uma mortalidade final estabilizada em 82,7% ; abaixo da causada pelo bacilo sozinho, de 92,8% cinco horas e meia após o tratamento. Ainda o elevado tempo letal mediano para a mistura mais fraca [3000 UI com 0,0375 mg i.a./l (10 min)] e a mortalidade final de apenas 50,9% permitiram suspeitar que se tratava de ação apenas da bactéria.

As tentativas de se estabelecer tempos ou concentrações letais para o Temefós não tiveram sucesso algum, indicando também nesse caso uma elevada resistência a esse inseticida e confirmando que houve atuação apenas do bacilo nos ensaios com as misturas.

Nos primeiros ensaios, para 6 concentrações de Temefós entre 0,5 e 2,7 mg i.a./l (10 min) , não foi obtida mortalidade alguma até 12 horas após os tratamentos. Em outra série de aplicações, 5 concentrações entre 3,78 e 14,41 mg i.a./l (10 min) resultaram em mortalidades entre 0,0 e 7,8% após 12 horas, não correlacionadas com as concentrações. O máximo de larvas vivas que se desprenderam das rampas e foram coletadas nas peneiras foi de 22,9%, para a concentração de 10,29 mg i.a./l (10 min); cuja mortalidade final após 12 horas no entanto foi zero. O critério adotado por vários autores e inclusive usado para a avaliação de larvicidas no controle de *S. gammadum* no oeste africano (Kurtak et al., 1987), de considerar mortas todas as larvas desprendidas das rampas 24 horas após os tratamentos, mesmo levando-

se em conta que o desprendimento das rampas testemunhas era menor que 1%, nos parece que precisa ser urgentemente revisto. A diferença entre desprendimento e morte para os ensaios com Piretróides por exemplo é bastante indicativa disso; como foi mostrado por Muirhead-Thomson (1970). Para esses princípios ativos, é típica uma elevada taxa de desprendimento das larvas de borrachudos, acompanhada de uma baixa mortalidade.

A presença de larvas de tricópteros vivas e outras mortas em algumas rampas, sugere que possivelmente a resistência ao Temefós também venha se desenvolvendo nesse grupo.

Para se avaliar o efeito da duração dos tratamentos pelo Bti contra S. inaequale, foram feitas 3 aplicações de 12000 UI/l, expondo-se as larvas à essa concentração por 1, 10 e 25 minutos. A TABELA 34 apresenta os tempos letais medianos. As retas de regressão e demais parâmetros estatísticos encontram-se no ANEXO 26.

Os tempos letais medianos obtidos para os três períodos de exposição poderiam sugerir que esse fator seja importante na eficiência do bacilo nessas condições, principalmente se as larvas de S. inaequale permanecem sem se alimentar por longos períodos. Tal é o caso para S. ornatum (Schroder, 1980), S. vitatum (Craig & Chance, 1982) e S. venustum (Morkry, 1975) que ficam segundo esses autores 34%, 30% e 66% do tempo respectivamente sem se alimentar. Para S. damnosum no entanto, Guillet et al. (1985d) mostraram que uma mesma dose absoluta (300 UI/l) de Bti, quando aplicada em tempos variando entre 1 e 54 minutos, provocava um aumento de eficiência proporcional entre 56,6

e 92,2% ; para um formulado também Vectobac AS.

TABELA 34. Eficiência e tempos letais medianos com intervalos de confiança para a concentração de 12000 UI/l de *B. thuringiensis* var. *israelensis* (Vectobac 12 AS) para três tempos de exposição, contra larvas grandes de *S. inaequale*.

CONCENTRAÇÃO	12000 UI/l			
	EXPOSIÇÃO (min)	1	10	25
TL ₅₀ (min)		360,9	147,5	119,2
LI		320,1	139,2	111,3
LS		407,0	156,4	127,7

Dos resultados obtidos para *S. inaequale*, embora tenha se verificado uma diferença significativa na susceptibilidade quanto ao TL₅₀ para os três tempos de exposição, deve-se considerar no entanto, que em termos absolutos, a maior exposição corresponderia na verdade ao uso de 2,5 vezes mais produto do que na exposição intermediária, para um mesmo resultado final 14 horas após (100% de mortalidade). O menor tempo avaliado (1 minuto), representaria nesse caso uma quantidade absoluta 10 vezes menor, com eficiência final inferior (75% de mortalidade), mas ainda melhor do que as causadas por outras concentrações em 10 minutos (ver pag. 204 ?).

180. 

91

4.2.1.4. INFLUÊNCIA DO TIPO DE RIACHO NA EFICIÊNCIA DO CARREAMENTO DE B. thurlosiensis var. israelensis E DOIS LARVICIDAS QUÍMICOS

Um dos fatores determinantes no uso de larvicidas contra borrachudos é a avaliação da eficiência que diferentes produtos ou formulações têm à várias distâncias do ponto de aplicação por gotejamento. Esses parâmetros são fundamentais na definição da extensão dos trechos de rios e riachos a serem tratados e na otimização de formulações para que tenham o máximo possível de transporte.

Para se avaliar o carreamento de diferentes produtos em riachos, o método mais comum empregado é o de contagem pré e pós aplicação, tanto das larvas de borrachudo como da fauna não alvo, à diferentes distâncias do ponto de aplicação. Embora seja mais prático, esse é um método que pode ser indireto pois alguns produtos induzem um desprendimento do macrobentos nem sempre relativo à mortalidade. Para contornar esse problema, torna-se necessária a instalação de redes para coletar a fauna desprendida e aí avaliar as mortalidades. Esse procedimento torna o método bem menos prático.

Pesquisadores japoneses têm proposto nesses estudos de carreamento de larvicidas, a aplicação conjunta de co-

rantes fluorescentes (uranina) ou de cloreto de sódio (4%) e avaliações por fotoespectrometria ou condutividade respectivamente (Yasuno et al., 1981, 1982a, 1982b e Hasegawa et al., 1982); método prático, mas também indireto.

No presente estudo, foram feitas aplicações de três produtos em dois riachos, sendo que o potencial inseticida nas diferentes distâncias do ponto de aplicação foi avaliado diretamente em bioensaios no laboratório contra larvas de Cx. quinquefasciatus no início do IV estágio. Foram utilizadas 100 larvas para cada coleta de água, com duas repetições.

As aplicações de Temefós, Bti (Bactimós DE) e Diflubenzuron foram feitas em dois tipos diferentes de riacho, com vazões relativamente próximas, entre 6,3 e 12,5 m³/min. Após as aplicações por gotejamento durante 30 ou 60 minutos, dois litros de água do riacho foram coletados em oito pontos, entre 50 e 855 metros abaixo, considerando-se as vazões e velocidades médias da água. No laboratório, a potência relativa dos diferentes larvicidas nos diferentes pontos foi avaliada pelo parâmetro de tempo letal mediano.

O primeiro riacho, na localidade Bairro do Morro (Itatiba/SP) era caracterizado por possuir suas águas mais lentas, devido ao pequeno declive do terreno. Apresentou vazões menores e temperaturas mais altas, correndo a céu aberto. Suas águas eram turvas e o leito constituído de terra e areia. Nos trechos mais largos (menos profundos) existia vegetação aquática, e em quase toda sua extensão, vegetação marginal lançando-se para a água. O segundo riacho, na Fazenda Ermida (Serra do Japi-

Jundiaí/SP), era relativamente mais caudaloso com águas mais rápidas e cristalinas. Correndo sobre uma mata secundária bem formada, apresentava um leito essencialmente pedregoso e íngreme. As temperaturas registradas foram inferiores nas suas águas. A TABELA 35 apresenta essas características para as diferentes aplicações.

TABELA 35. Caracterização de dois riachos quando da avaliação do carreamento de três larvicidas para o controle de borrachudos.

	Bti 5000 UI/l (30 min)	LARVICIDA Temefós 0,125 mg i.a./l (30 min)	Di-flubenzuron 0,05 mg i.a./l (60 min)
Bairro (Temp. (°C))	22,0	24,0	24,5
do (Vazão (m ³ /min))	9,24	6,30	6,36
Morro (Veloc. (m/s))	3,8	4,3	2,3
(Fundo: areia e terra; com vegetação aquática e marginal)			
Faz. (Temp. (°C))	12,0	12,0	17,0
Ermida (Vazão (m ³ /min))	12,53	12,53	8,38
(Veloc. (m/s))	6,3	6,8	6,0
(Fundo: pedra sem vegetação de fundo e marginal)			

Para se verificar que concentrações haviam sido realmente aplicadas nos riachos, foi ainda coletada água acima dos pontos de aplicação. No laboratório, agora para um volume conhecido e não estimado como no campo, a eficiência das mesmas concentrações dos três produtos foram também avaliadas. A TABELA 36 mostra os tempos letais medianos em minutos obtidos para as diferentes distâncias abaixo da aplicação, para os três produtos nos dois tipos de riachos. Os valores estatísticos e as retas das regressões aparecem no ANEXO 27.

Pelos resultados obtidos, comparando-se primeiramente a relação entre os dois tipos de água no ponto zero (concentrações aplicadas no laboratório), pode-se notar que para os três produtos, o potencial larvicida foi sempre maior na água mais turva do riacho de Itatiba, superioridade essa da ordem de 1,3 a 1,5 vezes. Esse fenômeno, ao menos para o Di-flubenzuron e o Temefós, coincide com o observado quando se comparou no presente trabalho ensaios em água mineral com aqueles feitos em água de esgoto. A presença de sólidos em suspensão, caso tenham valor nutritivo, age como foi discutido estimulando a alimentação das larvas e uma maior susceptibilidade à esses agentes que atuam via oral poderia ser esperada (detalhes no ANEXO 27).

Comparando-se agora os potenciais larvicidas nas diferentes distâncias da aplicação, pode-se notar que já aos 50 metros há uma inversão. No riacho mais lento e menos turbulento a eficiência é menor, causando tempos letais medianos sempre maiores do que aqueles causados no riacho rápido e turbulento. A aparente causa dessa inversão seria a maior homogeneização (melhor

distribuição) desses formulados nas águas mais agitadas, a despeito de favorecerem menos a ingestão dos produtos pelas larvas do culicídeo.

Para 50 e 75 metros abaixo, no riacho que eficientemente teria distribuído os produtos (água limpa), os tempos letais medianos foram próximos aos encontrados para a água do outro riacho, turva, nas concentrações precisamente estabelecidas no laboratório (ponto zero). Isso não deveria ocorrer, e indica que as concentrações finais realmente aplicadas no campo foram superestimadas, resultado do método empregado para os cálculos de vazão, que não é realmente preciso (Leitritz, 1959 e Needham & Needham, 1972). Considerando-se que no laboratório foi promovida uma uniformização das concentrações, semelhante às que ocorreram no riacho turbulento, a comparação dos TL_{50} entre o ponto zero e 50 ou 75 metros (ou ainda 112 metros para o Diflubenzuron) poderia dar uma idéia da relação entre as concentrações desejadas e as realmente obtidas nos riachos. Essa relação para o caso do Bti seria de 1,2 vezes; para o Temefós estaria entre 1,4 e 1,6 vezes e para o Diflubenzuron, considerando-se também o ponto a 112 metros da aplicação, a relação seria entre 1,8 e 2,1 vezes.

TABELA 36. Tempos letais medianos e intervalos de confiança para larvas de *Cx. quinquefasciatus* expostas à água de dois riachos diferentes tratados com três tipos de larvicidas, a diferentes distâncias do ponto de aplicação. (I. = Itatiba; J. = Serra do Japi)

METROS ABAIXO DO PONTO DE APLICAÇÃO									
	50	75	112	169	253	380	570	855	
TL50	266,0	199,7	359,1	322,5	291,3	244,2	381,0	8949,0	
B I.	LI-LS	211-242	186-241	330-390	318-326	245-346	232-256	340-425	188-42400
t >									
i	TL50	86,5	87,8	125,3	129,0	124,9	140,2	177,8	177,7
J.	LI-LS	82-90	83-92	102-153	115-144	115-134	130-151	159-198	158-192
T	TL50	106,5	132,7	143,7	120,5	118,4	443,4	-	-
e	LI-LS	80-140	111-158	125-164	113-127	110-126	215-913	-	-
m >									
e	TL50	57,7	66,7	76,7	86,7	64,1	70,0	5020	1494
f	LI-LS	44-75	54-81	67-87	77-97	38-107	54-90	614-41011	99-22537
D	TL50	538,2	630,7	431,7	676,2	636,9	671,5	729,7	597,9
i	LI-LS	509-568	585-679	383-486	644-709	604-671	632-713	700-759	555-643
f >									
l	TL50	237,2	200,6	231,2	470,5	840,7	1353,1	999,1	3687,3
u	LI-LS	204-275	176-228	210-253	454-487	757-933	1229-1489	925-1078	2470-5505



Considerando-se agora todos os pontos de coleta e atribuindo-se ao primeiro (50 m) um valor arbitrário igual a 1,0, pode-se notar pela TABELA 37 que o melhor desempenho foi o do Diflubenzuron no riacho menos turbulento, com um bom carreamento até o último ponto avaliado (855 m). O pior carreamento seria igualmente desse larvicida, só que no riacho turbulento, com 50% apenas do potencial já no ponto 169 m abaixo. A eficiência do carreamento para os outros dois larvicidas (Bti e Temefós), que são concentrados emulsionáveis, não foi tão diferente para os dois riachos, no entanto diferiram entre si.

TABELA 37. Potência relativa de três larvicidas aplicados em dois tipos de riacho, oito distâncias abaixo da aplicação (para TL₅₀ contra *Cx. quinquefasciatus*).

LARVICIDA (conc. alvo)	RIACHO	DISTÂNCIA (m) ABAIXO À APLICAÇÃO							
		50	75	112	169	253	380	570	855
Bti (5000 UI/l)	Itatibal	1	1,1	0,6	0,7	0,7	0,9	0,6	0,02
	Japi	1	0,9	0,7	0,7	0,7	0,6	0,5	0,5
Temefós (0,125 mg/l)	Itatibal	1	0,8	0,7	0,8	0,9	0,2	-	-
	Japi	1	0,8	0,7	0,6	0,9	0,8	0,01	0,03
Diflubenz. (0,05 mg/l)	Itatibal	1	0,8	1,2	0,8	0,8	0,8	0,7	0,9
	Japi	1	1,1	1,0	0,5	0,2	0,2	0,2	0,06

O Bti no riacho mais lento perdeu grandemente sua eficiência aos 855 m, enquanto que no outro riacho, a essa distância da aplicação, conservava ainda cerca de 50% de carreamento.

O Temefós no riacho mais lento perdeu eficiência já aos 380 m da aplicação, enquanto no outro riacho, isso foi ocorrer aos 570 m.

No Brasil, o carreamento de produtos à base de Bti tem sido mais avaliado em função das vazões dos rios e riachos criadouros de *S. pertinax*. Assim, Araújo-Coutinho e Lacey (1986) indicam que para riachos com vazões de 0,3 a 10 m³/min, pode-se esperar 80% de eficiência (mortalidade ou desprendimento) de 100 a 300 m abaixo da aplicação. Para outros cursos d'água maiores, na faixa de 10 a 45 m³/min, essa eficiência se estenderia a 500 ou 800 m abaixo. Considerando-se que os produtos avaliados foram também concentrados emulsionáveis, os resultados obtidos por esses autores assemelham-se aos do presente trabalho.

Os resultados obtidos por Ruas Neto et al. (1985) no Rio Grande do Sul, com um formulado concentrado emulsionável (Teknar) e outro suspensão aquosa (Vectobac), coincidem também com os acima discutidos. Para rios com vazões entre 5,1 a 15,0 m³/min esses pesquisadores encontraram o que denominaram de "transporte ativo" (mortalidade mínima de 90%) para uma distância entre 500 e 750 m abaixo das aplicações.

O advento de novas formulações de Bti específicas para o controle de borrachudos, à base de óleo ou de água, com maior potência e capacidade de deslocamento, estimulam muito

essas avaliações, principalmente considerando-se que em muitos lugares o Temefós precisa ser substituído e que ao menos para os rios da África (Kurtak et al., 1987), apresenta carreamentos bastante elevados, chegando-se até a 50 Km nos rios maiores.

Para o Diflubenzuron, Lacey & Mulla (1979b) indicaram eficiências de carregamento pobres e variáveis em pequenos riachos artificiais (vazões entre 0,2 e 0,4 m³/min), no entanto indicam para a concentração 0,2 mg i.a./l(60 min), total eficiência contra as larvas de *S. bivittatum* e *S. argus* em toda a extensão de 3,5 Km de um riacho natural, com vazão de 36,6 m³/min. Os mesmos autores indicam em outro trabalho (Lacey & Mulla, 1978) que, tanto o pH da água como a densidade populacional das larvas nos criadouros quanto a turbidez, não afetam a atividade larvicida do Diflubenzuron nos borrachudos.

