

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA



VARIAÇÃO DO GRAU DE SUSCEPTIBILIDADE EM POPULAÇÕES DE
MUSCA DOMESTICA L. (DIPTERA: MUSCIDAE) AO INIBIDOR
DE DESENVOLVIMENTO DE INSETOS, CYROMAZINE.

MARA CRISTINA [PINTO] π / 658

TESE APRESENTADA AO INSTITUTO DE
BIOLOGIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
CAMPINAS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, ÁREA
DE PARASITOLOGIA.

ORIENTADOR: PROF. DR. ÂNGELO PIRES DO [PRADO] \dagger

CAMPINAS - SP
1994

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato(a)
Mara Cristina Pinto
e aprovada pela Comissão Julgadora.

18/07/94
Ângelo Pires do Prado

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Agradecimentos

- Ao Prof. Angelo Pires do Prado, pela orientação e pelos papos filosóficos.
- Ao Prof. Arício Xavier Linhares, pelo acompanhamento estatístico, sugestões e atenção em vários momentos deste trabalho.
- Aos Profs. Carlos Fernando de Andrade e Muracy Bélo pela leitura minuciosa e sugestões.
- Ao Prof. Aquiles E. Piedrabuena pelas aulas de matemática, história, literatura, política e vida...
- Aos professores do Departamento de Parasitologia.
- Ao carinho e ajuda de todos os funcionários do Departamento de Parasitologia.
- Ao trabalho solícito do pessoal da biblioteca do IB.
- Ao Rubens pela "mãozinha" no micro.
- À Silmara e João pelo suporte técnico e afetivo.
- Aos meus pais por TUDO.
- À Paty e Polly pelo incentivo...sempre.
- Aos meus amigos pelas festas, quartas-feiras, reanimação constante do ânimo e por me fazerem concordar plenamente com uma frase de um filme "...a vida vale a pena pelos amigos, pelos bons e velhos amigos..."

INDICE

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
2.1 Histórico dos inibidores de crescimento dos insetos.....	03
2.2 Resistência.....	05
2.3 <i>Musca domestica</i>	09
2.4 Cyromazine.....	10
2.5 Cyromazine X <i>Musca domestica</i>	11
2.6 Valor adaptativo X Resistência.....	14
2.7 Assimetria flutuante X Resistência.....	15
3. OBJETIVOS.....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS	
4.1 Insetos.....	18
4.2 Bioensaio.....	18
4.3 Parâmetros analisados	
4.3.1 Longevidade dos adultos e período de pré-oviposição.....	20
4.3.2 Capacidade de oviposição.....	20
4.3.3 Tempo de desenvolvimento.....	21
4.3.4 Viabilidade dos ovos.....	21
4.3.5 Parâmetros analisados em indivíduos sobreviventes à CL ₉₀	22

4.3.6 Assimetria flutuante.....	22
4.3.7 Análise Estatística.....	22
5.RESULTADOS	
5.1 Grau de resistência das populações.....	25
5.2 Parâmetros analisados.....	34
5.2.1 Tempo de desenvolvimento de estágios imaturos.....	34
5.2.2 Período de pré-oviposição e capacidade de oviposição.....	34
5.2.3 Viabilidade dos ovos.....	35
5.2.4 Longevidade dos adultos.....	36
5.2.5 Taxa de incremento natural.....	36
5.2.6 Assimetria flutuante.....	36
6.DISSCUSSÃO.....	42
7.CONCLUSÕES.....	53
8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
9.ANEXOS.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1a	Curva de concentração-mortalidade na população de Petrópolis.....	31
Figura 1b	Curva de concentração-mortalidade na população de Montes Claros.....	31
Figura 1c	Curva de concentração-mortalidade na população de Promissão.....	31
Figura 2a	Curva de concentração-mortalidade na população de Ibiúna.....	32
Figura 2b	Curva de concentração-mortalidade na população de Monte Mor.....	32
Figura 3	CL ₅₀ e intervalos de confiança em 5 populações de <i>Musca domestica</i> frente ao Cyromazine.....	33
Figura 4a	Oviposição diária de <i>Musca domestica</i> (25 fêmeas) na população S.....	39
Figura 4b	Oviposição diária de <i>Musca domestica</i> (25 fêmeas) na população R.....	39
Figura 4c	Oviposição diária de <i>Musca domestica</i> (25 fêmeas) na população F1/S.....	39
Figura 4d	Oviposição diária de <i>Musca domestica</i> (25 fêmeas) na população F1/R).....	39
Figura 5	Mortalidade das fêmeas de <i>Musca</i> <i>domestica</i> participantes do teste de oviposição das populações S e R	40

Figura 6 Mortalidade dos adultos de *Musca*
domestica nas populações S , R ,

F1/S e F1/R..... 41

INDICE DE TABELAS

Tabela 01	Pupas larviformes e subsequente emergência dos adultos em três populações de Musca domestica frente às concentrações de Cyromazine.....	26
Tabela 02	Pupas larviformes e subsequente emergência dos adultos em duas populações de Musca domestica frente às concentrações de Cyromazine.....	26
Tabela 03	Ação do Cyromazine sobre larvas e pupas em três populações de Musca domestica	28
Tabela 04	Ação do Cyromazine sobre larvas e pupas em duas populações de Musca domestica	28
Tabela 05	Concentrações letais 50% , 95% e intervalo de confiança(IC) expressos em p.p.m. , coeficiente angular da reta "b" e fator de resistência das cinco populações de Musca domestica frente ao larvicida Cyromazine.....	29

Tabela 06	Período de pré-oviposição e capacidade de oviposição de Musca domestica nas populações sensível(S) , resistente(R) e nos sobreviventes destas populações à CL ₈₀ do larvicida Cyromazine(F1/S e F1/R).....	37
Tabela 07	Longevidade de Musca domestica nas populações sensível(S) , resistente(R) e nos sobreviventes destas populações à CL ₈₀ do larvicida Cyromazine(F1/S e F1/R).....	38

RESUMO

Cyromazine (N-ciclopropil-1,3,5 triazina-2,4,6 triamina), um inibidor de crescimento de insetos, tem sido usado para controlar estágios imaturos de alguns dípteros considerados praga, especialmente as moscas que se criam no esterco.

No presente trabalho, cinco populações de mosca doméstica *Musca domestica* L foram examinadas através de bioensaios a fim de se detectar uma possível resistência ao Cyromazine. Três populações (Petrópolis, Montes Claros e Promissão) foram consideradas resistentes, e duas (Ibiúna e Monte Mor) demonstraram-se mais sensíveis que o padrão adotado como sensível pela Organização Mundial de Saúde.

Uma vez detectada a resistência, uma população sensível (Monte Mor) e uma resistente (Montes Claros) foram avaliadas de acordo com os seguintes parâmetros biológicos:

tempo de desenvolvimento, fecundidade, fertilidade, sobrevivência dos adultos, período de pré-oviposição e flutuação assimétrica para se verificar alguma possível desvantagem causada por genes resistentes. Os resultados não mostraram desvantagem adaptativa para a população resistente.

Abstract

Cyromazine (N-cyclopropyl-1,3,5 triazine-2,4,6 triamine), an insect growth inhibitor, has been used to control immature stages of several dipterous plague, specially manure breeding flies.

In the present work five house fly field strains (*Musca domestica* L) were bioassayed in order to detect any possible resistance to Cyromazine. Three strains (Petrópolis-R.J., Montes Claros-M.G. and Promissão-S.P.) were considered resistant, while two strains (Ibiuna-S.P and Monte Mor-S.P.) were proved to be more susceptible than the reference susceptible used by World Health Organization.

Once detected the resistance, one susceptible strain (Monte Mor) and one resistant strain (Montes Claros) were evaluated according to the followings biological parameters: length of development period fecundity, fertility, survival of adults, preoviposition period, and fluctuating asymmetry to verify any possible disadvantage caused by resistant genes. The results did not show adaptative disadvantages towards the resistant strain.

1. INTRODUÇÃO

Os incômodos e problemas sanitários gerados por altas infestações de insetos , em especial os pertencentes à ordem Diptera , levaram o homem a buscar estratégias de controle. Uma destas estratégias , foi a aplicação de larvicidas, substâncias que atingem os estágios imaturos dos insetos nos seus locais de criação. Mecanismos fisiológicos e comportamentais entretanto , foram selecionados no sentido de anular os efeitos destes produtos químicos (Resistência). Isso fez com que consecutivas classes de substâncias, organizadas de acordo com suas bases químicas ou mecanismos de ação , fossem utilizadas no decorrer do tempo.

No que diz respeito às diversas espécies de moscas que utilizam o esterco animal como substrato de criação , o histórico dos compostos usados para a finalidade acima mencionada apresentou um desenvolvimento paralelo aos inseticidas aplicados no controle de adultos (MILLER , 1970).

SPARKS e HAMMOCK (1983) expõem de uma forma mais abrangente a classificação que WILLIAMS (1967) fez das três gerações de inseticidas. Na primeira geração , compostos inorgânicos (grupos arsenicais) , compostos orgânicos de origem vegetal (nicotina , piretrinas , rotenona) e óleos minerais foram usados . A segunda geração foi composta por praguicidas sintéticos : organoclorados , ciclodienos , organofosforados , carbamatos e piretróides. A terceira geração veio representada pelos inibidores de desenvolvimento de insetos cuja base química pode ser hormonal ou não.

Chegou-se a acreditar que , com os inibidores de desenvolvimento , o problema da resistência estaria resolvido uma vez que seria mais difícil para os insetos desenvolverem defesas contra seus próprios hormônios (WILLIAMS , 1967). Cyromazine é um representante desta classe de inseticidas e vem sendo aplicado no controle de dípteros muscóideos que se desenvolvem no esterco acumulado sob gaiolas , em granjas de aves poedeiras.

Registros de resistência da *Musca domestica* , principal praga que se desenvolve em granjas , ao Cyromazine vêm sendo feitos em vários países. Como no Brasil não foram desenvolvidos estudos sobre o seu grau de susceptibilidade , este trabalho tem por objetivo central documentar através de bioensaios esta situação em algumas populações de campo , além de comparar parâmetros biológicos em duas populações, uma sensível e outra resistente ao Cyromazine.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico dos Inibidores de Crescimento dos Insetos

Os compostos enquadrados dentro desta classificação têm em comum o fato de causarem mudanças morfológicas e fisiológicas durante o crescimento ou desenvolvimento dos insetos (CHAMBERLAIN, 1975). Tipicamente, causam a morte em estágios larvais ou deformações nas pupas quando em concentrações sub-letais (FRIDEL e MCDONELL, 1985).

Os inibidores de desenvolvimento de insetos incluem vários grupos químicos com diferentes modos de ação e podem ser subdivididos em três categorias. Os análogos do hormônio juvenil, podendo ser naturais ou não, os inibidores da síntese de quitina, e os derivados do composto orgânico triazina do qual o Cyromazine é representante (GRAF, 1993).

Os passos preliminares que desencadearam o uso dos inibidores de crescimento como potenciais agentes controladores foram basicamente: o reconhecimento da existência de mediadores químicos envolvidos no processo de desenvolvimento, o isolamento, a identificação e a síntese destes produtos (hormônios).

Em 1934, WIGGLESWORTH demonstrou a presença de um hormônio secretado pelos corpos alados na hemolinfa do hemíptero *Rhodnius prolixus* (L), responsável pela muda do inseto.

Vinte anos mais tarde, a potencialidade de utilização do hormônio juvenil como inseticida foi despertada quando WILLIAMS (1956) conseguiu bloquear a formação dos adultos em pupas do lepidóptero *Platysia cecropia* (L) inoculadas com extrato de hormônio juvenil. Este extrato foi obtido a

partir da maceração de abdomens de machos adultos de *Platysia cecropia* e mostrou-se ativo também quando aplicado a *Pieris brassicae* (L) (Lepidoptera), *Tenebrio molitor* (L) (Coleoptera), *Rhodnius prolixus* (L) (Hemiptera) e *Periplaneta americana* (L) (Blattaria).

A identificação dos hormônios deu-se na década de 60. Schmialek , em 1961 , foi o primeiro a identificar dois componentes do hormônio juvenil em excrementos de *Tenebrio molitor* (farnesal e farnesol) (apud STAAL , 1975). A partir desta data vários pesquisadores investigaram mais intensamente a natureza química dos hormônios juvenis em diferentes insetos (KARLSON , 1963 ; ROLLER et alii , 1967) , bem como seus processos de purificação (MEYER et alii , 1965) .

Uma outra fonte natural de hormônio juvenil foi descoberta praticamente ao acaso quando hemípteros da espécie *Phyrrhocoris apterus* (L) originários de Praga (antiga Tcheco-Eslováquia) foram importados para Boston (EUA) e sem explicação aparente não completavam a metamorfose total, morrendo antes da maturidade sexual. Constatou-se posteriormente que a causa do problema era a origem do papel toalha americano , que por ser obtido de um determinado tipo de árvore *Abies balsamea*(L) , diferia dos papéis usados na Europa. Uma fração altamente potente de ação similar ao hormônio juvenil foi obtida através da purificação do extrato do papel toalha. O produto ficou conhecido como "fator do papel" e apresentou certa especificidade uma vez que seu efeito só foi positivo em pupas de *Phyrrhocoris apterus* mostrando-se sem ação quando aplicado a pupas de *Platysia cecropia* (SLAMA & WILLIAMS ,

1965). A identificação química do "fator do papel" foi conseguida no mesmo ano (BOWERS , 1966).

Uma vez conhecidas as bases químicas dos hormônios naturais , começou-se a buscar substâncias sintéticas que apresentassem uma ação análoga e pudessem desta forma ser utilizadas como inseticidas (LAW et alii , 1966 ; ROMANUK et alii , 1967). Algumas das espécies usadas para os testes dos compostos foram : hemípteros (WIGGLESWORTH , 1969) , coleópteros (BOWERS , 1969) e ortópteros (NEMEC et alii , 1970).

Pelo fato de mimetizarem os hormônios juvenis estes compostos foram inicialmente denominados de juvenóides em analogia aos piretróides e rotenóides os quais mimetizavam respectivamente os produtos naturais piretro e rotenona (SPARKS e HAMMOCK , 1983). SCHAEFER e WILDER (1972) foram os primeiros a adotarem o termo inibidores do desenvolvimento de insetos por não existir até então uma terminologia específica para esta classe. STAAL (1975) abrangeu o termo para reguladores de crescimento de insetos como um conceito mais amplo para a terceira geração de inseticidas , onde não se leva em conta apenas o seu modo de ação , mas enfatiza características como maior seletividade , ausência de efeitos indesejáveis ao homem , animais e meio-ambiente e compatibilidade com princípios modernos de manejo de insetos.

2.2 Resistência

Resistência é o termo mais utilizado nos E.U.A e Europa para designar a diminuição da sensibilidade dos organismos a compostos tóxicos (OGAWA et alii , 1983). Mais de 440

espécies de artrópodos têm demonstrado resistência a um ou mais praguicidas (TABASHNIK e ROUSH , 1990). O primeiro caso de resistência foi detectado nos E.U.A (Washington) no ano de 1887 , por John B. Smith , em uma população de afídeos. Tal população mostrou-se resistente ao querosene (HESS , 1952). Entretanto foi só com a introdução do D.D.T. (Diclorodifenil tricloroetano) em 1945 que a resistência recebeu atenção científica (METCALF , 1983).

