

Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



ESTUDOS SOBRE *Mesocyclops longisetus* var. *longisetus* (Thiebaud)
Dussart (COPEPODA : CYCLOPIDAE) VISANDO O CONTROLE DOS
MOSQUITOS VETORES DA DENGUE

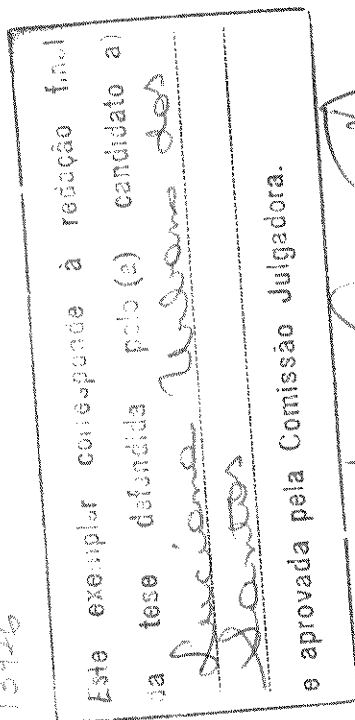
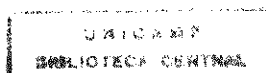
LUCIANA URBANO DOS SANTOS

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do título de Mestre em
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - Área:
PARASITOLOGIA.

Orientador:

Prof. Dr. CARLOS FERNANDO S. ANDRADE⁺

Campinas, Julho
1997



31/07/97
Carlos Fernando S. Andrade

Sa59e

31864/BC

9413926

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
	Pfibrnicamp
	da 59e
	Ex
NUMERO BC/	31864
PROC.	281/97
	C ☐ D ☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	18/10/97
N.º CPD	

CM-00101822-1

FICHA CATALOGRÁFICA

S59. Santos, Luciana Urbano dos
Estudos sobre mesocyclops longisetus (Thiebaud)
dussart (COPEPODA: CYCLOPIDAE) visando o controle dos
mosquitos vetores da dengue/Luciana Urbano dos Santos.--
Campinas, SP: s.n. , 1997.
89f: illus

Orientador: Carlos Fernando S. Andrade
Dissertação (mestrado)- Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

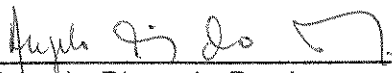
1. Dengue. 2. Controle biológico. 3. Inseticidas.
I. Andrade, Carlos Fernando S. II. Universidade Estadual
de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

BANCA EXAMINADORA

TITULARES



Prof. Dr. Carlos Fernando Salgueirosa de Andrade



Prof. Dr. Angelo Pires do Prado



Prof. Dra. Fosca P. Pereira Leite

SUPLENTE

Prof. Dr. Nelson da Silva Cordeiro

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo -FAPESP, pela bolsa concedida. À Superintendência do Controle de Endemias do Estado de São Paulo-SUCEN, Regional de Campinas, pelo fornecimento dos produtos químicos avaliados e pelas informações fornecidas. Aos alunos e funcionários do Depto de Parasitologia e do Depto de Zoologia que, direta ou indiretamente contribuíram com este trabalho. Aos professores doutores, Benedicto F. do Amaral Filho, Prafulbala Patel, Carlos Eduardo da Rocha e Arnola C. Rietzeler, pelo auxílio em diferentes etapas do trabalho.

Aos meus amigos, Aroldo, Desi, Cacá, Paulo Roberto, Angélica, Jairo, Gílcia, Rejane e Giovanna pelo carinho com que sempre pude contar. Às minhas queridas irmãs Paula, Myriam, Cláudia e Ana Beatriz pelo amor conquistado e sempre presente. Ao Heitor, meu "braço direito", que além de contribuir diretamente na confecção dos mapas, foi fundamental em todas as suas sugestões.

Ao meu Orientador, pela paciência e carinho com que me iniciou na área da Entomologia, pela amizade com que me orientou neste trabalho e pelos sonhos que semeou na minha vida profissional.

À Sosô, que esteve presente em todos os momentos, sempre de maneira doce e carinhosa, como mãe e amiga. Ao meu pai, pela nova convivência com que tem me presenteado e ao Dr. José e Da. Nelly, pela acolhida carinhosa.

À minha família: ao Nardo pela paciência, incentivo, amor e carinho durante todo o trabalho e ao Pedro, por fazer com que tudo valha a pena!.

À minha mãe, dedico.

ÍNDICE

	Página
1 - INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 Objetivos.....	14
2 - ESTUDO 1 - Avaliação de campo do potencial predador de <i>Mesocyclops longisetus</i> var. <i>longisetus</i> (Thiebaud) Dussart (Copepoda : Cyclopidae) sobre larvas de culicídeos em pneus-armadilha:	
2.1 - Introdução.....	17
2.2 - Materiais e Métodos.....	20
2.2.1 Primeira avaliação.....	20
2.2.2 Segunda avaliação.....	23
2.3 - Resultados e Discussão.....	24
2.3.1 Primeira avaliação.....	24
2.3.2 Segunda avaliação.....	27
2.4 - Conclusões.....	33
3 - ESTUDO 2 - Levantamento de copépodos ciclopóidas em Campinas/SP, e avaliação do seu potencial de predação sobre larvas de <i>Aedes albopictus</i> Skuse (Diptera : Culicidae), comparado com o potencial predatório de <i>Mesocyclops longisetus</i> var. <i>longisetus</i> :	
3.1 - Introdução.....	34
3.2 - Materiais e Métodos.....	37

3.2.1. - Levantamento das espécies.....	37
3.2.2. - Avaliação do potencial de predação.....	40
3.3 - Resultados e Discussão.....	41
3.3.1. - Levantamento das espécies.....	41
3.3.2. - Avaliação do potencial de predação.....	43
3.4 - Conclusões.....	48
4 - ESTUDO 3 - Susceptibilidade de <i>Mesocyclops longisetus</i> var. <i>longisetus</i> (Thiebaud) Dussart (Copepoda : Cyclopidae) aos organofosforados usados no controle de vetores da dengue:	
4.1 - Introdução.....	49
4.2 - Materiais e Métodos.....	55
4.2.1.- Susceptibilidade ao temephos.....	56
4.2.2.- Susceptibilidade ao fenitrothion.....	56
4.3 - Resultados e Discussão.....	58
4.3.1.- Susceptibilidade ao temephos.....	58
4.3.2.- Susceptibilidade ao fenitrothion.....	65
4.4 - Conclusões.....	73
5 - CONCLUSÕES FINAIS.....	74
6 - RESUMO.....	75
7 - SUMMARY.....	77

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
-------------------------------------	----

**ESTUDOS SOBRE *Mesocyclops longisetus* var. *longisetus* (Thiebaud)
Dussart (COPEPODA : CYCLOPIDAE) VISANDO O CONTROLE DOS
MOSQUITOS VETORES DA DENGUE.**

INTRODUÇÃO GERAL

As primeiras descrições de epidemias com características compatíveis às de dengue ocorreram na Indonésia e no Egito e datam de 1779, sendo que no ano seguinte foi feita a primeira descrição clínica da doença (Gubler, 1988; Pontes & Ruffino-Neto, 1994). Sabe-se hoje que a dengue clássica ou febre-quebra-ossos é uma doença causada por um vírus do gênero *Flavivirus* (família *Flaviviridae*), que possui 4 sorotipos distintos classificados de DEN-1 a DEN-4. A etiologia viral da dengue e sua transmissão por mosquitos do gênero *Aedes* foram determinadas no ano de 1906, e hoje estão relacionadas com a transmissão ou manutenção do vírus nas Américas e na Ásia as espécies *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Aedes africanus*, *Aedes opok*, *Aedes leuteocephalus*, *Aedes taylori* e *Aedes furcifer* (Serufo et al., 1993a). Qualquer dos 4 sorotipos do vírus pode causar a dengue; enfermidade febril que se caracteriza clinicamente por um ou mais dos seguintes sintomas: febre, dores de cabeça, mialgias, erupções cutâneas, dores nas articulações, fraqueza, anorexia e prostração, produzindo um quadro que bem justifica seus nomes populares (Marzochi, 1994).

A dengue possui cura espontânea e é autoimune, porém a recorrência da virose por outro sorotipo pode causar a febre hemorrágica e/ou síndrome do choque da dengue, formas por vezes fatais (SUCAN, 1987).

Existem 2 hipóteses a respeito dos mecanismos patogênicos que determinam a evolução da dengue hemorrágica: 1) resultado de uma resposta imunológica alterada em indivíduos que entram em contato por 2 vezes com sorotipos diferentes do vírus; 2) resultado de infecção por cepas muito virulentas (Pontes & Ruffino-Neto, 1994).

Um aumento dos casos de dengue no mundo começou há 25 anos em consequência: 1) do crescimento populacional humano nos trópicos que causou uma urbanização desordenada com problemas de saneamento, fazendo-se necessário o acúmulo da água para uso doméstico; 2) do aumento no consumo de plásticos não biodegradáveis e a falta de uma política de reciclagem de lixo, produzindo assim milhões de criadouros dos mosquitos; 3) do aumento do tráfego aéreo, favorecendo o rápido movimento de pessoas infectadas de um lugar para outro e, 4) da pouca eficiência do controle dos mosquitos vetores desde 1970, que não reduziu as populações a níveis que interrompessem a cadeia de transmissão. A somatória de todos esses fatores levou a introdução e movimentação de novos sorotipos do vírus da dengue entre os centros urbanos de muitos países tropicais, que em função do clima, são favoráveis à proliferação e transmissão da dengue (Gubler & Clark, 1996).

Em 1986 começaram novamente a surgir casos de dengue na América do Sul, com epidemias no Brasil, Equador, Paraguai e Bolívia (Gubler, 1988), sendo que atualmente estima-se que mais de 2,5 bilhões de pessoas, correm o risco de contrair a doença. Dessa estimativa, 40 a 50 milhões seriam casos de dengue clássica e ocorrem nos trópicos, e centenas de milhares de casos seriam da forma hemorrágica. Recentemente a Índia sofreu uma epidemia de dengue, onde foram registrados mais de 600 óbitos em Nova Déli (Internet: mosquito-L@iastate.edu, 31/10/96). No Brasil, uma epidemia de dengue foi

registrada pela primeira vez em 1846 nos Estados do Rio de Janeiro, Bahia e Pernambuco. Em 1890, alguns casos foram registrados no Paraná e, em 1917 na cidade de Santa Maria/R.S. (Marzochi, 1994).

O mosquito *Ae. aegypti* (abrev. gênero Reinert, J.F. 1975 *Mosquito Systemates* 7 (2): 105-110.), principal vetor dessa arbovirose nas Américas, foi considerado erradicado no Brasil em 1956 (último foco registrado em 1955), recebendo da O.M.S. em 1958, o certificado de erradicação. Em 1981/82 esse vetor ressurgiu numa epidemia em Boa Vista/RO (Osanaí *et al.*, 1983). A partir de março de 1986 uma nova epidemia assolou o Estado do Rio de Janeiro onde foram notificados pela imprensa 500.000 casos da forma clássica e 2 casos da forma hemorrágica. Nesse mesmo ano ainda foi feito o primeiro registro de *Ae. albopictus* no Brasil, também no Estado do Rio de Janeiro, sendo esta espécie o principal vetor da dengue na Ásia (Forattini, 1986). Estas 2 espécies de *Aedes* tem como criadouro água acumulada em pequenos recipientes, em geral artificiais, em regiões urbanas e rurais. A raça brasileira do *Ae. albopictus* é menos domiciliar que *Ae. aegypti*, criando-se em recipientes artificiais e também em áreas naturais, como ocos de bambú e embricamentos de folhas (Gomes *et al.*, 1992). Nas regiões urbanas, seus criadouros são principalmente copos, garrafas, floreiras, vasilhas para o armazenamento d'água e pneus, sendo que atribui-se ao comércio internacional de pneus o maior fator de dispersão de *Ae. albopictus* no mundo (Rai, 1991).

No Brasil, em apenas 10 anos desde a sua chegada, *Ae. albopictus* dispersou por 17 Estados, atingindo mais de 366 municípios somente no Estado de São Paulo (SUCEN, 1996).

A maior preocupação com o *Ae. albopictus* no nosso país é sem dúvida sobre o seu papel como vetor da dengue e da febre amarela, porém poucos esforços são empregados no sentido do seu controle ou de se monitorar a competência vetorial desse mosquito. As raças ocidentais deste culicídeo têm competência vetorial para 9 vírus diferentes (Mitchell, 1991), sendo que a raça que se estabeleceu na América do Sul, tem competência vetorial menor para o vírus da dengue, quando comparada com a raça introduzida na América do Norte (Miller & Ballinger, 1988). Estudos de laboratório com a raça brasileira de *Ae. albopictus* mostraram no entanto, que ele pode transmitir os 4 sorotipos da dengue de forma horizontal (Miller & Ballinger, 1988), e com alta eficiência os sorotipos DEN-1 e DEN-4 de forma vertical (Mitchell & Miller, 1990). Esses resultados indicam que embora com uma competência vetorial não tão alta, esta raça teria elevado poder de manutenção do vírus na natureza. Além disso é sabido que um vetor, mesmo com competência vetorial menor, em altas densidades populacionais pode iniciar epidemias. Exemplo disto, é que durante a construção da estrada Transamazônica, casos de malária humana ocorreram na ausência do principal vetor *Anopheles darlingi*, porém *A. nuneztovari*, principal vetor dessa arbovirose nas regiões Norte e Oeste da Colômbia, e vetor secundário em nosso país, estava presente em altas densidade populacionais (Dixon *et al.*, 1979; Roberts *et al.*, 1981; Jan *et al.*, 1993).

Além do vírus causador da dengue, *Ae. albopictus* poderia transmitir outras arboviroses e filarioses no Brasil. Uma raça do Espírito Santo demonstrou uma baixa competência vetorial para o vírus da febre amarela (Miller & Ballinger, 1988), no entanto poderia funcionar como ponte entre a forma silvestre que ainda é endêmica em muitos

Estados das regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste, e a forma urbana, que foi erradicada no Brasil em 1942 através da vacinação.

Ae. albopictus foi ainda envolvido com uma epidemia de "mayaro" no Estado do Pará (Smith & Francly, 1991), e poderia veicular a *Dirofilaria immitis* como o faz na Ásia (Chellapah & Chellapah, 1968, Harinasuta *et al.*, 1970, Suenaga, 1972 *apud* Hawley, 1988). Mais recentemente Dr. Glen Scoles (Internet: mosquito-L@iastate.edu, 10/1996) relatou os resultados de estudos com diferentes raças geográficas de *Ae. albopictus*, a qual mostrou viabilidade de infecção, desenvolvimento e transmissão da *D. immitis*.

Recentes casos de dengue tem ocorrido em todo o país, com epidemias nos Estados de Mato Grosso, Ceará, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. O Município de Campinas teve sua primeira epidemia detectada em Maio de 1997, apresentando até o momento (Julho/1997) 15 casos autóctones ou seja, contraídos na própria cidade.

A vigilância epidemiológica que consiste em detectar e isolar o doente evitando assim a transmissão, é o método de controle utilizado nos Estados Unidos, porém no Brasil esse trabalho tem sido pouco eficiente, pois o sistema de vigilância epidemiológica é menos estruturado e nem todos os casos da doença são notificados aos órgãos de saúde.

Uma vacina brasileira para prevenir a dengue clássica estará disponível no mercado em aproximadamente 5 anos, mas os pesquisadores ainda não sabem se ela será eficaz para a forma hemorrágica (Dr. Benedito A. Lopes da Fonseca, Faculdade de Medicina / USP-Campus de Ribeirão Preto / SP, comunicação pessoal).

O controle dos vetores é atualmente a medida mais recomendada para se interromper a cadeia de transmissão do vírus da dengue. Está em curso o Plano Diretor

de Erradicação do *Ae. aegypti* do Brasil, visando eliminar do país o mosquito vetor através de três grupos distintos de ações: ações de saneamento básico, ações voltadas para a divulgação de informações, comunicação social e educação (ICE) e ações orientadas para o combate ao *Ae. aegypti*.

Atualmente, no Brasil, os vetores são controlados quase que exclusivamente com inseticidas químicos, principal método de controle adotado no referido plano de erradicação, porém, o desenvolvimento de resistência aos compostos químicos, que é altamente provável, não tem sido monitorado pelos órgãos públicos de saúde. A resistência a organoclorados e organofosforados em populações de *Ae. albopictus* na Ásia e América do Norte já foi notificada (Brown, 1986; Rai, 1991). Na região de Campinas, Andrade & Modolo (1991) ao avaliarem a susceptibilidade de larvas de *Ae. aegypti* ao temephos, encontraram sobrevivência às concentrações que deveriam ser letais e indicaram a possibilidade de populações resistentes a esse organofosforado já ocorrerem na nossa região.

Mais recentemente uma pesquisa realizada na Universidade de São Paulo, campus de Ribeirão Preto, revelou que a dificuldade em se controlar *Ae. aegypti* naquela região, estaria relacionada a uma resistência genética, que confere aos mosquitos um maior poder de detoxificação aos inseticidas a base de temephos, malathion e fenitrothion, compostos tradicionalmente usados em controle (Dinardo-Miranda, 1994).

Com base na filosofia do Manejo Integrado de Pragas (MIP), Service (1983) alertou que a idéia de se controlar os mosquitos através de um único método deve ser abandonada, e propôs a terminologia "Manejo Integrado de Vetores", que seria uma abordagem mais holística e real que a erradicação, processo raro de se conseguir. O

manejo dos vetores conta com vários métodos de combate, tendo como base a participação da sociedade, conseguida através da educação, associada aos tradicionais métodos físicos, químicos e biológicos (Andrade, 1994).

Em função da ecologia dos vetores da dengue, a educação ambiental e a participação da sociedade são fundamentais para seu combate. A participação da sociedade é o único método fixo a ser associado a outros métodos, fazendo com que nenhum deles se esgote pelo uso contínuo ou indevido, como vem acontecendo com os inseticidas químicos.

Segundo Gubler (1985), os programas de controle estruturados "de cima para baixo", apresentam pouca eficiência e grandes gastos. O autor defende a inversão da estrutura, fazendo da sociedade a base do controle desses culicídeos.

Campanhas de combate ao *Ae. aegypti* realizadas com a participação da comunidade, resultaram em sucesso imediato em vários países, e mostrou a longo prazo a possibilidade de tornar o controle desse vetor auto-sustentável (Gubler & Clark, 1996). A questão básica seria como envolver a comunidade.