Essas questões acima discutidas, associadas ainda ao fato de que nem sempre a potência dos produtos à base de Bti, expressa em Unidade Internacional (contra *Ae. aegypti*), encontra correspondência contra os borrachudos (Lacey & Heitzman, 1985) sugere que ao menos no primeiro ponto de avaliação (30 ou 50 m abaixo) seja feita uma avaliação nas próprias larvas de borrachudos. Nesse caso, o sistema de colonização de algumas rampas no leito do riacho, como foi desenvolvido no presente trabalho, poderia complementar a metodologia do uso das larvas de *Cx. quinquefasciatus* como indicadores. A presença da espécie alvo *S. rectinax* em riachos pequenos e turvos (ou poluídos), indicada também no presente trabalho, constitui-se em mais uma forte razão para se aprimorar essas técnicas de avaliação de carregamento.



4.2.1.5. DETECÇÃO DE RESISTÊNCIA AO TEMEFÓS EM POPULAÇÕES DE S. pertinax

Segundo estimativas recentes nos Estados Unidos (Dover & Croft, 1986), os prejuízos financeiros acarretados pelo desenvolvimento de resistência em pragas agrícolas chegaria facilmente à cifras da ordem de 450 milhões de dólares por ano. Na área de Saúde Pública ou bem-estar social, os danos não podem ser traduzidos simplesmente em cifras, no entanto, para o caso de S. pertinax no Brasil, três atividades envolvendo diretamente a economia dos municípios são atingidas; a produtividade agrícola, a pecuária e o turismo. Soma-se a esses prejuízos, os gastos com a compra e aplicação de um produto para o qual a espécie alvo já desenvolveu, às vezes há muito tempo, resistência.

Vários critérios podem ser utilizados para se considerar uma espécie resistente, e assim redirecionar os programas de controle. Um dos mais simples é baseado nas concentrações operacionais; quando estas não controlam mais, assume-se que a espécie desenvolveu resistência. Tal critério já foi usado no Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina para se suspender o uso do Temefós contra S. pertinax (Ruas Neto, 1984a; Paz e Guimarães, com. pessoal). Outros critérios envolveriam cálculos de CL₅₀, fatores de resistência (relação CL₅₀ ou CL₉₉), doses diagnóstico ou provas bioquímicas (Knipling, 1950; Guillet et al., 1980; Traoré-Lamizana et al., 1985 e Raymond & Mouches, 1986).

No presente trabalho, além de ter sido detectada alta resistência nas larvas de *S. pertinax* e outras espécies utilizando-se ensaios com larvas (TABELA 37), foram desenvolvidos outros dois métodos.

TABELA 37. Resistência ao Temefós detectada em simulídeos por meio de ensaios com larvas.

LOCAL	DATA	ESPÉCIE	CONCENTRAÇÃO		MORT.	APÓS
			mg i.a./l(10min)		%	
ILHABELA/ SP (Toca)	Jan./87	<i>S. inaequale</i>	0,15	a 14,4	4,4-7,8	12
ILHABELA/ SP (Castelhanos)	Jan./87	<i>S. pertinax</i> (48%) <i>S. distinctum</i> (52%)	0,2		18,7	4,5
UBATUBA/SP (Perequê)	Mar./87	<i>S. incrustatum</i>	0,02	a 2,5	0,0	6,0
UBATUBA/SP (Promirim)	Mar./87	<i>S. pertinax</i>	2,5		0,0	3,0
PARATY/RJ (Patrimônio)	Mai./87	<i>S. pertinax</i> (48%) <i>S. spp</i> (52%)	2,5		4,9	3,0
ILHABELA/ SP (Lage)	Mar./88	<i>S. pertinax</i>	0,5	e 2,5	0,0	3,0
CAMPINAS/ SP (Unicamp)	Jun./88	<i>S. (C.) sp.n.</i>	0,5	a 1,25	0,0	6,0
GUARUJÁ/SP (Cachoeira)	Set./88	<i>S. pertinax</i> (86%) <i>S. (P.) spp</i> (14%)	2,5		0,0	5,0

De acordo com Brown (1986), os ensaios com larvas, pela sua própria natureza, são mais sensíveis do que com adultos para se detectar mudanças nos níveis de susceptibilidade.

Segundo esse mesmo autor, pode-se assumir grosseiramente que quando a CL_{50} para as larvas aumenta de 10 ou 100 vezes, tem-se um aumento respectivamente de apenas 2 ou 4 vezes na DL_{50} para os adultos. Como os ensaios com larvas de *S. pertinax* realizados no presente trabalho não resultaram em mortalidades que permitissem sequer tais cálculos, optou-se então por ensaios com adultos, visando-se ainda a definição de aplicações diagnóstico.

A metodologia foi adequada do proposto por Kurtak & Quedrigo (1984) para a avaliação de Temefós e Clorfoxim em *S. damnosum* na África, de modo a permitir resultados em menos tempo e no campo. Utilizou-se de início no presente trabalho, fêmeas e machos de *S. perflavum* coletados na juzante de um lago próximo à Cidade Universitária- Campinas/SP. Os ensaios prévios mostraram que tratamentos nos adultos só com acetona (0,5 μ l) provocava mortalidades entre 2 a 6% após 14 horas, mas que no entanto, a falta de alimento (sacarose a 20%) induzia nesse mesmo período entre 30 a 44% de mortalidade, a despeito de qualquer aplicação. A progressão da mortalidade ao longo do tempo, indicou também que as respostas após 3 a 5 horas da aplicação apresentavam-se as mais coerentes com as concentrações, sendo que nas testemunhas a mortalidade era baixa o suficiente para se dispensar correções como a de Henderson & Tilton (1955).

Os resultados obtidos para a aplicação tópica de Temefós em adultos de *S. perflavum* encontram-se na TABELA 38 e os parâmetros estatísticos das regressões no ANEXO 28.

TABELA 38. Doses letais com intervalos de confiança, para machos e fêmeas adultos de *S. perflavum* sujeitos à aplicação tópica de Temefós, 3 horas após. (b= coeficiente angular).

DL ₅₀ (LI-LS)	314,8	(205,7 - 481,9) ng i.a./indivíduo
DL ₉₉ (LI-LS)	5.808,0	(3.562,9-9.467,9)
b= 1,8		

Os valores obtidos para essa espécie confirmam o desenvolvimento de resistência em borrachudos dessa região, já verificada nos ensaios com as larvas de *S.* (*Chirostiphia*) (espécie nova) (Tab.37) e são aparentemente altos quando comparados com os obtidos por Kurtak & Quedrango (1984), sugerindo um elevado e insuspeito nível de resistência. Nessa região não há sabidamente o emprego de Temefós, ficando como melhor hipótese a possibilidade de resistência cruzada a outros Organofosforados, empregados em diversas hortas da região e carregados para as águas aonde existem criadouros dessa espécie.

Os resultados obtidos para fêmeas adultas de uma população resistente de *S. pertinax* avaliada na cachoeira do Rio Promirim (conf. TABELA ³⁷~~32~~), indicam igualmente uma DL₅₀ e uma DL₉₉ altas; acima ainda do que foi encontrado para *S. perflavum* mas não diferindo estatisticamente. Para uma população de *S. pertinax* susceptível, avaliada no Parque Nacional da Bocaina/RJ, às margens do Rio Camburi, os valores de DL₅₀ e DL₉₉ foram bem inferiores e com diferenças altamente significativas (TABELA 39 e



ANEXO 29).

TABELA ³⁹ ~~44~~. Doses letais com intervalos de confiança para fêmeas adultas de *S. (C.) recitina* sujeitas à aplicação tópica de Temefós, 3 horas após. (b= coeficiente angular).

RIO PROMIRIM - Ubatuba / SP

DL ₅₀ (LI-LS)	401,5	(333,9 - 482,8)	ng i.a./indivíduo
DL ₉₉ (LI-LS)	14.666,4	(12.196,4-17.636,5)	" "
b= 3,8			

RIO CAMBURI - Angra dos Reis / RJ

DL ₅₀ (LI-LS)	48,4	(30,6 - 76,6)	ng i.a./indivíduo
DL ₉₉ (LI-LS)	2.139,5	(1.150,2-3.979,0)	" "
b= 2,0			

Os valores encontrados para a população susceptível coincidem com o indicado por Kurtak & Quedraogo (1984) para *S. soubrense* / *S. sanctipauli* três horas após a aplicação, cuja DL₅₀ foi de 33 ng i.a./adulto; apesar das diferenças na metodologia.

A constatação de que a resistência de *S. recitina* ao Temefós já está bem estabelecida, provavelmente há muito tempo, pode ser feita pela análise da inclinação das retas de regressão (coeficiente angular b) e mesmo pelos fatores de resistência (FR) para 50 e 99% de mortalidade.

Segundo Burges (1971), um aumento no coeficiente angular (e na DL_{50}) sem correspondente aumento na DL_{99} reflete apenas uma redução na variabilidade da população para a susceptibilidade, resultado de uma redução dos fenótipos sensíveis. O aparecimento de uma resistência real é frequentemente acompanhado de uma inicial diminuição na inclinação (aumento na variabilidade) causada pelo aumento na frequência de um gene (ou genes) semi-dominante para resistência, que estaria presente na maioria das vezes na forma heterozigota, em um complexo gênico não totalmente adaptado. Com a continuidade da pressão de seleção por um período maior, a inclinação pode aumentar, pois os genótipos homozigotos para o gene de resistência são favorecidos e o complexo gênico ao qual estão associados torna-se mais adaptado. É o que pode-se observar para *S. peritrix* comparando-se as populações do Promirim e do Parque da Bocaina; um aumento nas DLs e um aumento em b .

Em programas de controle aonde há um monitoramento, o desenvolvimento de resistência bem estabelecida pode ser evitada. Na Costa do Marfim, o uso de Temefós contra as larvas do complexo *S. damnosum* iniciou-se em janeiro de 1977. Nessa época foram definidas as CL_{50} e CL_{99} . Dezesseis meses após, as concentrações operacionais necessitavam ser aumentadas. Constatou-se um aumento da CL_{50} (FR_{50}) de apenas cerca de 2,3 vezes, mas no entanto, um $FR_{99,9}$ de cerca de 45 vezes (diminuição de b), indicando o começo de um processo de seleção para resistência verdadeira. As aplicações foram suspensas e o controle mudou utilizando-se o Clorfoxim (Guillet et al., 1980). Os dados de Kurtak

& Ouedraogo (1984) permitem determinar para os seus ensaios com adultos no Volta Superior, um FR50 de 5,9 e um FR95 igual a 2,3; possivelmente reflexo de uma resistência já mais estabelecida do que na Costa do Marfim. Esses autores propuseram como dose diagnóstica, 50 ng i.a./ inseto adulto.

No presente trabalho o FR50 para *S. pertinax* foi de 8,3 e o FR99 de 6,8. Esses resultados claramente indicam porque não se conseguiu estabelecer concentrações eficientes contra as larvas; considerando-se que grosseiramente um aumento na DL50 contra adultos de 8 vezes poderia corresponder a um aumento de 1.000 vezes na CL50 para larvas (Brown, 1986). Convém mencionar novamente, que em muitas regiões do litoral do Estado de São Paulo, esse produto vem sendo empregado pelos órgãos Públicos há 16 anos.

Em função dos resultados obtidos, propõe-se para *S. pertinax* o uso de duas doses como diagnóstico. Essas seriam equivalentes à DL50 para susceptíveis (50 ng i.a./ind.) e à DL50 para os resistentes (400 ng i.a./ind.), para observação em dois horários (3 e 5 horas) após as alicações. Sugere-se ainda duas repetições, com um total de 40 adultos/dose.

A avaliação dessa metodologia diagnóstico proposta, foi feita dois meses após a definição das DLs e os resultados podem ser observados na TABELA 40.

As mortalidades obtidas permitem confirmar a viabilidade do método como ferramenta para o monitoramento de resistência ao Temefós, considerando-se também a sua praticidade. Não mais do que uma hora de trabalho em geral é necessário para as

coletas e aplicações, que podem facilmente serem feitas no campo. Assim em poucos dias toda uma região sujeita a controle poderia ser avaliada periodicamente. De acordo com Kurtak & Quedraogo (1984) a imprecisão da recomendação que fazem seria provavelmente da ordem de 20%. Acredita-se que com as adaptações propostas, como o uso de duas doses-diagnóstico e duas leituras, e ainda evitando-se a anestesia por CO₂ (5 min.), manipulação por pinças, soluções em álcool (evaporam menos rapidamente) e o tratamento após 24 horas da coleta, essa precisão seja bem maior.

TABELA 40. Porcentagem de mortalidade pelo Temefós em fêmeas adultas de *S. rectinax* para populações resistente e susceptível.

	DOSE DIAGNÓSTICO	MORTALIDADE (%) APÓS	
		3 horas	5 horas
RESISTENTE (R. Promirim Ubatuba/SP).	50 ng i.a./ind.	0,0	4,35
	400	0,0	36,37
SUSCEPTÍVEL (R. Camburi Angra Reis/RJ).	50 ng i.a./ind.	52,1	85,3
	400	78,3	97,3

O segundo método para detecção de resistência em *S. rectinax* baseia-se em prova bioquímica. Os inseticidas Organofosforados são classicamente inibidores da enzima Acetilcolinesterase (AChE) pois atuam como substrato competitivo à nível das sinapses colinérgicas, permitindo um excesso de Acetilcolina após a passagem do sinal nervoso e conseqüente inibição da condu-



ção ao longo dos nervos.

Dentre os mais conhecidos mecanismos bioquímicos de resistência estão a detoxificação por degradação oxidativa (Sistema de oxidases de função mista) ou reação de hidrólise por esterases ou substâncias tipo Glutation-S-transferase. Essas últimas mais comumente associadas à resistência aos Organofosforados. Ainda em relação a esse grupo de inseticidas, diversos trabalhos têm mostrado em mosquitos o mecanismo de insensibilidade ao Temefós, devido à alta expressão de uma isoenzima (AChE) (Plapp, 1976; Georghiou & Pasteur, 1978; Georghiou et al., 1980; Mouches et al., 1986; Raymond et al., 1986; Tang & Wood, 1986 e Villani & Hemingway, 1987).

Para os borrachudos esses trabalhos são recentes, e ao menos Magnin et al. (1987) puderam indicar que a atividade total de esterases de *S. damnosum* parece ser correlata com os níveis de resistência ao Temefós e ao Clorfoxim. Inicialmente, Meredith (1983) demonstrou uma atividade esterásica muito elevada em adultos desse complexo de espécies, provenientes de regiões aonde ocorria resistência. Em outros estudos, Guillet (1985) e Kurtak et al. (no prelo) (apud Magnin et al., 1987) demonstraram que um inibidor de esterase, o DEF (S,S,S,tributil-fosforotioato), conferia aos Organofosforados uma notável ação sinérgica; efeito já apontado em documento da OMS em 1982 (WHO, 1982).

A possibilidade de se avaliar de maneira prática uma alta atividade de esterases em adultos ou larvas de dípteros, isoladamente ou em grupos, foi apenas desenvolvida para o pernilongo doméstico *Cx. quinquefasciatus* (Pasteur & Georghiou,

1981 e Raymond & Mouches, 1987). Essa avaliação era a princípio feita por eletroforese em gel de amido. Embora não muito prática, poderia ser feita mesmo no campo, e já vem sendo empregada para gafanhotos no Japão há algum tempo (Ozaki, 1969; apud Pasteur & Georghiou, 1981). Atualmente é feita pelo método de carimbo em papel de filtro.

No presente estudo, as adaptações ao método em questão permitiram uma maior uniformização das manchas obtidas em papel de filtro, graças às gotas de macerado de larvas ao invés do "carimbo" originariamente proposto para pernilongos. Ainda o estabelecimento de um volume de larvas e não um número fixo, permitiria eventualmente a comparação de espécies diferentes, ou mesmo populações mistas, o que frequentemente ocorre com *S. pertinax*. Permite também o diagnóstico independentemente da idade das larvas utilizadas.

Os resultados obtidos revelaram manchas escuras (alta atividade esterásica) em larvas resistentes de *S. pertinax* do Bairro da Cachoeira-Guarujá/SP (conf. TABELA 37) e em uma espécie nova de *S.* (*Chirostilbia*) de Picinguaba-Ubatuba/SP. Para outras duas populações foram obtidas manchas claras (atividade esterásica normal): *S. pertinax* susceptível do Riacho Camburi, Parque Nacional da Bocaina/RJ e *S. dinelli*, cujas larvas foram coletadas no Beauvedere (Km 85) da Rodovia Mogi das Cruzes-Bertioga/SP (FIGURA 06). A susceptibilidade dessa última espécie foi confirmada em um ensaio de campo. Larvas dos últimos estádios (cerca de 580) fixadas sobre uma rocha clara de quartzo no leito do riacho, sob uma fina lâmina d'água, permitiram a avaliação direta da mortalidade, dispensando-se o uso das rampas de madeira.

A temperatura média da água durante as observações era de 17°C e o pH 6,5. A aplicação de 0,5 mg i.a./l(10 min) resultou em um tempo letal mediano de 90,64 minutos, com intervalo entre 84,41 e 97,33 (detalhes no ANEXO 30). A eficiência geral após 4 horas foi de 93,5%, confirmando níveis normais de resposta ao Organofosforado.

FIGURA 05. Atividade esterásica de populações resistentes e susceptíveis de borrachudos pelo método de gotejamento em papel de filtro.