A base do desenvolvimento da resistência é de pressão de seleção , pela qual genes pré-existentes conferem capacidade a alguns indivíduos dentro de uma população de sobreviverem a uma concentração que seria capaz de matar a maioria dos indivíduos.

Acreditava-se que a resistência fosse poligênica , isto é , resultante da interação de vários loci. Entretanto , durante a década de 60 difundiu-se o conceito de sua monogenia ou , no máximo , da interação de dois genes como resultado de um refinamento nas pesquisas (ROUSH e MCKENZIE, 1987). Esta confusão inicial apareceu devido a estudos de laboratório que normalmente selecionam , por uma forte pressão , genes de pequeno efeito que , através de algumas gerações , resultam em resistência poligênica. Os verdadeiros genes responsáveis por altos níveis de resistência aparecem em pequenas quantidades em condições de campo e fazem com que outros loci que contribuem muito pouco se tornem supérfluos (ROUSH e MCKENZIE , 1987).

Outro fator que contribuiu para uma visão dúbia deste ponto foi o termo "vigor de tolerância" proposto por METCALF em 1955. Este termo foi usado para a tolerância adquirida a inseticidas resultante de um vigor extra da população ao invés de um mecanismo específico para resistência. O vigor

poderia , segundo o autor , ser devido a um aumento no peso ou melhoramento das condições da população por uma pressão de seleção encontrada em extremos de condições ambientais (BROWN e PAL , 1971).

Parâmetros biológicos e operacionais interagem com o caráter genético que confere a resistência. Dentro dos parâmetros biológicos destacam-se o número de gerações em relação ao tempo ,o número de descendentes por geração , monogamia , poligamia , partenogênese , isolamento e migração. Dentro dos operacionais destacam-se : a natureza química do praguicida , sua relação com grupos químicos previamente usados , as concentrações aplicadas , seu poder residual e seu modo de aplicação (GEORGHIOU e TAYLOR , 1977; GEORGHIOU , 1980). Todas as possibilidades de combinações entre estes fatores irão agir de forma diferente no desenvolvimento da resistência nas várias espécies de insetos e , mais ainda , nas populações de uma mesma espécie.

Os mecanismos básicos de resistência desenvolvidos pelos insetos são : diminuição da penetração cuticular , aumento na capacidade de metabolizar o inseticida e diminuição da sensibilidade nos sítios de ação do inseticida. A presença de mais de um destes mecanismos confere o que é chamado de resistência múltipla por PLAPP e WANG (1983) , e por SCOTT (1990). Estes mecanismos , em geral , não são específicos e devido a isso são responsáveis pela resistência cruzada a compostos relacionados ou até mesmo não relacionados quimicamente (SODERLUND e BLOOMQUIST, 1990).

O fenômeno da resistência cruzada não foi levado em consideração por WILLIAMS (1956). O autor afirmava que com

a terceira geração de inseticidas o problema da resistência estava resolvido , uma vez que seria mais difícil para os insetos desenvolverem defesas contra substâncias originariamente endógenas.

A primeira documentação neste sentido foi feita por DYTE (1972) , ao constatar que uma população de *Tribolium castanum* (Herbst) resistente a organoclorados , organofosforados e carbamatos apresentou resistência cruzada a um hormônio sintético juvenil.

CERF e GEORGHIOU (1972) também comprovaram resistência cruzada a outro inibidor de desenvolvimento (metopreno) em uma população de *Musca domestica* já resistente aos mesmos grupos químicos citados acima. Estes autores não se mostraram surpresos com o fenômeno da resistência desenvolvido pelos inibidores de desenvolvimento , baseados em dois argumentos. Primeiramente consideraram que em um sistema natural é necessário que o hormônio juvenil seja bloqueado para que a metamorfose ocorra , já existindo assim um mecanismo para metabolizá-lo. A segunda consideração é que , independentemente da origem as moléculas vindas do exterior, uma vez dentro do corpo do inseto são tratadas como corpos estranhos , estando desta forma sujeitas aos processos de inativação associados aos praguicidas convencionais.

As oxidases provavelmente sejam responsáveis por desencadear resistência cruzada aos inibidores de desenvolvimento de insetos , uma vez que , altos níveis de resistência a este grupo têm sido observadas em populações que possuem alta atividade desta enzima (SPARKS e HAMMOCK , 1983) .

2.3 *Musca domestica*

Das espécies de moscas que se criam no esterco acumulado sob as gaiolas , em granjas de aves poedeiras , a mosca doméstica *Musca domestica* (Linnaeus) é a mais importante e abundante.

Durante toda sua vida , cerca de seis a oito semanas , uma fêmea deposita na superfície úmida do esterco, aproximadamente seis grumos de ovos com 75 a 200 unidades cada. Os estágios larvais completam seu desenvolvimento dentro de 4 a 7 dias. A pupação ocorre nas áreas mais secas do esterco e o adulto emerge dentro de 3 a 4 dias (AXTELL , 1985).

Sua importância deve-se aos problemas sanitários que acarreta como agente veiculador de organismos patógenos, e aos econômicos , ao danificarem com suas fezes e regurgitações os equipamentos metálicos e instalações elétricas dos aviários. Devido a estes prejuízos existe um alto custo gasto na tentativa de controlar este inseto praga (AXTELL e ARENDS , 1990).

Das formas de controle testadas , a aplicação de inseticidas é sem dúvida nenhuma , a mais amplamente usada , uma vez que a curto prazo oferece um efeito visivelmente satisfatório.

HESS (1952) mostra o tempo decorrido em vários países desde a introdução do D.D.T. até o desenvolvimento da resistência em populações de mosca doméstica. Em países como Itália , Grécia , Dinamarca , Egito e E.U.A. , o desenvolvimento da resistência foi observada no período de um ano. Na Suécia foi observada uma população resistente em uma área onde não se havia aplicado D.D.T. anteriormente ,

indicando assim que a frequência do fenótipo resistente pode naturalmente ser alta em populações nunca expostas a um inseticida.

KEIDING (1977) documentou a resistência cruzada e a resistência múltipla ao longo de 30 anos , a partir de 1945, em granjas na Dinamarca. A resistência foi observada a vários inseticidas dentro das classes de organoclorados , organofosforados , carbamatos , piretróides e um juvenóide (metopreno).

Como já comentado anteriormente , a resistência cruzada aos inibidores de crescimento parece ser provavelmente maior naquelas populações que possuem alta atividade de oxidases , sendo esta observação especialmente aplicável à mosca doméstica (SPARKS e HAMMOCK , 1983).

2.4 Cyromazine

Cyromazine : CGA 72662 (N-ciclopropil-1,3,5,-triazina-2,4,6-triamina) representa uma nova classe dos inibidores de desenvolvimento de insetos , sendo derivado de herbicidas à base de triazina (SHEN e PLAPP , 1990). Quando aplicados ao solo , estes herbicidas são absorvidos pelas raízes e translocados ao xilema , chegando às folhas e impedindo a fotossíntese (GEORGHIU , 1983).

O espectro de ação do composto ativo cyromazine no controle dos insetos , com maior ou menor eficácia dependendo da espécie , tem abrangido desde larvas de moscas como *Musca domestica* (HALL e FOEHSE , 1980), *Fannia canicularis* (L) , *Fannia femoralis* (Stein) (MEYER et alii ,

1984) , *Phaenicia cuprina* (Wiedemann) (HART et alii , 1982), *Ceratitis capitata* (Wied) (Viñuela et alii , 1993) e minadores do gênero *Liriomyza* (Mik) (SHUSTER e EVERETT , 1983) até larvas da pulga do cão *Ctenocephalis canis* (Curtis) (FRIEDEL , 1986).

Cyromazine é mais efetivo no início dos estágios larvais (El-OSHAR et alii , 1985 ; FRIEDEL e MCDONELL , 1985) e tem pouca ou nenhuma ação de contato , sendo eficaz apenas quando ingerido pelas larvas (FRIEDEL e MCDONELL , 1985).

O modo exato de ação da droga é até agora desconhecido. MILLER et alii (1981) demonstraram que Cyromazine inibiu "in vitro" a síntese de quitina em um experimento com regeneração de patas de baratas. Contraditoriamente , nenhum efeito foi observado na síntese de quitina em experimentos com *Lucilia cuprina* (TURNBULL e HOWELLS , 1982). Estudos ultra-estruturais demonstram que as lesões cuticulares causadas pelo cyromazine diferem de outros três produtos químicos comprovadamente inibidores da síntese de quitina (BINNINGTON , 1985) e talvez sua ação seja de desestruturação do sistema endócrino (FRIDEL et alii , 1988). Os estudos de KOTZE (1993) sobre os efeitos de Cyromazine nas propriedades mecânicas do crescimento cuticular em *Lucilia cuprina* reforçam esta sugestão.

2.5 Cyromazine X *Musca domestica*

O uso comercial de cyromazine como larvicida aplicado ao controle da mosca doméstica em granjas de aves poedeiras iniciou-se nos EUA em 1982 , quando foi registrado pela companhia Ciba-Geigy. Inicialmente foi usado como "pré-mix",

ou seja, misturado à ração animal na forma do produto comercial LARVADEX ; posteriormente passou também a ter seu uso sob a forma tópica , sendo aspergido sobre as fezes que se acumulam sob as gaiolas (NEPOREX) (SHEPPARD et alii , 1989).

Antes do seu uso comercial , HALL e FOEHSE (1980) obtiveram , através de bioensaios , 100% de controle da mosca doméstica com a concentração de 0,8 ppm (partes por milhão).

A concentração de 1,5 ppm do produto comercial LARVADEX, foi usada nos EUA com alta eficácia de junho de 1982 até agosto de 1983 , quando seu registro foi cancelado pela Agência de Proteção ao Meio Ambiente devido a resultados desfavoráveis de estudos toxicológicos realizados em mamíferos. O novo registro e seu uso comercial recomeçaram em maio de 1985 com a mesma concentração de 1,5 ppm (SHEPPARD et alii , 1989).

Em 1982 , ISEKI e GEORGHIOU (1986) encontraram moderada resistência em uma população de mosca doméstica coletada em uma fazenda na Pensilvânia (EUA) , que havia recebido tratamento de cyromazine por 2 anos na forma "pré-mix".

MULLA e AXELROD (1983) obtiveram excelentes resultados na inibição da emergência de mosca doméstica após 14 dias do final do tratamento em uma granja na Califórnia (EUA) ("pré-mix" , 1,5 ppm).

Em 1984 , BLOOMCAMP et alii (1987) encontraram tolerância em moscas coletadas em uma granja na Flórida onde cyromazine havia sido usado por duas estações sucessivas.

Através de monitoramento da resistência em uma população de mosca doméstica no Mississippi (EUA)

classificou-se da seguinte forma o controle pelo cyromazine: excelente em 1982 e 1983 , bom em 1985 , e insatisfatório em 1986. Em vista da diminuição da eficácia do produto , em 1987 a aplicação de 1,5 ppm foi substituída por 5,0 ppm ("pre-mix") juntamente com a recomendação , pela Ciba-Geigy de um programa de manejo alternado (SHEPPARD *et alii* , 1989). Naquela concentração de 5,0 ppm o controle mostrou-se eficaz, porém em 1988 , quando esta população foi novamente monitorada , observou-se que o nível de resistência foi 3 vezes maior do que em 1986 (SHEPPARD *et alii* , 1992).

Na Dinamarca , onde a utilização do Cyromazine não foi permitida na forma "pré-mix" , só tendo sua aplicação na forma tópica , nenhum sinal de desenvolvimento da resistência foi observado desde 1984 (JESPERSEN , 1990 ; KEIDING *et alii* , 1991 , 1992). Esta observação é justificada pelo fato da aplicação tópica permitir a ocorrência de áreas não atingidas pelo larvicida propiciando a sobrevivência de indivíduos susceptíveis que diluem a resistência.

A resistência cruzada não foi detectada em populações resistentes ao cyromazine frente aos organoclorados , organofosforados , carbamatos e piretróides (BLOOMCAMP *et alii* , 1987 ; SHEN e PLAPP , 1990 ; KEIDING *et alii* , 1991 , 1992) , sendo apenas documentada frente a outro inibidor de crescimento , o diflubenzuron (SHEN e PLAPP , 1990).

O mecanismo exato da resistência não é conhecido , embora seja mais associado a uma alteração no sítio de ação do inseticida , do que na redução da penetração ou degradação metabólica. Análises genéticas indicam a presença de um único gene no cromossomo V relacionado à resistência da mosca doméstica (SHEN e PLAPP , 1990).

2.6 Valor adaptativo x Resistência

Valor adaptativo refere-se à eficácia reprodutiva de um gene , um grupo de genes , de indivíduos ou mesmo de populações inteiras (CARARETO , 1990).

Existem muitas controvérsias na literatura em relação a alguns parâmetros do valor adaptativo , tais como fecundidade e tempo de desenvolvimento de artrópodos em populações sensíveis e resistentes.

PIMENTEL (1951) encontrou que o número de dias necessários para o desenvolvimento larval foi maior em três populações de mosca doméstica resistentes ao D.D.T. quando comparado com uma população sensível.

De acordo com CROW (1957), o fato da frequência dos genes resistentes ser baixa antes do uso de inseticidas leva à inferência de que a presença destes alelos seja desvantajosa em termos reprodutivos. Baseados nesta consideração e em testes de laboratório com mosquitos , GEORGHIOU e TAYLOR (1977) afirmaram que as populações de artrópodos resistentes possuem menores taxas de fecundidade e maior tempo de desenvolvimento do que populações sensíveis.

Contrariamente , alguns autores não encontraram nenhuma relação entre resistência e valor adaptativo (MARCH e LEWALLEN , 1950 ; BABERS *et alii* , 1953 ; VANZARDEH *et alii* , 1954 ; WHITEHEAD *et alii* , 1985).

SHEN e PLAPP (1990) ao trabalharem com uma população sensível e uma resistente de mosca doméstica ao cyromazine obtiveram resultados concordantes com a afirmação de GEORGHIOU e TAYLOR (1977). A população resistente apresentou

um tempo de desenvolvimento maior e uma menor taxa reprodutiva.

2.7 Assimetria flutuante

Assimetria flutuante é a diferença aleatória que existe, em determinado caráter, entre os lados direito e esquerdo em um organismo que normalmente possui simetria bilateral (CLARKE e RIDSDILL-SMITH, 1992).

Em geral o aumento na flutuação assimétrica está associado com o estresse gerado pelo meio ambiente ou com o aumento da homozigose, embora exceções sejam comuns quanto a este último fator (PALMER e STROBECK, 1986).

CLARKE e MCKENZIE (1992) demonstraram que determinadas temperaturas, aplicadas durante o desenvolvimento larval, e a alta densidade de larvas, agiram como fontes geradoras de estresse em *Lucilia cuprina* (Wiedeman), resultando em um aumento na assimetria.