Em pesquisa realizada durante uma campanha arrastão em 1991 no distrito de Barão Geraldo (município de Campinas), onde se localiza a UNICAMP, 43,6% dos entrevistados afirmaram não estarem dispostos a eliminar os criadouros da própria residência (Andrade *et al.*, 1995). Isso indica que maiores esforços devem ser aplicados no sentido de educar e responsabilizar também a comunidade, sobre o problema dos mosquitos *Aedes* que se criam dentro das casas.

O auxílio da sociedade pode complementar o trabalho dos órgãos públicos no combate aos pontos críticos, como cemitérios, ferros velhos, borracharias e parques.

Onde os criadouros não podem ser eliminados, existe a necessidade de algum tipo de tratamento, seja com inseticida químico ou inseticida biológico. Já os criadouros domésticos (principalmente vasos com água e plantas) são caracterizados criadouros removíveis e portanto devem ser eliminados.

Frente a atual preocupação com o meio ambiente e na tentativa de se evitar o desenvolvimento de resistência dos mosquitos aos produtos químicos, o controle biológico tem tomado força como método possível de ser utilizado e integrado em campanhas anti-dengue.

O controle biológico faz uso de inimigos naturais (predadores, parasitas e patógenos) para combater vetores, porém seu uso no Brasil ainda é restrito, sendo empregado rotineiramente contra simúlideos nos Estados do Rio Grande do Sul e São Paulo, áreas onde esses insetos apresentaram resistência ao organofosforado temephos (Ruas Neto *et al.*, 1984; Andrade, 1989). A cidade de Porto Velho em Rondônia começou também a fazer uso rotineiro de inseticida biológico no controle de *Anopheles* spp para reduzir os índices locais de malária (Martins - Zeneca Saúde Pública, dados não publicados).

Existem muitos inimigos naturais da fase larval dos mosquitos. Atualmente o controle biológico conta com a comercialização de duas bactérias, o *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) e o *Bacillus sphaericus* (Bs), ambos disponíveis no mercado brasileiro. Essas bactérias possuem ação larvicida bastante específica, sendo seu emprego seguro para a fauna não-alvo e para o homem, embora não atuem de maneira densidade-dependente e têm restrito poder residual (Habib & Andrade, 1986). Em Campinas, um inseticida biológico a base de Bti foi avaliado, a nível experimental em

um grande cemitério, apresentando bons resultados e mostrando-se operacionalmente viável no controle de mosquitos nesse ambiente (Santos *et al.*, 1995). Após esse estudo, a prefeitura adotou o controle de mosquitos em cemitérios da cidade com inseticida biológico (Carlos Figueiredo, Centro Controle de Zoonose de Campinas, comunicação pessoal).

Entre outros agentes naturais já avaliados contra mosquitos e possíveis candidatos para uso em controle biológico estão as xifidiocercárias (fase imatura de certos tremátodos), os protozoários microsporídeos e fungos, como *Logenidium giganteum*, *Culicinomyces clavisporus*, *Metarhizium anisopliae* e *Coelomomyces* spp, tendo este último gênero mais de 40 espécies patogênicas. Existem ainda os nematódeos da família Mermithidae como o *Romanomermis culicivorax*, que são de baixo custo de produção e muito eficientes no controle de *Culex quinquefasciatus* (O.M.S., 1980). Em Cuba, o Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri, produz *R. culicivorax* e *R. yengari* já há alguns anos, estando tais produtos ou sua própria tecnologia, à venda (Mijares & Broche, 1987).

Entre os possíveis predadores da fase larval dos mosquitos, já avaliados, encontram-se Celenterados, Anfíbios, Platielmintes, Copépodos, Peixes e até Quelônios, além de algumas ordens de insetos, como Odonata, Hemíptera, Coleóptera e mesmo da própria ordem Diptera. Estes inimigos naturais têm sido avaliados em todo o mundo para uso no controle das larvas de mosquitos e alguns tem se destacado pela eficiência na predação.

Mais de 250 espécies de peixes possuem alto potencial predador para uso em controle biológico de larvas de mosquitos. A espécie mais usada e amplamente avaliada

é *Gambusia affinis*, peixe da América Central. Apresenta boa eficiência de controle, pode ser introduzida em vários tipos de água desde limpas até poluídas e suportam temperaturas que variam de 1 a 38°C. No Brasil, peixes da família Poeciliidae popularmente conhecidos por "barrigudinhos", alimentam-se também de larvas de insetos aquáticos. A espécie *Poecilia reticulata* é criada e distribuída gratuitamente à comunidade rural de Dracena/SP para controlar de larvas de *Ae. aegypti* em bebedouros de animais (Ferreira & Sampaio, 1996.). O que limita o uso desse predador no controle dos vetores da dengue, é que em função do seu tamanho, os peixes seriam adequados apenas para tanques de armazenamento de água, sendo grandes demais para serem introduzidos em pneus, latas e garrafas, criadouros comuns às espécies dos *Aedes* vetores.

Os vermes platielmintes, como a planária *Girardia tigrina*, mostraram-se eficientes controladores de larvas de *Ae. albopictus* em experimentos realizados no campus da UNICAMP, controlando 91,9% das larvas de mosquitos que naturalmente colonizaram os pneus-armadilha nos quais foram introduzidas (Melo *et al.*, 1996).

Mosquitos da subfamília Toxorhynchitinae são bem maiores que os das subfamílias Culicinae ou Anophelinae. Os adultos não são hematófagos e suas larvas predam preferencialmente culicídeos do gênero *Aedes*. Porém sua taxa de predação em geral não é suficiente para eliminar, sozinha, todas as larvas do vetor, apresentando uma melhor eficiência quando integrado a outro método de controle (Marten, 1989).

Entre estes predadores de larvas, destacam-se os copépodos, microcrustáceos da ordem Cyclopoida, que predam as larvas recém eclodidas dos mosquitos. São cosmopolitas e tem recebido maior atenção que outros invertebrados aquáticos por sua

alta capacidade de reprodução e por terem uma dieta variável, mantendo uma população abundante independente da oferta de larvas de mosquito. Segundo Nasci *et al.* (1987), os copépodos estão distribuídos nos mais diferentes habitats de mosquitos, incluindo poças temporárias e buracos de árvores.

Na Polinésia Francesa, pesquisadores vêm coordenando desde 1982 o uso do copépodo *Mesocyclops* spp como forma de controle biológico de *Ae. aegypti*, tendo a participação da comunidade na introdução dos microcrustáceos nos criadouros do culicídeo. Os pesquisadores ressaltam porém, que a principal dificuldade está em se envolver a comunidade em programas de controle. Uma das barreiras encontradas na Malásia foi a religião dos fundamentalistas islâmicos, onde não é permitida a ingestão de matéria viva, o que inviabilizou o uso de copépodos em tanques de armazenamento de água para uso doméstico (Manderson, 1988). Em ilhas do arquipélago, a espécie de copépodo *Mesocyclops aspericornis* controlou 91 e 99% das larvas de *Ae. polynesiensis* e *Ae. aegypti* respectivamente, durante 29 meses, quando foram introduzidos em tocas de siri, buracos de árvores e tambores usados para armazenamento de água (Rivière *et al.*, 1987). Essa mesma espécie colonizou naturalmente poços d'água em minas abandonadas na Austrália e controlou 100% das larvas de *Ae. aegypti* nestes criadouros (Russel *et al.*, 1996). O copépodo *Mesocyclops leukarti pilosa* controlou 91,6% das larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. polynesiensis* por 14 meses em condições de laboratório (Riviere & Thirel, 1981). Resultados como estes, têm despertado grande interesse pelos copépodos, estimulando vários estudos sobre sua produção de biomassa, estocagem e distribuição, além de avaliações de sobrevivência em diferentes criadouros de mosquitos,

com a finalidade de viabilizar econômica e operacionalmente o seu uso (Marten 1989; Suarez *et al.*, 1992; Gonzáles-Rodrigues *et al.*, 1993; Pérez-Serna *et al.* 1993).

Em trabalho realizado nos Estados Unidos, Marten (1989) mostrou a possibilidade dos copépodos serem aplicados com pulverizadores costais (equipamentos convencionais para aplicações de inseticidas químicos) e estocados por meses a baixas temperaturas.

No Brasil pesquisadores da Universidade Federal do Ceará, avaliaram como parte inicial de um projeto, o potencial predador da linhagem brasileira de *M. aspericornis* e *M. longisetus* e observaram um controle total de larvas de *Ae. aegypti* no laboratório (Kay *et al.*, 1992). Numa segunda fase, *M. longisetus* foi avaliado no campo, em 2 vilas próximas a cidade de Fortaleza/CE. O copépodo foi distribuído com a participação da comunidade local, em recipientes usados para o armazenamento de água. A eficiência no controle do vetor foi de 80% e o envolvimento da comunidade mostrou-se fundamental para a manutenção e monitoramento dos copépodos nos criadouros (Vasconcelos *et al.* 1992).

A relação dos copépodos com as larvas dos culicídeos não se restringe apenas à ação predatória. Copépodos são ainda hospedeiros de microsporídeos do gênero *Amblyospora* e da fase sexuada de fungos do gênero *Coelomomyces*, que podem causar epizootias nas populações naturais de mosquitos (Couch & Bland, 1985 e Sweeney & Becnel, 1991).

No Estado de São Paulo, não se nota qualquer indício por parte dos órgãos de saúde pública, em abandonar o uso quase exclusivo de inseticidas químicos no controle dos vetores da dengue. Além dessa perspectiva de manutenção do controle químico como arma fundamental nos programas de combate aos vetores, nota-se um empenho

diferenciado quanto ao controle das duas espécies. Focos de *Ae. aegypti* são delimitados e o trabalho casa-a-casa é feito até a eliminação do foco. A termo-nebulização com adulticidas é prontamente realizada quando há vírus circulante e a presença dessa espécie. Com a espécie *Ae. albopictus* isso não ocorre. Não são tomadas quaisquer medidas de impacto, permitindo que regiões de vários municípios no Estado de São Paulo apresentem com frequência índices de Breteau (I.B.) bastante elevados como por exemplo I.B.= 22 na cidade de Americana/SP (SUCEN, 1995).

O índice de Breteau é realizado mensalmente pela Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) e estima o número de criadouros urbanos positivos para esses culicídeos em áreas residenciais. Segundo a Organização Mundial de Saúde (O.M.S.), índices maiores que 5 para *Ae. aegypti*, representam alto risco de transmissão de febre amarela e índices maiores que 1 representam alto risco de transmissão de dengue, caso existam doentes na área (Nobre *et al.*, 1994).

Não foi possível a determinação pela O.M.S. de um índice crítico para *Ae. albopictus*, porque fisiologicamente as populações dessa espécie diferem muito na sua competência vetorial (Hawley, 1988). Porém, em função da falta de parâmetros e a alta densidade de *Ae. albopictus*, o I.B. é realizado e serve para o conhecimento de suas densidades populacionais.

Como consequência das diferentes medidas tomadas no controle das 2 espécies de *Aedes*, durante o verão de 1995, período em que havia apenas infestação de *Ae. albopictus*, o Distrito de Barão Geraldo apresentou I.B.= 45 (SUCEN, 1995). Tal fato preocupa sobremaneira uma vez que, como mencionado anteriormente, em condições de

alta densidade populacional um vetor secundário poderia iniciar epidemias (Roberts *et al.*, 1981).

Ae. albopictus foi considerado transmissor do vírus da dengue no Brasil, em uma epidemia em Campos Altos/MG (Serufo *et al.*, 1993b). No entanto, técnicos da Superintendência Epidemiológica da Secretaria da Saúde daquele Estado, ao reavaliarem a questão não puderam confirmar a transmissão. De qualquer forma, frente a essa situação é necessária maior atenção para o controle de *Ae. albopictus*, uma vez que populações bem estabelecidas são comuns.

O copépodo *M. longisetus* possui potencial predador sobre larvas de vários culicídeos vetores como *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Cx. quinquefasciatus* e *Anopheles albimanus* (Marten *et al.*, 1989; Marten, 1990a; Brown *et al.*, 1991), sendo que mostrou-se entre outras, uma das espécies mais eficientes no controle de larvas de *Ae. albopictus* (Marten, 1990a).

A criação de um copépodo ciclopídeo, identificado pelo Dr. Carlos Eduardo da Rocha / USP, como *Mesocyclops longisetus* var. *longisetus* tem sido feita no Laboratório de Biologia e Manejo de Insetos Pragas do Depto de Zoologia, I.B. UNICAMP, desde o ano de 1993, sendo posteriormente denominada de linhagem ML-01.

1.1 OBJETIVOS

Com base na filosofia de manejo integrado de vetores, o presente trabalho teve como objetivo principal um melhor conhecimento sobre a espécie *M. longisetus*, um

agente biológico de controle, procurando-se avaliar seu uso como mais uma alternativa, em campanhas ou projetos de controle dos vetores da dengue. A possibilidade de uma adequação do proposto neste estudo ao atual Plano Nacional de Erradicação do *Ae. aegypti* (PNEAa), lançado em janeiro de 1996, não poderia ser aqui considerada, devido a falta de estrutura e objetivismo da etapa de Controle do Vetor contidas no referido plano. Nas apresentações e discussões públicas realizadas para divulgação do PNEAa, duas entre outras questões, tem sido bastante criticadas. O fato do plano ter sido direcionado para erradicação do vetor e não da doença e a declarada opção pelo uso de inseticidas químicos como principal forma de controle dos mosquitos *Aedes*. Quanto ao controle biológico, o documento referia-se apenas à dimensionar as necessidades de produção de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Só em 28/06/96, um novo documento refere-se explicitamente a possibilidade de uso de predadores, como copépodos, planárias (Fac-símile anexo).

Os objetivos específicos do presente trabalho foram:

- 1- avaliação da eficiência do copépodo *M. longisetus* var. *longisetus* (ML-01), como predador de larvas de culicídeos, usando-se pneus-armadilha;
- 2- o levantamento de espécies de copépodos da cidade de Campinas/SP, avaliando-se o potencial de predação das espécies encontradas sobre larvas de *Ae. albopictus*, comparando-as à *M. longisetus* var. *longisetus* (ML-01);

3 - conhecer a susceptibilidade de *M. longisetus* var. *longisetus* (ML-01) aos produtos químicos rotineiramente utilizados pelos órgãos de saúde no combate aos vetores da dengue, considerando-se uma possível integração entre esses dois métodos de controle.

ESTUDO 1

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PREDADOR DE *Mesocyclops longisetus* var.
longisetus (Thiebaud) Dussart (COPEPODA : CYCLOPIDAE) SOBRE LARVAS DE
CULICÍDEOS EM PNEUS-ARMADILHA.**

INTRODUÇÃO

A água de chuva acumulada em pneus descartados serve como criadouro de algumas espécies de mosquitos, principalmente de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*, vetores da dengue nas Américas e Ásia respectivamente. Borracharias e ferro-velhos são reconhecidamente pontos críticos no controle desses vetores recebendo com frequência aplicações de inseticidas químicos pelos órgãos de saúde.

É muito freqüente pneus serem colonizados por *Ae. albopictus*. Durante um experimento de campo, esta espécie representou 99% dos culicídeos que colonizaram pneus-armadilha (Melo *et al.*, 1996). Em outro estudo, pneus representaram apenas 5% dos criadouros potenciais dos mosquitos *Aedes*, porém quando se realizou busca ativa de larvas, os pneus representaram 30% dos criadouros positivos (Gomes, 1996). Outro fato que reforça a importância desse tipo de criadouro é o fato da dispersão de *Ae. albopictus* em todo o mundo, estar associada ao comércio internacional de pneus descartados (Rai, 1991).

Desde sua introdução no Brasil em 1986 *Ae. albopictus* tornou-se um problema para os órgãos de saúde. Em apenas 10 anos essa espécie ampliou significativamente sua distribuição geográfica no país e hoje coloniza 366 municípios (sozinho ou associado com *Ae. aegypti*), o que mostra uma facilidade de dispersão e adaptação em nosso ambiente.

O que tem dificultado o controle de *Ae. albopictus* é que além de se criar no ambiente urbano, esta espécie é bem adaptada ao ambiente silvestre (Gomes *et al.* 1992). Em ambientes naturais *Ae. albopictus* apresenta um tempo de desenvolvimento da fase de ovo à fase adulta e uma taxa de mortalidade nos estágio imaturos menores quando comparado a ambientes urbanos (Gomes, *et al.* 1996).

Outro fato diretamente ligado a alta densidade populacional de *Ae. albopictus* é a diferença nas medidas de controle adotadas pelos órgão de saúde no combate ao *Ae. albopictus*, medidas estas que não são tão rígidas quanto as medidas adotadas para o controle de *Ae. aegypti*. Somam-se a isso a falta de uma política de reciclagem do lixo, tornando grande parte do lixo recolhido das casas e levados para lixões, em criadouros do mosquito, e a falta de consciência da sociedade que mantém dentro das residências uma enorme quantidade de criadouros.

Políticas de saneamento e de conscientização da sociedade são formas de controle básicas que devem ser integradas ao controle químico ou biológico, complementando-se como alternativa de manejo.

Considerando-se o problema de desenvolvimento de resistência ao produtos químicos e um maior envolvimento da comunidade no combate desses mosquitos, o controle biológico pode vir a ser uma alternativa de controle.

Copépodos são excelentes controladores de larvas de *Aedes* e tem sido avaliados em todo o mundo, principalmente para controlar larvas em pneus. Marten (1990b) introduziu *Macrocyclus albidus* em pilhas de pneus descartados nos Estados Unidos, visando o controle de *Ae. albopictus*. Os adultos desse mosquito que rondavam as pilhas para oviposição desapareceram um mês após a introdução dos copépodos, e as larvas foram 100% controladas pelo período de um ano. A introdução dos copépodos nas pilhas de pneus foi feita com pulverizadores convencionais, o mesmo equipamento usado para aplicação de inseticidas químicos. Em 1994, Marten *et al.* avaliaram 4 espécies de copépodos também em pneus descartados, desta vez para o controle de *Ae. aegypti*. Dentre os copépodos avaliados, a espécie *Mesocyclops longisetus* foi a espécie que melhor sobreviveu nos pneus, mantendo uma população média de 300 indivíduos/ pneu durante 30 semanas, reduzindo o número de indivíduos somente quando o nível da água diminuiu.

Desde a década de 80 existem programas em que a comunidade participa fazendo a introdução e manutenção dos copépodos em recipientes que são criadouros de mosquitos. Esta tem sido uma forma de envolver e responsabilizar a comunidade, no controle desses vetores. Tal integração é uma forma permanente de controle que a longo prazo pode tornar-se auto-sustentável (Gubler, 1988).