5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem elaborar conclusões de ordem mais geral, referentes à ecologia da supressão de pernilongos e borrachudos, bem como outras sobre a ação dos agentes bióticos e abióticos avaliados. A seguir são enumeradas as conclusões de maior importância.

1. As populações estudadas do pernilongo doméstico *Culex quinquefasciatus*, responderam dentro de uma faixa normal de susceptibilidade a larvicidas químicos e biológicos, indicando não haver o desenvolvimento de resistência nessas populações.

Os resultados obtidos para o Temefós indicam que os padrões propostos pela O.M.S. precisam ser revistos, seja para a linha base de susceptibilidade ou dose diagnóstico.

Concluiu-se também que as avaliações de *Bacillus sphaericus* não devem ser feitas após 48 horas das aplicações (prática normalmente adotada), devendo-se optar pelo critério de CL_{50} (9 ou 12 horas após) ou pelo critério de TL_{50} para concentrações altas.

Os produtos a base de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* podem ser avaliados em larvas do III estágio misturadas às do início do IV estágio; mas não em populações no final deste último estágio. A diferença na resposta a preparados ou isolados, embora padronizados em termos de UI/mg contra larvas de *Aedes aegypti*, permite sugerir também o uso de *Cx. quinquefas-*

riatus como inseto teste para a determinação de taxas de atividade e caracterização de formulados.

2. Os estudos sobre as respostas de larvas de Cx. quinquefasciatus em água do seu criadouro (esgoto) (susceptibilidade relativa), indicam que seu controle é possível com os agentes aqui avaliados. A sua sensibilidade aos agentes químicos mostrou-se maior quando comparada às avaliações em água mineral. Para o Bti, o inverso ocorreu, possivelmente devido aos aspectos ecológicos que estimulam as taxas de filtração nessas larvas, como a quantidade de partículas nutritivas e a densidade populacional. De qualquer forma, todos esses agentes precisariam ser usados em concentrações maiores do que as que foram eficientes na água limpa, considerando-se também a elevada decomposição no habitat natural do inseto alvo.

3. Misturas entre as bactérias e os princípios ativos químicos mostraram-se possíveis (compatibilidade). A avaliação do Bti associado ao Temefós permite um nítido sinergismo temporal.

4. A quantidade de sólidos em suspensão na água, está inversamente correlacionada com a eficiência do Bti, podendo inclusive inviabilizar sua utilização. Concentrações da alga Chlorella minutissima possíveis de serem encontradas em criadouros de Cx. quinquefasciatus, teriam pronunciado efeito adverso nos preparados a base desse bacilo.

5. A baixa susceptibilidade de Cx. rostrataensis, espécie amazônica de pernilongo, a um formulado do Bti, permite confirmar a ne-

cessidade de estudos bioecológicos de qualquer espécie alvo, antes de se optar pelo controle microbiano.

6. A população avaliada de *Aedes aegypti* mostrou-se susceptível tanto ao Temefós quanto ao Bti, nas concentrações de controle. Misturas desses agentes são sinérgicas, mais econômicas e possivelmente induzem menos o desenvolvimento de resistê

ncia. Para o produto microbiano, as larvas de III estágio são mais susceptíveis do que as no início do IV; e estas mais susceptíveis do que as no final desse estágio, indicando que a idade das larvas deve ser considerada nos ensaios.

7. Em área malarígena na Serra dos Carajás, a população avaliada de *Anopheles triannulatus* mostrou-se susceptível ao Bti e ao Temefós. Para a bactéria, TL_{50} bem maiores do que os encontrados para *Culex* spp ocorrem, no entanto a eficiência final contra esses mosquitos se equivale. Para o organofosforado, a susceptibilidade dessa população vetora potencial se equivale tanto à população de *Ae. aegypti* quanto à de *Cx. quinquefasciatus* avaliadas. Também contra esse anofelino, a mistura dos agentes mostrou-se sinérgica.

8. Nas avaliações de campo, em água de esgoto com aguapé, o uso tanto do Bti, do Temefós ou do Diflubenzuron é viável. O uso integrado do organofosforado e do bacilo oferece elevada eficiência e controles satisfatórios por mais de duas semanas.

9. As populações do borrachudo *Simulium pertinax*, alvo de campanhas de controle no nosso Estado, ocorrem associadas a outras espécies dependendo de aspectos ecológicos dos criadouros. Avaliações de agentes bióticos ou abióticos contra as larvas de borrachudos, devem ser feitas no campo e levar em conta essas características ecológicas, tais como o tipo de água, temperatura, pH, sólidos em suspensão, velocidade, espessura da lâmina d'água e outras.

10. As populações de *S. pertinax*, nas águas limpas de seus criadouros típicos, sozinhas ou associadas a outras espécies, podem ser bem controladas com o Bti, em concentrações na faixa entre 4000 e 7000 UI/l (10 minutos).

11. Em águas mais lentas, poluídas e turvas, aonde pode-se encontrar populações adaptadas de *S. pertinax*, concentrações acima de 15000 UI/l (10 minutos) do bacilo são necessárias para eficiente controle, indicando uma menor susceptibilidade para essas condições ambientais.

12. *Simulium incrustatum*, espécie alvo secundário, é mais susceptível ao Bti do que *S. pertinax* no seu criadouro típico.

13. *Simulium inaequale*, espécie típica de águas mais lentas e turvas, e de pouca importância em programas de controle, mostrou-se menos susceptível ao Bti do que *S. pertinax* no seu criadouro típico; susceptibilidade essa, semelhante à da espécie alvo em água poluída.



14. Com relação ao carreamento de produtos, sejam químicos ou microbiano, pode-se concluir que riachos com águas mais rápidas e turbulentas, sobre pedras, levam o produto por distâncias maiores. Para essas avaliações em criadouros de borrachudos, ensaios de laboratório com larvas de pernilongos seriam mais adequados do que os métodos indiretos usualmente empregados. A praticidade em se instalar pequenas rampas de madeira no leito dos riachos e colonizá-las com larvas de borrachudo, seria quando viável, o método preferível.

15. O uso não controlado do Temefós no litoral do Estado de São Paulo durante mais de 15 anos, levou as populações de várias espécies de borrachudo a desenvolverem elevada resistência a esse princípio ativo. A migração entre populações sob pressão de seleção e outras livres desse processo, permitiu o desenvolvimento de resistência em áreas nunca sujeitas aos tratamentos periódicos por esse produto.

16. A detecção de populações de *S. bartinax* resistentes é possível e prática; seja por bioensaios com larvas, pela aplicação tópicamente em fêmeas adultas ou pelo teste dos níveis de esterase; desenvolvidos no presente trabalho.

6 - RESUMO

Dentro de um enfoque ecológico, o presente estudo se propõe a investigar o potencial supressivo de alguns agentes, objetivando a elaboração de critérios e metodologias para o manejo de populações de pernilongos e borrachudos. O trabalho foi desenvolvido tanto sob condições de campo como de laboratório e se concentra nas duas espécies mais importantes nas condições do Estado de São Paulo : o pernilongo doméstico Culex quinquefasciatus e o borrachudo Simulium pertinax. Outras duas espécies de mosquitos consideradas vetoras, Aedes aegypti e Anopheles triannulatus também foram estudadas. Avaliou-se como agentes químicos o Organofosforado Temefós e "reguladores" de crescimento a base de Benzoilfeniluréia. Como larvicidas biológicos foram avaliadas duas bactérias já industrializadas e de uso corrente no exterior.

Por meio de bioensaios efetuados sob condições controladas (susceptibilidade absoluta), verificou-se que o Diflubenzuron atua eficientemente em concentrações pequenas contra as larvas de Cx. quinquefasciatus. O Temefós mostrou eficiências semelhantes às encontradas por outros autores em espécies correlatas, no entanto fora dos padrões propostos pela O.M.S.. As avaliações das bactérias Bacillus sphaericus e B. thuringiensis var. israelensis permitiram a definição de concentrações eficientes, bem como elaborar propostas sobre critérios para a padronização de formulados a base desses patógenos.

As larvas de *Cx. quinquefasciatus*, quando na água de esgoto do seu criadouro, e em maior densidade populacional nas unidades de bioensaio (susceptibilidade relativa), mostraram-se mais susceptíveis aos agentes abióticos Temefós ou Diflubenzuron do que quando na água limpa. Nessas condições, o inverso ocorreu para a bactéria Bti. Possíveis fatores relativos à essas diferenças são analisados.

No sentido de se utilizar de maneira integrada os agentes bióticos e os produtos químicos, foi verificada *in vitro* a compatibilidade entre o crescimento vegetativo de *B. thuringiensis* tanto com o Temefós quanto com o Diflubenzuron. Nos estudos de laboratório, misturas entre o Bti e Temefós mostraram ação sinérgica contra as larvas do pernilongo doméstico.

Como há normalmente uma elevada concentração de bactérias coliformes ou algas unicelulares nos criadouros de *Cx. quinquefasciatus*, avaliações sobre o seu papel na eficiência de um formulado a base de Bti foram realizadas. Pode-se constatar o efeito adverso que partículas dessa natureza impõem ao patógeno, limitando suas chances de emprego nesses ambientes.

Ainda sob condições de laboratório, uma espécie amazônica de pernilongo, *Cx. roxoaensis*, mostrou-se pouco susceptível ao Bti. As populações de *Ae. aegypti* e *An. triannulatus*, mostraram-se susceptíveis tanto a esse patógeno como ao Temefós. Misturas desses agentes revelaram-se sinérgicas contra as últimas duas espécies. São elaboradas propostas no sentido de utilização de produtos com tais princípios ativos, em programas de controle desses vetores.

Os estudos de campo com pernilongos indicaram ser possível a supressão satisfatória de populações urbanas de *Cx. quinquefasciatus*, mesmo em águas de esgoto colonizadas pela planta flutuante aguapé. A avaliação do uso associado do larvicida biológico a base de Bti e do Temefós mostrou-se também viável.

No presente estudo propõe-se um sistema para a avaliação no campo da susceptibilidade de larvas de borrachudos a agentes de supressão. Discute-se a praticidade do método e a eficiência de preparados a base de Bti contra a espécie alvo *S. pertinax*, além de *S. in crustatum* e *S. loaequale*. A relevância de fatores como a idade das larvas, características da água dos criadouros e tempo de exposição à bactéria é discutida. A aplicação no campo de um produto a base desse patógeno, mostrou-se eficiente contra *S. pertinax* e *S. distinctum*, em concentrações inferiores às empregadas rotineiramente contra essa espécie no sul do Brasil e contra outras no exterior.

Dois riachos com características diferentes principalmente quanto ao leito, velocidade e turbulência das águas, foram estudados em termos do transporte eficiente de larvicidas neles aplicados. O método proposto envolve a coleta de água e bioensaios no laboratório, com larvas de *Cx. quinquefasciatus*. O riacho com água mais rápida, limpa e encaichoada sobre pedras, apresentou de maneira geral maior carreamento.

Avaliações de campo com o Temefós contra borrachudos, indicou uma altíssima resistência em várias espécies, dentro e fora da área no litoral norte de São Paulo, sujeita ao controle periódico por esse princípio ativo. Discute-se os aspectos

tos ecológicos do desenvolvimento desse processo, e propõe-se além dos ensaios com larvas no campo, dois outros métodos práticos para o monitoramento de resistência em programas de manejo. O primeiro envolve a susceptibilidade dos adultos ao larvicida, avaliada pela aplicação tópica de duas concentrações diagnóstico propostas. O segundo método baseia-se na comparação entre os níveis de esterases de populações susceptíveis e resistentes, a partir de um macerado de larvas submetido em papel de filtro, aos indicadores dessas enzimas.

7. SUMMARY

The present work was undertaken to investigate the potentiality of some agents to suppress populations of mosquitoes as well as blackflies, within an ecological framework. The work was undertaken under field and laboratory conditions. These investigations concentrate principally on the most important species, in the State of São Paulo: the domestic mosquito *Culex quinquefasciatus* and *Simulium pertinax*. However, both of them do not play any important role as vector of human diseases and are recognized as the most important antropophylic dipterous species in our State.

Populations of *Aedes aegypti* and *Anopheles triannulatus*, very important vectors, were also investigated in the present study.

Two chemical products and two microbial insecticides were utilized as mortality factors.

Low concentrations of products based on Diflufenuron showed to be very effective against *Cx. quinquefasciatus*. The results obtained for the organophosphorus compound Temefos showed to be similar to those of other authors. These results, however, indicate the inadequacy of the WHO recommendations concerning the normal levels of sensitivity to this compound.

The microbial agents *Bacillus sphaericus* and *B. thuringiensis* (H:14) showed to be highly pathogenic to *Cx. quinquefasciatus* larvae. Recommendations concerning standardization

of the products based on these pathogens are given.

In comparison with fresh water, sewage water increased the sensitivity of *Cx. quinquefasciatus* to the chemical insecticides: and reduced the susceptibility to *B. thuringiensis*. Such a reduction could be caused by the suspended material in this type of water, including bacteria and unicellular algae.

Populations of *A. aegypti* and *An. triannulatus* showed to be more susceptible to Bti than *Cx. rostratensis*. These two species were also sensitive to Temefos as well as to a mixture of Temefos and Bti. Suggestions to use the above mentioned products are given.

The bioassays undertaken under field conditions indicated the high possibility to use Bti as well as Temefos as the effective control agents against *Cx. quinquefasciatus*.

For the different species of blackflies, a method to evaluate the efficiency of larvicides under the field condition is suggested. The results obtained by this method revealed the susceptibility of all studied species to Bti.

The capacity of transport of the chemical as well as microbial larvicides in two streams was evaluated. Such a capacity was determined by means of laboratory bioassays conducted with *Cx. quinquefasciatus* larvae.

Natural populations of some blackfly species showed to be highly resistant to Temefos. These populations have been frequently treated by this product for more than 15 years, by government agencies.



Two simple methods are presented to detect resistance among blackfly larvae and adults.

B. LITERATURA CITADA

- Abbott, 1986. Product Label Guide- 1986; Abbott Laboratories / Chemical & Agricultural Products Division. Chicago, E.U.A. 29 pp.
- Allen, K. R., 1941. Studies on the biology of the early stages of the salmon (*Salmo salar*). 2. Feeding habits. J. Anim. Ecol., 10: 47-76.
- Aly, C. 1985. Germination of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* spores in the gut of *Aedes* larvae (Diptera: Culicidae) J. Invertebr. Pathol., 45: 1-8.
- Ameen, M. & T. M. Iversen, 1978. Food of *Aedes* larvae in a temporary forest pool. Arch. Hydrobiol., 83: 552-564.
- Anderson, J. & G. Voskuil, 1963. A reduction in milk production caused by the feeding of blackflies (Diptera: Simuliidae) on dairy cattle in California, with notes on the feeding activity on other animals. Mosquito News, 23: 126-131.
- Anderson, R. C., 1956. The life cycle and seasonal transmission of *Ornithofilaria fallisensis* Anderson, a parasite of domestic and wild duck. Can. J. Zool., 34: 485-525.
- Andrade, C. F. S., no prelo. Manejo Integrado de borrachudos. Anais XI. Conar. Bras. Entomol. (Campinas /SP, 1987).
- Andrade, C. F. S., 1976. Compatibilidade entre *Bacillus thuringiensis* e Piretro. IIIº Colóquio de Incentivo à Pesquisa. UNESP- São José do Rio Preto / SP. Resumos: 27.
- Andrade, C. F. S., 1987. Controle de pernilongos e borrachudos com novos produtos químicos e biológicos. IIIº Encontro Anual Met. Controle de Pragas. ESALQ- USP: 29-39.
- Andrade, C. F. S. & J. M. G. Ferraz, no prelo. Sensibilidade de *Spodoptera frugiperda* (Abbot & Smith, 1797) à dois inseticidas à base de benzoilfeniluréia. Pesq. Agrop. Bras.
- Anônimo, 1985. Tropical Disease Research. ch. 1. Overview, pp. 1/3-1/12. Seventh Programme Rep. UNDP / World Bank / WHO. Genebra. 278 pp.
- Anônimo, 1986. Malaria vaccines. Nature, 319 (6055): 613.
- Arata, A. A., 1986. Ecological strategies: Biological and Integrated control of vectors of human diseases and agricultural

- pests - Distribution Draft. Manuscrito não publicado. 72 pp.
- Araújo-Coutinho, C. J. P. C. & L. A. Lacey, 1986. Avaliação em condições naturais de três formulações de concentrado emulsificável de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H 14) para controle de simuliídeos no Litoral Norte do Estado de São Paulo. I Sem. Vet. Urb. e Anim. Sinan. (São Paulo/SP, 1986). Resumos: 27.
- Araújo-Coutinho, C. J. P. C.; Maia-Herzog, M. & B. C. Souza, 1988. Levantamento das espécies do gênero *Simulium* Latreille (Diptera, Simuliidae) no litoral norte do Estado de São Paulo. *Revta. Bras. Ent.*, 32(1): 11-17.
- Axtell, R. C., 1979. Principles of integrated Pest Management (IPM) in relation to mosquito control. *Mosquito News*, 32(4): 709-736.
- Axtell, R. C., 1982. Evaluation of ABB-6108-II WP for control of *Culex pipiens* larvae in swine waste lagoons in North Carolina. *Agric. Chem. Exp. Sum.* (Abbott), D-986-4225. 5p.
- Axtell, R. C.; Rutz, D. A. & T. D. Edwards, 1980. Field tests of insecticides and insect growth regulators for the control of *Culex quinquefasciatus* in anaerobic animal waste lagoons. *Mosquito News*, 40(1): 36-42.
- Azevedo, J. L. & S. O. P. da Costa, 1973. "Exercícios Práticos de Genética". EDUSP, São Paulo. 288 pp.
- Babu, C. J.; Panicker, K. N. & P. K. Das, 1983. Breeding of *Aedes aegypti* in closed septic tanks. *Indian J. Med. Res.*, 77: 637.
- Bai, M. G.; Panicker, K. N. & P. K. Rajagopalan, 1981. Biology of the predator mosquito, *Toxorhynchites splendens* (Wiedemann) (Diptera: Culicidae). *Indian J. Med. Res.*, 74: 13-17.
- Barrera, R. R.; Machado-Allison, C. E. & L. A. Bulla, 1981. Breeding places persistence, succession and population regulation in three urban Culicidae. *Acta Cient. Venez.*, 32(5): 386-393.
- Barretto, M. P., 1940. Observações sobre a ecologia dos anofelinos do Grupo *Nyssorhynchus* (Diptera: Culicidae). *Rev. Ent.*, 11: 159-172.
- Basrur, P. K., 1959. The salivary gland chromosomes of seven segregates of *Prosimulium* (Diptera: Simuliidae) with a transformed centromere. *Can. J. Zool.*, 37: 527-570.
- Basrur, P. K., 1962. The salivary gland chromosomes of seven species of *Prosimulium* from Alaska and British Columbia. *Can. J. Zool.*, 40: 1019-1033.