Inferese que exista uma relação entre assimetria e "fitness" (valor adaptativo) dos indivíduos, uma vez que a assimetria pode relacionar-se com homozigose e esta por sua vez com o "fitness". Esta relação foi claramente comprovada em *Lucilia cuprina* por CLARKE e MCKENZIE (1987, 1992) e MCKENZIE e CLARKE (1988).

A flutuação assimétrica foi um bom indicador do efeito subletal do inseticida "Avermectina B1" em *Musca vetustissima* (Walker). Moscas coletadas em fezes de bovinos até 11 semanas depois da aplicação do produto mostraram aumento na flutuação assimétrica quando comparadas com as moscas obtidas de fezes não tratadas (CLARKE e RIDSDILL-SMITH, 1992). Contrariamente, o trabalho de Wardhaugh et

alii (1993) com a mesma espécie de mosca e o mesmo inseticida não demonstrou aumento na flutuação assimétrica.

3.OBJETIVOS

São os seguintes os objetivos do trabalho:

3.1 Documentar o grau de resistência em diferentes populações de *Musca domestica* , obtidas em granjas de aves poedeiras , ao larvicida Cyromazine através da detecção da concentração letal mediana (CL₅₀) correspondente.

3.2 Relacionar o grau de resistência encontrado à história de uso do produto em cada granja.

3.3 Comparar diferenças biológicas e morfológicas de duas populações , resistente e sensível , nos seguintes aspectos :

3.3.1 Tempo de desenvolvimento dos estágios imaturos;

3.3.2 Capacidade de oviposição ;

3.3.3 Viabilidade dos ovos ;

3.3.4 Longevidade dos adultos ;

3.3.5 Período de pré-oviposição ;

3.3.6 Assimetria flutuante.

3.4 Comparar os parâmetros acima citados , com exceção do tempo de desenvolvimento larval , entre a população sem tratamento prévio e os indivíduos sobreviventes à CL₈₀ do larvicida , tanto em uma população sensível como em uma resistente a fim se observar possíveis efeitos subletais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Insetos

As populações de *Musca domestica* foram mantidas em laboratório a partir de adultos coletados em granjas avícolas nos locais abaixo mencionados:

- Petrópolis (R.J.) - Granja Juriti
- Promissão (S.P.) - Granja Mifune
- Ibiúna (S.P.) - Granja Saito
- Monte Mor (S.P.) - Granjas Capuavinha e Forchetti
- Montes Claros (M.G.) - Granja Somai-Nordeste

As moscas foram mantidas em gaiolas de 30 X 30 X 48 cm. confeccionadas com armação de ferro e cobertas por telas de *nylon*.

A dieta seca dos adultos foi composta de açúcar , levedo de cerveja e leite em pó integral , misturados na proporção de 1:1:1. Alimento e água foram oferecidos à vontade.

Os ovos foram obtidos oferecendo-se como meio de oviposição ração para ratos umedecida e previamente fermentada.

4.2 Bioensaio

Primeiramente houve a escolha de um meio de cultura larval onde a taxa de sobrevivência até a fase de pupa atingisse um índice mínimo de sobrevivência de 70% (Schmidt e KUNZ , 1980). O meio escolhido foi composto de 3,5 partes de ração para ratos e 6,5 partes de água.

O inseticida Cyromazine (produto técnico - pureza de 100%) que se apresenta no estado de pó era dissolvido na água e a seguir adicionado à ração , garantindo assim sua homogeneidade no meio. A este meio era permitido um tempo de fermentação de no mínimo 5 dias antes da inoculação das larvas.

O cálculo das concentrações desejadas do larvicida era obtido a partir de partes por milhão (ppm).

Em frascos plásticos de 350 ml. eram colocados 10 g. de serragem , a fim de propiciar local mais seco para a fase de pupariação , e sobre esta 100 g. do meio.

As larvas eram então colocadas , em número de 100 , sobre pedaços de papel de filtro dentro destes frascos com a ajuda de um pincel.

Foram feitas 4 réplicas de cada concentração do inseticida e 4 controles sem inseticida para cada população.

As concentrações iniciais foram 1 , 2 , 4 e 8 ppm. Somente para as populações de Monte Mor e Ibiúna houve necessidade de diminuir ainda mais a concentração mínima , para valores entre 0,05 e 0,4 ppm..

Todos os experimentos do trabalho foram mantidos em câmara de germinação mod.FANEN 347 CGD com temperatura (27° C), umidade relativa (75%) e fotoperíodo (12/12) constantes.

Após 8 dias as pupas eram recolhidas por flutuação e contadas , sendo separadas aquelas de aspecto larviforme das normais. No 15° dia após o início do teste os adultos eram contados.

4.3 Parâmetros analisados

4.3.1 Longevidade dos adultos e período de pré oviposição

Pupas oriundas das populações detectadas como sensível (Monte Mor) e resistente (Montes Claros) foram isoladas em tubos de vidro.

Após a emergência 25 fêmeas e 25 machos de cada população foram mantidos em gaiolas de armação de ferro recobertas por tela de *nylon* até a morte. Todos os dias os insetos mortos eram recolhidos e conservados em álcool 70%.

A partir do segundo dia de emergência , meio de oviposição era oferecido para avaliação do tempo de pré-oviposição.

4.3.2 Capacidade de oviposição

O meio para oviposição era colocado em um recipiente recoberto com organza de *nylon*. Esta organza era enterrada em alguns pontos formando assim fendas. Estas fendas são preferidas para oviposição.

A cada 24 horas o meio era trocado e os ovos sobre a organza contados com a ajuda de um contador manual.

Para relacionar tamanho das fêmeas e postura , foi medida a distância da nervura umeral até a projeção da ponta da asa , final da nervura costa (Anexo 02). Os detalhes da medição serão dados no tópico " Assimetria flutuante".

4.3.3 Tempo de desenvolvimento

Para a estimativa do tempo de desenvolvimento de ovo até adulto , foi oferecido meio de oviposição às colônias mantenedoras das linhagens de Monte Mor e Montes Claros por um período de 2 horas.

Após a eclosão , 200 larvas foram distribuídas em 2 potes em número de 100 por pote contendo 100 gramas de meio de cultura.

Quando as larvas alcançavam o terceiro ínstar e começavam a subir pelo pote com o intuito de empupar , o frasco era transferido para o interior de um outro maior contendo serragem no fundo. A cada duas horas a serragem era peneirada e as pupas agupadas por intervalos.

As pupas com maior esclerotização eram agrupadas como pertencentes à primeira hora antes da observação , e as menos esclerotizadas como pertencentes à última hora. Após a emergência dos adultos , o agrupamento foi feito de acordo com o número de horas decorridas desde a pupação até a emergência.

4.3.4 Viabilidade dos ovos

Cinco amostras de 100 ovos para cada população , foram distribuídas em potes com 100 gramas de meio de cultura. Ao final de 15 dias os adultos foram contados.

4.3.5 Parâmetros analisados em indivíduos sobreviventes à CL₈₀

Nas duas populações foi aplicada a CL₈₀ , selecionando assim os mais resistentes para realização dos testes de parâmetros biológicos. A metodologia para avaliação destes parâmetros seguiu o mesmo padrão citado acima.

As concentrações usadas em Monte Mor e Montes Claros foram respectivamente 0,01 e 4 ppm.

4.3.6 Assimetria flutuante

Asas de 30 machos e 30 fêmeas das duas populações citadas e dos sobreviventes à CL₈₀ do larvicida nestas duas populações foram montadas em meio "Hoyer" entre lâmina e lamínula. O comprimento de duas nervuras foi medido no lado direito e esquerdo de cada indivíduo (Anexo 02).

As medidas foram feitas em microscópio estereoscópico com câmara clara (ZEISS) , mesa digitalizadora acoplada ao microcomputador e com programa especialmente elaborado pelo prof. Eduardo Buzatto , do Departamento de Computação do Instituto de Matemática , Estatística e Ciências da Computação da UNICAMP.

4.3.7 Análise Estatística

As concentrações letais e o coeficiente angular da reta "b" foram calculados através de Análise de Probits que constitui a transformação das porcentagens de mortalidade em uma unidade denominada "probits" , e na transformação das concentrações utilizadas em logaritmos. Este método é

baseado em BLISS (1935) e FINNEY (1971). As mortalidades em cada concentração foram corrigidas pela mortalidade do controle (ABBOTT , 1925).

O fator de resistência (FR) foi calculado pela seguinte fórmula:

$$FR = \frac{CL_{50} \text{ da população testada}}{0,25\text{ppm (i.e. } CL_{50} \text{ adotada como padrão susceptível pela O.M.S.)}}$$

As populações que não apresentaram sobreposição entre seus intervalos de confiança referentes à CL_{50} foram consideradas significativamente diferentes quanto à susceptibilidade.

De acordo com ARRUDA (1979) , a homogeneidade de uma população em relação a um caráter significa que a distribuição de suas respostas não se desvia de um certo comportamento que pode ser representado por uma curva normal. O teste de χ^2 foi utilizado para se analisar a homogeneidade das populações ao cyromazine , de acordo com o critério de BLISS (1935).

Para se comparar os coeficientes angulares das retas foi utilizada Análise de Variância (ZAR , 1984).

Todos os parâmetros biológicos foram comparados através de análises de variância pelo procedimento PROC GLM (Modelos Lineares Gerais) do programa estatístico SAS (SAS , Inc. 1987).

O programa estatístico "Life 48" em Basic , desenvolvido por ABOU-SETTA et alii (1986) e adaptado pelo prof. Omar Diniz da Universidade Federal de Uberlândia foi utilizado com a finalidade de se calcular algumas taxas de desenvolvimento que pudessem esclarecer e proporcionar uma comparação mais acurada entre os parâmetros biológicos da população mais sensível e da mais resistente.

A taxa de desenvolvimento realmente importante para os objetivos propostos neste trabalho é a taxa de incremento natural (r) , que é calculada através da seguinte fórmula :

$$r = \log(RO) / T \quad \text{onde:}$$

(RO) = taxa reprodutiva líquida

T = tempo de geração

A taxa reprodutiva líquida (RO) é calculada multiplicando-se a proporção de fêmeas sobreviventes na idade x (LX) pela taxa de fecundidade (MX) e somando-se os valores relativos às várias classes de idade (BIRCH,1948) . Nos anexos 03 e 04 estão demonstradas as informações necessárias para a realização destes cálculos e as demais taxas emitidas por este programa estatístico.

Todos os testes estatísticos foram efetuados com nível de significância de 5%.

O material testemunho foi depositado no Museu de História Natural do Instituto de Biologia , UNICAMP.

5. RESULTADOS

5.1 Grau de resistência das populações

Embora o levantamento dos estádios larvais mais afetados pelo Cyromazine não fizesse parte dos objetivos específicos deste trabalho, observações não sistematizadas demonstraram que poucas larvas morreram no terceiro estágio. Estas observações estão em concordância com alguns autores (EL-OSHAH *et alii*, 1985; FRIEDEL e MCDONELL, 1985) de que as fases mais afetadas pelo larvicida são os primeiros estádios.

O padrão de deformidade mais encontrado nas pupas de *M. domestica* devido à ação do Cyromazine, foi o aspecto larviforme que se caracteriza por pupas alongadas com segmentações pronunciadas longo de sua extensão e com tamanho aproximado às larvas de terceiro estágio.

As tabelas 01 e 02 apresentam as porcentagens de larvas que se desenvolveram em pupas larviformes, e a posterior emergência dos adultos a partir destas pupas nas diferentes concentrações de Cyromazine. As populações de Monte Mor e Ibiúna (tabela 02) estão separadas das populações de Petrópolis, Montes Claros e Promissão (tabela 01) por se apresentarem mais sensíveis e desta forma só alcançarem níveis de sobrevivência em concentrações mais baixas (0,05, 0,1, 0,2 e 0,4 ppm).

Tabela 01: Pupas larviformes e subsequente emergência dos adultos em três populações de Musca domestica frente às concentrações de Cyromazine.

Cyromazine(ppm)	Pupas larviformes (%) (A)					Adultos (%) (A)				
	0	1	2	4	8	0	1	2	4	8
Populações										
Petrópolis	0.0	0.7	3.0	14.5	9.2	-	0.0	1.0	4.0	3.0
Montes Claros	0.0	2.5	4.7	5.2	0.2	-	0.0	0.0	0.2	0.0
Promissão	0.0	5.5	4.7	0.5	0.0	-	1.5	2.2	0.0	-

(A) Todos os testes partiram de 400 larvas.

Tabela 02: Pupas larviformes e subsequente emergência dos adultos em duas populações de Musca domestica frente às concentrações de Cyromazine.

Cyromazine(ppm)	Pupas larviformes (%) (A)					Adultos (%) (A)				
	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0	0.05	0.1	0.2	0.4
Populações										
Ibiúna	0.0	3.7	10.2	3.2	0.5	-	0.0	0.0	0.0	0.0
Monte Mor	0.0	6.0	7.2	9.0	2.7	-	0.0	3.0	1.0	0.7

(A) Todos os testes partiram de 400 larvas.

Pode-se observar que , independentemente das taxas de deformação das pupas entre as diferentes concentrações ou entre as populações mais resistentes e sensíveis, a emergência dos adultos a partir destas pupas manteve-se em níveis muito baixos.

Nas tabelas 03 e 04 estão expostas as porcentagens de mortalidade dos estágios larvais das cinco populações utilizadas nos bioensaios. A separação das populações em duas tabelas tem a mesma explicação do exposto acima. A análise estatística demonstrou diferenças significativas ($P=0,0001$) nos seguintes parâmetros analisados : populações, concentrações e interação populações X concentrações. Os valores de F para a tabela 03 seguem a ordem respectiva dos parâmetros citados acima : 84,58 , 519,17 e 19,74. Na tabela 04 os valores de F , seguindo a mesma sequência são : 33,74 , 145,50 e 9,16.

A partir da mortalidade das larvas e pupas nas várias concentrações, foram obtidas CL_{50} e CL_{95} , isto é , a quantidade necessária do larvicida capaz de matar 50% e 95% da população total testada.

Na tabela 05 estão os valores das respectivas concentrações letais , o valor do coeficiente angular "b" da reta e o fator de resistência para cada população. Nas figuras 01 e 02 estão apresentadas as curvas de dosagem-mortalidade referentes a cada população.

Tabela 03: Ação do Cyromazine sobre larvas e pupas em três populações de Musca domestica.

Cyromazine(ppm)	Mortalidade % (Desvio Padrão) *				
	0	1	2	4	8
Populações					
Petrópolis	25.2(5.5) (A)	33.5(14.3) (A)	33.7(3.8) (A)	77.2(3.2) (A)	92.5(3.1) (B)
Montes Claros	12.5(2.1) (B)	21.2(2.6) (A)	34.7(4.6) (A)	75.7(5.8) (A)	100.0(0.0) (A)
Promissão	28.2(6.1) (A)	32.7(2.2) (A)	81.0(1.8) (B)	99.2(0.9) (B)	100.0(0.0) (A)

* Média da mortalidade e desvio padrão obtidos a partir de quatro réplicas (N=400).

(A) (B) Colunas com as mesmas letras não apresentam diferença significativa à nível de 5%.

Tabela 04: Ação do Cyromazine sobre larvas e pupas em duas populações de Musca domestica.