A espécie *M. longisetus* é, entre as espécies com potencial predador para uso em controle biológico, a que melhor suporta altas temperaturas, portanto apresentando melhor sobrevivência em pneus, além alto potencial predador, podendo preda até 50 larvas/dia (Marten *et al.*, 1994). Em função disto e de pneus serem criadouros frequentes dos mosquitos *Aedes*, a avaliação do uso de pneus-armadilha com *M. longisetus* através

da metodologia atraí-e-mata mostra-se oportuna, uma vez que nunca foi avaliada anteriormente.

Assim, com o objetivo de se propor pela primeira vez, o uso dessa metodologia como método de controle, *M. longisetus* (ML-01) foi introduzido em pneus-armadilha e avaliado sua eficiência, sobrevivência e reprodução nos pneus.

MATERIAIS E MÉTODOS

Dois experimentos de campo foram realizados no campus da Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP que compreende uma área de 245 ha. Um programa de Vigilância Entomológica da Dengue (VED) existe no campus desde 1991 e conta com 36 pneus-armadilha para monitoramento, distribuídos por toda área da Universidade. Esses pneus que durante todo o programa apresentaram, com frequência, larvas de *Ae. albopictus*, foram utilizados como testemunha para as avaliações com *M. longisetus*.

O alimento para o copépodo, introduzido inicialmente nos pneus-armadilha, foi uma cultura de protozoários cultivada em alface seca autoclavada em água destilada, adaptado de Suarez *et al.* (1992).

Primeira avaliação:

Num primeiro experimento, 10 pneus-armadilha com agente biológico foram distribuídos em pontos aproximadamente equidistantes no campus (Fig.1). Cada pneu foi

colocado ao lado de um pneu da VED já anteriormente instalados, formando assim um par. Estes novos pneus receberam 20 indivíduos adultos de *M. longisetus* em 2420 ml de água de torneira e 80 ml do alimento para os microcrustáceos. O volume total de água nos pneus foi portanto de 2,5 litros e o alimento representou 3% desse volume total. Os pneus da VED receberam o mesmo tratamento, exceto os 20 copépodos e foram considerados como testemunha.

A predação das larvas de culicídeos pelos microcrustáceos foi avaliada a cada 2 dias, pelo número de larvas de 3º e 4º estágio que naturalmente surgiam nos pneus tratados ou não, durante 10 dias.

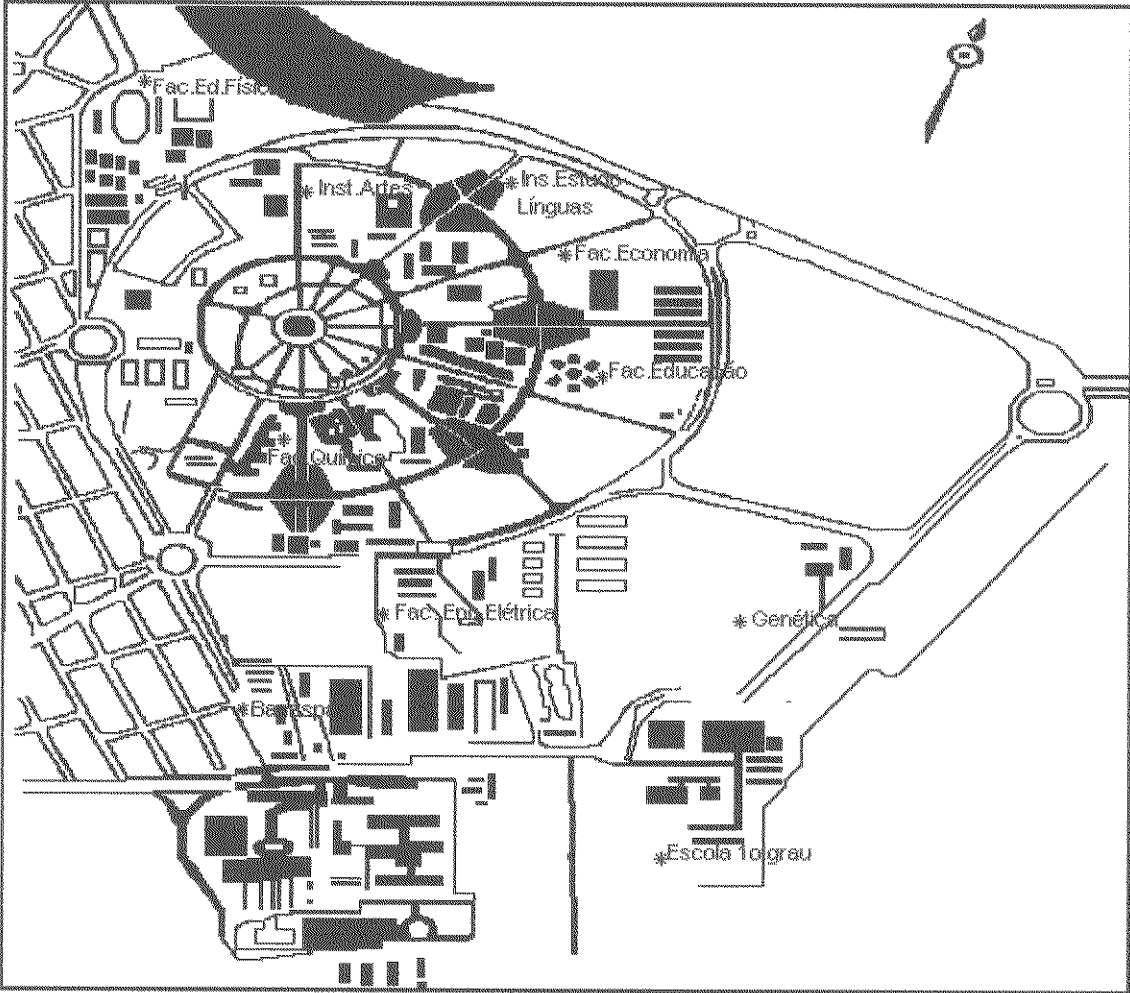


Fig. 1 - Localização dos pneus-armadilha distribuidos no campus da UNICAMP.

Segunda avaliação:

No segundo experimento, 10 pneus-armadilha com agente biológico foram colocados aos pares e nos mesmos pontos da 1ª avaliação, porém os pneus que receberam os copépodos foram previamente cortados sendo utilizado apenas 1/3 do seu total. Essa medida foi tomada para facilitar a coleta dos copépodos ao final da avaliação. O volume total de água estabelecido foi de 2 litros e o alimento adicionado para os microcrustáceos utilizado na 1ª avaliação, foi aumentado de 3% para 20% (v/v). Dois pequenos pedaços de isopor (2x5 cm) foram colocados flutuando na água dos pneus para facilitar o pouso e a oviposição das fêmeas dos culicídeos.

A predação foi avaliada da mesma forma que na 1ª avaliação, a intervalos de 2 dias porém, durante 32 dias.

Em ambas as avaliações a água dos pneus usados como testemunha foi transferida para bacias plásticas, as larvas foram coletadas e levadas para o laboratório onde foi feita a contagem e a identificação. A água dos pneus que receberam os copépodos foi avaliada por inspeção visual, sem ser retirada do pneu. Somente larvas de 3º e 4º estádios eram coletadas já que os copépodos dão preferência para os estádios iniciais.

Ao final de cada avaliação a água dos pneus com *M. longisetus* foi levada para o laboratório e foi feita a contagem final, sob microscópio estereoscópico, dos indivíduos adultos e dos copepoditos (formas imaturas).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aedes albopictus representou 99,2% das espécies de culicídeos que naturalmente colonizaram os pneus-armadilha, nas 2 avaliações.

1) PRIMEIRA AVALIAÇÃO:

Ao final do primeiro experimento, o número médio de larvas encontradas nos pneus-armadilha usados como testemunhas foi de 75,1 larvas/ pneu (Desvio Padrão (DP) = 65,6), e nos pneus tratados com *M. longisetus* onde foi possível a coleta de larvas de 3º e 4º estágio, a média foi de 3,8 larvas/ pneu (DP= 1,7). Para os 10 dias de avaliação foram coletadas 751 larvas nos pneus testemunha e 19 larvas nos pneus tratados com *M. longisetus*, resultando um controle geral médio de 95,9% (DP= 6,0).

O número de larvas de *Ae. albopictus* coletadas nos pneus-armadilha tratados ou não com copépodos, e a eficiência de controle para cada pneu-armadilha durante a 1ª avaliação estão na Figura 2.

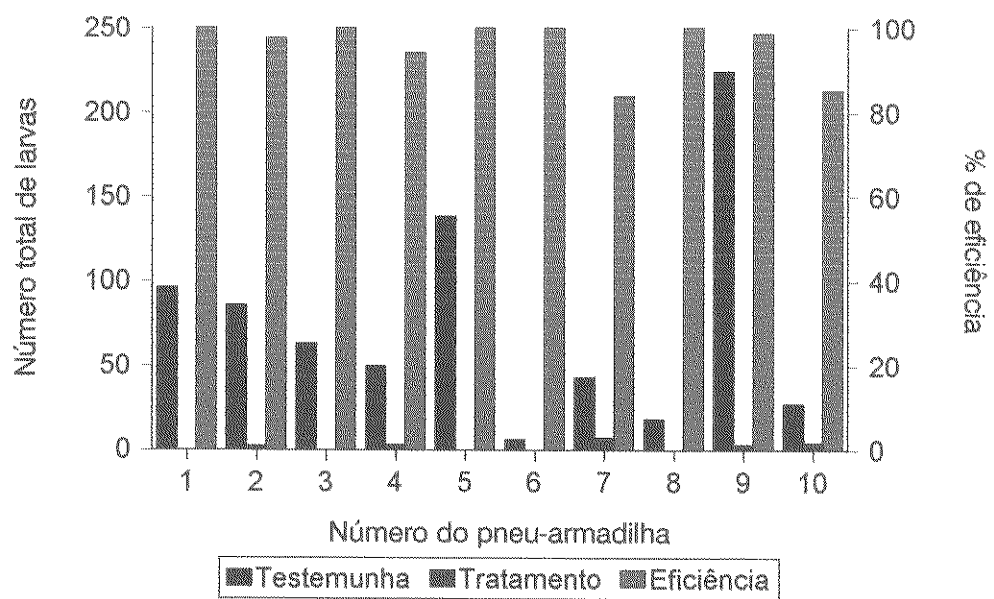


Fig. 2- Número total de larvas de *Ae. albopictus* coletadas nos 10 pares de pneus tratados ou não com adultos de *M. longisetus*, e eficiência de controle durante a 1ª avaliação.

Cinco dos 10 pneus-armadilha distribuídos no campus que receberam adultos de *M. longisetus*, promoveram um controle total das larvas de mosquitos, quando comparado com os pneus testemunhas da VED. Apenas 2 pneus-armadilha tiveram eficiência abaixo de 90%: pneu 7 com 83,7% e pneu 10 com 85,1% de controle.

Um índice de eficiência superior a 90% foi observado também por Melo *et al.* (1996), que avaliaram a mesma metodologia atri-e-mata, introduzindo 4 indivíduos da planária *Girardia tigrina* em pneus-aramadilha. Neste estudo foi observado um controle médio de 91,9% de larvas de culicídeos, durante 15 semanas de avaliação.

A quantidade de larvas nos diferentes pneus testemunha foi muito variada, porém não tem sido possível tampouco correlacionar essa variação para os demais pneus-armadilha do campus, desde sua implantação em 1991.

A sobrevivência dos copépodos nos pneus variou de 0% à 85% mostrando-se no geral baixa. Ao final do experimento, em 4 dos 10 pneus a mortalidade dos copépodos foi de 100%. Porém larvas de mosquitos foram coletadas em apenas 1 desses pneus (o de nº 7) e somente na última observação realizada, acreditando-se portanto que a mortalidade dos microcrustáceos nestes pneus tenha ocorrido provavelmente próxima ao final do experimento.

A taxa de reprodução dos microcrustáceos nesta avaliação foi quase nula. A Figura 3 mostra o número de adultos coletados vivos, incluindo o número de fêmeas ovadas, em cada pneu-armadilha ao final de 10 dias.

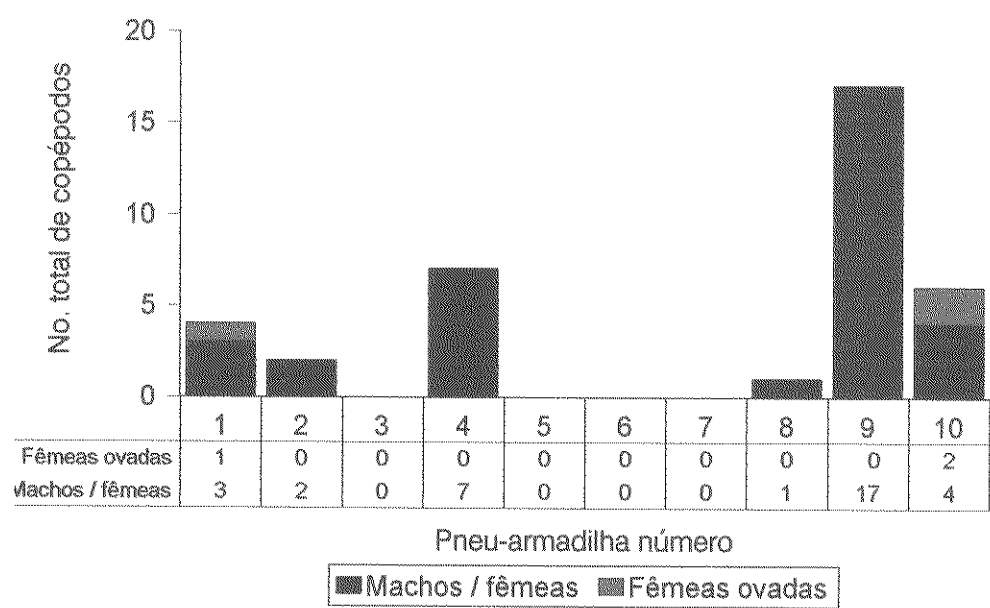


Fig.3 - Número total de adultos de *M. longisetus*, (fêmeas ovadas + machos/ fêmeas), coletados vivos ao final dos 10 dias de avaliação para cada pneu-armadilha.

Três pneus que tiveram sobrevivência dos copépodos inferior a 30% ou seja, finalizaram o experimento com menos de 6 indivíduos, promoveram mesmo assim um controle médio de 99,2% das larvas (DP=1,1). Outros 3 pneus que apresentaram

sobrevivência igual ou superior a 30% controlaram em média 92,5% (DP=5,6), o que indica que mesmo um número inicial inferior a 20 indivíduos de *M. longisetus* poderia promover um eficiente controle de larvas de *Ae. albopictus*.

A reprodução dos copépodos mostrou-se muito baixa, pois somente 2 dos pneus tinham fêmeas ovadas ao final do experimento, com uma média de 1,5 fêmea ovada/ pneu (DP=0,5) e, em apenas 1 pneu foram visualizados 2 indivíduos na fase de copepodito.

O registro de poucas formas imaturas, deve-se também a curta duração do experimento, uma vez que o tempo médio para o desenvolvimento da fase de ovo até a fase de copepodito I é de 10 dias, considerando-se a temperatura ambiente em torno de 28° C em fevereiro de 1994, período em que esta 1ª avaliação foi realizada (Rietzler, 1995).

Com base nos resultados dessa primeira avaliação, a eficiência de controle de *M. longisetus* sobre larvas de *Ae. albopictus*, pelo método atrai-e-mata, foi considerada bastante elevada, porém a sobrevivência dos copépodos nos pneus-armadilha não foi satisfatória. Na tentativa de se aumentar essa sobrevivência, optou-se em uma 2ª avaliação pelo aumento tanto da quantidade de alimento inicial para os copépodos, quanto o período de tempo para a avaliação.

2) SEGUNDA AVALIAÇÃO:

No início do experimento o pneu de nº 9, colocado próximo à uma escola de 1º grau instalada no campus teve sua água esgotada por 2 vezes, embora os funcionários da

escola estivessem avisados do experimento. Em função dessa intervenção externa, decidiu-se pela eliminação deste pneu mantendo-se um total de 9 pneus tratados com adultos de *M. longisetus*.

O número médio de larvas de mosquito coletadas nos pneus testemunhas foi de 291,0 larvas/ pneu (DP= 135,4), enquanto que nos pneus tratados com *M. longisetus*, onde foi possível a coleta de larvas, a média foi de 17 larvas/ pneu (DP=6,8). Para os 32 dias de avaliação foram coletadas em todos os pneus testemunhas 2619 larvas, enquanto que nos pneus tratados com *M. longisetus* foram coletadas apenas 51 larvas, o que resultou num controle geral médio de 98,8% (DP= 2,7).

Somente 3 dos 9 pneus tratados produziram larvas nesta avaliação sendo que desses pneus, somente um produziu larvas ao longo de todo o experimento, o pneu de nº 9, que finalizou o experimento com apenas 1 copépodo. Nos outros 2 pneus (nº 2 e 8) foi possível a coleta de larvas da 8ª até a 11ª observação. Nas observações que se seguiram (até a 16ª), não mais foram coletadas larvas nestes 2 pneus.

A Figura 4 mostra o número de larvas de *Ae. albopictus* coletadas nos pneus-armadilha tratados ou não com copépodos, e a eficiência de controle para cada pneu-armadilha.

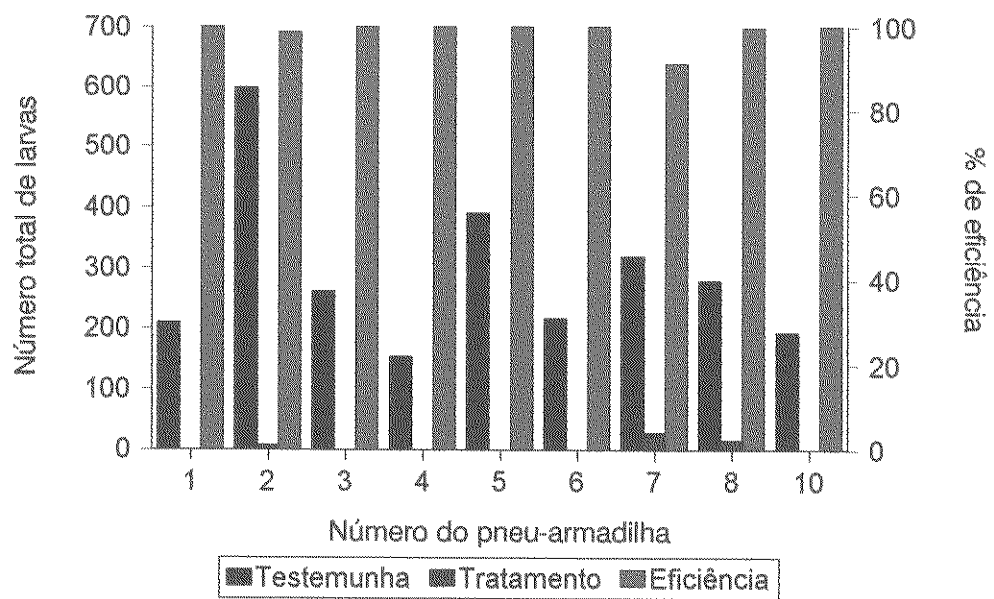


Fig.4 - Número total de larvas de *Ae. albopictus* coletadas nos 9 pares de pneus tratados ou não com adultos de *M. longisetus*, e eficiência de controle durante a 2ª avaliação.