- Bates, M., 1949. The natural history of mosquitoes. N. Y., MacMillan Co., 169 pp.
- Beams, B. F., 1978. Public education in Orange County. Calif. Mosquito and Vector Cont. Assoc. Proc., 44: 40-41.
- Becher, H. M.; Becker, P.; Prokic-Immel, R. & W. Wirtz, 1983. CME 134, a new chitin synthesis inhibiting insecticide. Proc. X Intern. Congr. Plant Protection 1983: 408-415.
- Belkin, J. N., 1962. The mosquitoes of the South Pacific (Diptera, Culicidae). Univ. of California Press, Berkeley e Los Angeles.
- Benarroch, E. I., 1931. Studies on malaria in Venezuela. Am. J. Hyg., 14: 690-693.
- Benham Jr., G. S., 1974. Pest management: A student commentary on contemporary problems. Bull. Entomol. Soc. Amer., 20: 319-326.
- Benz, G., 1971. Synergism of micro-organisms and chemical insecticides. Em "Microbial Control of Insects and Mites" H.D. Burges & N. W. Hussey eds., Academic Press, N. Y. e Londres. pp. 327-356.
- Bialy, H., 1986. Cloned malaria vaccine enters the clinic. Bio/Technol., 4(5): 384.
- Birmingham, B. C. & B. Colman, 1977. The effect of two organophosphate insecticides on the growth of freshwater algae. Can. J. Bot., 55: 1453-1456.
- Bishop, F. C., 1933. Mosquitoes kill live stock. Science, 77: 115-116.
- Bittencourt, E. C. R. & U. P. Alves, 1977. Uma nova proposição sistemática para a subfamília Culicinae. Ciência e Cultura, 29(7): 138.
- Blanton, F. S.; Galindo, P. & E. L. Peyton, 1955. Report of 3-year light trap survey for biting Diptera in Panama. Mosquito News, 15: 90-93.
- Boer, F. G., 1976. Summary data sheet on Diflubenzuron. Philips-Duphar B. V. Report n° 56683/4/1976. 30 pp.
- Boormann, J. P. T., 1960. Studies on the biting habits of 6 species of culicine mosquito in a West African village. W. Afr. Med. J., 9: 235-246.
- Bouch, G. M. & J. C. Batterton, 1970. Ecological aspects of Pesticide-Microbial relationships. Em "Environmental Toxicology of Pesticides" Matsumura, F.; Bouch, G. M. & T. Misato eds. Academic Press, N. Y. e Londres. pp. 401-422.

- Bourgouin, C.; Larget-Thiery, I. & H. De Barjac, 1984. Efficacy of dry powders form *Bacillus sphaericus*: RB-80, a potent reference preparation for biological titration. J. Invert. Pathol. 44: 146-150.
- Brader, L., 1979. Integrated pest control in the developing world. Ann. Rev. Entomol., 24: 225-254.
- Bradley, G., 1935. Notes on the southern buffalo gnat, *Eusimulium pecuarum* (Riley) (Diptera: Simuliidae). Proc. Entomol. Soc. Wash., 37: 60-64.
- Briese, D. J., 1981. Resistance of insect species to microbial pathogens. Em "Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases" E. W. Davidson ed. Allanheld Osmun & Co., N. Y. pp. 511-545.
- Brooke, J. P. & J. B. King, 1977. Some entomological aspects of integrated control of vector borne disease. Mosquito News, 37 (3): 339-343.
- Brown, A. W. A., 1983. Insecticide resistance as a factor in the integrated control of Culicidae. Em "Integrated Mosquito Control Methodologies" V.1., M. Laird & J. W. Miles eds. Academic Press, N. Y. e Londres, 369 pp.
- Brown, A. W. A., 1986. Insecticide resistance in mosquitoes: A pragmatic review. J. Amer. Mosq. Control Assoc., 2(2): 123-140.
- Brown, T. M.; De Vries, D. H. & Brown, A. W. A., 1973. Induction of resistance to insect growth regulators. J. Econ. Entomol., 71: 223-229.
- Bruce-Chwatt, L. J. & R. A. Fitz-John, 1951. Mosquitoes in crab-burrows on the coast of West Africa and their control. J. Trop. Med. Hyg., 54: 116-121.
- Burges, H. D., 1971. Possibilities of pest resistance to microbial control agents. Em "Microbial Control of Insects and Mites" H. D. Burges & N. W. Hussey eds. Academic Press, N. Y. e Londres, 860 pp.
- Burr, M., 1954. "The Insect Legion". Nisbet Ed., Londres. 336 pp
- Burton, G. J., 1963. Coastal survey of *Aedes aegypti* - breeding in British Guiana. Ann. Trop. Med. & Parasitol., 57: 446-451.
- Candeletti, T. M., 1985. Economics of salt-marsh mosquito control in Ocean County, New Jersey. N. J. Mosq. Control Assoc. Proc., 22: 75-78.
- Cantwell, G. E. & M. Laird, 1966. The World Health Organization kit for the collection and shipment of pathogens and parasi-

- tes of diseased vectors. J. Invertebr. Pathol., 8: 442-451.
- Carlsson, G.; Elsen, P. & K. Muller, 1981. Trapping Technology-Larval Blackflies. Em "Blackflies - The Future for Biological Methods in Integrated Control" M. Laird ed. Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp.
- Carpinter, S. J. & W. J. La Casse, 1955. Mosquitoes of North America (North of Mexico). Univ. of California Press, Berkeley e Los Angeles, 132 pp.
- Carvalho Franco, A., 1940a. O *Rivulus santiesia* como elemento de combate às larvas anofelinas dos bananais da baixada litorânea. Arg. Hig. S. Públ., 5: 125-127.
- Carvalho Franco, A., 1940b. Os peixes larvófagos na luta contra a malária. Publ. Serv. Profil. Malária, 13: 1-18.
- Castello Branco Jr., A. & C. F. S. Andrade, 1988. Ocorrência de microsporídeos e mermitídeos em populações de simuliídeos. Anais II Sem. Nac. de Vet. Urb. e Anim. Sinan. (Porto Alegre/RS) Resumos: 63-64.
- Castello Branco Jr., A.; Cecílio, A. T. B.; Mendeleck, E.; Donato J. L.; Moreira, L. F. D. P. & N. S. Cordeiro, 1987. Ocorrência de microsporídeos e mermitídeos em populações de Simuliidae. V Encon. Int. Est. de Pesq., UNICAMP (Campinas/SP). Resumos: 24.
- Causey, D. R. & M. Theiler. 1958. Virus antibody survey on sera of residents of the Amazon Valley in Brazil. Amer. J. Trop. Med. & Hyg., 7: 36-41.
- Cerqueira, N. G., 1959. Sobre a transmissão da *Mansonella ozzardi*. J. Bras. Med. Rio de Janeiro, 1(7): 885-914.
- Chapman, H. C., 1978. What mosquito control districts might want to know about Biological Control. Mosquito News, 38(4): 459-461.
- Charles, J. F. & L. Nicolas, 1986. Recycling of *Bacillus sphaericus* 2362 in mosquito larvae, a laboratory study. Ann. Inst. Pasteur Microbiol. 137 B(1) 101-102.
- Charlwood, J. D. & T. J. Wilkes, 1981. Observations on the biting activity of *Anopheles triannulatus bachmanni* from the Mato Grosso, Brazil. Acta Amazonica, 11(1): 67-69.
- Christophers, S. R., 1960. *Aedes aegypti* (L.), the yellow fever mosquito. It's life history, bionomics and structure. Cambridge Univ. Press. 384pp.
- Cibulsky, R. J., no prelo. Industrial production of *Bacillus thuringiensis* H-14. Anais XI Congr. Bras. Entomol. (Campinas / SP, 1987).

- Clements, A. N., 1963. The physiology of mosquitoes. Pergamon Press, Oxford. 393 pp.
- Cloudsley-Thompson, J. L., 1976. Insects and History. Weidenfeld and Nicolson ed. Londres 242pp
- Colbo, M. H. & R. S. Wotton, 1981. Preimaginal blackfly bionomics. Em "Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control" M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres. 398 pp.
- Comings, H. N., 1977. The development of insecticide resistance in the presence of migration. J. theor. Biol., 64: 177-197.
- Coscarón, S., 1986a. Los grupos supra específicos del Genero Simulium Latreille, en la región Neotropical (Simuliidae, Diptera, Insecta). XIV Congr. Bras. Zool. (Juiz de Fora / MG). Resumos: 60.
- Coscarón, S., 1986b. Estado actual de los conocimientos biológicos, ecológicos y taxonomicos de los simulidos en la Región Neotropical. I Sem. Vet. Urb. e Anim. Sinan. (São Paulo/SP). Resumos: 19-20.
- Coscarón, S., no prelo. Los estudios ecológicos en Simulideos Neotropicales (Diptera: Insecta). Anais XI Congr. Bras. Entomol. (Campinas/SP, 1987).
- Coulman, G. A.; Reice, S. R. & R. L. Tummala, 1972. Population modeling: A systems approach. Science, 121: 518-521.
- Covia-Garcia, P., 1951. Distribucion geografica y datos bionomicos de los anofelinos de Venezuela. Pub. Div. de Malaricid., 10: 1-352.
- Crisp, G., 1956. An ephemeral fauna of torrents in the northern territories of the Gold Coast with special reference to the enemies of Simulium. Ann. Trop. Med. Parasit., 50: 260-267.
- Crosby, T. K., 1978. A record of Culiseta tonnoiri (Diptera: Culicidae) biting the penguin Eudiptes pachyrhynchus (Aves: Spheniscidae). New Zeal. J. Zool., 5(4): 811-812.
- Crosskey, R. W., 1969. A re-classification of the Simuliidae (Diptera) of Africa and its islands. Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Ent.) Suppl., 14: 1-195.
- Crosskey, R. W., 1981a. Simuliid Taxonomy - The Contemporary Scene. Em "Blackflies - The Future for Biological Methods in Integrated Control" M. Laird ed. Academic Press, N. Y. e Londres. 398 pp.
- Crosskey, R. W., 1981b. Geographical Distribution of Simuliidae. Em "Blackflies - The Future for Biological Methods in Inte-

- grated Control" M. Laird ed. Academic Press, N. Y. e Londres. 398 pp.
- Curtis, C. F.; Cook, L. M. & R. J. Wood, 1978. Selection for and against insecticide resistance and possible methods of inhibiting the evolution of resistance in mosquitoes. Ecol. Entomol., 3: 273-287.
- Cyanamid, 1980. "Abate - Larvicida". Cyanamid Agricultural Research Division. American Cyanamid Co. Manual Técnico, 39 pp.
- Dadd, R. H., 1970a. Comparison of rates of ingestion of particulate solids by *Culex pipiens* larvae: Phagostimulant effect of water-soluble yeast extract. Entomol. Exp. Appl., 13: 407-419.
- Dadd, R. H., 1970b. Relationship between filtering activity and ingestion of solids by larvae of the mosquito *Culex pipiens*: A method for assessing phagostimulant factors. J. Med. Entomol., 7: 708-712.
- Dadd, R. H., 1971. Effects of size and concentration of particles on rates of ingestion of latex particles by mosquito larvae. Ann. Entomol. Soc. Amer., 64: 687-692.
- Dadd, R. H., 1973. Autophagostimulation by mosquito larvae. Entomol. Exp. Appl., 16: 295-300.
- Dalmat, H. T., 1955. The black flies (Diptera, Simuliidae) of Guatemala and their role as vectors of onchocerciasis. Smith. Misc. Coll., 125(1): 1-42.
- Dame, D. A.; Lowe, R. E.; Wichterman, G. T.; Cameron, A. L.; Baldwin, K. F. & T. W. Miller, 1976. Laboratory and field assessment of insect growth regulators for mosquito control. Mosquito News, 36(4): 462-473.
- Darorai, A. & R. E. Menzer, 1977. Behavior of Abate in microorganisms isolated from polluted water. Arch. Environ. Contam. & Tox., 5: 229-240.
- Davidson, E. W., 1982. Bacteria and the control of arthropod vectors of human and animal disease. Em "Microbial and Viral Pesticides" E. Kurstak ed., Marcel Dekker Publ., N. Y., 289-315 pp.
- Davidson, E. W., 1984. Microbiology, Pathology and Genetics of *Bacillus sphaericus*. Biological aspects which are important to field use. Mosquito News, 44: 147-152.
- Davies, L., 1974. Evolution of larval headfans in Simuliidae (Diptera) as inferred from the structure and biology of *Crozetia crozetensis* (Womersley) compared with other genera. Zool. J. Linn. Soc., 55: 193-224.

- Davies, D. M., 1981. Predators upon blackflies. Em "Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control". M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp
- Deane, L. M., 1986. Malaria Vectors in Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz R. L., 81(II): 5-14 (Intern. Symp. on Malaria).
- Deane, L. M.; Deana, M. P.; Ferreira Neto, J. A. & F. B. Almeida, 1971. On the transmission of simian malaria in Brasil. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 13:311-319.
- Deane, L. M.; Causey, O. R. & M. P. Deane, 1984. Notas sobre a distribuição e a biologia dos Anophelinos das regiões Nordeste e Amazônica do Brasil. Rev. Ser. Esp. Saúde Pub., 1: 822-965.
- Debaisieux, P., 1919. Une chytridinée nouvelle: Coelomycidium simulii, nov. gen. nov. esp. C. r. Seanc. Soc. Biol., 82: 899-900.
- De Barjac, H., 1978. Une nouvelle variété de Bacillus thuringiensis très toxique pour les moustiques, Bacillus thuringiensis var. israelensis serotype H-14. C. R. Acad. Sci. (Paris), 286 D: 797-800.
- De Barjac, H., 1986. Toxicité de Bacillus thuringiensis var. israelensis pour les larves d'Aedes aegypti et d'Anopheles stephensi. C. R. Acad. Sci., 286, D: 1175-1178.
- De Barjac, H. & J. Coz, 1978. Sensibilité comparée de six espèces différentes de moustiques à Bacillus thuringiensis var. israelensis. Bull. M.H.O., 57: 139-141.
- De Barjac, H. & I. Larget, 1979. Proposal for the adoption of a standardization method for the evaluation of insecticidal formulations derived from serotype H-14 of Bacillus thuringiensis. Doc. Mimeogr. OMS/WHO/VBC-79-744. Geneva, 15 pp.
- Dellome Filho, J., 1978. Fatores físico-químicos dos criadouros de Simuliidae (Diptera, Nematocera). Tese de mestrado (INPA/FUA). 75 pp.
- Dellome Filho, J., 1983. Considerações sobre os fatores físico-químicos dos criadouros de Simulium gouldii Cerqueira & Mello 1967 (Diptera, Simuliidae). Rev. Brasil. Entomol., 27(2):155-160.
- Dhillon, M. S. & M. S. Mulla, 1981. Biological activity of green alga Chlorella ellipsoidea against immature stages of mosquitoes. Mosquito News, 41(2): 368-372.
- Dhillon, M. S. & M. S. Mulla, 1982. Impact of green alga Chlorella ellipsoidea on development and survival of mosquitoes breeding in cemetery vases. Environ. Entomol., 11(2): 292-296



- Disney, R. H. L., 1972. Observations on sampling preimaginal populations of blackflies (Diptera: Simuliidae) in West Cameroon. Bull. Entomol. Res., 61: 485-503.
- Dover, M. J. & B. A. Croft, 1986. Pesticide resistance and public policy. Bio. Science. 36(2): 78-85.
- Downes, J. A., 1958. The feeding habits of biting flies and their significance in classification. Ann. Rev. Entomol., 3: 249-266
- Dubitskii, S. M., 1981. Blackfly control occasioned by major hydroelectric projects in the USSR from 1955-1965. Em "Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control", M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp.
- Duke, B. D. L., 1967. Infective filaria larvae other than *Onchocerca volvulus*, in *Simulium damnosum*. Ann. Trop. Med. Parasit., 61: 200-205.
- Duke, D. B. L., 1970. *Onchocerca-Simulium* complex. VI- Experimental studies on the transmission of Venezuelan and West Africa strains of *Onchocerca volvulus* by *Simulium metallicum* and *S. exiguum* in Venezuela. Ann. Trop. Med. Parasit., 64(4):422-431
- Dulmage, H. T., 1981. Insecticidal activity of isolates of *Bacillus thuringiensis* and their potential for pest control. Em Burges, H. D. ed., "Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980", Academic Press, N. Y. e Londres. 949 pp.
- Dunbar, R. W., 1959. The salivary gland chromosomes of seven forms of blackflies included in *Eusimulium aureum* Fries. Can. J. Zool., 37: 495-525.
- Dunbar, R. W., 1976. The East African situation and a review of the *Simulium damnosum* complex as a whole. WHO/VBC/SC/ 76.20.
- Dunbar, R. W. & C. G. Vajime, 1981. Cytotaxonomy of the *Simulium damnosum* complex. Em "Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control", M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp.
- Duphar, sem data. Dimilin, An insecticide interfering with chitin deposition. Tech. Inform. Duphar B. V., Amsterdam, Holanda. 8^e ed., 35 pp.
- Edgar, S., 1953. A field study of the effect of blackfly bites on egg production of laying hens. Poultry Sci., 32: 779-780.
- Edman, J. D. & K. R. Simmons, 1985. Rearing and colonization of black flies (Diptera: Simuliidae). J. Med. Entomol., 22: 1-17.
- Ezenwa, A. O., 1974a. Ecology of Simuliidae, Mermithidae and Microsporidia in Newfoundland freshwaters. Can. J. Zool., 52:557-565.