Cyromazine(ppm)	Mortalidade % (Desvio Padrão) *				
	0	0.05	0.1	0.2	0.4
Populações					
Ibiúna	13.7(4.4) (A)	18.2(7.3) (A)	55.0(7.7) (A)	99.7(0.5) (A)	100.0(0.0) (A)
Monte Mor	25.0(3.0) (B)	50.2(2.2) (B)	75.7(11.9) (B)	96.5(2.1) (B)	96.2(2.1) (B)

* Média da mortalidade e desvio padrão obtidos a partir de quatro réplicas (N=400).

(A) (B) Colunas com as mesmas letras não apresentam diferença significativa à nível de 5%.

Tabela 05: Concentrações letais 50% , 95% e intervalos de confiança (IC) expressos em ppm; coeficiente angular da reta "b" e fator de resistência das cinco populações de Musca domestica frente ao larvicida Cyromazine.

População	CL50 (IC)	CL95 (IC)	Coeficiente angular da reta "b" (± desvio padrão)	FR ₅₀ ^A
Petrópolis	3.19 (2.86-3.57)	12.90 (10.81-15.41)	0.82 (0.21)	12.8
Montes Claros	2.80 (2.60-2.98)	7.25 (6.70-7.91)	1.19 (0.13)	11.2
Promissão	1.62 (1.49-1.76)	2.91 (2.67-3.16)	1.95 (0.14)	6.5
Ibiúna	0.10 (0.09-0.11)	0.16 (0.14-0.17)	2.46 (0.45)	-
Monte Mor	0.06 (0.05-0.07)	0.29 (0.15-0.30)	0.77 (0.18)	-

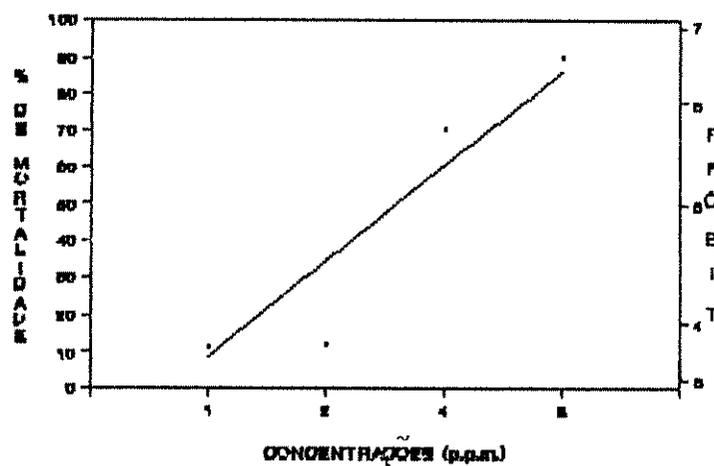
^AFator de Resistência = CL₅₀ da população testada / 0,25 (padrão de CL₅₀ considerada susceptível pela O.M.S.)

O teste de χ^2 realizado a fim de se verificar o ajuste entre os pontos de mortalidades obtidos e a reta de regressão apresentaram, para todas as populações, níveis indicativos de ausência de ajuste. Os valores foram: Petrópolis, 103,16; Montes Claros, 10,98; Promissão, 8,52; Ibiúna, 9,76 e Monte Mor, 26,39.

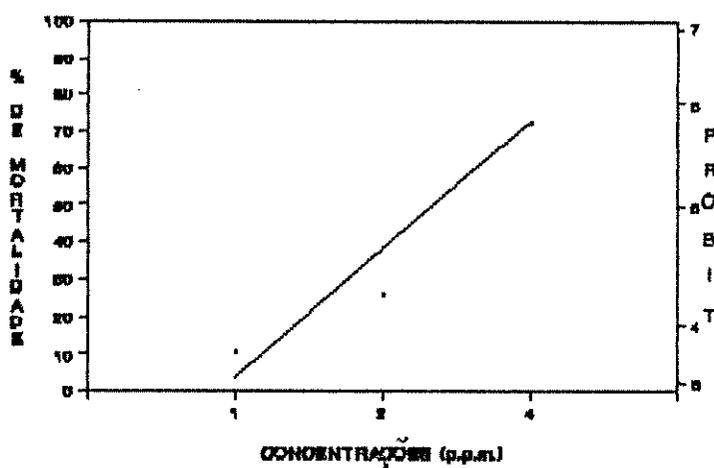
Em nível decrescente de resistência, os resultados das CL₅₀ e CL₉₅ ordenaram as populações da seguinte maneira: Petrópolis, Montes Claros, Promissão, Ibiúna e Monte Mor. Visto que Petrópolis e Montes Claros apresentaram intersecção entre seus intervalos de confiança referentes à CL₅₀, estas populações não foram consideradas significativamente diferentes (figura 03).

De acordo com o fator de resistência, Petrópolis mostrou-se 12,8 vezes mais resistente que o padrão adotado como susceptível pela O.M.S. sendo seguida por Montes Claros (11.2) e Promissão (6.5). Ibiúna e Monte Mor não tiveram seus fatores de resistência calculados por se apresentarem mais susceptíveis do que a referido padrão.

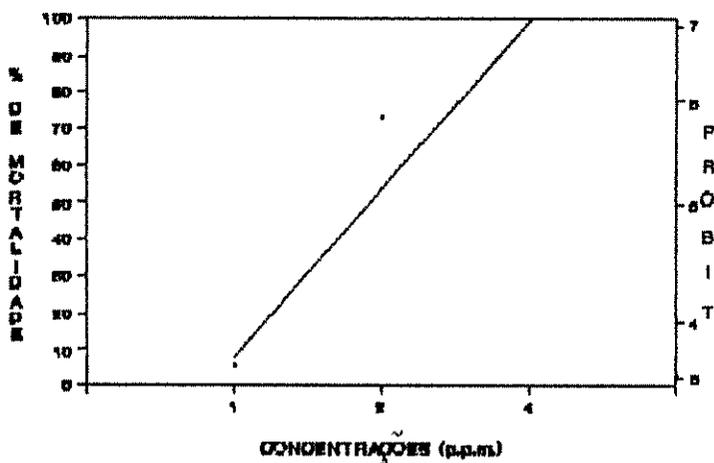
A comparação entre os coeficientes angulares das retas de regressão mostrou paralelismo obtendo valor de $F = 0.52 < F_{4,10} = 3.48$ (não significativo).



(a)

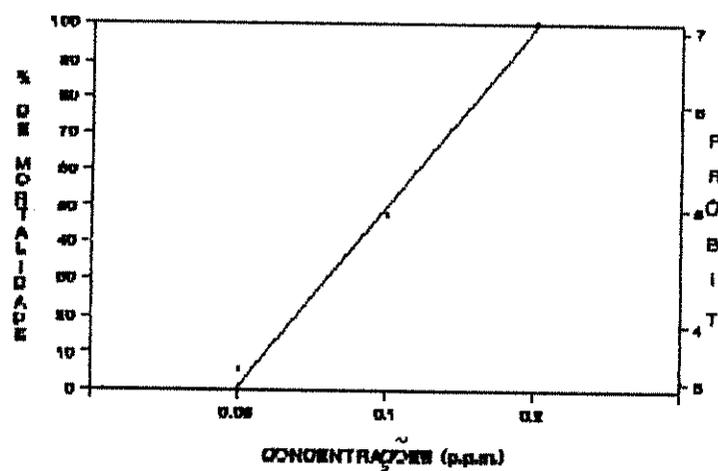


(b)

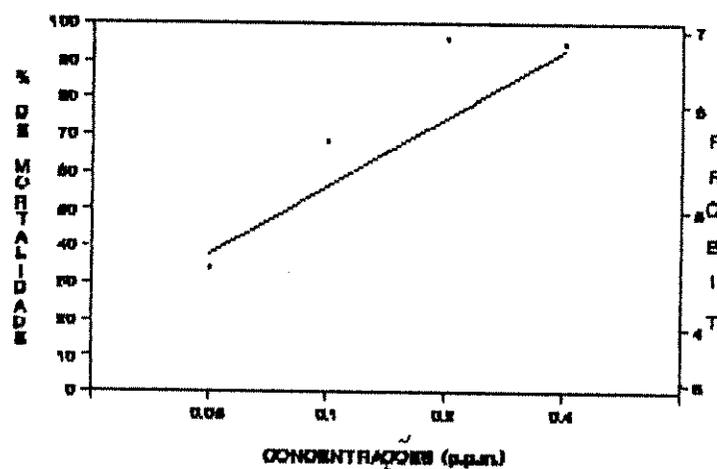


(c)

Figura 1: Curvas de concentração - mortalidade nas populações de Petrópolis (a), Montes Claros (b) e Promissão (c).



(a)



(b)

Figura 2: Curvas de concentração - mortalidade nas populações de Ibiúna (a) e Monte Mor (b)

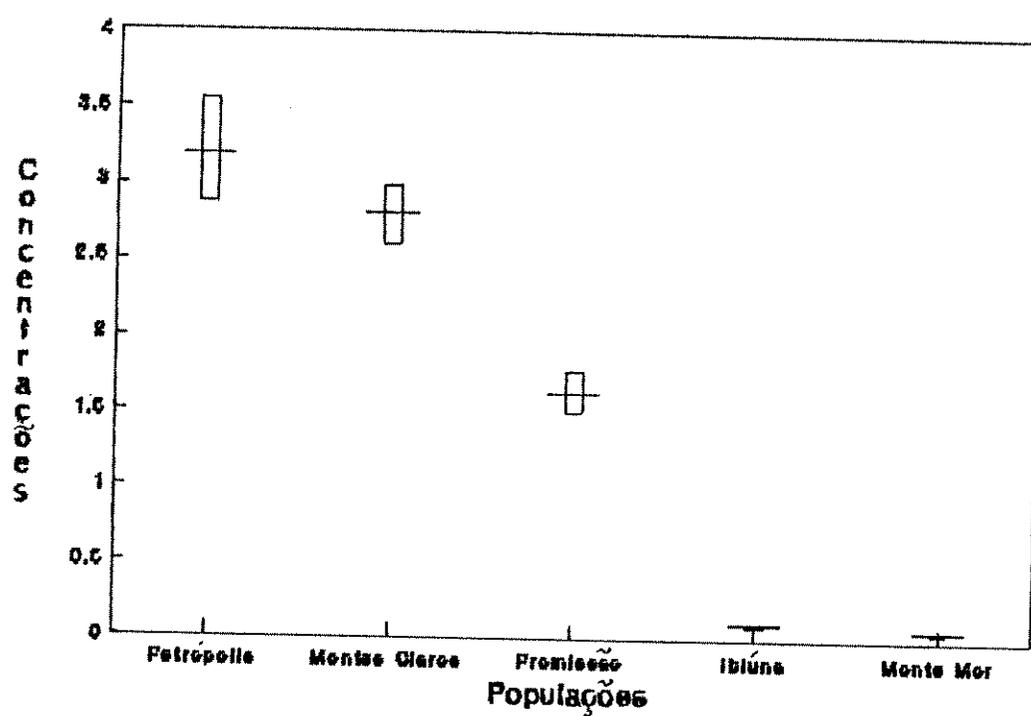


Figura 3: CL₅₀ e intervalos de confiança em 5 populações de *Musca domestica* frente ao larvicida Cyromazine.

5.2 Parâmetros analisados

Os parâmetros abaixo são referentes às populações sensível (Monte Mor) , resistente (Montes Claros) e à geração F1 sobrevivente à CL₉₀ nestas duas populações. Desta forma para fins de maior clareza na observação dos resultados foram adotadas as seguintes siglas:

S - população susceptível de Monte Mor

F1/S - sobreviventes à CL₉₀ da população de Monte Mor

R - população resistente de Montes Claros

F1/R - sobreviventes à CL₉₀ da população de Montes Claros

5.2.1 Tempo de desenvolvimento de estágios imaturos

O tempo médio de desenvolvimento larval para as populações R e S foi o mesmo , 170 horas. O tempo médio de desenvolvimento pupal foi de 130 horas para R e 131 horas para S , não havendo diferença significativa ($F=0.41$, $P=0,532$).

5.2.2 Período de pré-oviposição e capacidade de oviposição

O período de pré-oviposição não possui comparação estatística por não ter sido obtido a partir da média de um determinado número de fêmeas , mas sim pela observação do primeiro dia de oviposição para a gaiola toda. O tempo mais longo foi de sete dias , para F1/R , e o mais curto foi de quatro dias , sendo coincidente para as duas populações : R e F1/S (tabela 06).

Não houve diferença significativa no tamanho das moscas entre as populações R , S , F1/R e F1/S ($F=1,83$, $P=0,1466$). Desta forma qualquer diferença apresentada com relação à quantidade de oviposição não poderia ser atribuída a esta variável.

O número de ovos por fêmea por dia não apresentou diferença significativa entre 4 populações ($F=0,77$, $P=0,5119$). A diferença estatística foi detectada no número total de ovos colocados durante todos os dias ($F=3,29$, $P=0,0221$) (tabela 06). As fêmeas da população S foram as que colocaram um menor número de ovos em relação às fêmeas das outras três populações as quais , por sua vez , não apresentaram diferença significativa. A figura 04 mostra a oviposição diária das populações e através desta figura observa-se que , nas populações R e S , os picos de oviposição ocorreram aproximadamente no 6º dia , enquanto em F1/R e F1/S isso só ocorreu em torno do 22º dia.

A longevidade das fêmeas envolvidas no teste de oviposição também não apresentou diferença ($F=1,29$, $Pr=0,27$) , embora as fêmeas da população S tenham apresentado o menor tempo médio de vida (tabela 07). A visualização gráfica desta observação está na figura 05.

5.2.3 Viabilidade dos ovos

O teste χ^2 não mostrou qualquer diferença entre as frequências esperadas e as frequências obtidas em relação à viabilidade dos ovos nas populações R , S F1/R e F1/S ($\chi^2_3=0,99$).

5.2.4 Longevidade dos adultos

O tempo médio de vida dos adultos , machos e fêmeas , (tabela 07) não apresentou diferença significativa nas populações testadas ($F= 1.24$, $P=0,2980$), embora observe-se claramente através da figura 06 que a população S obedeceu um padrão linear de mortalidade. Em torno do 25º dia de experimento esta população apresentou metade dos indivíduos mortos , enquanto a população R só alcançou este nível de mortalidade em torno do 36º dia.

5.2.5 Taxa de incremento natural

As taxas de incremento natural (r) foram 0,171 para a população S e 0,212 para R . A taxa reprodutiva líquida (RO) foi de 57,24 para S e 168,35 para R. Nota-se que a discrepância é bem acentuada em RO e mais discreta em r .

5.2.6 Assimetria flutuante

Nenhuma diferença significativa foi observada nas medidas 1 ($F=0.47$, $P=0,7072$) e 2 ($F=1.25$, $P=0,2935$) referentes respectivamente ao comprimento e largura da célula discal medial da asa de *M. domestica* entre as quatro populações testadas.

Tabela 06: Período de preoviposição e capacidade de oviposição nas populações de Musca domestica sensível (S), resistente (R) e nos sobreviventes destas populações a CL_{80} do larvicida Cyromazine (F1/S e F1/R).