Seis dos 9 pneus controlaram 100% das larvas dos mosquitos quando comparados com os pneus testemunha da VED. Os outros 3 pneus promoveram um controle médio de 96,5% (DP= 3,7). Desses 3 pneus apenas 1 finalizou o experimento com 20 copépodos adultos e a presença de formas imaturas, os outros 2 pneus terminaram o experimento com 1 e 12 indivíduos adultos e sem a presença de formas imaturas.

A variação do número de larvas coletadas nos pneus testemunhas manteve-se alta, uma vez que os pontos de instalação foram os mesmos da 1ª avaliação.

A porcentagem de sobrevivência de *M. longisetus* nesta avaliação foi muito superior a que ocorreu na primeira. A Figura 5 mostra o número total de adultos de *M. longisetus* coletados vivos, incluindo o número de fêmeas ovadas, em cada pneu-armadilha ao final de 32 dias.

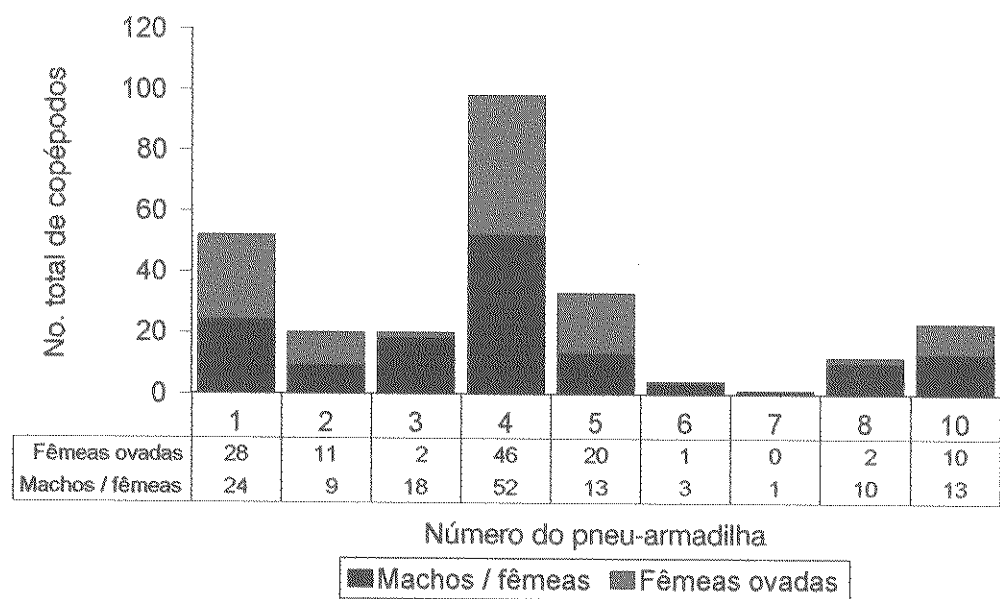


Fig.5 - Número total de adultos de *M. longisetus* (fêmeas ovadas + machos ou fêmeas), coletados vivos ao final de 32 dias de avaliação para cada pneu-armadilha.

Oito dos 9 pneus continham fêmeas ovadas com uma média de 15 fêmeas/ pneu (DP=14,7) e, 6 dos 9 pneus continham formas imaturas. Em apenas 3 pneus o número de adultos foi inferior aos 20 indivíduos introduzidos inicialmente, apresentando uma mortalidade de 40 a 95%, embora a eficiência média desses pneus tenha sido de 96,9% (DP=4,0). O pneu de nº 7 que apresentou a maior porcentagem de mortalidade, finalizou o experimento com apenas um indivíduo. Ainda assim, promoveu um controle de 91,2% quando comparado ao seu pneu testemunha.

A Figura 6 mostra o número de adultos de *M. longisetus* encontrados vivos em cada pneu-armadilha ao final das duas avaliações.

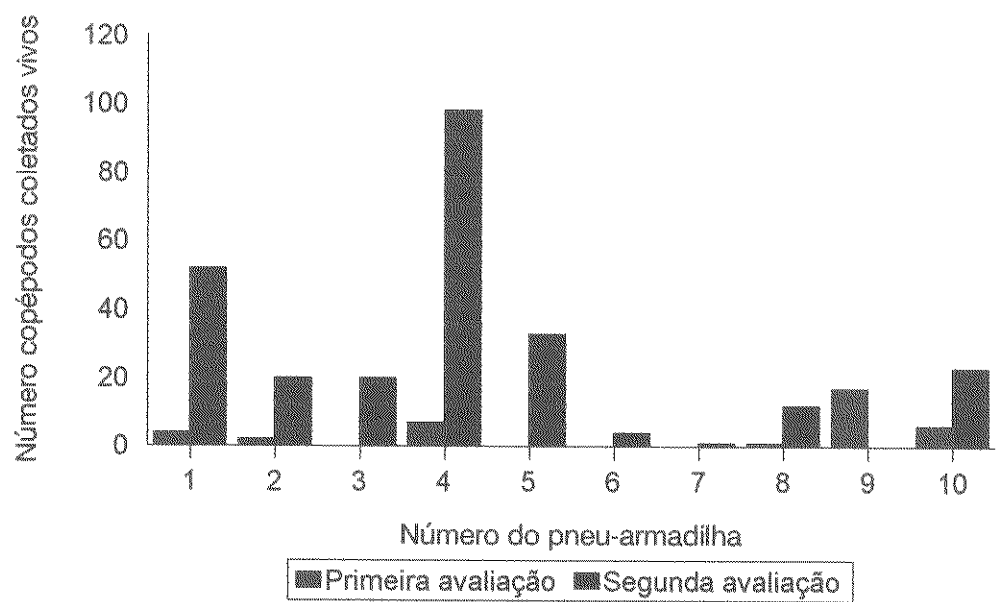


Fig. 6 - Número de adultos vivos de *M. longisetus* coletados nos pneus-armadilha, ao final das duas avaliações. Obs: na 2ª avaliação o pneu de nº 9 foi eliminado em função de interferências externas.

Na 1ª avaliação o melhor resultado de sobrevivência e/ou crescimento populacional dos copépodos foi no pneu de nº 9, onde 17 indivíduos adultos foram coletados ao final do experimento. Na 2ª avaliação o pneu nº 4, apresentou desempenho relativamente bom quanto a taxa de reprodução, tendo sido possível a coleta de 98 indivíduos adultos. Legner (1995) registrou sobrevivência de copépodos por 5 anos em pneus descartados. Algumas espécies de copépodo de água doce, secretam um revestimento orgânico semelhante a um cisto, tornando-os inativos em condições desfavoráveis, o que lhes possibilita estar durante uma seca temporária nesses criadouros. Quanto a este aspecto, a linhagem brasileira de *M. aspericornis* apresentou capacidade de resistência à dissecação em laboratório por 2 meses (Zhen, *et al.* 1994). Até o momento, esta capacidade de resistência não foi por nós observada com a linhagem ML-01 de *M. longisetus*.

A quantidade de água do recipiente onde os copépodos estão é um fator diretamente ligado a sua sobrevivência e reprodução, porém nestas 2 avaliações a quantidade inicial de água foi mantida ao longo do experimento.

Em outro experimento de campo, usando a mesma metodologia atraindo e mata deste estudo, a mortalidade total dos copépodos é observada quando a água do pneu seca totalmente. Em uma das observações, 40 copépodos adultos e aproximadamente 30 formas imaturas foram coletados em apenas 100 ml de água coberta por folhas que normalmente caem dentro dos pneus. Este projeto de controle ainda está em curso (Julho/97) e já foi iniciado, através da educação, o envolvimento dos membros da escola no monitoramento dos pneus-armadilha, que consiste basicamente em não deixar que o pneu seque totalmente e, a coleta de larvas se necessário.

CONCLUSÕES

Nas 2 avaliações de campo *M. longisetus* promoveu um controle geral médio superior a 97,3% (DP= 1,4), confirmando seu alto potencial predador sobre larvas de *Ae. albopictus*. O aumento do volume inicial de alimento para os copépodos na 2ª avaliação, permitiu uma maior sobrevivência dos indivíduos de *M. longisetus* introduzidos e consequentemente uma maior reprodução desses microcrustáceos nos pneus.

O número de copépodos introduzidos (n=20) mostrou-se suficiente para o controle embora pneus que finalizaram o experimento com um número reduzido de copépodos, por exemplo com 4 indivíduos, promoveram também 100% de controle das larvas. Isso indica que inicialmente poderia ser introduzido um número inferior a 20 indivíduos/pneu.

Em uma outra avaliação de campo que ainda está em curso, onde se utiliza a mesma metodologia, foram introduzidos 10 indivíduos de *M. longisetus* /pneu. Até o momento (Julho/97), a eficiência de controle tem sido basicamente a mesma encontrada nestas avaliações.

A metodologia atrai-e-mata é amplamente usada na área agrícola contra muitas espécies de insetos pragas, seja na forma de culturas isca ou de atração por feromônios. As presentes avaliações de campo confirmaram a possibilidade do seu uso contra os vetores urbanos, sugerindo que seriam eficientes também no controle da espécie *Ae. aegypti*, uma vez que esta espécie e *Ae. albopictus* podem ser comumente encontradas num mesmo habitat.

ESTUDO 2

LEVANTAMENTO DE CICLOPÓIDEOS (COPEPODA : CYCLOPIDAE) EM CAMPINAS/ SP, E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL DE PREDACÃO SOBRE LARVAS DE *Aedes albopictus* Skuse (DIPTERA : CULICIDAE) COMPARADO A *Mesocyclops longisetus* var.*longisetus*.

INTRODUÇÃO

Existem mais de 400 espécies de copépodos Ciclopóida de água doce, sendo que 50 dessas espécies predam larvas de mosquitos e estão sendo avaliadas como agentes de controle destes insetos desde a década de 80 (Marten, 1989).

Vários trabalhos sobre o potencial de predação das diferentes espécies de copépodos já foram realizados em várias partes do mundo como Austrália (Brown *et al*, 1991), Estados Unidos (Marten, 1990b), Honduras (Marten *et al.*, 1994), México (Quiroz-Martinez *et al.* , 1993), Colômbia (Marten *et al.*, 1989), Polinésia Francesa (Lardeux *et al.* 1992) e Brasil (Vasconcelos *et al.*, 1992).

Estudos sobre tabela de vida, produção massal, tempo de captura, seletividade da presa e, sobrevivência dos copépodos em diferentes habitats de mosquitos reforçam a credibilidade desses predadores como possíveis agentes de controle.

Estes microcrustáceos são frequentemente encontrados em habitats de mosquitos, como mostra o trabalho de Nasci *et al.*, (1987) realizado em florestas dos Estados

Unidos, onde o pesquisador coletou 16 espécies de copépodos (distribuídos em 11 gêneros), em habitats com a presença de 12 espécies de mosquitos.

Várias espécies de mosquitos de importância médica são predadas por copépodos, como por exemplo: *Aedes aegypti*, *Ae.albopictus*, *Anopheles albimanus* e *Culex quinquefasciatus* (Marten *et al.*, 1989, Marten, 1990a e Brown *et al.*, 1991).

A eficiência de predação das diferentes espécies de copépodos está em geral relacionada ao seu tamanho relativo e à espécie da presa (Marten, 1989).

As espécies de copépodos que tem se destacado para uso em controle biológico pelo seu alto potencial predador são: *Macrocyclus albidus*, *Acanthocyclops vernalis*, *Mesocyclops aspericornis*, *Mesocyclops longisetus*, *Mesocyclops edax*, *Mesocyclops ruttneri* e espécies do grupo *Mesocyclops leuckarti*. Estas espécies são consideradas espécies relativamente grandes, apresentando o comprimento do corpo em torno de 1,5 à 2,0 mm (Reid, 1985).

De uma maneira geral, os copépodos não são predadores eficientes das larvas do gênero *Culex*, quando se compara com sua taxa de predação sobre mosquitos dos gêneros *Aedes* e *Anopheles*, porém essa menor eficiência sobre as espécies de *Culex*, ainda permite o seu uso em controle biológico, principalmente se for integrado a outro método de controle (Marten, 1989). Acredita-se que as larvas de *Cx. quinquefasciatus* escapem melhor ao ataque dos copépodos pela sua maior capacidade de locomoção, além de possuírem um maior número de cerdas que as larvas de outras espécies, o que pode inibir e/ou dificultar o ataque dos copépodos (Andreadis & Gere, 1992). Experimentos realizados em laboratório, também mostraram uma maior eficiência de *M.*

longisetus (ML-01) sobre larvas de *Ae. albopictus* do que sobre larvas de *Cx. quinquefasciatus* (Santos, L.U & Andrade, C.F.S., dados não publicados).

Existem ainda diferenças ecológicas entre as espécies de copépodos no que diz respeito a sua adaptação ao fatores abióticos. O copépodo *M. albidus* por exemplo, suporta melhor temperaturas mais baixas (15° C), quando comparado com *M. longisetus*, além de se adaptar melhor em poças temporárias. Essas diferenças são importantes pois criam a possibilidade de se colonizar diferentes criadouros de mosquito com diferentes espécies de copépodos, levando em consideração uma melhor adaptação da espécie no criadouro, o que resultará em melhores resultados de sobrevivência do predador e consequentemente de controle (Marten & Bordes, 1993 e Marten, *et al.*, 1994b).

O presente levantamento de espécies de copépodos na cidade de Campinas, teve por objetivo o encontro de outras espécies ou outras populações de *M. longisetus* e a avaliação dessas amostras encontradas na presença de larvas de *Ae. albopictus*. Visando o uso desses copépodos em pneus-armadilha, a taxa de predação das espécies encontradas foi comparada com a linhagem ML-01 de *M. longisetus*.

MATERIAIS E MÉTODOS

1- Levantamento

Os copépodos foram coletados em Campinas/SP durante os meses de Junho e Julho de 1994, em onze áreas da região urbana e suburbana da cidade. Em cada área, em corpos d'água onde fosse possível a presença de copépodos, foi feita uma inspeção visual e coleta de 1,5 litros de água a profundidade de 5 a 15 cm, sempre em porções litorâneas. Mesmo nos locais onde os copépodos não foram visualizados, a coleta foi realizada. A Figura 1 mostra os pontos de coleta destacados sobre o mapa da região de Campinas.

As áreas amostradas foram:

Área 1- Parque municipal "Parque do Taquaral" (TAQUA), localizada em área central da cidade. A coleta foi feita ao longo da margem de uma lagoa de 17 ha de área, sem vegetação circundante. Área 2 - Parque municipal "Parque Ecológico Monsenhor José Salim" (PEMJS), localizado em área periférica. As amostras foram coletadas ao longo da margem de uma lagoa com 10 ha de área, sem vegetação circundante. Área 3 - Reserva florestal "Mata de Santa Genebra" (MSGEN), formada por 240 ha de floresta semidecídua, em área natural. A amostra foi coletada em um riacho que corta a mata num trecho de aproximadamente 0,7 m de comprimento e 0,2 m de largura. Área 4 - Distrito de Barão Geraldo (BARAO), área periférica. Coleta realizada em um corpo d'água com ca. de 0,5 m², localizado próximo a uma mata secundária, rodeada por pequenos sítios. Área 5 - Campus II da Pontifícia Universidade Católica de Campinas-PUCCAMP (PUCCII),

área periférica. Coleta realizada em um corpo d'água com ca. de 12 m² formada por um córrego, em área sombreada. Área 6 - Campus Central da PUCCAMP (PUCCC), no centro da cidade. Coleta realizada em fonte ornamental, no pátio interno da Universidade, com uma área de 10 m² e 0,45 m de profundidade. Área 7 e 8 - "Largo do Pará" (LPARA) e "Centro de Convivência" (CCONV), praças municipais localizadas no centro da cidade. Coletas feitas em fontes ornamentais com ca. de 200 m² de área e 0,25 m de profundidade. Área 9 - Praça municipal "Castro Mendes" (TCMEN), localizada no centro da cidade. Coleta realizada em fonte ornamental com ca. 28 m² e 0,20 m de profundidade. Área 10 - Campus da Universidade Estadual de Campinas -UNICAMP (UNICA), localizada em área periférica. Coleta realizada em 2 pontos do campus universitário: em espelho d'água com ca. de 2000 m² e 0,50 m de profundidade (cbasico) e, em reservatório de água de chuva com capacidade de 1 m³ (paras). Área 11 - Rodovia D. Pedro I (DPEDR), localizada em área suburbana. Coleta realizada em córrego, em um trecho de ca. de 10 m de comprimento e 0,50 m de largura, que passa por baixo da rodovia.

A água das amostras positivas para copépodos foram analisadas quanto ao pH, oxigênio dissolvido, nitrito, nitrato e amônia, fatores abióticos relacionados com a densidade da população de copépodos (Rietzler, 1995).