- Ezenwa, A. O., 1974b. Studies on host-parasite relationship of Simuliidae with mermitids and microsporidians. J. Parasit., 60: 809-813.
- Eldridge, B. F. & J. Callicrate, 1982. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* de Barjac for mosquito control in a wester Oregon log pond. Mosquito News, 42(1): 102-105.
- Fallis, A. M. 1964. Feeding and related behavior of female Simuliidae (Diptera). Exptl. Parasit., 15: 439-470.
- Fallis, A. M.; Desser, S. S. & R. A. Khan, 1974. On species of Leucocytozoon. Em "Advances in Parasitology" B. Dawes ed, Academic Press, N. Y. e Londres, pp. 1-67.
- Faran, M. E. & K. J. Linthicum, 1981. A handbook of the Amazonian species of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera; Culicidae) Mosquito Systematics, 13(1): 01-91.
- Filho, C. F. R., 1987. *Aedes albopictus*, yellow fever and the Americas. Ann. Intern. Med., 106(2): 333.
- Finlay, C., 1881. El mosquito hipoteticamente considerado como agente de trasmision de la fiebre amarilla. An. Acad. Cienc. Med. (Havana), 18: 147-169.
- Fish, D. & S. R. Carpenter, 1982. Leaf litter and larval mosquito dynamics in tree-hole ecosystems. Ecology, 63: 283-288.
- Fisher, R. A. & F. Yates, 1971. Tabelas Estatísticas para Pesquisa em Biologia, Medicina e Agricultura. Ed. Poligono, PP.
- Fleetwood, S. C. & B. R. Craven, 1978. Economic effects of flood water mosquito breeding in dredged disposal areas (spoils) on mosquito control operations in southwestern Louisiana. Mosquito News, 38(4): 507-509.
- Focks, D. A.; Sackett, S. R.; Dame, D. A. & D. L. Bailey, 1983. Ability of *Toxorhynchites amboinensis* (Dobleschall) (Diptera: Culicidae) to locate and oviposit in artificial containers in an urban environment. Environmtl. Ent., 12(4): 1073-1077.
- Fontaine, R. E., 1983. The use of residual insecticides for the control of adult of mosquitoes. Em "Integrated Mosquito Control Methodologies" V.1, M. Laird & J. W. Miles eds., Academic Press, N. Y. e Londres, 369 pp.
- Foot, R. H., 1954. The larvae and pupae of the mosquitoes belonging to the *Culex* subgenera *Melanocroton* and *Mochlostyrax*. Tech. Bull. U. S. Dept. Agric. n° 1091.
- Forattini, O. P., 1958. Culicídeos que se criam em buracos de carangueijos. Rev. Brasil. Biol., 18: 175-179.

- Forattini, O. P., 1965. *Entomologia Médica*. V. 3. EDUSP, São Paulo, 416 pp.
- Forattini, O. P.; Bianchini, N. R.; Bianchini, J. P. e E. X. Rabello, 1963. Notas sobre Culicidae (Diptera). 5. Observações sobre a evolução de cinco espécies, em condições de laboratório, com a descrição de alguns ovos. *Arg. Fac. Hig. (S. Paulo)* 17: 205-215.
- Frank, J. H.; Curtis, G. A. & G. F. O'Meara, 1984. On the bionomics of bromeliad-inhabiting mosquitoes. X. *Toxorhynchites rutilus rutilus* as a predator of *Wyeomyia vanduzeei* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Ent.*, 21(2): 149-158.
- Freeden, F. J. H., 1959. Rearing blackflies in the laboratory (Diptera: Simuliidae). *Can. Entomol.*, 21: 73-83.
- Freeden, F. J. H., 1964. Bacteria as food for blackfly larvae (Diptera: Simuliidae) in laboratory cultures and in natural streams. *Can. J. Zool.*, 42(4): 527-548.
- Freeden, F. J. H., 1969. Outbreaks of the black Fly *Simulium artium* Mallock in Alberta. *Quaest. Entomol.* 5: 341-372.
- French, E. R. & T. T. Hebert, 1980. "Metodos de Investigacion Fitopatologica". Ed. I.I.C.A., São José - Costa Rica. 289 pp.
- Frohne, W. C., 1954. Mosquito distribution in Alaska with special reference to a new type of life cycle. *Mosquito News*, 14: 10-13.
- Gahan, J. B.; Travis, B. V.; Norton, F. A. & A. W. Linquist, 1945 DDT as a residual-type treatment to control *Anopheles quadrimaculatus*, practical tests. *J. Econ. Entomol.*, 38: 223-235.
- Galbaldón, A. & P. Cova-García, 1946. Zoogeografía de los anofelinos en Venezuela. 1. Los dos vectores principales. *Boletín de la OMS*, 10: 19-32.
- Galindo, P., 1958. Bionomics of *Sabethes chloropterus* Humboldt, a vector of sylvan yellow fever in middle America. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.*, 7: 429-440.
- Galindo, P., 1963. *Culex* mosquitoes of subgenus *Melanoconion* and allied subgenera as hosts of arboviruses. VII Congr. Intern. Med. Trop. e Mal., *Anais de Microbiol.*, 11: 83-87.
- García, R., 1983. Mosquito management: ecological approaches. *Environ. Management*, 2(1): 73-78.
- Geier, P. W., 1966. Management of insect pests. *Ann. Rev. Entomol.*, 11: 471-490.

- Geier, P. W. & L. R. Clark, 1961. An ecological approach to pest control. Proc. Tech. Meeting Inter. Union Conserv. Nature Nat. Res., 1960: 10-18.
- Georghiou, G. P., 1972. Studies on resistance to Carbamate and Organophosphorous insecticides in *Anopheles albimanus*. Am. J. Trop. Med. Hyg., 21: 797-806.
- Georghiou, G. P. & N. Pasteur, 1978. Electrophoretic esterase patterns in insecticide-resistant and susceptible mosquitoes. J. Econ. Entomol., 21(2): 201-205.
- Georghiou, G. P.; Pasteur, N. & M. K. Hawley, 1980. Linkage relationships between Organophosphate resistance and highly active esterase-B in *Culex quinquefasciatus* from California. J. Econ. Entomol., 23(2): 301-305.
- Georghiou, G. P.; Baker, J.; Al-Khatib, Z.; Mellon, R.; Murray, C.; Tran, H.; Vasquez, M.; Pelsue, F. & J. Hazelrigg, 1983. Insecticide resistance in mosquitoes: research on new chemicals and techniques for management. Mosq. Control Research Ann. Rep. (1983). University of California: 86-91.
- Gerberich, J. B. & M. Laird, 1968. Bibliography of papers relating to the control of mosquitoes by the use of fish. An annotated bibliography for the years 1901-1966. EAO Fish Tech. Rep., 25: 1-70.
- Giles, H. M. 1975. The spread and control of arthropod-borne diseases. Em "The Theory and Practice of Public Health" W. Hobson ed., Oxford University Press, pp. 232-241.
- Gillies, M. T. 1974. Methods assessing the density and survival of blood-sucking diptera. Ann. Rev. Entomol., 19: 345-362.
- Goldberg, L. H. & J. Margalit, 1977. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles gambiae*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. Mosquito News, 37:355-358.
- Goma, L. K. H., 1960. Experimental breeding of *Anopheles gambiae* Giles in papyrus swamps. Nature, 182: 1137-1138.
- Goma, L. K. H., 1966. The Mosquito. Hutchinson Tropical Monographs, 144 pp.
- Gorayeb, I. D. & R. R. Pinger. 1978. Detecção de predadores naturais das larvas de *Simulium fulvinoctum* Cerq. e Mello, 1968 (Diptera: Nematocera). Acta Amazônica, 8(4): 629-637.
- Gordon, S. W. & E. D. Peterson, 1980. Occurrence of *Toxorhynchites rutilus septentrionalis* in tires in Ohio. Mosquito News, 40(1) 107-109.

- Gorham, J. R.; Stojanovich, C. J. & H. G. Scott, 1967. Clave ilustrada para los mosquitos anofelinos de Sudamerica Oriental. U. S. Department of Health, Education & Welfare. Georgia, 64 pp.
- Gorham, J. R.; Stojanovich, C. J. & H. G. Scott, 1973. Clave ilustrada para los mosquitos anofelinos de Sudamerica Occidental. Mosquito Systematics, 5(2): 92-156.
- Gras, G. & J. A. Rioux, 1967. Les insecticides Organophosphores dans la lutte contre les mosquitos. Problemes theoriques et pratiques poses par l'utilisation de ces composés come larvicides. XXVII^e Congress de l'Assoc. Fr. pour l'Avancement des Sciences. Bordeaux, Resumos: 8-12.
- Gratz, N. R., 1985. The future of vector Biology and control in the World Health Organization. J. Am. Mosq. Control Assoc., 1: 273-278.
- Grosscurt, A. C., 1978. Diflubenzuron: some aspects of its ovicidal and larvicidal mode of action and an evaluation of its practical possibilities. Pest. Sci., 9: 737-386.
- Guillet, P. & H. de Barjac, 1979. Toxicité de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* pour les larves de simuliées vectrices de l'onchocercose. C. R. Acad. Sc. Paris, 282. sér. D.: 549-552.
- Guillet, P.; Escaffre, H.; Ouédraogo, M & O. Quilévééré, 1980. Mise en evidence d'une résistance au téméphos dans le complexe *Simulium damnosum* (*S. sanctivaulli* et *S. soubrense*) en Côte d'Ivoire. (Zone du Programme de lutte contre l'Onchocercose dans la Région du Bassin de la Volta). Cah. ORSTOM... sér. Entomol. med. Parasitol., 12: 291-299.
- Guillet, P.; Escaffre, H. & J-M. Prud'hom, 1982a. L'utilisation d'une formulation à base de *Bacillus thuringiensis* H14 dans la lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. 1. Efficacité et modalités d'application. Cah. ORSTOM... sér. Entomol. med. Parasitol., 20: 175-180.
- Guillet, P.; Escaffre, H. & J-M. Prud'hom, 1982b. évaluation du Teknar^R (Sandoz) (402 W.D.C.) contre les larves du complexe *S. damnosum*. I. Efficacité en gouttières et évaluation en rivière. Doc. ronéo. OCCGE, n°1/IRTO/Rap/82.
- Guillet, P.; Heugard, J-M., Doannio, J.; Escaffre, H. & J. Duval, 1985a. évaluation de la sensibilité des larves du complexe *Simulium damnosum* à la toxine de *Bacillus thuringiensis* H 14. 1. Methodologie. Cah. ORSTOM... sér. Ent. med. et Parasitol., 23: 241-250.

- Guillet, P.; Hougard, J-M.; Doannio, J.; Escaffre, H. & J. Duval, 1985b. Évaluation de la sensibilité des larves du complexe *Simulium damnosum* à la toxine de *Bacillus thuringiensis* H-14. 2. Sensibilité relative de quelques groupes d'espèces et possibilités d'utilisation de doses diagnostiques. *Cah. ORSTOM... sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 23: 241-250.
- Guillet, P.; Escaffre, H.; Prud'hom, J-M. & S. Bakayoko, 1985c. Étude des facteurs conditionnant l'efficacité des préparations à base de *Bacillus thuringiensis* H-14 vis-à-vis des larves du complexe *Simulium damnosum* (Diptera, Simuliidae). 1. Influence de la nature et de la taille des particules. *Cah. ORSTOM... sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 23: 257-264.
- Guillet, P.; Escaffre, H.; Prud'hom, J-M. & S. Bakayoko, 1985d. Étude des facteurs conditionnant l'efficacité des préparations à base de *Bacillus thuringiensis* H-14 vis-à-vis des larves du complexe *Simulium damnosum* (Diptera, Simuliidae). 2. Influence du temps de contact et de la quantité des particules naturelles en suspension dans l'eau. *Cah. ORSTOM... sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 23: 265-271.
- Guimarães, E. L. G., 1986. Eficiência do BTI De Barjac no controle de larvas de borrachudos. XII Congr. Bras. Zool., Resumos: 124 .
- Guimarães, E. L. G. & M. L. M. B. de Medeiros, 1985. Efeito de poluição por despejo orgânico no ciclo vital do *Simulium pertinax* Kollar (Diptera: Simuliidae). Informe SUREHMA, Estado do Paraná, 73 pp. (mimeogr.).
- Guimarães, E. L. G. & M. L. M. B. de Medeiros, 1987. Efeito de poluição por despejo orgânico no período larval do *Simulium pertinax* Kollar, 1832 (Diptera: Simuliidae). XI Congr. Bras. Entomol., (Campinas/SP). Resumos: 409.
- Guzman, M. G.; Kouri, G.; Morier, L.; Soler, M. & A. Fernandez, 1984. A study of fatal hemorrhagic dengue cases in Cuba 1981. *Bull. PAHO.*, 18: 213-220.
- Habib, M.E.M., 1982. Patogenicidade de Duas Variedades de *Bacillus thuringiensis* Berliner para Larvas de Lepidoptera e Diptera. Tese de Livre Docência-UNICAMP 163pp
- Habib, M. E. M., 1983. Potency of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against some aquatic dipterous insects. *Z. ang. Entomol.*, 95: 368-376.
- Habib, M. E. M., 1986. Respostas de lagartas de *Spodoptera latifascia* (Walker) a três preparados à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (H:3a-3b). *Rev. Agric.*, 61(1): 09-16.
- Habib, M. E. M., no prelo. Uma política para o controle de Borrachudos no Brasil. *Anais XI Congr. Bras. Entomol.* (Campinas/SP, 1987).