Populações	Período de preoviposição (dias)	Nº de ovos/dia	Nº de ovos/fêmea/dia
S	5	96.28 ^(A)	8.03 ^(B)
F1/S	4	132.43 ^(B)	7.60 ^(B)
R	4	242.14 ^(B)	11.14 ^(B)
F1/R	7	205.23 ^(B)	9.82 ^(B)

(A) (B) Médias com as mesmas letras, na mesma coluna, não apresentam diferença significativa à nível de 5%.

Tabela 07: Longevidade de Musca domestica nas populações sensível(S), resistente(R) e nos sobreviventes destas duas populações à CL₈₀ do larvicida Cyromazine (F1/S e F1/R).

Populações	Média da longevidade de machos(N=25) e fêmeas(N=25) em dias	Média da longevidade de fêmeas(N=25) em dias
S	13.86 ^(A)	13.96 ^(A)
F1/S	15.41 ^(A)	15.86 ^(A)
R	17.60 ^(A)	17.72 ^(A)
F1/R	17.66 ^(A)	18.23 ^(A)

^(A) Médias com as mesmas letras, nas mesmas colunas, não apresentam diferença significativa em nível de 5%.

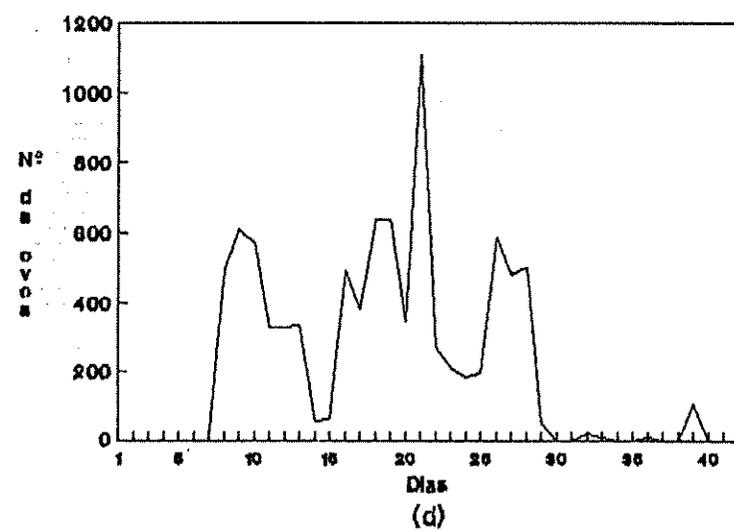
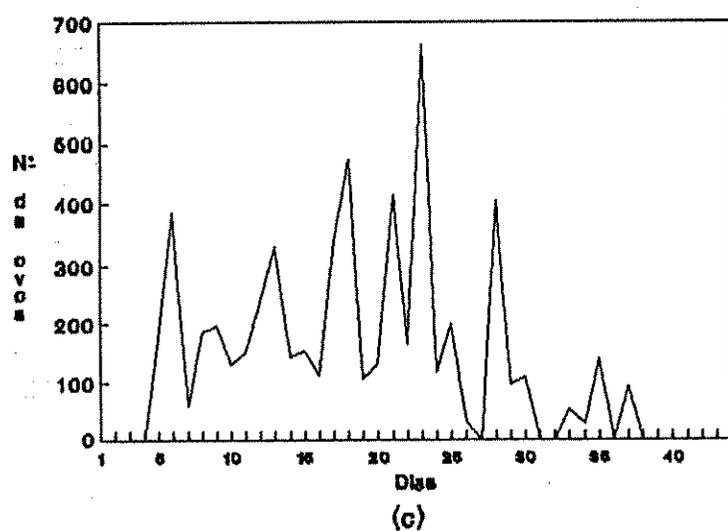
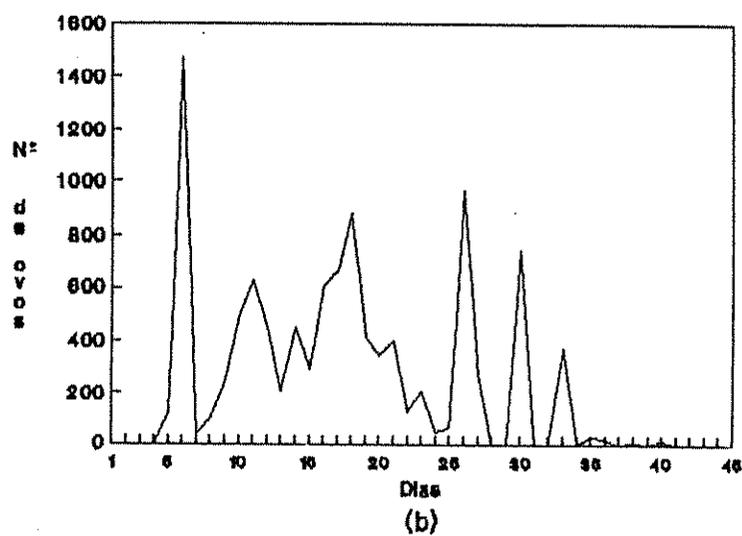
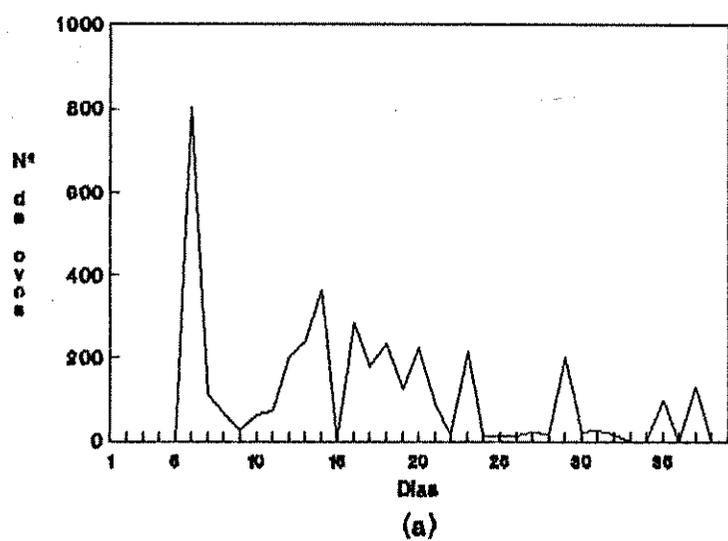


Figura 4: Oviposição diária de *Musca domestica* (25 fêmeas) nas populações S (a), R (b), F1/S (c) e F1/R (d).

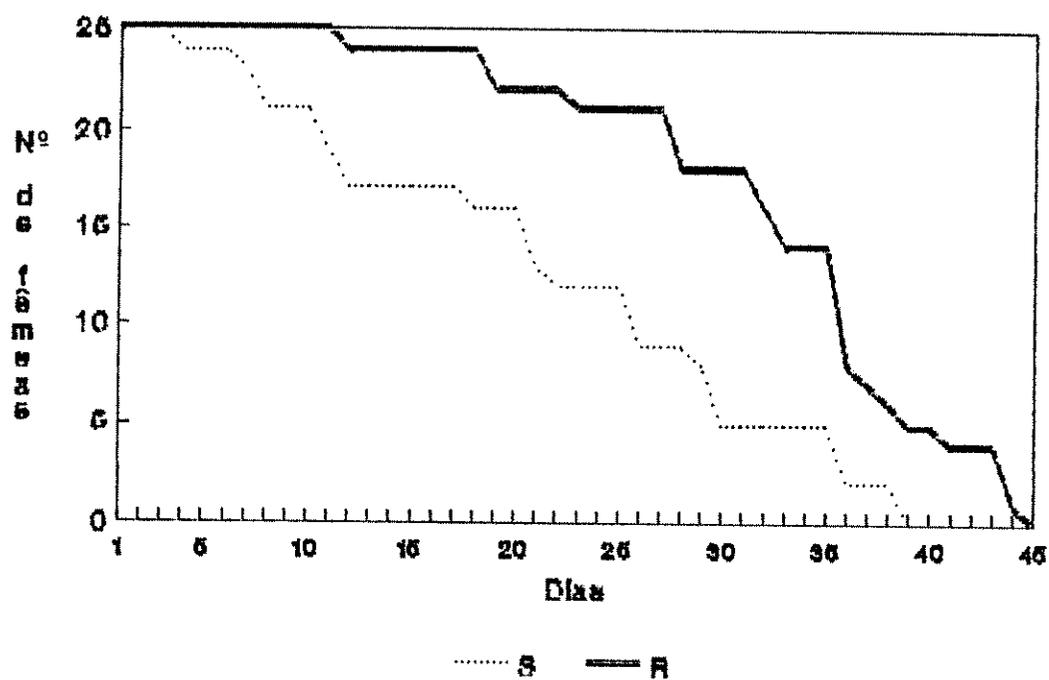


Figura 5: Mortalidade das fêmeas de *Musca domestica* participantes do teste de oviposição nas populações S e R.

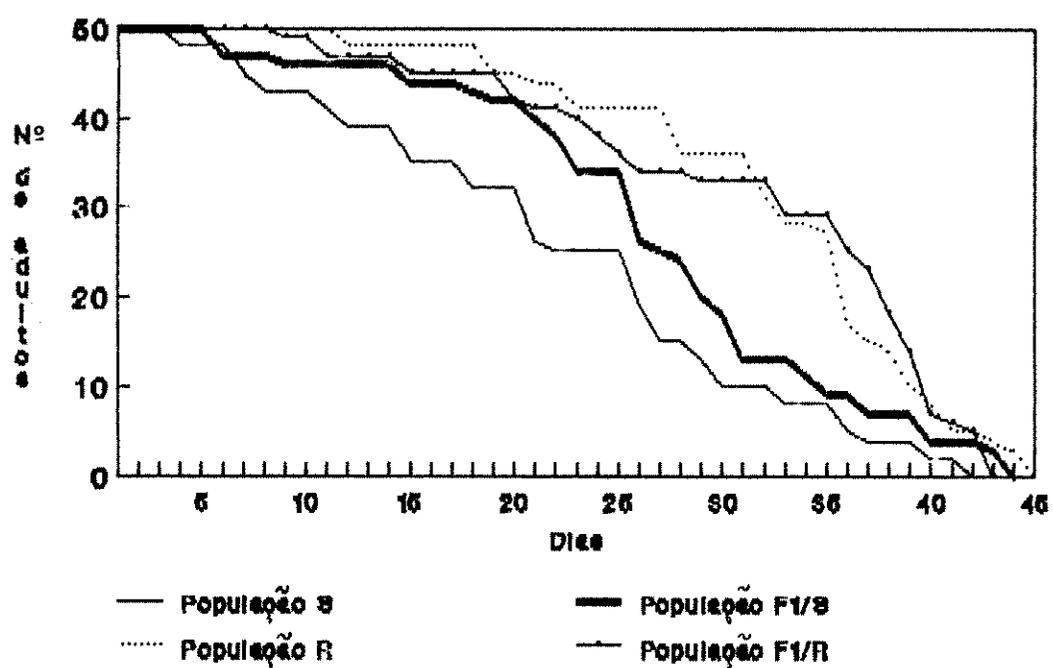


Figura 6: Mortalidade dos adultos de *Musca domestica* nas populações S, R, F1/S e F1/R.

6. DISCUSSÃO

Existem basicamente três métodos utilizados para detecção da resistência : comparação entre as CL₅₀ , dose discriminante ou diagnóstica e testes bioquímicos (ROUSH e MILLER , 1986 ; HALLIDAY e BURNHAM , 1990). Dependendo dos objetivos a serem atingidos e das condições disponíveis pode-se , ou mesmo deve-se , optar por uma técnica ou outra.

Um monitoramento que tenha por objetivo detectar a resistência antes do fracasso do controle químico requer uma maior precisão em estimar a frequência de genótipos resistentes e sensíveis dentro da população. Nestes casos, doses discriminantes ou técnicas bioquímicas atendem mais especificamente às exigências requeridas (ROUSH e MILLER , 1986).

Como o objetivo central deste trabalho era documentar a resistência de *M. domestica* ao larvicida Cyromazine e compará-la entre diferentes populações , considerou-se que a análise de regressão probítica, i.e: comparação entre CL₅₀ , adequou-se satisfatoriamente.

Durante a realização dos experimentos houveram testes que foram descartados e repetidos porque a mortalidade no controle havia sido muito alta e / ou não ocorria de forma proporcional ao aumento das concentrações , variando de forma aleatória. A possibilidade aventada para explicar esses resultados foi a variação na marca da ração utilizada para a preparação do meio. A formulação das duas rações é basicamente a mesma , apresentando poucas variações em termos de quantidade dos ingredientes. O fato que despertou atenção foi a diferença na quantidade de ácido fólico que na ração Nuvilab é 1,0 mg/Kg e na ração Purina é 0,5 mg/Kg.

O ácido fólico é uma vitamina sintetizada em vegetais superiores por microorganismos e em tecidos animais , mas é necessária na dieta de certos organismos (EL-OS HAR *et alii*, 1985). Alguns análogos do ácido fólico , como aminopterin e methotrexate , foram responsáveis por inibir o crescimento de *M. domestica* e apresentaram efeitos similares aos produzidos pelo Cyromazine (MITLIN *et alii* , 1954 ; LA BRECQUE *et alii*, 1960). Perry e Miller (1965) observaram que o excesso de ácido fólico na dieta reverteu a ação do aminopterin (*apud* EL-OS HAR *et alii* , 1985).

Apesar do trabalho de EL-OS HAR *et alii* (1985) não comprovar que o ácido fólico poderia sozinho inibir o desenvolvimento de larvas de *M. domestica* ou , acrescido ao meio com Cyromazine , inibir seu efeito , as observações dos autores acima citados e o fato de que esta foi a única fonte de variação na metodologia aplicada deixam em aberto campo para levantamento de tal hipótese.

Para uma primeira análise , as cinco populações já puderam ser classificadas em dois grupos distintos : as que alcançaram níveis de sobrevivência para concentrações acima de 1 ppm de Cyromazine e as que só alcançaram sobrevivência para valores bem abaixo.

No primeiro grupo , Petrópolis , Montes Claros e Promissão foram consideradas resistentes pois apresentaram níveis de CL₅₀ maiores que o valor de CL₅₀ adotado como padrão susceptível pela O.M.S. ; Ibiúna e Monte Mor mostraram-se mais susceptíveis , apresentando valores inferiores.

Estas diferentes respostas obtidas nos bioensaios correspondem às expectativas , uma vez que a resistência ocorre devido à interação de uma série de fatores biológicos

e operacionais (GEORGHIOU e TAYLOR , 1977) , além das variações nas frequências de genes durante o ano , como respostas às variações estacionais (OLIVEIRA et alii ,1993).

No anexo 01 as características de cada granja foram documentadas a fim de se avaliar possíveis diferenças operacionais que justificassem estas variações. O modo de aplicação (tópica ou pré-mix) não variou em nenhuma granja , e o tempo de aplicação foi o mesmo nas duas granjas que apresentaram populações sensíveis. Houve defasagem de 1 ou 2 anos em relação às populações resistentes. Justificar as diferenças encontradas quanto à resistência pelo tempo de uso do produto pode ser uma conclusão precipitada , porém desprezá-lo pode ser uma negligência.