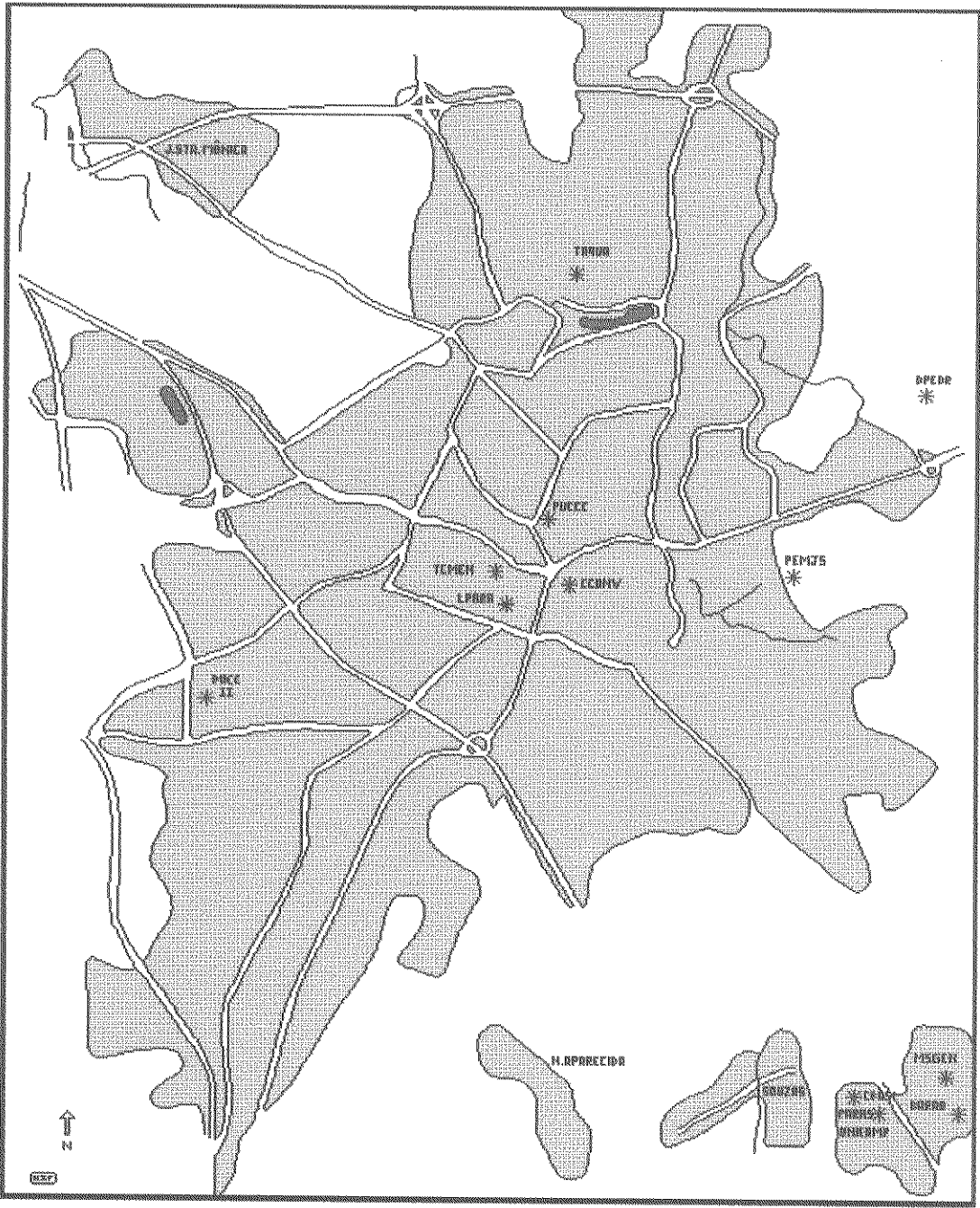


Fig. 1 - Localização das áreas de coleta realizadas na região de Campinas, SP.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
BIBLIOTECA DE CAMPINAS

2 - Avaliação do potencial de predação.

Os adultos de copépodos foram avaliados em grupos de 5 indivíduos, considerando-se o tamanho de fêmeas com sacos de ovos das espécies encontradas, como parâmetro para a separação dos indivíduos adultos. Alguns exemplares dos copépodos coletados foram separados para início de criações.

Foram oferecidas 30 larvas de 1º estágio de *Ae. albopictus* para cada grupo de 5 copépodos. Foram feitas 4 réplicas com 2 testemunhas para os copépodos e 2 testemunhas para as larvas de mosquitos, para cada área amostrada.

A oferta das larvas foi feita 24 horas após os copépodos serem transferidos para potes plásticos com 450 ml de água mineral comercial da marca Lindoya®, sem adição de alimento.

A avaliação foi feita pela contagem de larvas sobreviventes 24 horas após o contato com os copépodos, de acordo com (Marten *et al.*, 1994a).

Copépodos ciclopóida *Mesocyclops longisetus* var. *longisetus* (ML-01) criada em laboratório nos últimos 3 anos, também foram avaliados utilizando-se a mesma metodologia das avaliações feitas com os copépodos trazidos do campo. A avaliação desta linhagem de laboratório foi realizada para comparação, uma vez que já havia se mostrado eficiente predador de larvas de *Ae. albopictus*.

As larvas de *Ae. albopictus* oferecidas para os copépodos foram as de uma criação mantida no Laboratório de Controle Biológico do Depto. de Zoologia, I.B./ UNICAMP, estabelecida em 1991.

As porcentagens de mortalidade foram corrigidas pela fórmula de Abbott (1925). As médias das eficiências das amostras de cada local foram comparadas pelo Teste t-student.

Após as avaliações, os copépodos foram separados por amostras e conservados em álcool glicerinado (20%). Depois de identificados pelo Dr. Carlos Eduardo da Rocha/ USP, os copépodos foram depositados no Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (USP), sob os números de 12.270 à 12.280.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 - Levantamento

O presente levantamento de copépodos na cidade de Campinas/SP confirmou que esses microcrustáceos são amplamente distribuídos nos mais diferentes habitats aquáticos. Copépodos não foram encontrados apenas em 2 fontes ornamentais no centro da cidade (CCONV e TCMEN). Estes espelhos d'água são esgotados a cada 2 meses para limpeza da fonte, fato que não tem ocorrido com o espelho d'água da amostra LPARA onde uma espécie de copépodo foi coletado em abundância.

Para 3 áreas não foi possível a identificação da espécie de copépodo encontrada em função da pequena quantidade de indivíduos coletados ou a presença apenas de copepoditos de estádios iniciais. Nas outras amostras, de uma a 3 espécies puderam ser coletadas. A Tabela 1 mostra as espécies de copépodos coletados e a densidade numérica nas diferentes áreas da cidade.

Tabela 1 - Local de coleta, espécies de copépodos e densidade de copépodos amostrados em áreas urbanas e suburbanas.

LOCAL	LOCALIZAÇÃO	IDENTIFICAÇÃO	DENSIDADE (n/1,5l)
TAQUA	central urbana	<i>Eucyclops serrulatus</i>	40
PEMJS	periférica	<i>Tropocyclops prasinus</i> <i>Mesocyclops longisetus</i> var. <i>longisetus</i>	32
MSGEN	área natural	não identificado	3
BARAO	periférica	<i>Eucyclops ensifer</i>	35
PUCC II	periférica	não identificado	4
PUCCC	central urbana	não identificado	5
LPARA	central urbana	<i>Eucyclops serrulatus</i>	70
CCONV	central urbana	_____	0
TCMEN	central urbana	_____	0
UNICA /cbasi /paras	periférica	<i>Metacyclops mendocinus</i> <i>Mesocyclops longisetus</i> var. <i>longisetus</i>	32 80
DPEDR	suburbana	<i>Eucyclops</i> sp <i>Eucyclops solitarius</i> <i>Macrocyclus albidus</i> var. <i>albidus</i>	42

O resultado das identificações mostrou ainda que mais de uma espécie de copépodo foi encontrada em 2 amostras e, conseqüentemente essas espécies foram juntas, avaliadas quanto ao seu potencial de predação. A saber: amostra PEMJS: 16

indivíduos da espécie *Tropocyclops prasinus* e 4 indivíduos *Ml. longisetus*; amostra RPEDR: 13 indivíduos *Eucyclops* sp, 6 indivíduos *Eucyclops solitarius* e 1 indivíduo da espécie *M. albidus*.

A análise físico-química da água onde os copépodos foram coletados mostrou um pH variando de 6,5 à 8,5. Os níveis de oxigênio dissolvido variaram de 2 à 17 ppm, nitrato e nitrito variaram de 0,01 à 0,74 ppm e amônia de 0,06 à 1,28 ppm. A análise de correlação entre estes parâmetros químicos e a densidade de copépodos coletados mostrou-se "apreciável" apenas para nitrato ($r=0,46$) e nitrito ($r=0,33$) e uma "baixa" correlação para amônia ($r=0,25$), segundo tabela de Rugg (Sounis, 1972).

2 - Avaliação do potencial de predação

As tentativas de se criar os copépodos não identificados (Tabela 1) para avaliar seu possível potencial de predação fracassou.

Devido a natural dificuldade em se diferenciar inequivocamente sob microscópio estereoscópico copépodos adultos daqueles que se encontram no estágio de copepodito V (último estágio antes da forma adulta), em duas amostras (TAQUA e PEMJS), copepoditos V foram usados nos testes de eficiência e representaram 30 e 15% respectivamente.

De acordo com Reid (1985), copepoditos V são facilmente confundidos com indivíduos adultos. Por outro lado Rietzler (1995), mostrou que copépodos predam insetos desde a fase de copepodito I e que a taxa de predação aumenta a medida que o

desenvolvimento do microcrustáceo vai ocorrendo. Além disso, as peças bucais destas 2 fases (copepodito V e adultos) em nada diferem. Assim, a presença dessas formas imaturas nas amostras TAQUA e PEMJS possivelmente não tenham sido a causa da baixa eficiência nelas observada.

A porcentagem de mortalidade de larvas de 1º estágio de *Ae. albopictus* dos grupos usados como controle variou entre 0,0 e 13,3%, de forma que as mortalidades nos testes foram corrigidas pela fórmula de Abbott. Nos grupos dos copépodos usados como controle não houve mortalidade.

A espécie *M. longisetus* linhagem ML-01 confirmou seu alto potencial predador, com os indivíduos consumindo em 24 h mais de 92% das larvas de 1º estágio de *Ae. albopictus*. Por outro lado, os copépodos coletados nas diferentes áreas mostraram uma variação no potencial de predação de zero a 97,3%, sendo esta última porcentagem, obtida na amostra UNICA/paras (onde foi coletado apenas *M. longisetus*), sem diferença significativa da porcentagem apresentada pela linhagem ML-01 da mesma espécie (Tabela 3).

Tabela.3 - Porcentagem média da eficiência de predação das amostras de copépodos de diferentes áreas de Campinas/ SP sobre larvas de *Ae.albopictus* em condições de laboratório.

AREAS/ lugares	EFICIÊNCIA (%)	p = 0,05	p = 0,01
UNICA/ paras	97,30	a*	A
ML - 01	92,47	a	A
PEMJS	25,90	b	B
DPEDR	13,38	b c	B
LPARA	3,42	c	B
UNICA/ cbasi	2,77	c	B
BARAO	1,65	c	B
TAQUA	0,0	c	B

*Valores em seqüência de mesma letra não diferem significativamente para a probabilidade indicada.

A análise estatística mostrou melhores resultados de predação nas amostras contendo apenas *M. longisetus* (UNICA/paras), sem diferença significativa para a mesma espécie criada em laboratório por 3 anos (ML-01), originária também de um reservatório de água com capacidade de 1m³ , que serve como sítio de criação do mosquito *Cx. quinquefasciatus*.

A eficiência da amostra UNICA/paras foi seguida pela eficiência de 2 amostras: com *M. longisetus* e *T. prasinus* (PEMJS) e a amostra com *Eucyclops* sp, *E. solitarius* e *M. albidus* (DPEDR). Este resultado confirma o bom potencial de predação de *M. longisetus*

e sugere que *M. albidus* tenha sido o principal predador na amostra DPEDR, uma vez que esta espécie juntamente com *M. longisetus* são apontadas por Marten (1990 a/b) como as espécies de copépodos mais eficientes contra larvas de *Ae. albopictus* nos Estados Unidos.

Pode-se considerar que os copépodos dos gêneros *Eucyclops*, *Tropocyclops* e *Metacyclops* obtidos neste levantamento, possuam baixo potencial de predação como predadores de larvas de *Ae. albopictus*.

Amostras contendo espécies de copépodos do gênero *Eucyclops*, apresentaram percentual de predação variando de nulo à 3,4%. A amostra somente com a espécie *M. mendocinus* mostrou uma porcentagem de predação sem diferença significativa da variação apresentada acima, e a amostra com *T. prasinus* mostrou uma eficiência altamente significativa, mas provavelmente devido principalmente a presença de indivíduos de *M. longisetus*.

A eficiência de copépodos como predadores de larvas de mosquitos pode ser discutida considerando-se o tamanho do indivíduos adultos das diferentes espécies. Dados apresentados por Reid (1985) mostram que adultos das espécies de *Eucyclops*, *Tropocyclops* e *Metacyclops* apresentam comprimento médio entre 0,86 mm para as fêmeas e 0,71 mm para os machos. Espécies pequenas de copépodos são comuns em criadouros de mosquitos, mas em função do seu tamanho não são predadores tão eficientes quando comparados com indivíduos dos gêneros *Mesocyclops* e *Macrocyclops* que apresentam comprimento médio entre 1,95 mm para as fêmeas, que podem chegar a 2,03 mm, e 1,06 mm para os machos.

Embora apresentando baixo potencial predador, essas espécies de menor tamanho (dos gêneros *Eucyclops*, *Tropocyclops* e *Metacyclops*) realizam predação sobre larvas de *Ae. albopictus*, porém estes copépodos pequenos fazem grupos para atacar as larvas (Dr. Carlos E. da Rocha /USP, comunicação pessoal) enquanto que espécies maiores como as dos gêneros *Macrocyclus* e *Mesocyclops* predam na sua capacidade máxima, até 50 larvas/dia (Marten *et al.*, 1994a).

CONCLUSÕES

Copépodos foram facilmente encontrados em corpos d'água em áreas urbanas e suburbanas da cidade de Campinas/SP, representando no presente estudo 8 espécies distribuídas em 5 gêneros.

A espécie *M. longisetus*, já envolvida em projetos de controle biológico, foi encontrada em duas das 11 áreas amostradas, ocorrendo juntamente com *T. prasinus* em um lago de 10 ha e isoladamente em um reservatório de água de chuva com capacidade de 1m³.

A avaliação de predação em larvas de 1º estágio de *Ae. albopictus* confirmou somente *Mesocyclops l. longisetus* como bom controlador de larvas dessa espécie de mosquito. A predação realizada por indivíduos coletados no campo não diferiu da predação realizada pela linhagem ML-01 desta mesma espécie criada em laboratório. Conclui-se ainda que, até o momento essa seria realmente a melhor espécie de copépodo para uso em pneus-armadilha de controle biológico.

ESTUDO 3

SUSCEPTIBILIDADE DE *Mesocyclops longisetus* var. *longisetus* (Thiebaud) Dussart (COPEPODA : CYCLOPIDAE) AOS ORGANOFOSFORADOS USADOS NO CONTROLE DE VETORES DA DENGUE.

INTRODUÇÃO

Com base na filosofia do Manejo Integrado de Vetores, onde a idéia de se controlar os mosquitos através de um único método é substituída pela integração de vários métodos, alguns estudos têm sido realizados sobre a compatibilidade entre copépodos com potencial predador sobre larvas de mosquitos, e os vários produtos comerciais usados rotineiramente no controle dos pernilongos.

O uso integrado de copépodos com inseticidas químicos ou biológicos, quando possível, é uma forma eficiente de controle, pois o inseticida elimina de imediato a maioria das larvas presentes no criadouro, incluindo as de estádios mais adiantados que não são predadas pelos copépodos, e estes, passam a controlar as novas larvas que aparecerem, quando o inseticida já não estiver mais ativo.

Segundo Marten *et al.* (1993) os gêneros *Macrocyclops*, *Mesocyclops* e *Acanthocyclops*, possuem espécies com possibilidade de serem usados em controle biológico (este último gênero não é encontrado no Brasil).

Marten *et al.*, (1993) avaliou a compatibilidade de algumas espécies desses 3 gêneros a inseticidas químicos a base de malathion, methoprene, resmethrina, permethrina, temephos e a um inseticida biológico a base da bactéria *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti). A espécie *Macrocyclus albidus*, mostrou ser mais sensível ao temephos, composto químico amplamente utilizado no controle dos vetores da dengue, do que a qualquer outro inseticida químico. A dose letal que causou 50% de mortalidade (DL₅₀) nesta espécie de copépodo, foi próxima à DL₅₀ encontrada para o pernilongo *Ae. albopictus*. O parâmetro DL₅₀ utilizado pelo autor, deve ser assumido como concentração letal (CL₅₀), uma vez que a dose seria a quantidade mais exata de ingrediente ativo ingerida ou de fato em contato com o copépodo, medida dificilmente estimada.

O regulador de crescimento methoprene e o adulticida a base de permethrina, mostraram-se compatíveis com as espécies de copépodos avaliadas, se usados nas concentrações indicadas pelos fabricantes. Já os adulticidas malathion e resmethrina não foram compatíveis com os copépodos.

De uma maneira geral os trabalhos realizados sobre susceptibilidade de copépodos aos produtos comerciais usados em controle, mostram que os reguladores de crescimento, os inseticidas biológicos, os óleos larvicidas e os surfactantes, são apropriados para serem utilizados com os microcrustáceos, pois nenhum efeito danoso desses produtos foi registrado às espécies de copépodos expostas a eles (Marten *et al.*, 1993; Kenny & Ruber, 1993).

Outros estudos também mostram as vantagens de se associar os copépodos a outras formas de controle, permitindo um sinergismo quanto ao

efeito residual. Tietze *et al.*, (1994) mostrou que a espécie *M. longisetus* quando associada ao B.t.i. ou ao methoprene promoveu um controle de 90% das larvas de *Ae. albopictus* durante 5 meses em pneus descartados nos Estados Unidos. Isoladamente o B.t.i. ou o regulador de crescimento promoveram um controle de 100%, porém uma reaplicação foi necessária após 2 semanas para que esse índice de controle fosse mantido.

O inseticida biológico a base da bactéria *Bacillus sphaericus* (B.s.) apresentou melhor controle quando integrado ao copépodo, uma vez que a toxicidade do B.s. é menor para as espécies de *Aedes*, quando comparada com sua eficiência no controle de larvas do pernilongo noturno *Culex quinquefasciatus* (O.M.S., 1985).

Pneus descartados em New Orleans nos Estados Unidos, com frequência apresentavam alta densidade de larvas de *Ae. albopictus* mesmo após serem tratados com *Mesocyclops leuckarti* (grupo) e *Acanthocyclops vernalis*. Estes predadores não apresentaram efeito de predação suficiente para reduzir a produção de mosquitos adultos, pois larvas de 4º estágio e pupas frequentemente eram coletadas. Larvas do culicídeo *Toxorhynchites rutilus* são excelentes predadoras desses estádios e, quando foram introduzidas nos pneus, junto com os copépodos, a eficiência de controle subiu para 99%, porque as larvas do *T. rutilus* complementaram o controle feito pelos copépodos e, embora predem também microcrustáceos, esta predação nunca chega a eliminar a população de copépodos. Por outro lado *T. rutilus* quando introduzida sozinha em alguns pneus, promoveu apenas 74% do controle das larvas de *Ae. albopictus* (Marten, 1989).