- Habib, M. E. M. & M. A. Garcia, 1981. Compatibility and synergism between *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* and two chemical insecticides. Z. ang. Ent. 21: 7-14.
- Habib, M. E. M. & C. F. S. Andrade, 1984. Patogenicidade de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (H:3a-3b) para o curuquerê do algodão, *Alabama acailacea* (Hubner, 1818) (Lepidoptera; Noctuidae). Rev. Agric., 52(3): 263-282.
- Habib, M. E. M. & C. F. S. Andrade, 1986. Bactérias Entomopatogênicas, Em "Controle Microbiano de Insetos". Alves S. B. Coord. Ed Manole, São Paulo, 407 pp.
- Habib, M. E. M.; Andrade, C. F. S. & A. Fávoro Jr., 1986. Classificação patológica e susceptibilidade de larvas de *Brassolis sophorae* (L., 1758) infectadas por *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (H:3a-3b). Rev. Agric., 61(2): 105-113.
- Haddow, A. J., 1948. The mosquitoes of Bwamba County, Uganda. VI- Mosquito breeding in plant axis. Bull. ent. Res., 39: 185-202.
- Hansen, C. P., 1978. Community education in the San Mateo County mosquito abatement district. Calif. Mosquito and Vector Cont. Assoc. Proc., 46: 38-39.
- Harbach, R. E., 1977. Comparative and functional morphology of the mandibles of some fourth stage mosquito larvae. Zoomorphologia, 82: 217-236.
- Hayes, C. G., 1979. Vector competence of colonized *Culiseta melanura* (Diptera: Culicidae) for western equine encephalomyelitis virus. J. Med. Ent., 15(3): 253-258.
- Hegner, R., 1927. Host-Parasite Relations Between Man and His Intestinal Protozoa. Academic Press, N. Y. e Londres, 231 pp.
- Henderson, C. F. & E. W. Tilton, 1955. Tests with acaricides against the brown wheat mite. J. Econ. Entomol., 48: 157-161.
- Hickey, W. A. & G. B. Craig Jr., 1966. Genetic distortion of sex ratio in a mosquito, *Aedes aegypti*. Genetics, 53: 1177-1196.
- Hirsch, A., 1883. Handbook of Geographical and Historical Pathology, V. I., Acute Infective Diseases. New Sydenham Soc. Press, Londres, 710 pp.
- Hopkins, G. H. E., 1952. Mosquitoes of the Ethiopian region. I. Larval bionomics of mosquitoes and taxonomy of Culicine larvae. British Museum (Nat. Hist.) publ., 355 pp.
- Horsfall, W. R., 1955. Mosquitoes. Their Bionomics and Relation to Disease. Constable & Co. Ltda., Londres, 312 pp.

- Horsfall, W. R., 1962. Medical Entomology. Arthropods and Human Disease. Ronald Press Co., N. Y., 351 pp.
- Horsfall, W. R., 1963. Eggs of floodwater mosquitoes (Diptera: Culicidae). XI- Local distribution. Ann. Ent. Soc. Amer., 56: 426-441.
- Hovanitz, W., 1946. Comparisons of mating behavior, grow rate, and factors influencing egg-hatching in South American *Haemagogus* mosquitoes. Physiol. Zool., 19: 35-53.
- Hsieh, M. Y. G. & C. D. Steelman, 1974. Susceptibility of selected mosquito species to five chemicals which inhibit insect development. Mosquito News, 34: 278-282.
- Hughes, M. H., 1952. Some observations on the bionomics of *Simulium damnosum* Theobald in the Southern Gold Coast. W. Afr. Med. J., 1: 16-20.
- Hynes, H. B. N., 1950. The food of fresh-water sticklebacks (*Gasterosteus aculeata* and *Pygosteus pungitius*), with a review of methods used in studies of the food of fishes. J. Anim. Ecol., 19: 36-58.
- Ignoffo, C. M.; Garcia, C.; Kroha, M. J. & T. Fukuda, 1980. Susceptibility of *Aedes aegypti* to four varieties of *Bacillus thuringiensis*. Mosquito News, 40(2): 290-291.
- Ihering, R. von, 1930. Revisão dos gêneros de Cyprinodontes (peixes "barrigudinhos" ou "guarus") da fauna brasileira. Rev. Biol. Hig., 2: 153.
- Ihering, R. von, 1931. Cyprinodontes brasileiros (peixes "guarus"): sistemática e informações biológicas. Arch. Inst. Biol. São Paulo, 4: 243-280.
- Ihering, R. von, 1932. Os peixes larvófagos utilizados no combate à febre amarela e à malária. Rev. Med. Cirurg. Brasil, 41: 221-234.
- Ihering, R. von, 1939. Dicionário dos Animais do Brasil. Ed. Univ. de Brasília, Brasília, pp.
- Jaenson, T. G. T., 1984. Ecology of Ockelbo disease: *Culiseta ochropetera* - an ornithophilic mosquito (Diptera: Culicidae) found in Sweden. Entomol. Tidskr., 105: 70-74.
- Jakob, W. L., 1973. Developmental inhibition of mosquitos and the house fly by urea analogues. J. Med. Ent., 10: 452-455.
- Jannback, H. 1973. Recent development in control of blackflies. Ann. Rev. Entomol., 18: 281-304.

- Jamback, H. 1981. The origins of Blackfly control programmes. Em: "Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control" M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp.
- Jaques, R. P. & D. N. Morris, 1981. Compatibility of pathogens with other methods of pest control and with different crops. Em "Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980" H. D. Burges ed., Academic Press, N. Y. & Londres, 949 pp.
- Jenkins, D. W. 1964. Pathogens, parasites and predators of medically important arthropods. Bull. Wld. Hlth. Org. (suppl.) 30: 419 pp.
- Jones, C. & D. Richey, 1956. Biology of the blackflies in Jasper Count, South Carolina, and some relationships to a Leucocytozoon disease of turkeys. J. Econ. Entomol., 49: 121 - 123.
- Jones, J. C., 1960. The anatomy and rhythmical activities of the alimentary canal of *Anopheles* larvae. Ann. Ent. Soc. Amer., 53: 459-474.
- Joseph, S.; McComb, C. & J. Dorothy, 1982. Evaluation of A86-6108 -II WP for control of *Culex pipiens* larvae in sewage waste lagoons in Maryland. Agric. Chem. Exp. Sum. (Abbott). D-986-4218, 3pp.
- Jukes, T. H., 1983. Retrospective comments. Em "Integrated Mosquito Control Methodologies" V. 1., M. Laird & J. W. Miles eds., Academic Press, N. Y. e Londres, 369 pp.
- Kellen, W. R., 1962. Microsporidia and larval control. Mosquito News, 22: 87-95.
- Kellen, W. R.; Clark, T. B.; Lindegren, J. E.; Ho, B. C.; Rogoff, M. H. & S. Singer, 1965. *Bacillus anthracis* Neide as a pathogen of mosquitoes. J. Invertebr. Pathol., 7: 442-448.
- King, W. V.; Bradley, G. H.; Smith, C. N. & W. C. Duffie, 1960. A Handbook of the Mosquitoes of Southeastern United States. U. S. Dept. Agric. Handbooks n° 173. Washington D.C.
- Knipling, E. F., 1950. Insecticide resistant flies and mosquitoes. Soar (N.Y.), 26(6): 87-88.
- Knudsen, A. B., 1986. The significance of the introduction of *Aedes albopictus* in the Southeastern United States with implications for the Caribbean, and perspectives of the pan American Health Organization. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 2(4): 420-423.
- Kumm, H. W., 1933. Mosquitoes breeding in bromeliads at Bahia, Brazil. Bull. Ent. Res., 24: 561-573.

- Kurihara, T., 1983. Post World War II mosquito control in Japan (except Hokkaido). Em "Integrated Mosquito Control Methodologies" V. 1., M. Lair & J. W. Miles eds., Academic Press, N.Y. e Londres, 369 pp.
- Kurtak, D., 1986. Insecticide resistance in the Onchocerciasis Control Programme. Parasitol. Today, 2:19-20.
- Kurtak, D. & M. Quedraogo, 1984. Detection of resistance to Temefos and Chlorphoxim in *Simulium damnosum* S.L. by topical application to adults. Mosquito News, 44(4): 518-127.
- Kurtak, D.; Jamnback, H.; Meyer, R.; Ocran, M. & P. Renaud, 1987. Evaluation of larvicides for the control of *Simulium damnosum* (Diptera: Simuliidae) in West Africa. J. Amer. Mosq. Control Assoc., 3(2): 201-210.
- Kuyp, E. van Der, 1954. Mosquitoes of the Netherlands Antilles and their hygienic importance. Fauna Curacao and Carib. Islands, 5: 37-114.
- LaScala, P. A. & J. F. Burger, 1981. A small-scale environmental approach to blackfly control in USA. Em "Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control" M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp.
- Lacey, L. A., 1984. Production and formulation of *Bacillus sphaericus*. Mosquito News, 44: 153-159.
- Lacey, L. A. & M. S. Mulla, 1978. Factors affecting the activity of Diflubenzuron against *Simulium* larvae (Diptera: Simuliidae). Mosquito News, 38(2): 264-267.
- Lacey, L. A. & M. S. Mulla, 1979a. Factors affecting feeding rates of black fly larvae. Mosquito News, 39(2): 315-319.
- Lacey, L. A. & M. S. Mulla, 1979b. Field evaluation of Diflubenzuron against *Simulium* larvae. Mosquito News, 39(1): 86-90.
- Lacey, L. A. & J. M. Lacey, 1981. The larvicidal activity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-14) against mosquitoes of the central Amazon Basin. Mosquito News, 41(2): 266-270.
- Lacey, L. A.; Schreck, C. E. & T. P. McGovern, 1981. Native and experimental repellents against Black Flies (Diptera: Simuliidae) in the Amazon Basin of Brazil. Mosquito News, 41(2): 376-379.
- Lacey, L. A. & C. M. Heitzman, 1985. Efficacy of flowable concentrate formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against black flies (Diptera: Simuliidae). J. Am. Mosq. Control Assoc., 1(4): 493-497.



- Lacey, L. A. & A. H. Undeen, 1986. Microbial control of blackflies and mosquitoes. Ann. Rev. Entomol., 31: 265-296.
- Lahkin-Tsrar, L.; Pasciar-Gluzman, C.; Margalit, J. & Z. Bakar, 1983. Larvicidal activity of Bacillus thuringiensis subsp. israelensis, serovar H-14 in Aedes aegypti: Histopathological studies. J. Invertebr. Pathol., 41: 104-116.
- Laird, M., 1956. Studies of mosquitoes and freshwater Ecology in the South Pacific. Bull. Roy. Soc. N. Z., nº 6.
- Laird, M., 1971. Microbial control of arthropods of medical importance. Em "Microbial Control of Insects and Mites" H. D. Burges & N. W. Hussey eds., Academic Press, N. Y. e Londres, 861 pp.
- Laird, M., 1977. Enemies and diseases of mosquitoes, their natural population regulatory significance in relation to pesticide use, and their future as marketable components of integrated control. Mosquito News, 32(3): 331-339.
- Laird, M., 1981. Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control. Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp.
- Laird, M., 1983. Introduction. Em "Integrated Mosquito Control Methodologies" V.1. M. Laird & J. W. Miles eds., Academic Press, N. Y. e Londres, 369 pp.
- Laird, M. & J. W. Wright, 1966. Proceedings of the FAO symposium on Integrated Pest Control. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, Itália. 11-15/10/1965.
- Laird, M. & J. W. Miles, 1983. Integrated Mosquito Control Methodologies. V.1. Experience and Components from conventional chemical control. Academic Press, N. Y. e Londres, 369 pp.
- Lamb, K. P., 1974. The flies and fleas. Em "Economic Entomology in the Tropics" Academic Press, N. Y. e Londres, 195 pp.
- Lamb, R. J., & S. M. Smith, 1980. Comparison of egg size and related life history characteristics for two predaceous tree-hole mosquitoes (Toxorhynchites). Can. J. Zool., 58(11): 2065-2070.
- Lancaster Jr., J. L. & M. V. Meisch, 1986. Arthropods in livestock and poultry production. Ellis Horwood Lim., Chichester, 396 pp.
- Lane, J., 1937. Nota sobre investigações entomológicas em localidades onde houve febre amarela silvestre em São Paulo. II Parte. A região da Sorocabana. Arch. Hyg. Saúde Publ., 2:123-130.

- Lane, J., 1943. Sobre o gênero *Uranotaenia* (Diptera: Culicidae). Rev. Entomologia, R.L., 14: 137-161.
- Lane, J., 1945. Os Sabetídeos da América. Rev. Entomologia, R.L. 14: 132-157.
- LaScala, P. A. & J. F. Burger, 1981. A small-scale environmental approach to blackfly control in USA. Em "Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control" M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp.
- Laurence, B. R., 1964. Autogeny in *Aedes (Eiulaya) togoi* Theobald. J. Insect Physiol., 10: 319-331.
- Laven, H., 1967. Formal genetics of *Culex pipiens*. Em "Genetics of Insect Vector of Diseases", Elsevier Co, Amsterdam, 794 pp.
- Lea, A. D., 1964. Selection for autogeny in *Aedes aegypti*. Ann. Entomol. Soc. Amer., 57: 656-657.
- Legner, E. F. & R. D. Sjogren, 1984. Biological mosquito control furthered by advances in technology and research. Mosquito News, 44(4): 449-456.
- Lehane, B., 1969. The Compleat Flea. Murray Pub., Londres, 126 pp.
- Leitritz, E., 1959. Trout and salmon culture. California Dep. Fish & Game. Fish. Bull., nº 107, 169 pp.
- Levins, R. & M. Wilson, 1980. Ecological theory and pest management. Ann. Rev. Entomol., 25: 287-308.
- Lowe, R. E.; Fowler, J. E.; Lofgren, C. S.; Dame, D. A.; Savage, K. E. & D. L. Bailey, 1980. Field and laboratory assessment of Temephos for larval control of *Anopheles albimanus* in El Salvador and evidence for resistance. Mosquito News, 40(3): 418-423.
- Lozovei, A. L.; Cunha, M. C. I.; Dellome Filho, J. & R. M. A. Basi, 1986. Considerações sobre microalgas do conteúdo entérico das larvas de simuliídeos (Diptera: Simuliidae), Rio Passaína, Curitiba, Paraná. I Sem. Vet. Urb. e Anim. Sinan. (São Paulo/SP, 1986). Resumos: 27.
- Luckmann, W. H. & R. L. Metcalf, 1975. The pest-management concept. Em "Introduction to Insect Pest Management" R. L. Metcalf & W. H. Luckmann eds., John Wiley & Sons, N. Y. e Londres, 587 pp.
- Ludvik, E. F., 1950. Barrier strip and pre-flood treatments with DDT to control *Anopheles quadrimaculatus*. J. Econ. Entomol.



- mol., 43: 516-519.
- Luh, P. & C. Zhu, 1983. Mosquito control in the People's Republic of China. Em "Integrated Mosquito Control Methodologies" V.1., M. Laird & J. W. Miles eds., Academic Press, N. Y. e Londres, 369 pp.
- Lutz, A., 1910. Segunda contribuição para o conhecimento das espécies brasileiras do gênero "Simulium". Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 2(2): 213-267.
- Lutz, A. & A. Splendore, 1904. Ueber pebrineverwandte Mikroporidren. Zentr. Bakteriell. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I. Orig., 36: 645-650.
- Mac Creary, D. & L. A. Stearns, 1937. Mosquito migration across Delaware Bay. Proc. New Jersey Mosq. Extern. Assoc., 24: 188-197.
- Maas, W.; van Hes, R.; Grosscurt, A. C. & D. H. Deul, 1981. Benzoylphenylurea Insecticides. Chem. Pflanzen.-chaedl.-bekaem., 6: 423-470.
- Machado, V. L. L. & M. J. A. Hebling-Beraldo, 1980. Mosquito hatching sites in Rio Claro City. Naturalia (S.P.), 5: 31-43.
- Madden, A. H.; Schroeder, H. O. & A. W. Lindquist, 1947. Residual spray applications to salt marsh and jungle vegetation for adult mosquito control. J. Econ. Entomol., 40: 119-123.
- Magni, S. & J. Coz, 1985. Activité toxique de *Bacillus thuringiensis* sérotype H14- Une approche méthodologique. Cah. ORSTOM M. sér. Ent. méd. et Parasitol., 23: 281-283.
- Magnin, M.; Kurtak, D. & N. Pasteur, 1987. Caractérisation des estérases chez des larves du complexe *Simulium damnosum* résistantes aux insecticides organophosphorés. Cah. ORSTOM... sér. Ent. méd. et Parasitol., 25(2): 57-62.
- Maia-Herzog, M. & M. L. Felipe-Bauer, 1986. Contribuição ao estudo dos culicoides e *Simulium* do Rio de Janeiro: Frequência horária e mensal. XIV Congr. Bras. Zool. (Juiz de Fora/MG). Resumos: 60.
- Manefield, T., 1951. Investigations on the preference shown by *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* Linn., and *Culex* (*Culex*) *fatigans* Wied., for specific types of breeding water. Proc. Linn. Soc. N.S.W., 76: 149-154.
- Manson-Bahr, P. H., 1967. Manson's Tropical Diseases. Chapel River Press., Londres, 1131 pp.
- Margalit, J.; Zomer, E.; Erel, Z. & Z. Barak, 1983. Development and application of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

serotype H-14 as an effective biological control agent against mosquitoes in Israel. Biotechnology, 1: 74-76.

Margalit, J. & H. Bobroglo, 1984. The effect of organic materials and solids in water on the persistence of Bacillus thuringiensis var. israelensis serotype H-14. Z. ang. Entomol., 92:516-520.

Mathis, H. L., 1983a. Larval Aedes aegypti control in Bangkok, Thailand. Em "Integrated Mosquito Control Methodologies" V.1. M. Laird & J. W. Miles eds., Academic Press, N. Y. e Londres, 369 pp.

Mathis, H. L. 1983b. Planning action against Culex quinquefasciatus in Burma. Em "Integrated Mosquito Control Methodologies" V.1., M. Laird & J. W. Miles eds., Academic Press, N. Y. e Londres, 369 pp.

Mattingly, P. F., 1957. Genetical aspects of the Aedes aegypti problem. I. Taxonomy and bionomics. Ann. Trop. Med. Parasitol. 51: 392-408.