Alguns parâmetros biológicos como número de gerações em relação ao tempo e número de descendentes por geração , só foram comparados entre duas populações , resistente e sensível , como será discutido adiante merecem cuidados com relação às conclusões absolutas. A taxa de migração em cada granja não foi medida , tendo porém uma importância significativa no processo de desenvolvimento ou reversão da resistência e desta forma na possível explicação das variações.

Os resultados do teste estatístico χ^2 revelando ausência de ajuste não foram considerados como fatores inviabilizantes dos bioensaios uma vez que resultados similares foram encontrados em outros trabalhos (MERREL e UNDERHILL , 1956 ; LIN e SUDDERUDDIN , 1977 ; KRAFSUR et alii , 1993) e , de acordo com o último autor , as transformações dos dados em **probits** algumas vezes predizem distribuições que diferem significativamente das

distribuições observadas. Entretanto este método de análise está padronizado e facilita comparações.

Uma possível explicação para o não ajuste dos pontos de mortalidade obtidos à reta de regressão é que o intervalo entre as concentrações tenha sido demasiado amplo. Possivelmente, um maior número de concentrações com intervalos menores possibilitaria um ajuste mais preciso (comunicação pessoal do Prof. Dr. Carlos Fernando de Andrade do Instituto de Biologia da UNICAMP). A importância deste teste foi auxiliar no entendimento de resultados aparentemente discrepantes, como por exemplo o paralelismo entre as retas das cinco populações. O teste estatístico para paralelismo entre as retas não rejeitou a hipótese nula de igualdade. Porém os altos valores de X^2 e dos desvios padrões das retas deixam em aberto a possibilidade de se ter cometido o erro estatístico tipo II onde aceita-se como verdadeira uma hipótese falsa.

Os valores mais discrepantes em relação ao coeficiente angular da reta ocorreram entre as populações sensíveis de Ibiúna e Monte Mor, que obtiveram os valores 2,46 e 0,77 respectivamente. O alto desvio padrão de Ibiúna (0,45) e a sobreposição dos intervalos de confiança entre as CL_{95} das duas populações colaboram para a hipótese do não paralelismo real.

Matematicamente, o valor do coeficiente angular da reta está associado ao aumento da mortalidade em relação ao aumento da concentração do inseticida. Este parâmetro é um indicativo da variabilidade genética dentro da população: quanto menor seu valor, maior a heterogeneidade (BROW e PAL, 1971). De acordo com o autor, a inclinação é maior em

níveis de resistência muito altos ou muito baixos , devido à variação genética ser menor nestes extremos.

Os dados obtidos não correspondem a esta afirmação , pois Petrópolis e Monte Mor apresentaram os menores valores de inclinação e foram respectivamente a mais resistente e a mais sensível.

Se estes dados forem analisados em termos comparativos, e não absolutos , poder-se-ia concluir teoricamente em relação a Petrópolis que apesar de possuir a mais alta resistência detectada juntamente com Montes Claros , possui potencial para aumentá-la de maneira mais rápida que Montes Claros , que possui uma maior inclinação e conseqüentemente uma maior homogeneidade.

Quanto a Monte Mor a mesma hipótese poderia ser aplicada , uma vez que Ibiúna também demonstrou pouca diferença de susceptibilidade , mas um alto valor de inclinação da reta de regressão.

ISEKI e GEORGHIOU (1986) fazem inferências sobre o fato de que o baixo valor do coeficiente angular da reta em uma população de *M. domestica* frente às concentrações de Cyromazine poderia indicar um maior potencial de desenvolvimento de resistência através da seleção. BLOOMCAMP et alii (1987) trabalhando com *M. domestica* e Cyromazine , conseguiram , através de seleção de laboratório durante 13 gerações , elevar o valor do coeficiente angular da reta de 0.75 a 7.13 , indicando assim sua relação com o aumento da resistência.

O trabalho de TABASHNIK et alii (1993) critica algumas questões relacionadas aos bioensaios , entre elas a significância do coeficiente angular da reta como medida de variação biológica. Os autores analisaram a resposta de

larvas de lepidópteros *Plutella xylostella* (L) ao inseticida biológico *Bacillus thuringiensis* (Berliner) e concluíram que a variação obtida na CL_{50} em 15 populações não foram acompanhadas pela variação nos coeficientes angulares das retas . Os autores sugerem que a média obtida a partir de sub-populações poderia ser uma estimativa melhor deste parâmetro.

A melhor maneira de se verificar a aplicabilidade dos dados de coeficientes angulares das retas obtidos neste trabalho seria o acompanhamento da evolução da resistência nas populações alvo.

Em relação ao desenvolvimento da resistência , uma grande quantidade de trabalhos tem sido realizada a fim de avaliar a ligação entre genes da resistência e desvantagens biológicas. O fato de que espécies praga , como por exemplo *M. domestica* , não sejam geralmente resistentes antes da seleção por um inseticida sugere , de acordo com alguns autores (CROW , 1957 ; GEORGHIOU , 1972 ; GEORGHIOU e TAYLOR , 1977), que o gene para resistência seja desvantajoso na ausência do inseticida. Desta forma postulou-se que os indivíduos resistentes teriam um maior tempo de desenvolvimento e/ou uma menor capacidade de oviposição (GEORGHIOU e TAYLOR , 1977).

Os dados de literatura , entretanto , têm demonstrado que grandes desvantagens em artrópodos resistentes parecem ser mais uma exceção do que uma regra (ROUSH e MCKENZIE , 1987) , e mesmo assim muitas diferenças observadas podem diferir por razões independentes da resistência (BOGGILD e KEIDING , 1958).

Os resultados obtidos neste trabalho confirmam o cuidado necessário quanto à generalização de se

correlacionar positiva ou negativamente fatores fisiológicos tais como : tempo de desenvolvimento , fecundidade , longevidade e assimetria flutuante à resistência ou susceptibilidade.

Enquanto SHEN e PLAPP (1990) encontraram que uma população de *M. domestica* resistente ao Cyromazine levou aproximadamente 1,6 dias a mais que a população sensível na fase larval , nenhuma diferença significativa foi detectada no tempo de desenvolvimento larval entre as populações de Monte Mor (sensível) e Montes Claros (resistente). De acordo com os autores , entretanto , esta diferença pode ser de origem metabólica em função do endocruzamento , e não devido à resistência ao Cyromazine.

A revisão de literatura relata vários casos conflitantes com relação ao tempo de desenvolvimento em populações de *M. domestica* resistentes e sensíveis ao DDT. MARCH e LEWALLEN (1950) não indicaram diferença entre duas populações ; PIMENTEL *et alii* (1951) encontraram maior tempo de desenvolvimento larval em quatro populações resistentes comparadas a uma sensível. Por outro lado Gagliani , em 1952 (apud VARZANDEH *et alii* , 1954) detectou um maior tempo de desenvolvimento em uma população sensível , e BABER *et alii* (1953) encontraram variações aleatórias entre duas populações resistentes e quatro sensíveis.

Os resultados deste trabalho apresentando ausência de diferença significativa na questão da longevidade das populações foi similar aos resultados de PIMENTEL *et alii* (1951) , AFIFI e KNUTSON (1956) , ao trabalharem com moscas domésticas resistentes ao DDT.

Apesar da longevidade não ter apresentado diferença estatística significativa , a população sensível (Monte Mor)

mostrou uma curva de mortalidade muito mais linear que as outras populações , e esta característica apresentou importância biológica na produção total de ovos. Visto que não houve diferença no cálculo do número de ovos por fêmea por dia , só a menor longevidade destas fêmeas explicaria a sua menor produção total de ovos.

Foi interessante notar que o pico de oviposição dos sobreviventes à CL₈₀ do larvicida foi similar tanto na população sensível como na resistente , sendo provavelmente um efeito subletal do produto. Nenhum dado de literatura foi encontrado neste sentido.

Uma vez que os resultados de oviposição e longevidade pareciam relacionar-se , e admitindo que a melhor maneira de representar o potencial reprodutivo de uma população é pela análise da taxa intrínseca de incremento natural (r) , ou seja , medindo sua capacidade inata de aumento (FERRARI e GEORGHIOU , 1981 ; AMIN e WHITE , 1984) , optou-se pelo seu cálculo para comparações. Esta taxa foi formulada por Birch em 1948 para expressar matematicamente o termo potencial biótico proposto por Chapman em 1928 , e incorpora informações do tempo de desenvolvimento , razão sexual , sobrevivência em cada idade específica e taxa reprodutiva (comunicação pessoal de Neide de Almeida Wood - aluna de Mestrado do Departamento de Parasitologia da UNICAMP).

Como já descrito anteriormente , a fórmula de (r) é igual ao logaritmo da taxa reprodutiva líquida (R_0) dividido pelo tempo de geração. O cálculo de (R_0) , por sua vez , leva em conta a sobrevivência das fêmeas pela fecundidade , e apresentou valores bem discrepantes para população sensível (57,24) em relação à resistente (168,35). Como o tempo de geração pouco variou , conclui-se que as diferenças

observadas em (r) estão em função de (R_0) , e estas diferenças tornam-se menos discrepantes devido ao fato dos dados serem transformados em logaritmo. A magnitude da vantagem observada na população resistente ($r=0,171$) sobre a sensível ($r=0,212$) apresenta-se difícil de ser analisada por não comportar uma análise estatística. Não se pode desta forma afirmar que a população resistente apresentou um melhor desempenho biológico , só se pode afirmar que não foi menos apta que a sensível.

Como os genes para resistência apresentam-se em baixa quantidade em situação de campo sem pressão de inseticidas , e os dados de literatura têm demonstrado resultados conflitantes em relação ao seu valor adaptativo (VARZANDEH *et alii* , 1954 ; ROUSH e PLAPP , 1982 ; KRAFSUR *et alii* , 1993), tentativas de explicar estas variações têm sido pesquisadas.

AMIN e WHITE (1984) encontraram respostas biológicas diferentes entre uma população de *Culex quinquefasciatus* sensível ao organofosforado chlorpyrifos desde 1957 , uma resistente desde 1980 e uma resistente selecionada em laboratório a partir do cruzamento das duas. A comparação da taxa intrínseca de incremento natural (r) apontou desvantagem biológica para a resistente desde 1980 e aproximação entre a sensível e a resistente selecionada em laboratório. Os autores concluíram assim , que essas diferenças foram atribuídas a fatores genéticos intrínsecos de cada uma , como por exemplo o maior tempo da população sensível em condições de laboratório , ao invés de efeito do gene resistente em si.

Outra hipótese é a da coadaptação , que no contexto da resistência refere-se à seleção e integração de genes

responsáveis pela resistência a outros *loci* que amenizam seus efeitos deletérios. Os experimentos , entretanto, sugerem que a coadaptação não deva ser comum em situações de campo (ROUSH e MCKENZIE , 1987).

A condição para que estes genes modificadores apareçam é provavelmente o tempo de uso do inseticida , como por exemplo no caso da resistência de *Lucilia cuprina* (Wiedeman) ao organofosforado , diazinon. A resistência a este inseticida foi detectada no início da década de 60 , 10 anos após sua introdução. Sua utilização prolongou-se pelos 15 anos seguintes. O potencial biótico medido em 1979 não detectou diferença entre os genótipos resistentes e os sensíveis na ausência do diazinon. Cruzamentos com indivíduos homozigotos sensíveis foram proporcionados e após 9 gerações o potencial biótico alcançou níveis mais altos que na situação de ausência do diazinon (MCKENZIE e CLARKE , 1988).

Lucilia cuprina apresentou a mesma alteração de resposta em relação à assimetria flutuante. Os níveis de assimetria medidos em 1981 referentes a uma população de campo foram equivalentes aos obtidos por uma colônia sensível de laboratório , mas aumentaram quando esta população sofreu cruzamentos com genótipos sensíveis (CLARKE e MCKENZIE , 1987).

Segundo MCKENZIE e CLARKE (1988) , os modificadores para assimetria e valor adaptativo em *L. cuprina* estão em um único gene ou complexo gênico , sugerindo que trocas na assimetria flutuante possam ser indicativos da troca do valor adaptativo.

O fato de não se ter detectado neste trabalho diferença significativa quanto à assimetria flutuante entre sensíveis

e resistentes está de acordo com o que foi proposto pelos autores acima citados , uma vez não detectada um menor valor adaptativo em indivíduos resistentes.

Quanto aos genes modificadores em *M. domestica* , KENCE e KENCE (1993) não encontraram evidências de que a coadaptação de genes resistentes com o restante do genoma fosse um fator relevante.

A mobilidade das populações ou o seu isolamento são fatores reconhecidamente significativos na evolução da resistência , pois o influxo de migrantes tende a diluir a frequência dos resistentes entre sobreviventes de tratamentos (GEORGHIOU , 1980).

A liberação de insetos sensíveis tem sido proposta como estratégia de retardar o desenvolvimento da resistência (KEIDING , 1963 ; ROUSH e MCKENZIE , 1987). WOOL e MANHEIM (1980) conseguiram retomar a susceptibilidade de uma população do besouro *Tribolium castaneum* (Herbst) resistentes ao malathion pela liberação de genótipos sensíveis. Em uma população de *Anopheles gambiae* (Giles) a liberação de machos susceptíveis resultou em perda completa da resistência ao DDT (PRASITTISUK e CURTIS , 1982). IMAI (1987) diminuiu os valores da DL₅₀ em uma população de *M. domestica* resistente aos organofosforados fenitrothion e diazinon através da liberação de moscas sensíveis em um depósito de lixo.

Estes relatos , juntamente com a detecção de populações ainda altamente sensíveis ao Cyromazine , permitem a possibilidade de utilização desta estratégia para controle do processo de resistência em populações de campo , desde que estudos mais detalhados indiquem a metodologia mais eficaz para a obtenção de resultados satisfatórios.

7. CONCLUSÕES

7.1 As populações de *Musca domestica* apresentaram diferenças significativas quanto ao grau de susceptibilidade ao larvicida Cyromazine.

7.2 Nenhuma forte correlação que explicasse absolutamente as diferenças obtidas foi possível através da comparação dos parâmetros operacionais , modo e tempo de aplicação do larvicida.