Numa avaliação de laboratório Marten (1984), integrou a alga *Kirchneriella irregularis* (Clorofidae) ao copépodo *Mesocyclops leuckarti pilosa* para o controle das larvas de *Ae. albopictus*. O autor verificou que a alga permitiu a sobrevivência e o desenvolvimento do copépodo mas foi aparentemente indigesta para as larvas de pernilongos, podendo ser mais uma alternativa para o manejo.

No Brasil, o controle dos vetores da dengue é feito quase que exclusivamente com inseticidas químicos, sejam eles larvicidas ou adulticidas.

A Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo - SUCEN, é atualmente o órgão responsável pelo controle dos insetos vetores da dengue no Estado, porém esse trabalho esteja em processo de descentralização. A responsabilidade do controle está sendo transferida aos municípios e à SUCEN caberá dar apoio técnico às prefeituras. Enquanto isso não ocorre plenamente, a SUCEN realiza as medidas preconizadas no seu documento "Manual de Atividades para o Controle dos Vetores da Dengue e Febre Amarela : controle mecânico e controle químico". Este manual descreve de forma detalhada as medidas de controle utilizada pela instituição sendo aqui resumidas:

- 1 - o controle mecânico é dirigido aos recipientes domésticos ou não, visando sua remoção ou alteração de maneira a não permitir o acúmulo de água e;
- 2 - o controle químico é feito basicamente com a aplicação de larvicida e/ou adulticidas sendo divididos em 3 tipos distintos:

2.1- Tratamento espacial: direcionado para a fase adulta dos insetos e realizado com produtos organofosforados ou piretróides. É também conhecido por

nebulização e pode ser feito na forma de termonebulizadores (FOG) ou de nebulizações de ultra baixo volume (UBV).

2.2- Tratamento perifocal: é feito com produtos de formulação pó molhável a base de fenitrothion e aplicado com pulverizador manual de compressão. Este tratamento é direcionado principalmente para a forma adulta do inseto, porém os produtos usados a base deste composto também possuem ação larvicida. São aplicados em superfícies internas ou externas de recipientes que contenham água ou não, mesmo que estes recipientes estejam dentro de edificações.

2.3- Tratamento focal: direcionado para a fase larvária do inseto. É realizado com produto de formulação granulada a base de temephos e aplicado em criadouros internos que não podem ser removidos ou alterados.

Com frequência o tratamento focal é realizado em vasos de plantas com água ou pratos de xaxim, criadouros que são considerados removíveis e portanto deveriam ser eliminados. Estes 3 tipos de controle químico são restritos a áreas de infestação com a presença de *Ae. aegypti*. Já outras atividades de controle como trabalho casa-a-casa, arrastão, delimitação de foco e mutirão de limpeza são previstas e realizadas para áreas infestadas por ambas as espécies de *Aedes*. Isto mostra a diferença nas medidas de controle entre *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

Entre as atividades descritas acima, apenas para o mutirão de limpeza não é previsto o uso de produto químico, confirmando que as ações de controle da SUCEN são fortemente embasadas no controle químico.

É sabido que o uso rotineiro desses compostos pode levar os mosquitos a desenvolverem resistência inviabilizando seu uso. A resistência dos mosquitos aos compostos químicos usados no controle de larvas ou adultos, foi observada pela primeira vez em 1947 sendo que até o ano de 1987, 117 espécies de mosquitos em todo mundo mostravam-se resistentes a um ou mais produtos químicos (Shidrawi, 1992). Em função disto e da idéia de se controlar os mosquitos através de vários métodos, o uso do copépodo *M. longisetus* pode ser uma alternativa, uma vez que este microcrustáceo possui reconhecido potencial predador e é usado em campanhas anti-dengue em vários países.

No Estado de São Paulo, a introdução de *M. longisetus* como mais uma arma de combate aos mosquitos, depende porém, de sua compatibilidade com os produtos químicos usados pela SUCEN. Esta idéia é válida também para o Plano Nacional de Erradicação, onde declaradamente o controle químico é o método básico a ser usado na tentativa de se erradicar o *Aedes* do Brasil.

O produto a base de temephos é o mais usado para se controlar a fase larvária do pernilongo e é recomendado na concentração de 1ppm para controle de copépodos do gênero *Cyclops*, que são hospedeiros do verme da Guiné, *Dracunculus medinensis* na África e Ásia (Muller, 1992). O catálogo do produto a base de temephos ABATE® 1G, utilizado no presente trabalho, confirma essa informação mas esclarece que esse ingrediente ativo tem mínima ação sobre outras espécies de copépodos. Além disso, nem todas as espécies de copépodos e mesmo populações diferentes, possuem a mesma sensibilidade para a um mesmo composto químico (Marten *et al.*, 1993).

Quanto ao fenitrothion, outro organofosforado avaliado no presente estudo, o catálogo não trás referências quanto ao seu efeito sobre a fauna não alvo, porém em um estudo de Rettich (1979), indivíduos do gêneros *Cyclops* sp mostraram-se pouco susceptíveis a este ingrediente ativo.

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho é avaliar a susceptibilidade de *M. longisetus* (ML-01) aos inseticidas organofosforados de ação larvicida usados pela SUCEN no controle dos vetores da dengue.

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras dos produtos químicos avaliados: ABATE® 1G e SUMITHION® PM40 foram cedidas pela SUCEN e as concentrações usadas foram as estabelecidas no Manual de Atividades de Controle dos Vetores da Dengue e Febre Amarela (SUCEN), sendo portanto as operacionais de campo.

O nome comercial dos produtos, a formulação e as concentrações avaliadas estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1- Descrição dos inseticidas químicos avaliados e as concentrações a que adultos de *M. longisetus* foram expostos.

Nome Comercial	Nome Comum (i.a.)	Formulação	Conc. operacional
ABATE® 1G	temephos	Granulado (a 1% i.a.)	1 ppm i.a.
SUMITHION® PM40	fenitrothion	Pó molhável (a 40% i.a.)	8 ppm i.a.

Os ensaios da susceptibilidade de *M. longisetus* ao temephos (ABATE® 1G) e ao fenetrothion (SUMITHION® PM40) seguiram o seguinte protocolo:

Quarenta indivíduos adultos de *M. longisetus*, sem a presença de fêmeas ovadas, foram colocados em bacias plásticas, contendo 1800 ml de água mineral da marca Serra Negra®, e 200 ml de alimento. Utilizou-se como alimento uma cultura de protozoários desenvolvida em água destilada com alface seca autoclavada, adaptada de Suarez *et al.* (1992). Durante todo o experimento não foi mais adicionado alimento para os copépodos. Foram feitas 6 réplicas e 2 testemunhas para cada produto avaliado.

A mortalidade dos copépodos foi observada 24, 48 e 72 horas após a exposição dos microcrustáceos ao inseticida. Depois destes 3 primeiros registros as observações passaram a serem feitas semanalmente até o final do experimento.

Em todos os registros de mortalidade a água das 4 réplicas e das 2 testemunhas foi examinada em lotes de 100 ml colocados em placa de Petri, e a contagem dos adultos sobreviventes foi feita sob microscópio esterioscópico.

O inseticida ABATE® 1G foi aplicado na água das bacias tratamento, 12 horas antes dos microcrustáceos serem transferidos para as bacias. Esta medida foi tomada para se conseguir a concentração desejada do ingrediente ativo no meio, uma vez que esta formulação é de liberação lenta.

Para o produto SUMITHION® PM40, 62,5 g do inseticida foram diluídas em 1l de água; 2,6 ml desta solução foram colocados na água das bacias tratamento

e em seguida os copépodos foram nelas introduzidos. Considerando-se a área das bacias tratadas, essa concentração do produto equivale a 2 mg i.a./m². Esse dado é aqui salientado porque no campo o cálculo da concentração do SUMITHION® PM40 é feito por área e não por volume, como ocorre com o inseticida ABATE® 1G.

Para se confirmar a efetividade do inseticida ao longo do tempo, 50 larvas de 3º estágio *Ae. albopictus* foram colocadas em uma das bacias tratamento e em uma das bacias usadas como testemunha, escolhidas ao acaso. A mortalidade das larvas do pernilongo foi observada 24 horas após o contato delas com o inseticida, sendo repetido este procedimento até o final do experimento para ambos os produtos avaliados.

O copépodo avaliado foi *M. longisetus* var. *longisetus* linhagem ML-01.

As larvas de *Ae. albopictus* são de uma criação mantida no Laboratório de Controle Biológico do Depto de Zoologia, I.B./UNICAMP, desde de 1991.

As porcentagens de mortalidade foram corrigidas pela fórmula de Abbott (1925) e para a comparação das médias, utilizou-se o Teste t - student.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1) AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE *M. longisetus* AO TEMEPHOS (ABATE® 1G):

A avaliação da susceptibilidade de *M. longisetus* ao inseticida ABATE® 1G foi concluído com 98 dias. A Figura 1 mostra a variação no número de indivíduos adultos de *M. longisetus* expostos ou não a este inseticida.

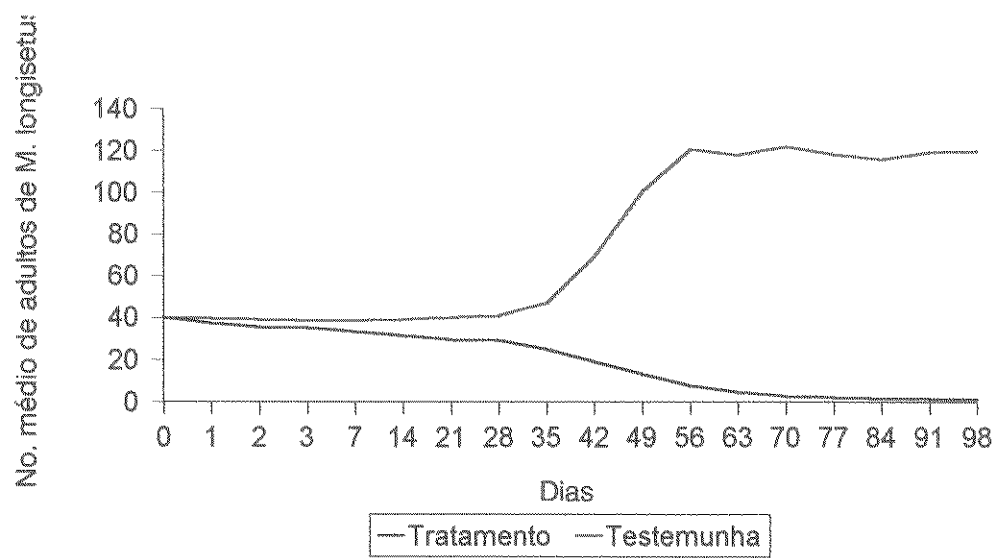


Fig.1 - Valores médios do número de adultos de *M. longisetus* expostos ou não a 1 ppm de temephos.

O número médio de copépodos expostos ao inseticida químico apresentou um declínio gradual, finalizando o experimento com uma média de 1,6 indivíduos (Desvio Padrão (DP)=0,8) para as 5 repetições. O 1º e único registro de 100% de mortalidade de *M. longisetus* foi no 84º dia para uma das repetições.

Nas bacias testemunha o crescimento populacional se iniciou no 21º dia, apresentando um pico de crescimento no 70º dia com uma média de 121,5 indivíduos (SD=13,5), mantendo a densidade populacional sem alterações significativas até o encerramento do ensaio. Do 21º ao 70º dia a densidade populacional dos copépodos não mostrou alteração significativa, crescendo e diminuindo gradualmente nas bacias tratamento e testemunha respectivamente

Segundo o catálogo do produto, o efeito residual do inseticida é de aproximadamente 3 meses, porém o produto pode apresentar variação no seu efeito residual em função da exposição à luz e do teor de matéria orgânica da água em que ele foi aplicado.

As larvas de *Ae. albopictus* colocadas como indicadores da efetividade do inseticida apresentaram até o final do experimento (98 dias), 100% de mortalidade 24 horas após a exposição, confirmando o longo efeito residual do produto.

Outra avaliação de susceptibilidade de *M. longisetus* a 1 ppm de temephos foi realizada utilizando-se a mesma metodologia do experimento apresentado acima. Porém, após o primeiro registro de mortalidade, ou seja, com 24 horas de exposição ao inseticida ABATE® 1G, os indivíduos sobreviventes de 2 réplicas foram transferidos para bacias com água mineral e alimento (sem inseticida), permanecendo as outras 2 réplicas em exposição contínua. As 2 bacias utilizadas como testemunha não sofreram nenhuma alteração. O resultado deste experimento é apresentado e descrito abaixo. A Figura 2 mostra no número de adultos de *M. longisetus* nas bacias em que ficaram expostos continuamente ou

por apenas 24h ao inseticida ABATE® 1G em relação aos indivíduos de *M. longisetus* que não foram expostos a este inseticida.

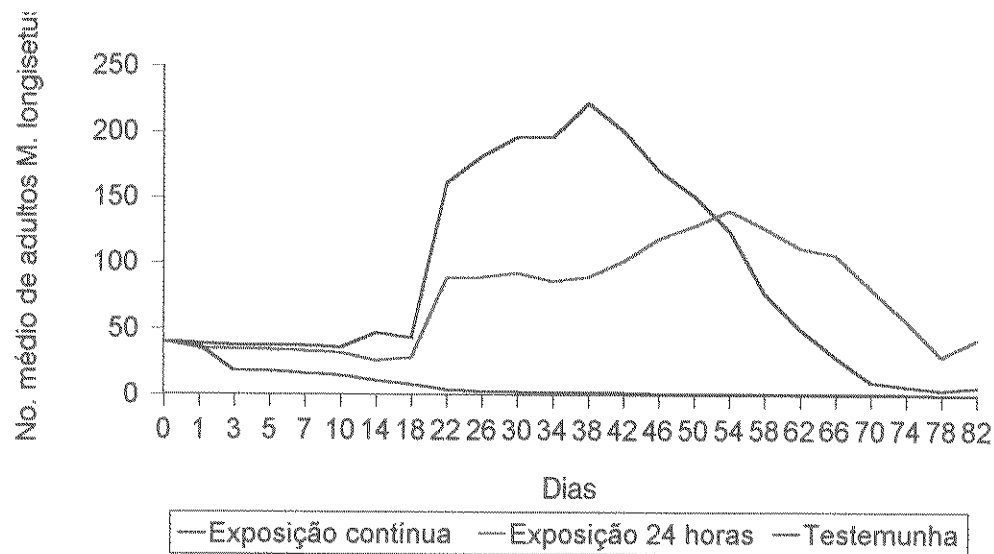


Fig. 2- Valores médios do número de adultos de *M. longisetus* submetidos ou não ao inseticida ABATE® 1G em diferentes exposições .

No primeiro registro da mortalidade 24 horas após, as bacias tratadas apresentaram uma porcentagem média de mortalidade de 6,5% dos indivíduos de *M. longisetus*, enquanto nas bacias tetemunhas a mortalidade média foi de 2,5%.

A presença de fêmeas ovadas foi observada nas 4 bacias tratamento e nas 2 bacias testemunha, com uma média de 8,7 fêmeas ovadas (DP=1,2) e 18,5 fêmeas ovadas (DP=0,5) respectivamente.

Nos primeiros 7 dias de avaliação, não foi observada a presença de formas imaturas de *M. longisetus* em nenhuma das réplicas expostas por 24 horas ou continuamente ao inseticida e nas bacias testemunha, embora houvessem fêmeas ovadas nas observações anteriores.

Embora expostos por 24 horas ao ABATE® 1G, os copépodos apresentaram um crescimento populacional, que seguiu a mesma tendência do crescimento que ocorreu nas bacias usadas como testemunha. Copepoditos puderam ser observados pela primeira vez nestas réplicas, após 10 dias do início do experimento, atingindo um pico de crescimento no 54º dia com uma média de 140,5 indivíduos adultos/bacia (DP=1,5). A partir daí, houve um declínio gradual da população e no 78º dia estas réplicas apresentaram a menor densidade populacional de todo o experimento com uma média de 30 indivíduos/bacia (DP=4). A retomada do crescimento foi detectada na observação seguinte, com um número médio de 42,5 indivíduos/bacia (DP=9,5).

O declínio populacional de indivíduos de *M. longisetus* nestas bacias deve ter sido em razão de mortalidade natural, uma vez que a longevidade para esta espécie é de aproximadamente 62 dias ($\pm$ 42 dias), considerando-se as condições de temperatura do laboratório onde foi realizado o experimento, que foi em média de 27°C (máx.29 e mín.22) (Rietzler, 1995).

Nestas bacias onde os indivíduos de *M. longisetus* ficaram expostos aos inseticidas apenas por 24 horas, no 74º dia de experimento observou-se poucos indivíduos da classe Ostracoda (aproximadamente n=20) que foram retirados.

Nas bacias testemunha, o crescimento populacional começou após o décimo dia de experimento, quando copepoditos foram observados pela primeira vez.

No 30º dia a população de *M. longisetus* destas bacias apresentou uma pequena queda, recuperando seu crescimento no 38º dia, quando atingiu seu pico

populacional deste experimento com uma média de 222,5 adultos/bacia (DP=12,5). Após esta observação a população começou a cair gradativamente, finalizando o experimento com uma média de 6,5 indivíduos/ bacia (DP=5,5).

A presença de indivíduos da classe Ostracoda nestas bacias testemunha foi detectada no 38º dia, coincidindo com o início da queda na população do copépodo. Situação semelhante foi também observada por nós na fase de implantação das culturas de *M. longisetus* no laboratório e por Marten *et al.*, (1994a), que durante um experimento de campo, constatou que a presença de alta densidade de ostrácodos, coincidiu com o desaparecimento da população de *M. longisetus* introduzida em pneus para o controle de larvas de *Ae. albopictus*.

A hipótese de canibalismo foi descartada, uma vez que em momento algum do presente estudo ele foi observado entre indivíduos adultos ou entre adultos e formas imaturas. Além disso Marten *et al.* (1994a), conseguiu manter uma população média de aproximadamente 350 indivíduos de *M. longisetus* em apenas 2,5 litros de água durante 26 semanas, número de indivíduos 8 vezes maior ao avaliado nestes experimentos.

A contaminação com ovos de ostrácodos nas bacias do experimento deve ter ocorrido através do alimento utilizado neste experimento. Os ostrácodos podem competir com copépodos por alimento, podendo implicar na eliminação dos copépodos em condições de cultura. (Dra. Arnola C. Rietzler/ USP, comunicação pessoal).