Mattingly, P. F., 1962. Taxonomy of Aedes aegypti and related species. Bull. World Health Organ., 36: 552-554.

Meredith, S. E. O., 1983. Report to OCP: The improvement and refinement of electrophoretic techniques for the study of esterases and organophosphate resistance in S. damnosum complex. Doc. Mimeo. OMS/OCP.

McLaughlin, R. E.; Fukuda, T.; Willis, O. R. & J. Billodeaux, 1982. Effectiveness of Bacillus thuringiensis serotype H-14 against Anopheles crucians. Mosquito News, 42(3): 370-374.

McDuffie, W. C. & D. E. Weidhaas, 1967. Current research by the USDA of potential significance to world-wide mosquito control Mosquito News, 22: 447-453.

Mello, J. L. B.; Souza, M. A. T. & S. J. B. Oliveira, 1984. Considerações gerais sobre o método de controle mecânico dos simuliídeos. B. Saúde (Porto Alegre), 11(2): 12-16.

Merritt, R. W., 1987. Do different instars of Aedes triseriatus feed on particles of the same size? J. Amer. Mosq. Control Assoc., 3(1): 94-96.

Merritt, R. W. & D. A. Craig, 1987. Larval mosquito feeding mechanisms: Mucosubstance production for capture of fine particles. J. Med. Entomol. (in press).

Merritt, R. W.; Mortland, H. H.; Gersabeck, E. F. & D. H. Ross, 1978. X-ray diffraction analysis of particles ingested by filter-feeding animals. Entomol. Exp. Appl., 24: 27-34.

- Metcalf, C. L.; Flint, W. P. & R. L. Metcalf, 1951. Destructive and useful insects. Mc Graw-Hill, N. Y., 1071 pp.
- Metcalf, R. L., 1975. Pest-management strategies for the control of insects affecting man and domestic animals. Em "Introduction to Insect Pest Management" R. L. Metcalf & W. H. Luckmann eds., John Wiley & Sons, N. Y. e Londres, 587 pp.
- Metcalf, R. L. & W. H. Luckmann, 1975. Introduction to Insect Pest Management. John Wiley & Sons, N. Y. e Londres, 587 pp.
- Meyer, R. P. & R. K. Washino, 1978. Seasonal activity, relative abundance, autogeny and physiological age in Central California populations of *Culiseta inornata* (Williston). Calif. Mosquito and Vector Contr. Assoc. Proc., 46: 54-55.
- Miall, L. C., 1895. The Natural History of Aquatic Insects. Mac Millan, Londres, pp.
- Miller, L. H., 1966. Research in malaria vaccines. N. Engl. J. Med., 315(10): 640.
- Minjas, J. N., 1985. Mosquito Control: Need for community education programmes. J. Roy. Soc. Health, 105(4): 147-148.
- Molloy, D.; Gaugler, R. & H. Jannback, 1981. Factors influencing efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* as a biological control agent of black fly larvae. J. Econ. Entomol., 74(1): 61-64.
- Morris, D. N., 1977. Compatibility of 27 chemical insecticides with *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. Can. Entomol., 109(6): 855-864.
- Mouchés, C.; Pasteur, N.; Bergé, J. B.; Hyrien, O.; Raymond, M.; Vincent, B. R. S.; Silvestri, M. & G. P. Georgniou, 1986. Amplification of an esterase gene is responsible for insecticide resistance in a California *Culex* mosquito. Science, 233: 778-780.
- Muirhead-Thomson, R. C., 1968. Ecology of Insect Vector Populations. Academic Press, N. Y. e Londres, 174 pp.
- Muirhead-Thomson, R. C., 1970. The potentiating effect of Pyrethrins and Pyrethroids on the action of Organophosphorous larvicides in *Simulium* control. Trans. Royal. Soc. Troe. Med. Hyg., 64(6): 895-906.
- Muirhead-Thomson, R. C., 1971. Pesticides and Freshwater Fauna. Academic Press, Nova York e Londres, 248 pp.
- Mulla, M. S. Darwazeh, H. A. & R. L. Norland, 1974. Insect growth regulators. Evaluation procedures and activity against mosquitoes. J. Econ. Entomol., 67: 329-332.

- Mulla, M. S.; Darwazeh, H. A. & L. Ede, 1982. Evaluation of new Pyrethroids against immature mosquitoes and their effects on nontarget organisms. Mosquito News, 42(4): 583-590.
- Mulligan III, F. S. & C. H. Schaefer, 1981. The breeding of Culex quinquefasciatus within the Fresno urban storm drain system. Proc. and Papers Calif. Mosquito and Vect. Contr.
- Natal, D. 1981. Importancia epidemiológica de Culex do Subgênero Melanoconion (Diptera; Culicidae). Tese de Mestrado, Faculdade de Saúde Pública-USP. 89 pp.
- Needham, J. G. & Needham, P. R., 1972. A Guide to the Study of Fresh-Water Biology. Holden. Day. Inc., S. Francisco, 108 pp.
- Nelson, B. C., 1978. Ecology of medically important arthropods in urban environments. Em "Perspectives in Urban Entomology" G. W. Frankie & C. S. Koehler eds. Academic Press, N. Y. e Londres, pp.
- Nielsen, E. T. & J. S. Haeger, 1960. Swarming and mating in mosquitoes. Misc. Publ. Ent. Soc. Amer., 1: 71-95.
- Novotny, J. & M. Svestka, 1986. Spolupůsobenie biologických a chemických insekticidov na husenice mnisky Limnoria dispac (L.). Lesnictvi, 32(12): 1115-1128.
- Nugud, A. D. & G. B. White, 1982. Evaluation of Bacillus thuringiensis serotype H-14 formulations as larvicides for Anopheles arabiensis (Species B of the An. gambiae complex). Mosquito News, 42(1): 36-40.
- Nussenzweig, V. & R. S. Nussenzweig, 1985a. Malária- A vacina é possível. Ciência Hoje, 3(16) 26-35.
- Nussenzweig, V. & R. S. Nussenzweig, 1985b. Malaria vaccine against sporozoites ?. Ann. Int. Pasteur Immunol. D, 136(3): 301-312.
- O'Grower, A. K., 1957. The influence of the surface on oviposition by Aedes aegypti (Linn.) (Diptera: Culicidae). Proc. Lin. Soc. N. S. Wales, 82: 240-244.
- Olson, J. K., 1979. Application of the concept of integrated pest management (IPM) to mosquito control programs. Paper nº2. Mosquito News, 39(4) 737-739.
- O.M.S., 1967. Ecologia de los Mosquitos. Série de Informes Técnicos nº 368. W.H.O.- Genebra, 24 pp.
- O.M.S., 1972. Ecologia de los Vectores. Série de Informes técnicos nº 501. W.H.O.- Genebra, 42 pp.
- O.M.S., 1976. Resistencia de vectores y reservorios de enfermedades a los plaguicidas. 22º Informe del comité de expertos de la O.M.S. en insecticidas. Série de Informes Técnicos nº

585. W.H.O., 95 pp.
- Opp, W. R.; Breeland, S. G. & J. A. Mulirennan Jr., 1981. A monograph for rapid determination of ground ULV adulticiding costs. Mosquito News, 41(4): 794-795.
- O'Roke, E., 1934. A malaria-like disease of ducks caused by Leucocytosoon anatis Wickwire. Bull. Univ. Mich. Sch. Forest Conserv., 4: 1-44.
- Ouda, N. A. & B. Al-Chalebi, 1986. Laboratory study on the suitability of various sources of field water as breeding places for Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae). J. Biol. Sci. Res., 12(1): 199-210.
- Papavero, N. & J. H. Guimarães, 1964. Diptera. Em "História Natural de Organismos Aquáticos do Brasil - Bibliografia comentada" P. E. Vanzolini ed., FAPESP, São Paulo, 452 pp.
- Pasteur, N. & G. P. Georghiou, 1981. Filter paper test for rapid determination of phenotypes with high esterase activity in Organophosphate resistant mosquitoes. Mosquito News, 41(1): 181-183
- Pegoraro, R. A., 1987. Longevidade de Simulium (Chirostilbia) perlinax Kollar, 1832 (Diptera: Simuliidae) em ambiente controlado, com diferentes dietas. XI Congr. Bras. Entomol. (Campinas/SP). Resumos: 412.
- Pegoraro, R. A. & G. R. P. Moreira, 1986. Bioecologia dos simuliídeos do Vale do Itajaí, SC. I Sem. Vet. Urb. e Anin. Sian. (São Paulo/ SP, 1986). Resumos: 21.
- Pennington, N. E. & H. D. Newson, 1985. Culiseta melanuca (Coquillet)-breeding sites in an eastern equine encephalitis enzootia area in Michigan. N. J. Mosq. Contr. Assoc. Proc. 22: 194-195.
- Pessôa, S. B. & A. V. Martins, 1982. Pessôa Parasitologia Médica. Guanabara Coogan, São Paulo, 872 pp.
- Petersen, A., 1924. Contributions to the natural history of the Danish Simuliidae. Kgl. Danske Videnskab. Selskab. Skrifter Afd., 8(5): 1-101.
- Peterson, B. V., 1977. A synopsis of the genus Parasimulium Malloch (Diptera: Simuliidae) with descriptions of one new subgenus and two new species. Proc. Ent. Soc. Wash., 79: 96-106.

- Peterson, B. V. & P. T. Dang, 1981. Morphological means of separating sibling of the *Simulium damnosum* complex (Diptera Simuliidae). Em "Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control" M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp.
- Philip, C. B., 1962. Breeding of *Aedes aegypti* and other mosquitoes in West African rock holes. Ann. Ent. Soc. Amer., 55: 706-708.
- Pinnock, D. E. & R. J. Brand, 1981. A quantitative approach to the ecology of the use of pathogens for insect control. Em "Microbial Control of Pest and Plant Diseases 1970-1980". H. D. Burges ed., Academic Press, N. Y. e Londres, 949 pp.
- Pinto, C., 1938. Zooparasitas de Interesse Médico e Veterinário. Pimenta de Mello & Cia, Rio de Janeiro, 376 pp.
- Plapp, F. W., 1976. Biochemical genetics of insecticide resistance. Ann. Rev. Entomol., 21: 179-197.
- Poinar Jr., G. O., 1981. Mermithid nematodes of blackflies. Em "Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control" M. Laird ed. Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp
- Post, L. C. & W. R. Vincent, 1973. A new insecticide inhibits chitin synthesis. Naturwissenschaften, 60: 431-433.
- Price, P. W. & G. P. Waldbauer, 1975. Ecological aspects of pest management. Em "Introduction to Insect Pest Management" R. L. Metcalf & W. H. Luckmann eds., John Wiley & Sons, N. Y. e Londres, 587 pp.
- Proença, L. M., 1937. Alguns dados sobre peixes larvófagos. Arg. Fac. Hig. Saude Publ. USP, 2:223-228.
- Pucat, A. M., 1965. The functional morphology of the mouthparts of some mosquito larvae. Quaest. Entomol. 1:41-86.
- Rai, K. S., 1969. The status of the sterile male technique for mosquito control. Em "Sterile Male Technique for Eradication or control of harmful insects". E. Doyle & M. Freeman eds., Shelag (IAEA Press), Viena, pp: 107-119.
- Rai, K. S., 1971. The prospects for genetic control of filariasis vector. Jap. J. Genetics., 46:207-214.
- Rai, K. S.; Lorimer, N. & E. Hallinan, 1974. The current status of genetics methods for controlling *Aedes aegypti*. Em "The Use of Genetics in Insect Control". R. Pal & M. J. Whitten eds., Elsevier, Holanda, pp: 119-131.
- Rambajan, I., 1981. Some observations on the biting habits of *S. incrustatum* and *S. amazonicum* complex in the Lethem area, Rupunini district, Guyana, South America. Trop. Geogr. Med.

33: 58-60.

- Ramoska, W. A. & T. L. Hopkins, 1981. Effects of mosquito larval feeding behavior on *Bacillus sphaericus* efficacy. J. Invert. Pathol., 32: 269-272.
- Ramoska, W. A.; Watts, S. & R. E. Rodriguez, 1982. Influence of suspended particles on the activity of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 against mosquito larvae. J. Econ. Entomol. 25: 1-4.
- Ranasinghe, L. E. & Georghiou, G. P., 1979. Comparative modification of insecticide-resistance spectrum in *Culex pipiens fatigans* by selection with temephos and temephos-synergist combinations. Pest. Sci., 10: 502-508.
- Rathburn Jr., C. B. & A. H. Boike Jr., 1975. Laboratory and small plot tests of Altosid^R and Dimilin^R for the control of *Aedes taeniorhynchus* and *Culex nigricornis* larvae. Mosquito News, 36: 540-546.
- Raymond, M. & C. Mouchés, 1986. La résistance des moutiques aux insecticides. La Recherche, 12(183): 1561-1562.
- Raymond, M.; Fournier, D.; Bride, J-M.; Duany, A.; Berge, J.; Magnin, M. & N. Pasteur, 1986. Identification of resistance mechanisms in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) from Southern France: Insensitive acetylcholinesterase and detoxifying oxidases. J. Econ. Entomol., 26(6): 1452-1458.
- Reed, W., 1901. Propagation of yellow fever; observations based on recent researches. Med. Record., 60:201-209.
- Reeves, E. L. & C. Garcia Jr., 1970. Pathogenicity of bicristaliferous *Bacillus* isolated for *Aedes aegypti* and other aedine mosquito larvae. Proc. 4th Int. Colloq. Insect Pathol. pp:219-228.
- Reyes, F., 1952. Datos historicos sobre el origen de la Oncocercosis en America. Med. Rev. Mex., 32(645): 49-56.
- Rettich, F., 1978. Effect of diflubenzuron on four species of mosquitoes (Diptera, Culicidae). Acta entomol. bohemoslovaca, 25: 312-318.
- Riha, J.; Minar, J.; Malatova, Z. & O. Matouskova, 1979. Economic importance of the prevention of losses caused by blood sucking Diptera in grazing cattle. Vet. Medicina, 24(5): 275-283.
- Riha, J.; Minar, J. & O. Kralik, 1981. Blood-sucking dipterans influence the weight of grazing heifers. Vet. Medicina, 26(6): 321-238.



Riley, C., 1887. Buffalo Gnats. U.S. Comm. Agr. Rep. 1868. pp: 492-517.

Roberts, D. W. & M. A. Strand, 1977 Pathogens of Medically Important Arthropods. Bull. Wld. Hlth. Org. (Suplemento nº 1), 55: 419 pp.

Roberts, D. W. & J. M. Castillo, 1980. Bibliography on Pathogens of Medically Important Arthropods : 1980. Bull. Wld. Hlth. Org. (Suplemento), 58: 197 pp.

Rosen, J. D., 1970. The photochemistry of several pesticides. Em "Environmental Toxicology of Pesticides". F. Matsumura; G. M. Bouch & T. Misato eds., Academic Press, N. Y. e Londres, pp. 435-447.

Rosen, L., 1984. The global importance and epidemiology of dengue infection disease. Proc. Int. Conf. Dengue Haemorrhagic Fever (Malasia, 1983), pp: 1-6.

Rosenfield, P.; Youdeowei, A. & M. W. Service, 1983. Socio-economic considerations in the management of tropical pests and disease vectors. Em "Pest and Vector Management in the Tropics". A. Youdeowei & M. W. Service eds., Longman Group Lim., Londres e N. Y., pp. 343-364.

Ross, D. H. & R. W. Merritt, 1978. The larval population dynamics of five species of blackflies (Diptera: Simuliidae) and their responses to selected environmental factors. Can. J. Zool., 56: 1633-1642.

Rothfels, K. H., 1956. Blackflies: sibling, sex and species grouping. J. Hered., 47: 113-122.

Rothfels, K. H., 1981. Cytotaxonomy: Principles and their application to some Northern species-complexes in Simulium. Em "Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control". M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp.

Rothfels, K. H. & D. M. Freeman, 1977. The salivary gland chromosomes of seven species of Prosimulium (Diptera: Simuliidae) in the mixtum (III L-1) group. Can. J. Zool., 55: 482-507.

Roubaud, E., 1929. Cycle autogene d'attente et générations hivernales suractives inapparentes chez le moustique commun, Culex pipiens. L.C.R. Acad. Sci. Paris, 188: 735-738.

Roubaud, E. 1935. La microstrutura du flotteur de l'ouef dans les races biologiques de Culex pipiens L.. Bull. Soc. Path. exot., 28: 443-445.

Ruas Neto, A. L., 1984a. Avaliação do uso de temephos para o controle de simulídeos no Rio Grande do Sul. R. Saúde (Porto

Alegre), 11(2): 27-31.