7.3 Duas populações (Ibiuna e Monte Mor) apresentaram níveis de susceptibilidade superiores ao adotado pela O.M.S.

7.4 A população resistente não apresentou menor valor adaptativo em relação à sensível.

7.5 O padrão de oviposição foi diferente nos indivíduos sobreviventes à CL_{80} do larvicida Cyromazine , tanto na população sensível como na resistente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W.S. 1925 A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18(2):265-267.
- ABOU-SETTA, M.M. ; CHILDERS, C.C. & SORRELL, R.W.1986. Life 48 : Basic computer program to calculate life-table parameters for an insect ormite species. *Fla. entomol.* 69:690-697.
- AFIFI, S.E.D. & KNUTSON, H. 1956. Reproductive potential, longevity, and weight of house flies which survived one insecticidal treatment. *J. Econ. Entomol.* 49(3):310-313.
- AMIN, A.M. & WHITE, G.B. 1984. Relaiive fitness of organophosphate-resistant and susceptible strains of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) *Bull. Entomol. Res.* 74: 591-598.
- ARRUDA, V.L.V. 1979. Sensibilidade de *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN, 1824) a inseticidas fosforados, nas condições de laboratório(Diptera : TEPHRITIDAE). Tese de Mestrado , Universidade Estadual de Campinas. 85 p.
- AXTELL, R.C. 1985 *Arthropods pests of poultry in Livestock Entomology* John Wiley & Sons. 335p. - AXTELL, R.C. & ARENDS, J.J. 1990. Ecology and management of arthropod pests of poultry. *Ann.Rev. Entomol.* 35:101-126.
- BABERS, F.H. ; PRATT, J.J.Jr. ; WILLIAMS, M. 1953. Some biological variations between strains of resistant and susceptible house flies. *J. Econ.Entomol.* 46(5):914-915.
- BINNINGTON, K.C. 1985. Ultrastructure changes in the cuticle of the sheep blowfly, *Lucilia cuprina*, induced by certain insecticides and biological inhibitors. *Tissue Cell* 17(1):131-140.
- BIRCH, L.C. 1948. The intrinsic rate increase of an insect population. *J. Anim. Ecol.* 17:15-26. - BLISS, C.I. 1935. The calculation of the dosage - mortality curve. *Ann. Appl. Biol.* 22:134-167.

- BLOOMCAMP, C.L. ; PATTERSON, R.S. & KOEHLER, P.G.1987. Cyromazine resistance in the house fly(Diptera : MUSCIDAE). *J. Econ. Entomol* 80(2):352-357.
- BOOGILD, O. KEIDING, J. 1958. Competition in thehouse fly larvae : experiments involving a D.D.T.resistant and a susceptible strain. *Oikos* 9:1-25.
- BOWERS, W.S. 1966. Juvenile hormone : identification of an active compound from balsam fir. *Science* 154:1020-1021.
- BOWERS, W.S. 1969. Juvenile hormone : activity :of aromatic terpenoid ethers. *Science* 164:323-325.
- BROWN, A.W.A. & PAL, R. 1971. *Insecticide Resistance in Arthropods. 2.ed. Worth Health Organization.*
- CARARETO, C.M.A. 1990. Adaptação biológica. *Ciência e Cultura* 42(1):13-19.
- CERF, D.C. & GEORGHIOU, G.P. 1972. Evidence of cross-resistance to a juvenile hormone analogue in some insecticide resistant house flies. *Nature* 239:401-402.
- CHAMBERLAIN, W.F. 1975. Insect growth regulating agents for control of arthropods of medical and veterinary importance. *J. Med. Ent.* 12(4):395-400.
- CLARKE, G.M. & MCKENZIE, J.A. 1987. Developmental stability of insecticide resistant phenotypes inblowfly ; a result of canalizing natural selection *Nature* 325:345-346.-
- CLARKE, G.M. & RIDSDILL-SMITH, J.J. 1992. The effect of avermectin B1 on developmental stability in the bushfly *Musca vetustissima* , as mesured by fluctuating asymmetry. *Entomol. Exp. Appl.* 54:265-269.
- CLARKE, G.M. & MCKENZIE, L.J. 1992. Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing process. *J. Econ. Entomol.*85(6):2045-2050.
- CROW, J.F. 1957. Genetics of insect resistance to chemicals. *Ann. Rev Entomol.* 2:227-247.
- DYTE, C.E. 1972. Resistance to synthetic juvenile hormone in a strain of the flour beetle ,*Tribolium castaneum*. *Nature* 238:48-49.

- EL-OSHAR, M.A. ; MOTOYAMA, N. ; HUGHES, P.B. & DAUTERMAN W.C. 1985. Studies on Cyromazine in the house fly , *Musca domestica* (Diptera MUSCIDAE). *J. ECON. Entomol.* 78(6):1203-1207.
- FERRARI, J.A. & GEORGHIU, G.P. 1981. Effects on insecticidal selection and treatment on reproductive potential of resistant, susceptible, and heterozygous strains of the southern house mosquito. *J. Econ. Entomol.* 74(3):323-327.
- FINNEY, D.J. 1971. *Probit analysis*. 3.ed. Univer. Cambridge 236 p.
- FRIEDEL, T. 1986. Cyromazine inhibits larval development of the dog flea *Ctenocephalis canis* (Siphonaptera : PULICIDAE) *J. Econ. Entomol.* 79(3):697-699.
- FRIEDEL, T. & MCDONELL, P.A. 1985. Cyromazine inhibits reproduction and larval development of the Australian sheep blowfly (Diptera:CALLIPHORIDAE) *J. Econ. Entomol.* 78(4):868-873.
- FRIEDEL, T.; HALES, D.F. & BIRCH, D. 1988. Cyromazine induced effects on the larval cuticle of the sheep blowfly , *Lucilia cuprina* : Ultrastructure evidence for a possible mode of action. *Pest.Bioch. Physiol.* 31:99-107.
- GEORGHIU, G.P. 1972. The evolution of resistance to pesticides. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 3:133-168.
- GEORGHIU, G.P. 1980. Insecticide resistance and prospects for its management. *Residue Rev* 76: 131-145.
- GEORGHIU, G.P. 1983 . Management of resistance to insecticides. *IN* GEORGHIU, G.P. & SAITO, T. *Pest Resistance to Pesticides*. Plenum press. 1.ed. 769-792.
- GEORGHIU, G.P. & TAYLOR, C.E. 1977. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 70(3):319-323..
- GRAF, J.F. 1993. The role of insect Growth Regulators in Arthropod Control. *Parasitology Today.* 9(12):471-474.

- HALL, R.D. & FOEHSE, M.C. 1980. Laboratory and field tests of CGA-72662 for control of the house fly and face fly in poultry, bovine or swine manure. *J. Econ. Entomol.* 73(4):564-569.
- HALLIDAY, W.R. & BURNHAM, K.P. 1990. Choosing the optimal diagnostic dose for monitoring insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 83(4):1151-1159).
- HART, R.J. ; CAVEY, W.A. ; RYAN, K.J. ; STRONG, M.B.; MORRE, B.; THOMAS, P.L. ; BORAY, J.C. & von ORELLI, M. 1982. CGA 72662 - a new blowfly insecticide. *Aust. Vet. J.* 59:104-109.
- HESS, A.D. 1952. The significance of insecticide resistance in vector control programs. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1: 371-388.
- IMAI, C. 1987. Control of insecticide resistance in a field population of houseflies, *Musca domestica* by releasing susceptible flies. *Res. Popul. Ecol.* 29:129-146.
- ISEKI, A. & GEORGHIOU, G.P. 1986. Toxicity of Cyromazine to strains of the housefly (Diptera:MUSCIDAE) variously resistant to insecticides. *J. Econ. Entomol.* 79(5):1192-1195.
- JESPERSEN, J.B. 1990. Susceptibility to the larvicides diflubenzuron and cyromazine IN *Danish Pest Infestation Laboratory Annual Report 1989.* 46-47.
- KARLSON, P. 1963. Chemistry and biochemistry of insect hormones. *Angew. Chem.* 2:175-182. - KEIDING, J. 1963. Possible reversal of resistance *Bull. Wld. Hlth. Org.* 29:51-62.
- KEIDING, J. 1977. Resistance in the house fly in Denmark and elsewhere. IN WATSON, D.L. & BROWN, A.W.A. *Pesticide management and insecticide resistance.* Academic Press. 261-302.

- KEIDING, J. JESPERSEN, J.B. & EL-KHODARY. A.S. 1991
Resistance risk assessment to two insect development inhibitors, diflubenzuron and cyromazine, for control of the house fly *Musca domestica*. Part I : Larvicidal tests with insecticide-resistant laboratory and Danish field populations. *Pestic. Sci* 32(2):187-206.
- KEIDING, J. ; EL-KHODARY, A.S. ; JESPERSEN, J.B. 1992
Resistance risk assessment of two insect development inhibitors, diflubenzuron and cyromazine, for control of the house fly *Musca domestica* L. Part II : Effects of selection pressure in laboratory and field populations. *Pestic. Sci.* 35:27-37.
- KENCE, M. & KENCE, A. 1993. Control of insecticide resistance in laboratory populations of house fly (Diptera : MUSCIDAE) by introduction of susceptibility genes. *J. Econ. Entomol.* 86(2):189-194.
- KOTZE, A.C. 1993. Effects of cyromazine on the mechanical properties of the larval integument of *Lucilia cuprina* (Diptera : CALLIPHORIDAE). *Bull. Entomol. Res.* 83:389-393.
- KRAFSUR, E.S. ; ROSALES, A.L. ; ROBINSON-COX, J.F. & KOEHLER, K.J. 1993. Bionomics of pyrethroid resistant and susceptible horn fly populations (Diptera : MUSCIDAE) in Iowa. *J. Econ. Entomol.* 86(2):246-257.
- LA BRECQUE, G.C. ; ADCOCK, P.H. & SMITH, C.N. 1960. Tests with compounds affecting house fly metabolism. *J. Econ. Entomol.* 53(5):802-805.
- LAW, J.H. ; YUAN, C. & WILLIAMS, C.M. 1966. Synthesis of a material with high juvenile hormone activity. *Proc. Nat. Acad. Sci - USA* 55(3):576-578.
- LIM, F.L. & SUDDERUDDIN, K.I. 1977. Comparative toxicity of six insecticides against *Sitophilusoryzae* (L) (CURCULIONIDAE) and *Palembus dermestoides* Fairm. (TENEBRIONIDAE). *Prod. Res.* 13:209-211.
- MARCH, R.B. & LEWALLEN, L.L. 1950. A comparison of a DDT-resistant and non-resistant house flies. *J. Econ Entomol.* 43(5):721-722.

- MCKENZIE, J.A. & CLARKE, G.M. 1988. Diazinon resistance , fluctuating asymmetry and fitness in the australian sheep blowfly , *Lucilia cuprina*. *Genetics* 120(1):213-220.
- MERREL, D.J. & UNDERHILL, J.C. 1956. Selection for DDT resistance in inbred, laboratory and wildstock of *Drosophila melanogaster*. *J. Econ. Entomol.* 49(3):300-306.
- METCALF, R.L. 1955. Physiological basis for insect resistance to insecticides. *Physiol. Rev.* 35:197-232.
- METCALF, R.L. 1983. Implications and prognosis of resistance to insecticides. *IN GEORGHIOU, G.P. & SAITO, T. Pest Resistance to Pesticides Plenum Press. 1.ed. 703-734.*
- MEYER, A.S. ; SCHNEIDERMAN, H.A. & GILBERT, L.I. 1965A highly purified preparation of juvenile hormone from the silk moth *Hyalophora cecropia* L. *Nature* 17:272-275.
- MEYER, J.A. ; ROONEY, W.F. & MULLENS B.A. 1984. Effect of Larvadex feed through on cool season development of filth flies and beneficial coleoptera in poultry manure in Southern California. *Southwest. Entomol.* 9(1):52-55.
- MILLER, R.W. 1970. Larvicides for fly control - A review. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 16:154-158.
- MILLER, R.W. ; CORLEY, C. ; ROBBINS, W.E. & MARKS, E.P. 1981. CGA-19255 e CGA-72662 : efficacy against flies and possible mode of action and metabolism. *Southwest Entomol.* 6(3):272-278.
- MITLIN, N ; KONECKY, M.S. & PIQUETT, P.G. 1954. The effects of a folic acid antagonist on the house fly. *J. Econ Entomol.* 47(5):932-933.
- MULLA, M.S. & AXELROD, H. 1983. Evaluation of Larvadex, a new IGR for the control of pestiferous flies on poltry ranches. *J. Econ. Entomol.* 76(3):521-524.

- NEMEC, V. ; JAROLIM, V. ; HEJNO, K. & SORM, F. 1970. Natural and synthetic materials with insect hormone activity. Juvenile activity of farnesane-type compounds on *Locusta migratoria* (L) and *Schistocerca gregaria* (Forks). *Life Sci.* 9:821-831.
- OGAWA, J.M. ; MANJI, B.T. ; HEATON, C.R. ; PETRIE, J. & SONODA, R.M. 1983. Methods for detection and monitoring the resistance of plant pathogens to chemicals. IN GEORGHIOU, G.P. & SAITO, T. *Pesticide Resistance to Pesticides*. Plenum Press. 1.ed. 117-168.
- OLIVEIRA, P.C.S. ; TREJIVANO, L.K.G. & BÉLO, M. 1993. Sensibilidade estacional em linhagens de *Musca domestica* (L) para três tipos de inseticidas. *An. Soc. Entomol. Brasil.* 22(3):455-461.
- PALMER, A.R. & STROBECK, C. 1986. Fluctuating asymmetry. *ANN. Rev. Ecol. Syst.* 17:391-421.
- PIMENTEL, D. ; DEWEY, J.E. & SCHWARDT, H.H. 1951. An increase in the duration of the life cycle of DDT resistant strains of the house fly. *J. Econ. Entomol.* 44(4):477-481.
- PLAPP, F.W. Jr. & WANG, T.C. 1983. Genetic origins of insecticide resistance. r 1983 IN GEORGHIOU, G.P. & SAITO, T. *Pesticide Resistance to Pesticides*. Plenum Press. 1.ed. 47-70.
- PRASITTISUK, C. & CURTIS, F.C. 1982. Further study of DDT resistance in *Anopheles gambiae* Giles (Diptera : CULICIDAE) and a cage test of elimination of resistance from a population by male release. *Bull. Entomol. Res.* 72:335-344.
- ROLLER, F. ; DAHM, K.H. ; SWEELY, C.C. & TROST, B.M. 1967. The structure of the juvenile hormone. *Angew. Chem.* 6:179-180.
- ROMANUK, M. ; SLAMA, K. & SORM F. 1967. Constitution of a compound with a pronounced juvenile hormone activity. *Proc. Nat. Acad. Sci. - USA* 57(2):349-352.

- ROUSH, R.T. & PLAPP, F.W.Jr. 1982. Effects of the insecticide resistance on biotic potential of the house fly (Diptera : MUSCIDAE). *J. Econ. Entomol.* 75(4):708-713.
- ROUSH, R.T. & MILLER, G.L. 1986. Considerations for design of insecticide resistance monitoring programs. *J. Econ. Entomol.* 79(2):293-298.
- ROUSH, R.T. & MCKENZIE, J.A. 1987. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Ann. Rev. Entomol.* 32:361-380.
- SAS INSTITUTE, 1986. SAS user's guide : statistics 6.ed. North Carolina , Cary.
- SCOTT, J.G. 1990. Investigating mechanisms of insecticide resistance: methods , strategies , and pitfalls *IN* ROUSH, R.T. & TABASHNIK, B.E. *Pesticide Resistance in Arthropods.* 1 ed. Chapman and Hall. 39-57.
- SHAEFER, C.H. & WILDER, W.H. 1972. Insect developmental inhibitors : A practical evaluation as mosquito control agents. *J. Econ. Entomol.* 65:1066-1071.
- SHUSTER, D.J. & EVERETT, P.H. 1983. Response of *Liriomyza trifolii* (Diptera : AGROMYZIDAE) to insecticides on tomato. *J. Econ. Entomol.* 76(5):1170-1174.
- SHEN, J. & PLAPP, F.W.Jr. 1990. Cyromazine resistance in the house fly (Diptera : MUSCIDAE) : genetics and cross-resistance to diflubenzuron. *J. Econ. Entomol.* 83(5):1689-1697.
- SHEPPARD, D.C. ; NINKLE, N.C. ; HUNTER, J.S.III. & GAYDON, D.M. 1989. Resistance in constant exposure livestock insect control systems : a partial review with some original findings on cyromazine resistance in house flies. *Fla. Entomol.* 72(2):360-369.
- SHEPPARD, D.C. ; GAYDON, D.M. & MILLER, R.W. 1992. Resistance in house flies (Diptera : MUSCIDAE) selected with 5.0 ppm feed-through cyromazine. *J. Econ. Entomol.* 9(4):257-260.
- SLAMA, K. & WILLIAMS, C.M. 1965. Juvenile hormone activity for the bug *Pyrrhocoris apterus*. *Proc. Nat. Acad. Sci - USA.* 54(2):411-414.