Nas bacias que permaneceram em de exposição contínua ao inseticida, após 3 dias não foi mais observado fêmeas ovadas. No 22º dia de exposição uma

das 2 réplicas apresentou 100% de mortalidade, enquanto a outra réplica apresentava neste mesmo período apenas 8 indivíduos sobreviventes (80% de mortalidade). No 34° dia o número de sobreviventes caiu para 4, sendo um deles uma fêmea ovada com 1 saco de ovos. Na contagem seguinte (38° dia) a fêmea não possuía mais o ovisaco.

No 70° dia, foi observado pela última vez fêmeas ovadas (n=2). A água foi examinada sob lupa estereoscópica e nenhuma forma imatura (náuplio e copepodito) foi encontrada. No 78° dia nesta última réplica registrou-se 100% de mortalidade.

Um cálculo de Tempo Letal Mediano (TL₅₀) foi realizado para os indivíduos de *M. longisetus* expostos continuamente ao ABATE® 1G, resultando em 4,7 dias (IC=2,8 - 8,0). A Tabela 2 apresenta os valores em dias e as porcentagens de mortalidade corrigidas para os copépodos, utilizadas para o cálculo do TL₅₀. A figura 3 apresenta a reta de regressão linear entre o log (tempo) e o próbite (% de mortalidade).

Tabela 2 - Porcentagem de mortalidade corrigida para diferentes tempos de exposição de adultos de *M. longisetus* à concentração de 1 ppm de i.a. do ABATE® 1G.

Tempo	% de Mortalidade
1 dia	6,5
3 dias	55,0
9 dias	58,3
27 dias	93,7

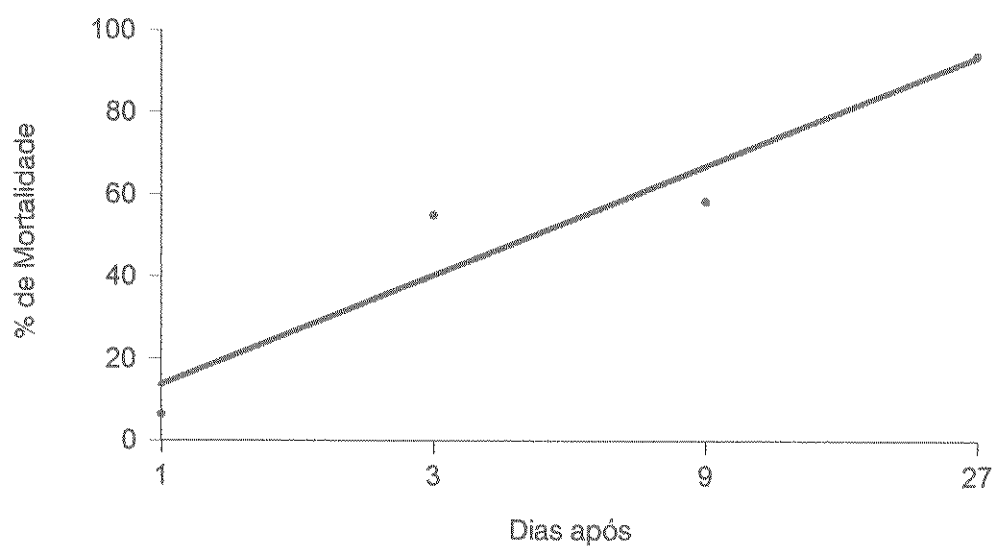


Fig.3 - Reta da regressão linear entre o log do tempo e o probit da porcentagem de mortalidade para adultos de *M. longisetus* tratados com 1 ppm de temephos.

As larvas de *Ae. albopictus* colocadas como indicadores da efetividade do inseticida apresentaram até o 62º dia de experimento, 100% de mortalidade 24 horas após a exposição. A partir do 66º dia as larvas não apresentaram mais 100% de mortalidade mesmo considerando-se um tempo adicional de exposição de 3 dias.

A variação no efeito residual entre os experimentos pode ser explicada pela quantidade de luz que as bacias tratamento receberam, uma vez que o teor de matéria orgânica da água foi o mesmo em ambos os experimentos: 10% do volume (representado pelo alimento dos copépodos).

As bacias tratamento ficaram, em ambas as avaliações, próximas a uma janela. A primeira avaliação foi realizada no inverno, com uma média de 11,2 horas/dia, e a segunda avaliação foi realizada no verão, com uma média 13,4 horas/dia de luz (Centro de Ensino e Pesquisa em Agricultura

CEPAGRI/UNICAMP). Isto significa 2,3 horas/dia a mais de luz, fazendo com que o inseticida apresentasse um efeito residual menor quando comparado com a primeira avaliação: 2 meses, residual normalmente encontrado no campo.

Estes resultados de avaliação de susceptibilidade mostram que a presença do inseticida a base de temephos não é compatível com o crescimento do copépodo *M. longisetus* nas condições de experimento estabelecidas. Porém, os adultos dessa espécie mostraram-se mais tolerantes a este ingrediente ativo que indivíduos de outras espécies avaliadas por outros pesquisadores, onde 95% da população de *M. albidus* morreu após 24 horas de exposição a 0,02 ppm de temephos (Marten *et al.*, 1993).

Náuplios e copepoditos nas condições avaliadas, mostraram-se altamente susceptíveis, pois mesmo sendo observado fêmeas ovadas durante as avaliações, nenhuma forma imatura foi encontrada quando indivíduos de *M. longisetus* foram expostos continuamente ao inseticida.

2) AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE *M. longisetus* AO FENITROTHION (SUMITHION® PM40).

O ensaio da susceptibilidade de *M. longisetus* ao adulticida / larvicida SUMITHION® PM40 foi considerado concluído na 7ª avaliação, 30 dias após o

tratamento, uma vez que nesse momento o inseticida que vinha reduzindo sua ação, perdeu totalmente o efeito.

A Figura 4 mostra a variação no número médio de indivíduos adultos de *M. longisetus* expostos ou não ao SUMITHION® PM40.

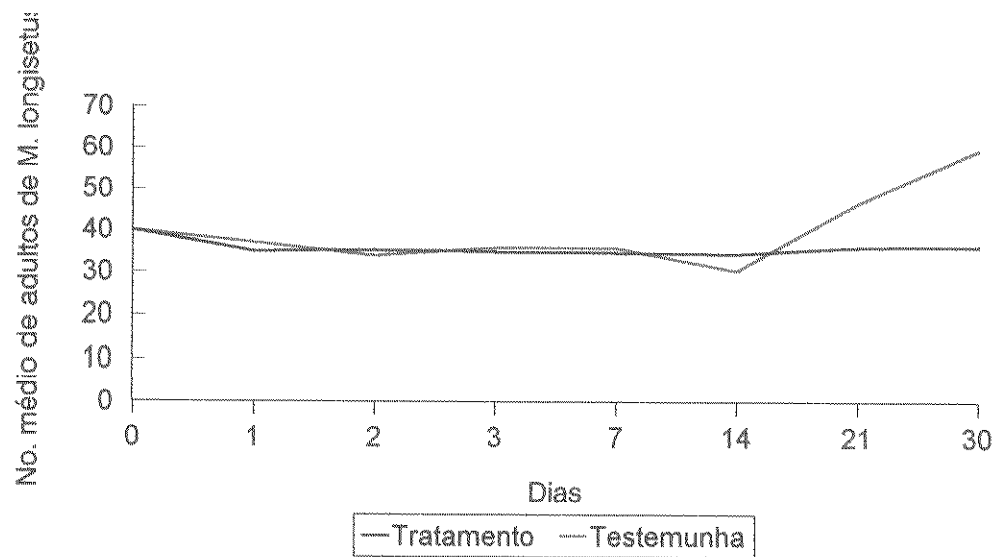


Fig.4 - Valores médios do número de adultos de *M. longisetus* expostos ou não a 8 ppm de fenitrothion, durante 30 dias.

Na primeira avaliação (24 horas após), o número médio de copépodos caiu para 35,5 indivíduos nas bacias tratadas (Desvio Padrão (DP)= 2,8) e 37 indivíduos nas bacias testemunhas (DP=2,8).

Formas imaturas (copepoditos) puderam ser observadas em 4 repetições (nas R3, R4, R5, e R6) após uma semana de experimento, com poucos indivíduos por bacia (X=1,2; DP=0,4). Neste período o inseticida causava 46% de mortalidade nas larvas de pernilongo (Tabela 2).

Até o 3º dia de exposição ao inseticida, em apenas 3 réplicas houve mortalidade de adultos de *M. longisetus* (R3, R4 e R5) que variou de 8% à 13,5%.

No mesmo período (3 dias) as réplicas R1, R2 e R6 apresentaram uma mortalidade menor que a das bacias testemunha, resultando em valores negativos, quando corrigidas pela fórmula de Abbott. A mortalidade nas bacias testemunhas foi de 7,5% e 10%. Esse período do experimento é aqui salientado porque foram nesses 3 primeiros dias que o inseticida esteve plenamente ativo, causando 100% de mortalidade nas larvas de *Ae. albopictus* expostas por 24 horas (Tabela 2).

Após o 14º dia de exposição, quando o inseticida havia perdido praticamente todo seu efeito residual, todas as bacias tratadas apresentaram mortalidade menor de copépodos que as bacias testemunha, tendo sido observado 30 copepoditos nas réplicas 4 e 5, porém apenas a réplica 4 manteve o crescimento até o final do experimento.

O inseticida SUMITHION® PM40 parece não ter forte ação sobre indivíduos adultos e formas imaturas do copépodo *M. longisetus*, pois durante o período de maior efeito larvívoro do produto, não houve mortalidade corrigida superior a 13,5% destes microcrustáceos e, durante todo o experimento, a mortalidade máxima corrigida de *M. longisetus* para uma única réplica foi de 55%. Com exceção da réplica R4 alguma mortalidade começou a ocorrer quando o produto havia perdido seu poder larvívoro, isto é, no 21º dia quando apenas 7,5% das larvas de *Ae. albopictus* morriam pelo efeito do inseticida (Tabela 3). Tal fato pode estar mais associado à mortalidade natural dos copépodos, do que a um

efeito tardio do inseticida. De qualquer forma, o crescimento populacional próximo a 50% que ocorreu na réplica 4, elevou o número médio de indivíduos das bacias tratadas.

Após 3 semanas, com exceção da R6, todas as outras réplicas apresentaram em média 9,2 copepoditos (DP=1,6).

O experimento finalizou com um número médio de 36,5 indivíduos adultos de *M. longisetus*/bacia (DP= 13,2), o que não difere significamente ($p=0,01$), daquele que ocorreu nas bacias testemunhas com média de 42 indivíduos adultos/bacia (DP= 18).

A mortalidade dos copépodos nas bacias testemunhas começou 1 dia após o início do experimento, alcançando uma mortalidade máxima de 24% no 14º dia, porém um crescimento populacional de 50% em uma destas bacias foi registrado no final do experimento, elevando o número médio de indivíduos.

Uma semana após ter sido aplicado no meio, o inseticida químico já apresentava pouca efetividade causando 46% de mortalidade das larvas de *Ae. albopictus* 24 horas após o contato. Em função desta baixa eficiência foram colocadas 50 larvas de 3º estágio de *Ae. albopictus* em cada uma das bacias tratamento, com o objetivo de se confirmar essa pouca efetividade do inseticida. A observação 24 horas após o contato das larvas com o inseticida, mostrou uma mortalidade média de 7,5% (DP= 4,1), confirmando a perda de ação do inseticida em todas as bacias tratadas.

A Tabela 3 mostra o efeito larvícida do SUMITHION® PM40 ao longo do experimento, pela susceptibilidade das larvas de *Ae. albopictus* expostas a ele.

Tabela 3 - Porcentagem de mortalidade de larvas de 3° estágio de *Ae. albopictus* expostas à 8 ppm de fenitrothion ao longo do tempo. O registro de mortalidade foi feito 24 horas após o contato das larvas com o inseticida.
*Porcentagem média de mortalidade para todas as bacias tratadas.

Tempo de exposição	% Mortalidade
1 ao 3° dia	100
7 dias	46
8 dias	7,5*
14 dias	8
21 dias	7,5
31 dias	0

Até o 3° dia o inseticida causou 100% de mortalidade nas larvas de *Ae. albopictus* com 24 horas de exposição o que confirma a susceptibilidade do mosquito ao ingrediente ativo fenitrothion, porém o produto SUMITHION® PM40 mostrou um baixo efeito residual como larvicida, quando aplicado diretamente na água. O catálogo do produto salienta que como adulticida o efeito residual é de 3 meses, porém como larvicida, o residual do SUMITHION® PM40 não é mencionado. Este produto é usado pela SUCEN no tratamento perifocal, visando o controle da forma adulta do pernilongo, sendo aplicado nas superfícies internas e externas de recipientes secos que eventualmente acumulam água e nos locais próximos. Onde ocorre o acúmulo de água, o produto passa a atuar como larvicida, porém nos recipientes secos, não se pode prever quanto tempo o produto ficará exposto ao ambiente antes de entrar em contato com água. Além disso, a qualidade da água nos recipientes, a quantidade de matéria orgânica nos recipientes pode variar, acarretando diferentes tempos de residuais na ação

larvicida do SUMITHION® PM40. Nas condições de experimento estabelecidas, os copépodos ficaram expostos ao fenitrothion por 1 mês, sendo que neste período apresentaram-se pouco susceptíveis. O efeito subletal deste produto deve ainda ser avaliado.

Os presentes resultados indicam que uma área com pneus-armadilha e *M. longisetus* para controle biológico poderia receber se inevitável, eventuais aplicações desse inseticida, sem que isso impedisse o crescimento populacional do agente biológico.

A criação geral da linhagem ML-01 de *M. longisetus* era composta de 6 bacias com aproximadamente 300 indivíduos / bacia, mantidas no Laboratório de Biologia e Manejo de Insetos Pragas do Depto. de Zoologia. No mesmo laboratório são mantidas ainda por outros pesquisadores, criações da traça da farinha *Anagasta kuehniella*, do hemíptero entomófago *Zelus longipes*, da mosca *Drosophila melanogaster* e da lagarta da soja *Anticarsia gemmatilis*, além de 40 mudas da Malvacea *Sida rhombifolia* K. Shum, objeto de estudo de uma tese de doutorado. Estas plantas foram infestadas por cochonilhas e houve uma aplicação de inseticida para o controle desses insetos. Como as bacias de criação de *M. longisetus* ficavam próximas às mudas de *S. rhombifolia* e estas não foram retiradas do laboratório para a aplicação do inseticida, as bacias com os copépodos receberam acidentalmente uma concentração do produto, que resultou na quase eliminação da criação da linhagem ML-01.

O inseticida utilizado foi o organofosforado de nome comercial Pikthion® 50 CE a base de malathion. A aplicação foi feita na concentração de 5 g. de i.a., diluídos em 500 ml de água. A aspersão foi realizada com pulverizador manual com jato em leque e cada muda da planta recebeu em média 12 espirros da calda, correspondendo a 12 ml. Baseando-se na posição das bacias de criação de *M. longisetus*, o técnico que fez a aplicação estima que 4 delas devem ter recebido, pela deriva da aplicação sobre as plantas no máximo, (e aproximadamente) 2 ml da calda (1g. de i.a.). Segundo o técnico ainda, as outras 2 bacias poderiam ter recebido aproximadamente 1 ml da calda (0,5 g. i.a.). Nas 4 bacias mais próximas das plantas, que receberam a maior concentração do inseticida, não houve nenhum indivíduo sobrevivente de *M. longisetus*, nas outras 2 bacias apenas 12 indivíduos sobreviveram. Nenhuma forma imatura foi encontrada em qualquer das 6 bacias de criação quando toda a água foi examinada sob microscópio estereoscópico.

A mortalidade foi percebida 11 dias após a aplicação do inseticida. Neste período, o experimento da susceptibilidade de *M. longisetus* ao inseticida químico SUMITHION® PM40 estava sendo realizado no Laboratório de Patologia de Insetos. Como a linhagem ML-01 de *M. longisetus* mostrou-se compatível com este inseticida, uma vez que a população exposta a ele apresentou crescimento populacional, a linhagem ML-01 de *M. longisetus* pôde ser mantida.

O malathion possui ação por contato, inalação ou ingestão e foi amplamente usado na área de Saúde Pública como aduicida até o ano de 1991.

Depois deste ano, o malathion foi substituído pelos piretróides, principalmente pela deltametrina.

Atualmente as diretrizes da SUCEN no que se refere ao controle químico retoma o uso dos organofosforados pensando-se em retardar o surgimento de resistência dos vetores aos piretróides, trazendo de volta produtos a base de malathion.

Com essa aplicação acidental de malathion na criação de *M. longisetus* pôde-se ter uma idéia de que essa espécie é altamente susceptível a este ingrediente ativo, uma vez que as bacias de criação desse copépodo apresentaram 100% de mortalidade, quando receberam a concentração de no máximo 5 ppm i.a. desse composto.

A discussão acima, advinda de um evento infortúnio, nos leva a intencionar uma futura avaliação formal da susceptibilidade de *M. longisetus* (ML-01) ao organofosforado malathion, já que este composto volta a fazer parte da lista de produtos químicos usados no controle dos vetores da dengue.

CONCLUSÕES

O objetivo de se integrar *M. longisetus* aos inseticidas químicos foi embasado na hipótese de que uma vez compatíveis, quando o inseticida fosse totalmente degradado, a população de copépodos presente no meio passaria a controlar as novas larvas de mosquitos que colonizassem o criadouro tratado. Tal integração promoveria um controle mais prolongado e aliviaria a pressão de seleção de resistência do pernilongo aos inseticidas químicos.

Nas situações experimentais estabelecidas, os presentes resultados mostraram que adultos de *M. longisetus* não toleram 1 ppm i.a. de temephos, morrendo em aproximadamente 3 meses. Assim, se um criadouro tratado com *M. longisetus* receber a aplicação de ABATE® 1G a partir de 1 ppm, a população seria lenta e gradualmente reduzida e não conseguiria estabelecer colônias nesse criadouro, uma vez que as formas imaturas mostraram-se mais susceptíveis a este composto.

Quanto ao SUMITHION® PM40, adultos de *M. longisetus* mostraram-se pouco susceptíveis, talvez em função do baixo efeito residual desse produto como larvicida quando ele é aplicado diretamente na água. Este baixo efeito residual permitiu um crescimento populacional dessa espécie de copépodo, indicando que criadouros tratados com *M. longisetus*, poderiam receber eventuais aplicações desse organofosforado sem que isso causasse mortalidade total na população do predador.