- Ruas Neto, A. L., 1984b. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* como alternativa no controle de simuliídeos no Rio Grande do Sul. 1- Susceptibilidade a campo. R. Saúde (Porto Alegre), 11(2): 21-26.
- Ruas Neto, A. L. & C. M. Oliveira, 1985. Controle biológico de culicídeos e simuliídeos: Inseticidas bacterianos. Rev. Brasil Malariol. D. Trop., 32:61-75.
- Ruas Neto, A. L.; Souza, M. A. T.; Severino, S.; Melo, J. L. B.; Silveira, S. M. & N. D. F. de Fortes, 1985. Controle integrado do *Simulium* (*Chirostilbia*) *perlinax* Kollar, 1832. 1. Utilização de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* em três municípios do Rio Grande do Sul. R. Saúde (Porto Alegre) 12: 17-20.
- Rupp, H. R., 1977. *Culiseta melanura* larvae in tires. A recurring phenomenon?. Mosquito News, 32(4): 772-773.
- Rutz, D. A. & R. C. Axtell, 1978. Factors affecting production of the mosquito *Culex quinquefasciatus* (=fatigans) from anaerobic animal waste lagoons. N.C. Agric. Expt. Sta. Tech. Bull. nº 256, 32 pp.
- Sales, S. & J. P. Hervy, 1976. Stage IV evaluation of the efficacy of OMS-1804 (Dimilin) against the larvae of *Culex pipiens fatigans* Wiedelmann and *Aedes aegypti* Linne. WHO/VBC/77.655.
- Sambasivan, G. 1975. The control of malária. Em "The Theory and Practice of Public Health". W. Hobson ed., Oxford Univ. Press. Londres, pp. 243-256.
- Sarhan, M. E.; Howitt, R. E.; Moore, C. V. & C. J. Mitchell, 1980. Economic evaluation of mosquito control programs. Calif. Agric., 34(11-12): 22-24.
- Schaefer, C. H. & E. F. Dupras Jr., 1976. Factors affecting the stability of Dimilin in water and the persistence of Dimilin in field waters. J. Agric. Food Chem., 24(4): 733-739.
- Schaefer, C. H.; Wilder, W. H.; Mulligan III, F. S. & E. F. Dupras Jr., 1974. Insect development inhibitors. Effects of Altosid, TH 6040 and H24108 against mosquitoes (Diptera: Culicidae). Calif. Mosq. Contr. Assoc. Proc., 42: 137-139.
- Schaefer, C. H.; Wilder, W. H. & F. S. Mulligan III, 1975. A practical evaluation of TH-6040 as a mosquito control agent in California. J. Econ. Entomol., 68: 183-185.
- Scott, T. W.; Wildreth, S. W. & B. J. Beaty, 1984. The distribution and development of eastern equine encephalitis virus in its enzootic mosquito vector, *Culiseta melanura*. Amer. J.

Trop. Med. and Hyg., 33(2): 300-310.

- Service, M. W., 1972. Observations on swarming of adults of *Simulium* (*S.*) *austeni* Edwards (Diptera: Simuliidae). Entomologist's Mon. Mag., 107: 167-168.
- Service, M. W., 1976. Mosquito Ecology. Field Sampling Methods. Applied Science, Londres, 583 pp.
- Service, M. W., 1977a. A critical review of procedures for sampling adult mosquitoes. Bull. Entomol. Res., 67: 343-382.
- Service, M. W., 1977b. Methods for sampling adult Simuliidae, with special reference to the *Simulium damnosum* complex. Trop. Pest. Bull., 5: 1-48.
- Service, M. W., 1981. Sampling methods for adults. Em "Black-flies- The Future for Biologicam Methods in Integrated Control". M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp.
- Service, M. W., 1983. Sampling Mosquitoes. Em "Pest and Vector Management in the Tropics". A. Youdeowei & M. W. Service eds. Longman Ltda., N. Y. e Londres, 399 pp.
- Shannon, R. C., 1931. The environment and behaviour of some Brazilian mosquitoes. Proc. Ent. Soc. Wash., 33: 1-27.
- Shannon, R. C. & P. Putnan, 1934. The Biology of *Stegomyia* under laboratory conditions. I- The analysis of factors which influences larval development. Proc. Ent. Soc. Wash., 36: 185-216.
- Shannon, R. C.; Whitman, L. & M. Franca, 1938. Yellow fever virus in jungle mosquitoes. Science, 88: 110-111.
- Sharma, V. P.; Batra, C. P. & G. D. Brooks, 1975. Laboratory and field evaluation of a growth regulating compound (DMS-1804) against *Culex pipiens fatigans* Wied. WHO/VBC/75.549.9pp
- Shephard, P. M.; MacDonald, W. W.; Tonn, R. J. & B. Grab, 1969. The dynamics of an adult population of *Aedes aegypti* in relation to dengue haemorrhagic fever in Bangkok. J. Anim. Ecol., 38: 661-702.
- Shetty, P. S. & G. Geevarghese, 1977. Tree hole breeding of *Aedes aegypti* in Poona city - a short note. Indian J. Med. Res., 66(2): 172-174.
- Sleeper, F., 1975. Visit from a small monster. Sports Illus., 43: 46-49.
- Smith, C. A., 1917. The development of *Anopheles punctipennis* Say. Pancho, 21: 1-19.



- Snedecor, G. W. & W. G. Cochran, 1967. Statistical Methods. Iowa State Univ. Press., Ames, 593 pp.
- Sollers.Riedel, H. 1984. Literature references to chemical control of mosquitoes 1979.1983. Mosquito News, 44(2): 256-261.
- Soper, F. L., 1963. The elimination of urban yellow fever in the Americas through the eradication of Aedes aegypti. Amer. J. Publ. Health, 53: 7-16.
- Soper, F. L., 1966. Paris-green in the eradication of Anopheles gambiae in Brazil, 1940; Egypti, 1945. Mosquito News, 26: 470-476.
- Southwood, T. R. E.; Mürdie, G.; Yasuno, M.; Tonn, R. J. & P. M. Reader, 1972. Studies on the life budget of Aedes aegypti in Wat Samphaya Bangkok, Thailand. Bull. World Health Organ. 46: 211-226.
- Souza, M. A. T., 1984. Atendimento médico por picada de simuliídeos. B. Saude (Porto Alegre), 11: 8-11.
- Speir, J. A., 1976. The ecology and production dynamics of four blackflies species (Diptera: Simuliidae) in western Oregon streams. PhD Thesis. Oregon State Univ.
- Spielman, A., 1957. The inheritance of autogeny in the Culex pipiens complex of mosquitoes. Am. J. Hyg., 65: 404-425.
- Spielman, A., 1971. Bionamics of autogenous mosquitoes. Ann. Rev. Entomol., 16: 231-248.
- Spielman, A. & A. E. Weyer, 1965. Description of Aedes (Howardia) albonotatus, a common domestic mosquito from the Bahamas. Mosquito News, 25: 339-343.
- Steelman, C. D., 1979. Economic thresholds in mosquito IPM programs. Mosquito News, 39: 724-736.
- Steelman, C. D., & P. E. Schilling, 1977. Economics of protecting cattle from mosquito attack relative to injury thresholds. J. Econ. Entomol., 70(1): 15-17.
- Steffan, W. A. & N. L. Evenhuis, 1981. Biology of Toxorhynchites Ann. Rev. Ent., 26: 159-181.
- Stern, V. M.; Smith, R. F.; Bosch, van den R. & K. S. Hagen, 1959. The integrated control concept. Hilgardia, 29(2): 81-101.
- Steward, J., 1937. The occurrence of Onchocerca gutturosa Neumann in cattle in England, with an account of its life history and development in Simulium ornatum Mg. Parasitology, 27: 212-218.

- SUCAM/PA, 1985. Plano de Intensificação de controle das Endemias na área de Influência do Projeto Carajás. M.S.-SUCAM-PR/PA, 29 pp.
- Sun, C-N.; Georghiou, G. P. & K. Weiss, 1980. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to mosquito larvae variously resistant to conventional insecticides. Mosquito News, 40(4): 614-618.
- Surtees, G., 1959. Functional and morphological adaptations of the larval mouth parts in the sub-family Culicinae with a review of some related studies by Montschadsky. Proc. R. Entomol. Soc., 34: 7-16.
- Sweeney, A. W., 1983. A review of chemical control of malaria vectors in the South-West Pacific Region. Em "Integrated Mosquito Control Methodologies" V.1. M. Laird & J. W. Miles eds., Academic Press, N. Y. e Londres, 369 pp.
- Swellengrebel, N. H., 1929. La dissociation des fonctions sexuelles et nutritives (dissociation gono-trophique) d'*Anopheles maculipennis* comme cause de paludisme dans les Pays-Bas et ses rapports avec "l'infection domiciliaire". Ann. Inst. Pasteur, Paris, 43: 1370-1389.
- Tadei, W. P.; Mascarenhas, B. M. & M. G. Podestá, 1983. Biologia de anofelinos amazônicos VIII. Conhecimentos sobre a distribuição de espécies de *Anopheles* na região de Tucuruí/Marabá (Pará). Acta Amazonica, 13(1): 103-140.
- Tang, Z. H. & R. J. Wood, 1986. Comparative study of resistance to organophosphate and carbamate insecticides of four strains of the *Culex pipiens* L. complex. (Diptera; Culicidae). Bull. Ent. Res., 76: 505-511.
- Taylor, C. E., 1986. Genetics and evolution of resistance to insecticides. Biol. J. Linn. Soc., 22: 103-112.
- Thompson, R. C. M., 1947. Effects of house spraying with pyrethrum and with DDT on *Anopheles gambiae* and *Anopheles melas* in West Africa. Bull. Ent. Res., 38: 449-464.
- Tonn, R. J., 1982. Medical entomology and vector control in Latin America. Mosquito News, 42(4): 506-510.
- Tonn, R. J.; Figueiredo, R. & L. J. Uribe, 1982. *Aedes aegypti*, yellow fever and dengue in the Americas. Mosquito News, 42(4): 497-501.
- Townsend Jr., L. H.; Turner Jr., E. C. & W. A. Allen, 1977. An assessment of feeding damage threshold of *Simulium vittatum*, a blackfly pest of horses in Virginia. Mosquito News, 37: 742-744.

- Traoré-Lamizana, M.; Berl, D. & G. Chauvet, 1985. Mise en évidence d'une résistance au ténéphos (Abate) dans le complexe *Simulium damnosum*, sur le site du barrage de Song Loulou (Sanaga maritime, Cameroun). Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., 22(3): 143-148.
- Trimble, R. M. & S. M. Smith, 1978. Geographic variation in development time and predation in the tree-hole mosquito, *Toxorhynchites rutilus septentrionalis* (Diptera; Culicidae). Can. J. Zool., 56(10): 2156-2165.
- Trimble, R. M. & S. M. Smith, 1979. Geographic variation in the effects of temperature and photoperiod on dormancy induction, development time, and predation in the tree-hole mosquito, *Toxorhynchites rutilus septentrionalis* (Diptera; Culicidae). Can. J. Zool., 57(8): 1612-1618.
- Tyrrel, D. J.; Davidson, L. I.; Bulla, L. A. & W. A. Ramoska, 1979. Toxicity of parasporal crystals of *Bacillus thuringiensis* to mosquitoes. Appl. Environ. Microbiol., 38: 656-658.
- Umenai, T., 1985. Japanese encephalitis: Current World Wide Status Bull. WHO., 63(4): 625-631.
- Van Essen, F. & S. Hembree, 1982. Simulated field studies with four formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against mosquitoes. Residual activity and effect of soil constituents. Mosquito News, 42(1): 66-72.
- Villani, F. & J. Hemingway, 1987. The detection and interaction of multiple organophosphorous and carbamate insecticide resistance genes in field populations of *Culex pipiens* from Italy. Pest. Biochem. Physiol., 22: 218-228.
- Von Allmen, S. D.; Lopez-Correa, R. H.; Woodall; Morens, D. M.; Chiriboga, J. & A. Costa-Veléz, 1979. Epidemic dengue fever in Puerto Rico, 1977: A cost analysis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 28: 1040-1044.
- Wallace, J. B. & R. W. Merritt, 1980. Filter-feeding ecology of aquatic insects. Ann. Rev. Entomol., 25: 103-132.
- Walsh, J. F., 1983. Sampling simuliid blackflies. Em "Pest and Vector Management in the Tropics". A. Youdeowei & M. W. Service eds., Longman Group Lim., N. Y. e Londres, 93-95 pp.
- Walsh, J. F., 1985. The feeding behavior of *Simulium* larvae, and the development, testing and monitoring of the use of larvicides, with special reference to the control of *Simulium damnosum* Theobald s.l. (Diptera; Simuliidae): A review. Bull. Ent. Res., 25: 549-594.
- Weiser, J. & A. H. Undeen, 1981. Diseases of blackflies. Em "Blackflies- The Future for Biological Methods in Integrated Control". M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres,

398 pp.

- Wenk, P., 1956. Über die Biologie blut-saugender Simuliiden (Diptera). II- Schwarmverhalten, Geschlechter-findung undkopulation. Z. oreh. okol. Tiere, 55: 671-713.
- Wenk, P., 1981. Bionomics of adult blackflies. Em "Blackflies-The Future for Biological Methods in Integrated Control". M. Laird ed., Academic Press, N. Y. e Londres, 398 pp.
- Westaway, E. G.; Brinton, M. A.; Gaidamovich, S. Y; Horzinek, M. C.; Igarishi, A.; Kaariainen, L.; Lvov, D. K.; Porterfield, J. S.; Russell, P. K; & D. W. Trent, 1985. Flaviviridae. Interivirologia, 24: 183-192.
- W.H.O., 1969. Joint US-AID/OCCGE/WHO technical meetings and the feasibility of onchocerciasis control. PD/68.8 WHO/ONCH/69: 75 pp.
- W.H.O., 1970. Insecticide resistance and vector control. 17th Report of the expert committee on insecticides. Tech. Rep. Ser. Wld. Hlth. Org., 443: 1-279.
- W.H.O., 1971. Blackflies in the Americas. WHO/VBC/71. 283: 32 pp.
- W.H.O., 1973a. Onchocerciasis programmes in Africa. Wld. Hlth. Org. Chron., 27: 540 .
- W.H.O., 1973b. Manual on larval control operations in malaria programmes. World Helth Organ., Geneva, 199 pp.
- W.H.O., 1973c. WHO Expert committee on insecticides. 20th Report: Safe use of pesticides. Tech. Rep. Ser. Wld. Hlth. Org., 513: 26-28.
- W.H.O., 1980. Resistance of vectors of disease to pesticides. 5th Report of the expert committee on vector biology and Control. Tech. Rep. Ser. Wld. Hlth. Org., 655: 1-82.
- W.H.O., 1982. Informal consultation on the development and evaluation of Simulium larvicides for onchocerciasis control. WHO/VBC/82.854: 12 pp.
- W.H.O., 1986. Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides. 10th Report of the expert committee on vector biology and control. Tech. Rep. Ser. Wld. Hlth. Org., 252 : 1-103.
- Wolfe, L. S. & D. B. Peterson, 1960. Diurnal behavior and biting habits of blackflies (Diptera: Simuliidae) in the forest of Quebec. Can. J. Zool., 38: 489-497.
- Womeldorf, D. J., 1979. Funding for integrated pest management in mosquito control. Mosquito News, 32(4): 729-731.

- Womeldorf, D. J. & D. F. Keast, 1978. Vector prevention through legal action. Calif. Mosq. Vect. Cont. Assoc. Proc., 46:21-22
- Wright, J. W., 1971. The WHO program for the evaluation and testing of new insecticides. Bull. WHO., 44: 11-22.
- Wygodzinsky, P. & S. Coscarón, 1973. A review of the Meso-american blackflies of the tribe Prosimuliini (Simuliinae: Simuliidae). Bull. Am. Mus. Nat. Hist., 151: 129-199.
- Yang, T. H., 1982a. Community participation in urban mosquito-borne disease / mosquito control programmes. WHO/MAL/82.984, 7 pp.
- Yang, T. H., 1982b. Participation of primary health workers in urban malaria / mosquito control programmes. WHO/MAL/82.983, 6 pp.
- Yasuno, M.; Ohkita, J. & S. Hatakeyama, 1982a. Effects of Temephos on macrobenthos in a stream of Mt. Tsukuba. Jap. J. Ecol., 32: 29-38.
- Yasuno, M.; Fukushima, S.; Hasegawa, J.; Shioyama, F. & S. Hatakeyama, 1982b. Changes in the benthic fauna and flora after application of Temephos to a stream on Mt. Tsukuba. Hydrobiologia, 89: 205-214.
- Yen, J. H. & A. R. Barr, 1974. Incompatibility in Culex pipiens Em "The Use of Genetics in Insect Control". R. Pal & M. J. Whitten eds., Elsevier, Holanda, pp. 119-131.
- Youdeowei, A. & M. W. Service, 1983. Pest and Vector Management in the Tropics. Longman Group Lim., Londres, 199 pp.
- Yousten, A. A., 1984. Bacterophage typing of mosquito pathogenic strains of Bacillus sphaericus. J. Invert. Pathol., 43: 124-125.
- Zaritsky, A. & K. Khawaled, 1986. Toxicity in carcasses of Bacillus thuringiensis var. israelensis-killed Aedes aegypti larvae against scavenging larvae: implications to bioassay. J. Amer. Mosquito Control Assoc., 2(4): 556-559.
- Zivkovic, V. & B. Burany, 1972. An outbreak of Romblithora erythrocephala (Diptera: Simuliidae) in Yugoslavia in 1972. Acta Vet., 22: 133-142.