- SMIDT, C.D. & KUNZ, S.E. 1980. Testing immature laboratory-reared stable flies and horn flies for susceptibility to insecticides. *J. Econ. Entomol.* 73:702-703.
- SODERLUND, D.M. & BLOOMQUIST, J.R. 1990. Molecular mechanisms of insecticide resistance. *IN ROUSH, R.T. & TABASHNIK, B.E. Pesticide Resistance in Arthropods. 1.ed. Chapman and Hall. 58-88.*
- SPARKS, T.C. & HAMMOCK, B.D. 1983. Insect growth regulators: resistance and the future. *IN GEORGHIOU, G.P. & SAITO, T. Pesticide Resistance in Arthropods. Chapman and Hall. 1.ed. 615-668.*
- STAAL, G.B. 1975. Insect growth regulators with juvenile hormone activity. *Ann. Rev. Entomol.* 20:417-460.
- TABASHNIK, B.E. & ROUSH, R.T. 1990. Modeling and evaluation of resistance management tactics. *IN ROUSH R.T. & TABASHNIK, B.E. Pesticide Resistance in Arthropods. Chapman and Hall. 1.ed. 1-3.*
- TABASHNIK, B.E. ; FINSON, N. ; CHILCUTT, C.F. ; CUSHING, N.L. & JOHNSON, M.W. 1993. Increasing efficiency of bioassays : evaluating resistance to *Bacillus thuringiensis* in diadmondback moth. (Lepidoptera : PLUTELLIDAE). *J. Econ. Entomol.* 86(3):635-644.
- TURNBULL, I.F. & HOWELLS, A.J. 1982. Effects of several larvicidal compounds on chitin biosynthesis by isolated larval integuments of the sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Aust. J. Bio.Sci.* 35:491-503.
- VANZARDEH, M. ; BRUCE, W.N. & DECKER, G.C. 1954. Resistance to insecticides as a factor influencing the biotic potential of the house fly. *J. Econ. Entomol.* 47(1):129-134.
- VIÑUELA, E. ; BUDIA, F. ; JACAS, J. ; ADÁN, A. MARCO, V. & DEL ESTAR, P. 1993. Differential larval age susceptibility of the medfly , *Ceratitidis capitata* Wied. (Dipt., TEPHRITIDAE) to cyromazine. *J. Appl. Ent.* 115:355-362.

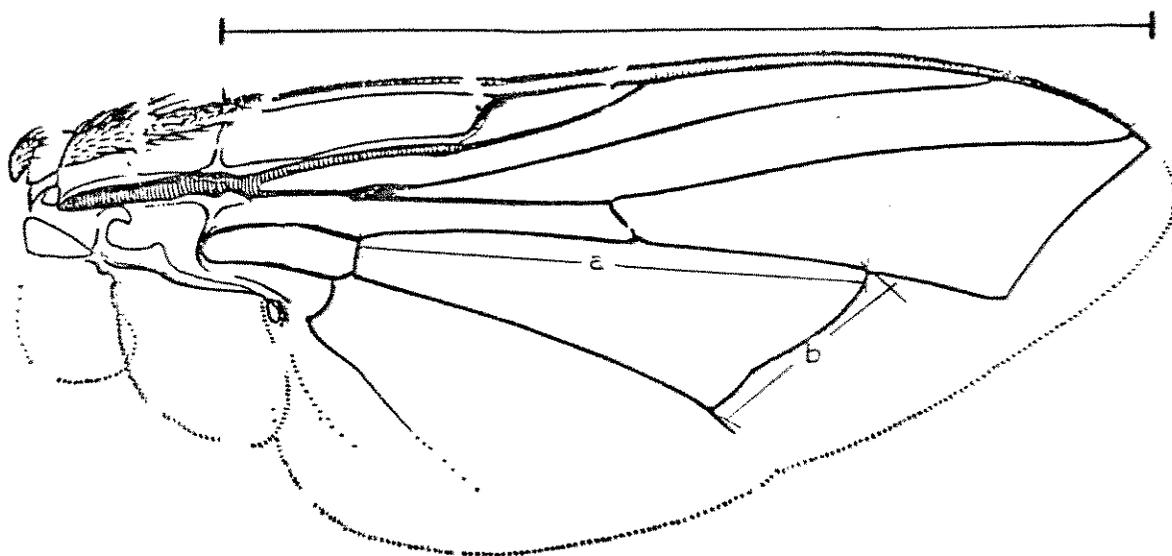
- WARDAUGHT, K.G. ; MAHON, R.J. ; AXELSEN, A. ; ROWLAND, M.W. & WANJURA, W. 1993. Effects of ivermectin residues in sheep dung on the development and survival of the bushfly , *Musca vetustissima* Walker and a scarabaeinedung beetle , *Euoniticellus fulvus* Goeze. *Veterinary Parasitology.* 48:139-157.
- WHITEHEAD, J.R. ; ROUSH, R.T. & NORMENT, B.R. 1985. Resistance stability and coadaptation in diazinon resistant house flies (Diptera : MUSCIDAE). *J.Econ. Entomol.* 78(1):25-29.
- WIGGLESWORTH, V.B. 1934. The physiology of ecdysis in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). II. Factors controlling moulting moulting and metamorphosis. *Q. J. Microsc. Sci.* 77:191-222.
- WIGGLESWORTH, V.B. 1969. Chemical structure and juvenile hormone activity comparative tests on *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol.* 15:73-94.
- WILLIAMS, C.M. 1956. The juvenile hormone. *Nature , Lond.* 178:212-213.
- WILLIAMS, C.M. 1967. Third-generation pesticides. *Sci. Am.* 217(1):13-17.
- WOOL, D. & MANHEIM, O. 1980. Genetically-induced susceptibility to malathion in *Tribolium castaneum* despite selection for resistance. *Ent. Exp. &Appl.* 28:183-190.
- ZAR, J.H. 1984. *Biostatistical analysis.* 2.ed. Prentice Hall.

ANEXOS

Anexo 01: Informações sobre as granjas e sobre o uso de Cyromazine.

Localização	Número de aves	Tempo de uso do Cyromazine	Larvicida utilizado	Adulticida utilizado
Petrópolis	150.000	7 anos	Neporex	Vetor
Montes Claros	200.000	8 anos	Neporex	Vetor
Promissão	600.000	8 anos	Neporex	Vetor
Ibiúna	1.200.000	6 anos	Neporex	Vetor
Monte Nor	240.000	6 anos	Neporex	Vetor

Anexo 2: Esquema da asa de Musca domestica



a : medida 1
b : medida 2

ANEXO 03 : Tabela de vida de . M. domestica
População : Monte Mor

M	L	X	Mx	Lx	MxLx	RML
0	25	13.000	0.00	1.00	0.000	.000000
0	25	14.000	0.00	1.00	0.000	.000000
0	25	15.000	0.00	1.00	0.000	.000000
0	24	16.000	0.00	0.96	0.000	.000000
0	24	17.000	0.00	0.96	0.000	.000000
805	24	18.000	13.08	0.96	12.558	.576459
109	23	19.000	1.85	0.92	1.700	.065774
67	21	20.000	1.24	0.84	1.045	.034069
27	21	21.000	0.50	0.84	0.421	.011569
61	21	22.000	1.13	0.84	0.952	.022026
69	19	23.000	1.42	0.76	1.076	.020995
200	17	24.000	4.59	0.68	3.120	.051280
233	17	25.000	5.35	0.68	3.635	.050343
364	17	26.000	8.35	0.68	5.678	.066273
0	17	27.000	0.00	0.68	0.000	.000000
281	17	28.000	6.45	0.68	4.384	.036330
0	17	29.000	0.00	0.68	0.000	.000000
234	16	30.000	5.70	0.64	3.650	.021483
124	16	31.000	3.02	0.64	1.934	.009593
223	16	32.000	5.44	0.64	3.479	.014538
82	13	33.000	2.46	0.52	1.279	.004505
18	12	34.000	0.59	0.48	0.281	.000833
215	12	35.000	6.99	0.48	3.354	.008387
10	12	36.000	0.33	0.48	0.156	.000329
13	12	37.000	0.42	0.48	0.203	.000360
12	9	38.000	0.52	0.36	0.187	.000280
22	9	39.000	0.95	0.36	0.343	.000433
14	9	40.000	0.61	0.36	0.218	.000232
200	8	41.000	9.75	0.32	3.120	.002793
20	5	42.000	1.56	0.20	0.312	.000235
25	5	43.000	1.95	0.20	0.390	.000248
15	5	44.000	1.17	0.20	0.234	.000125
0	5	45.000	0.00	0.20	0.000	.000000
0	5	46.000	0.00	0.20	0.000	.000000
98	5	47.000	7.64	0.20	1.529	.000490
0	2	48.000	0.00	0.08	0.000	.000000
128	2	49.000	24.96	0.08	1.997	.000455
0	2	50.000	0.00	0.08	0.000	.000000
0	2	51.000	0.00	0.08	0.000	.000000

A OBSERVACAO (OBS.) INTERVALO USADO FOI 24 horas
O TEMPO DE DESENVOLVIMENTO FOI CONSIDERADO COMO 12.5 INTERVALOS
A RAZAO SEXUAL FOI (FEMEAS/TOTAL): .5
A FRACAO DE OVOS QUE CHEGAM A MATURIDADE : .78

A somatoria de RML	=	1.00044
A TAXA REPRODUTIVA DA REDE (RO)	=	57.2364
O TEMPO DE GERACAO (T) NOS INTERVALOS DE OBS.	=	23.6431
A TAXA INTRINSICA DE INCREMENTO NATURAL (rm)	=	.171178
A TAXA FINITA DE INCREMENTO	=	1.1867

DEFINICAO DAS COLUNAS

M -PROGENIE TOTAL DE CADA INTERVALO PARA TODAS AS FEMEAS
L -NUMERO DE FEMEAS VIVAS
X IDADE ATUAL DAS FEMEAS (DESDE ESTADO DE LARVA);
Mx -PROGENIE FEMEA POR FEMEA
Lx -PROPORCAO DE SOBREVIVENTES NA IDADE X
MxLx-PROGENIE FEMEA POR TAXA DE FEMEAS SOBREVIVENTES NO TEMPO
RML -MxLx.Exp(-rm.X)

(COLUNAS M E L CONTEM OS DADOS IMPUT)

ANEXO 04: Tabela de vida M. domestica
População : Montes Claros

M	L	X	Mx	Lx	MxLx	RML
0	25	13.000	0.00	1.00	0.000	.000000
0	25	14.000	0.00	1.00	0.000	.000000
0	25	15.000	0.00	1.00	0.000	.000000
0	25	16.000	0.00	1.00	0.000	.000000
119	25	17.000	1.88	1.00	1.880	.051277
1471	25	18.000	23.24	1.00	23.242	.512829
34	25	19.000	0.54	1.00	0.537	.009590
101	25	20.000	1.60	1.00	1.596	.023049
232	25	21.000	3.67	1.00	3.666	.042835
498	25	22.000	7.87	1.00	7.868	.074391
628	25	23.000	9.92	1.00	9.922	.075899
453	24	24.000	7.46	0.96	7.157	.044295
204	24	25.000	3.36	0.96	3.223	.016139
453	24	26.000	7.46	0.96	7.157	.028995
294	24	27.000	4.84	0.96	4.645	.015225
603	24	28.000	9.92	0.96	9.527	.025265
663	24	29.000	10.91	0.96	10.475	.022475
882	24	30.000	14.52	0.96	13.936	.024190
418	22	31.000	7.51	0.88	6.604	.009275
345	22	32.000	6.19	0.88	5.451	.006194
401	22	33.000	7.20	0.88	6.336	.005824
124	24	34.000	2.04	0.96	1.959	.001457
207	21	35.000	3.89	0.84	3.271	.001968
48	21	36.000	0.90	0.84	0.758	.000369
58	21	37.000	1.09	0.84	0.916	.000361
968	21	38.000	18.21	0.84	15.294	.004874
271	21	39.000	5.10	0.84	4.282	.001104
0	18	40.000	0.00	0.72	0.000	.000000
0	18	41.000	0.00	0.72	0.000	.000000
742	18	42.000	16.28	0.72	11.724	.001601
0	18	43.000	0.00	0.72	0.000	.000000
0	16	44.000	0.00	0.64	0.000	.000000
375	14	45.000	10.58	0.56	5.925	.000428
0	14	46.000	0.00	0.56	0.000	.000000
24	14	47.000	0.68	0.56	0.379	.000018
20	8	48.000	0.99	0.32	0.316	.000012
0	7	49.000	0.00	0.28	0.000	.000000
5	6	50.000	0.33	0.24	0.079	.000002
0	5	51.000	0.00	0.20	0.000	.000000
13	5	52.000	1.03	0.20	0.205	.000003
0	4	53.000	0.00	0.16	0.000	.000000
0	4	54.000	0.00	0.16	0.000	.000000
0	4	55.000	0.00	0.16	0.000	.000000
1	1	56.000	0.40	0.04	0.016	.000000

A OBSERVACAO (OBS.) INTERVALO USADO FOI 24 horas
O TEMPO DE DESENVOLVIMENTO FOI CONSIDERADO COMO 12.5 INTERVALOS
A RAZAO SEXUAL FOI (FEMEAS/TOTAL): .5
A FRACAO DE OVOS QUE CHEGAM A MATURIDADE : .79

A somatoria de RML	=	.999945
A TAXA REPRODUTIVA DA REDE (RO)	=	168.349
O TEMPO DE GERACAO (T) NOS INTERVALOS DE OBS.	=	24.1936
A TAXA INTRINSICA DE INCREMENTO NATURAL (rm)	=	.211876
A TAXA FINITA DE INCREMENTO	=	1.23599

DEFINICAO DAS COLUNAS

M -PROGENIE TOTAL DE CADA INTERVALO PARA TODAS AS FEMEAS
L -NUMERO DE FEMEAS VIVAS
X IDADE ATUAL DAS FEMEAS (DESDE ESTADO DE LARVA);
Mx -PROGENIE FEMEA POR FEMEA
Lx -PROPORCAO DE SOBREVIVENTES NA IDADE X
MxLx-PROGENIE FEMEA POR TAXA DE FEMEAS SOBREVIVENTES NO TEMPO
RML -MxLx.Exp(-rm.X)

(COLUNAS M E L CONTEM OS DADOS IMPUT)