CONCLUSÕES FINAIS

Em avaliações de campo, *M. longisetus* (ML-01) promoveu um excelente controle das larvas de *Ae. albopictus* que naturalmente colonizaram os pneus-armadilha, confirmando seu alto potencial predador sobre essas larvas. Com a sobrevivência e a reprodução apresentadas não houve necessidade da reintrodução do predador nos pneus durante os 42 dias de avaliação.

No levantamento das espécies de copépodos em Campinas,SP, confirmou-se que estes microcrustáceos são amplamente distribuídos em diferentes corpos d'água. Em 11 amostras coletadas, puderam ser encontradas 8 espécies, sendo que a amostra onde se coletou apenas *M. longisetus*, foi a que apresentou o maior percentual de predação, quando avaliada sobre larvas de *Ae. albopictus*.

Quanto a possibilidade de integração desse predador com os produtos químicos usados em saúde pública para o controle dos vetores da dengue, *M. longisetus* mostrou-se compatível apenas com o produto a base de fenitrothion, sendo incompatível com o larvicida químico a base de temephos.

RESUMO

Até o momento a dengue é a mais importante arbovirose no Brasil. Casos da doença aumentaram muito nos últimos 25 anos, principalmente na região dos trópicos, sendo que a ineficácia no controle dos vetores destaca-se como fator que contribuiu para esse aumento no número de casos. As 2 espécies de mosquito: *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* são respectivamente os principais vetores da dengue nas Américas e Ásia. Devido as características ecológicas desses mosquitos, a educação e a participação da comunidade são apontadas como trabalho de base fundamental no controle desses vetores. No Brasil essas espécies são controladas por ações da administração pública que envolve o uso quase exclusivo de inseticidas químicos. Porém, a preocupação com o ambiente e a possibilidade do desenvolvimento de resistência dessas espécies aos químicos, estimulam avaliações sob métodos alternativos de controle. O controle biológico que faz uso de inimigos naturais como os predadores, tem mostrado excelentes resultados no combate aos vetores da dengue em alguns países como Estados Unidos e Austrália. Os copépodos ciclopoídeos, são microcrustáceos de água doce que predam as larvas recém eclodidas dos mosquitos e têm sido avaliados e usados em campanhas anti-dengue. No presente trabalho foi estudado o copépodo *Mesocyclops longisetus* var. *longisetus*, linhagem ML-01, sendo realizado em 3 abordagens: 1) avaliação do potencial predador, sobrevivência e reprodução em pneus-armadilhas; 2) avaliação da susceptibilidade aos organofosforados usados rotineiramente no controle dos vetores da dengue: um larvicida a base de temephos (ABATE® 1G) e um larvicida/ adulticida a base de

fenitrothion (SUMITHION® PM40); 3) levantamento de espécies de copépodos na cidade de Campinas/ SP e avaliação do potencial predador das espécies encontradas sobre larvas de *Ae. albopictus*, comparado com a linhagem ML-01. Para os testes de campo, 10 pares de pneus-armadilha, com ou sem copépodos foram avaliados por 42 dias no campus da UNICAMP. *M. longisetus* (ML-01) controlou em média 97,3% das larvas de mosquitos que naturalmente colonizaram as armadilhas. Sobreviveu em 80% dos pneus e apresentou aumento numérico em 88% deles. Quando essa espécie de copépodo foi exposta ao temephos, os adultos mostraram-se pouco susceptíveis, quando comparados com as formas imaturas (náuplios e copepoditos), que mostraram-se altamente susceptíveis. Quanto ao fenitrothion, adultos e formas imaturas mostraram-se pouco susceptíveis. No levantamento das espécies de copépodos em 11 corpos d'água da cidade de Campinas, puderam ser encontradas as seguintes espécies: *Eucyclops* sp, *Eucyclops ensifer*, *Eucyclops serrulatus*, *Eucyclops solitarius*, *Tropocyclopos prasinus*, *Metacyclops mendocinus*, *Macrocyclops albidus* var. *albidus* e *Mesocyclops longisetus* var. *longisetus*. O potencial predador destes copépodos quando avaliados variou de nulo à 97,3% sendo este último percentual da amostra de campo com apenas *M. longisetus*.

SUMMARY

At the present dengue represents the most important arboviroses in Brazil. In the last 25 years the raise in cases, mainly in the tropical region, has been associated to the uneffective control of the vectors. The two species of mosquitoes *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*, are respectively the main dengue vectors in the Americas and Asia. Due to ecological features of the vectors, control approaches related to education and community participation are pointed as a fundamental ground work. In Brazil, such species are controlled almost by public administration actions involving almost exclusively chemical insecticides. Nevertheless the concern with the environment and development of resistance of such species to the chemical stimulate evaluations upon alternative control methods. Biological control, based on the use of natural enemies as predator, has showed excellent results controlling dengue vectors in some countries such as USA and Australia. In the cyclopoids copepods are freshwater microcrustaceans that prey upon newly hatched mosquitoes larvae. So, copepods have been evaluated and used in anti-dengue campaigns. In the present work it was studied the copepod *Mesocyclops longisetus* var. *longisetus* strain ML-01 carried out in 3 approaches: 1) evaluation of its predation potential, survival and reproduction in trap tires; 2) evaluation of its susceptibility to the organophosphates currently used in dengue vectors control: the larvicide temephos (ABATE® 1G) and the larvicide/ adulticide fenitrothion (SUMITHION® PM40) and, 3) survey of copepod species in Campinas, State of São Paulo, and evaluation of the predation potential upon *Ae. albopictus* larvae for the species found

comparatively with that potential of the strain ML-01. For the field trials, 10 couples of trap tires, with or without copepods, were evaluated during 42 days in the UNICAMP campus. *M. longisetus* showed a mean control efficiency of 97.3% preying mosquito cohorts that naturally colonized the trap-tires. The copepods survived in the 80% of tires, and numerically increased in 88% of them. When such copepod species was assayed to temephos, it was found a low susceptibility related to adults when compared with immature forms (naupliis and copepodids) which showed themselves highly susceptible. When assayed to fenitrothion, both adults and immature forms showed low susceptibility. In the survey for cyclopoid species in 11 water bodies in Campinas, SP, Brazil, the following species were found: *Metacyclops mendocinus*, *Tropocyclops prasinus*, *Eucyclops* sp, *Eucyclops serrulatus*, *Eucyclops solitarius*, *Eucyclops ensifer*, *Macrocyclus albidus* var. *albidus* and *Mesocyclops longisetus* var. *longisetus*. Predatory potential of these copepods when screened in the laboratory against first instar *Ae. albopictus* larvae, ranged from null to 97.3% being this late figure represented by sample with only *M. longisetus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticides. **J. Econ. Entomol.** **18**: 265-267.
- Andrade, C.F.S. 1989. Ecologia de supressão de populações de culicídeos e simuliídeos. Tese de Doutorado (Instituto de Biologia da UNICAMP) 252 pp.
- Andrade, C.F.S. 1994. Possíveis agentes e programas para o controle biológico de borrachudos e pernilongos. 4o. SINCOBIOL - Simpósio de Controle Biológico, Gramado, Maio/1994. Mimiografado, 22 pp.
- Andrade, C.F.S. & Modolo, M. 1991. Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to temephos and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in integrated control. **Rev. Saúde públ., S. Paulo**, **25** (3): 184-187.
- Andrade, C.F.S., Souza, C.E.P. & Santos, L.U. 1995. Dengue: Avaliação do conhecimento e da voluntariedade popular em uma campanha no Distrito de Barão Geraldo, Campinas, S.P. **Revista UNICAMP**, **2**: 20-22.
- Andreadis, T.G. & Gere, M.A. 1992. Laboratory evaluation of *Aconthocyclops vernalis* and *Diacyclops bicuspidatus thomasi* (Copepoda : Cyclopidae) as predator of *Aedes canadensis* and *Ae. stimulans* (Diptera : Culicidae). **J. Med. Entomol.** **29**: 974-979.
- Brown, A.W. A. 1986. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** **21**: 123-140.
- Brown, M.D.; Kay, H.B. & Hendrikz, K.J. 1991. Evaluation of Australian *Mesocyclops* (Cyclopoida: Cyclopidae) for mosquito control. **J. Med. Entomol.** **28** (5): 618-623.

- Brown, M.D.; Walker, D.O.; Hendrikz, J.K.; Cabral, C.P.; Araújo, D.B.; Ribeiro, Z.M. & Kay, B.H. 1994. Chlorine tolerance of *Mesocyclops* (Cyclopoida : Cyclopidae) copepods and three container-breeding species of mosquitoes. **Environ. Entomol.** **23** (5): 1245-1249.
- Clark, G.G. 1995. Situación epidemiológica del dengue en América. Desafíos para su vigilancia y control. **Rev. Salud Pública de México** **37**: 5-11.
- Chellapah, W.T. & Chellapah, Jr. G.R. 1968. Susceptibility of four commum Singapore mosquitoes to *Dirofilaria immitis* Leidy. **J. Med. Entomol.** **5**: 358-361*.
- Couch, J.N. & Bland, C.E. 1985. "The genus *Coelomomyces*". Academic Press, Inc. Orlando, Flórida, 391 pp.
- Dinardo-Miranda, L.L. 1994. Variabilidade protéica em populações naturais de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera : Culicidae). Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo (Campus de Ribeirão Preto), 122 pp.
- Dixon, K.E.; Roberts, D.R. & Llewellyn, C.H. 1979. Contribuição ao estudo epidemiológico da malária em trecho da rodovia Transamazônica. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, **21** (6): 287-292.
- Eiras, A.E. 1991. The role of human odours in host location behaviour of female *Aedes aegypti* (Dipetra : Culicidae). Tese de Doutorado, University of Southampton, Faculty of Science, (England) 122 pp.
- Ferreira, L.F.H. & Sampaio, S.M. 1996. Proposta de territorialização das ações municipais de controle dos vetores da dengue e febre amarela no município de Dracena. Relato de experiência. XI Jornada Paulista de Parasitologia. Faculdade de Saúde Pública/ U.S.P., 25 e 26 de Outubro, resumo pág. 2.

- Forattini, O. P. 1986. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) identification in Brazil. **Rev. Saúde públ.**, São Paulo, **20**: 244-245.
- Gomes, A.C.; Forattini, O.P.; Kakitani, I.; Marques, G.R.A.M.; Marques, C.C.A.; Arucci, D. & Brito, M. 1992 Microhabitats de *Aedes albopictus* (Skuse) na região do Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde públ.**, São Paulo, **26** (2): 108-18.
- Gomes, A.C. 1996. Comportamento de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em estudos conduzidos no Estado de São Paulo. Comunicação oral na XI Jornada Paulista de Parasitologia, Faculdade de Saúde Pública/ U.S.P., 25 e 26 de Outubro.
- Gonzales-Rodriguez, B.; Badii, M.H.; Quiróz-Martínez, H. & Rodríguez-Almaraz, G.A. 1993. Life tables of *Mesocyclops longisetus* (Copepoda:Cyclopidae) in the laboratory. Mosquito vector Control and Biology in Latin America - A Third Symposium. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** **9** (4): 451.
- Gubler, D.J. 1985. *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti* - borne disease control in 1990s: top down or bottom up. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** **40**: 571-578.
- Gubler, D.J. 1988. Dengue: the disease in the Américas. *In* part II: Entomology and epidemiology - Dengue control: the challenge to the social sciences, workshop report, Johns Hopkins University Baltimore, Maryland, U.S.A., 61 pp.
- Gubler, D.J. & Clark, G.G. 1996. Community involvement in the control of *Aedes aegypti* **Acta Tropica** **61**: 169-179.
- Habib, M.E.M. & Andrade, C.F.S. 1986. Bactérias Entomopatogênicas. *In*: Alves, S.B., coord. "Controle Microbiano de Insetos". São Paulo, Ed. Monole, pp 127-170.

- Harinasuta, C.; Sucharit, S.; Deesin, T.; Surathin, K. & Vutikes, S. 1970. Bancroftian filariasis in Thailand, a new endemic area. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health** 1: 233-245*.
- Hawley, W.A., 1988. The biology of *Aedes albopictus*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 4: 2-39.
- Jan, C.; Puertas, Y.R. & Seawright, J.A. 1993. A new cytotype of *Anopheles nuneztovari* from western Venezuela and Colombia. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 9 (3): 294-301.
- Kay, B.H.; Cabral, C.P.; Sleight, A.C.; Brown, M.D.; Ribeiro, Z.M. & Vasconcelos, W.A. 1992. Laboratory evaluation of brazilian *Mesocyclops* (Copepoda, Cyclopidae) for mosquito control. **J. Med. Entomol.** 29 (4): 599-602.
- Kenny, E.A. & Ruber, E. 1993. Effects of Arosurf MSF on microcrustacea associated with the cattail mosquito, *Coquillettidia perturbans*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 9 (3): 361-363.
- Lardeux, F.; Rivière, F.; Séchan, Y. & Kay, B.H. 1992. Release of *Mesocyclops aspericornis* (Copepoda) for control of larval *Aedes polynesiensis* (Diptera: Culicidae) in land crab burrows on an Atoll of French Polynesia. **J. Med. Entomol.** 29 (4): 571-576.
- Legner, E.F. 1995. Biological control of diptera of medical and veterinary importance. **J. Vec. Ecology** 20 (1): 59-120.
- Manderson, L. 1988. Barriers to community participation in Austrália and South - East Asia. Em "Part III: Dengue control programs - Dengue control": The challenge to the social sciense. Workshoop Report. Johns Hopkins University Baltimore Maryland, U.S.A., 61 pp.

- Marten, G.G. 1984. Impact of the copepod *Mesocyclops leuckarti pilosa* and the green alga *Kirchneriella irregularis* upon larval *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae). **Bull. Soc. Vector Ecol.** 9 (1): 1-5.
- Marten, G.G. 1989. Issues in the development of cyclops for mosquito control. **Arbovirus Res. Australia**, 5: 159-164.
- Marten, G.G. 1990a. Evaluation cyclopoid copepods for *Aedes albopictus* control in tires. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 6 (4): 681-688.
- Marten, G.G. 1990b. Elimination of *Aedes albopictus* from tires piles by introducing *Macrocyclus albidus* (Copepoda : Cyclopidae). **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 6 (4): 689-693.
- Marten, G.G.; Astaiza, R.; Suárez, M.F.; Monje, C. & Reid, J.W. 1989. Natural control of larval *Anopheles albimanus* (Diptera : Culicidae) by predator *Mesocyclops* (Copepoda : Cyclopidae). **J. Med. Entomol.** 26 (6): 624-627.
- Marten, G.G.; Wenyan, C. & Bordes, E.S. 1993. Compatibility of cyclopoid copepods with mosquito insecticides. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 9 (2): 150-154.
- Marten, G.G. & Bordes, E.S. 1993. "Biological Control of mosquitos". In: Commercial Pesticide Applicator. Mosquito control Training manual. 3 ed. chapter 10, 57-61. Graphic Services Louisiana State University, New Orleans, LA. USA.
- Marten, G.G.; Borjas, G.; Cush, M.; Fernandez, E. & Reid, J.W. 1994a. Control of larval *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) by cyclopoid copepods in peridomestic breeding containers. **J. Med. Entomol.** 31 (1): 36-44.
- Marten, G.G.; Bordes, E. S. & Nguyen, M. 1994b. Use of cyclopoid copepods for mosquito control. **Hidrobiology** 292-293 (0): 491-496.

- Marzochi, K. B. F. 1994. Dengue in Brazil - Situation, Transmission and Control - Aproposal for ecological control. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** **89** (2):235-245.
- Melo, A.S.; Macedo, A.C.C. & Andrade, C.F.S. 1996. Eficiência de *Dugesia tigrina* (Girardia) (Turbellaria:Tricladida) como agente controlador de imaturos do mosquito *Aedes albopictus* (Skuse) em pneus-armadilha. **Anais da Soc. Entomol. Brasil.** **25** (2): 321-327.
- Mijares, A.S. & Broche, R.G. 1987. Efecto de distintos fotoperiodos en la infestacion de *Romanomermis culicivorax* Ross y Smith, 1976 (Rhabditida:Mermithidae) en larvas de mosquito de la especie *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 en condiciones de laboratorio. **Rev. Cubana Med. Trop.** **39** (1): 63-66.
- Miller, B.R. & Ballinger, M.E. 1988. *Aedes albopictus* mosquitoes introduced into Brazil: vector - competence for yellow fever and dengue viruses. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** **82** :475-476.
- Mitchel, C.J. 1991. Vector competence of North and South American satrins of *Aedes albopictus* for cetain arboviroses: a review. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** **7** (3): 446-451.
- Mitchel, C.J. & Miller, B.R. 1990. Vertical transmission of dengue viruses by strain of *Aedes albopictus* recently introduced into Brazil. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** **6**: 251-253.
- Muller, R. 1992. Guinea worn eradication: four more years to go. **Parasitology Today** **8**: 387-390.
- Nasci, R.S.; Hare, S.G.F. & Vecchione, M. 1987. Habitat associations of mosquito and copepod species. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** **3** (4): 593-600.

- Nobre, A.; Antezana, D. & Tauil, P.L. 1994. Febre amarela e dengue no Brasil: Epidemiologia e controle. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 27 (supl.III): 69-66.
- Organização Mundial da Saúde, 1980. Data sheet on the biological control agent - Division of vector biology and control, 13 pp.
- Organização Mundial da Saúde, 1985. Informal consultation on the development of *Bacillus sphaericus* as microbial latvicede, 24 pp.
- Osanai, C. H, Rosa, A.P.A.T.; Tang, A.T.; Amaral, R.E.; Passos, A.D.C. & Tauil, P.L. 1983. Surto de dengue em Boa Vista, Roraima. (Nota prévia) **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo** 25 (1): 53-54.
- Pérez-Serna, S.M.; Ornelas-Nava, N.; Quiróz-Martínez, H.; Badii, M.B. & Vásquez-Carrón, V. 1993. Laboratory trials of prey selectivity of *Macrocylops albidus* and *Mesocyclops longisetus* (Copepoda:Cyclopidae). Mosquito vector Control and Biology in Latin America - A Third Symposium. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 9 (4) 450.
- Pontes, R.J.S. & Ruffino-Netto, A. 1994. Dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. **Rev Saúde públ.**, São Paulo, 28 (3): 218-27.
- Quiróz-Martínez, H.; Solis-Rojas, C. & Rodríguez-Tovar, M.L. 1993. Field releases of *Mesocyclops longisetus* (Copepoda : Cyclopidae) for control of *Aedes aegypti* larvae in 55-gallon metal drums in Monterrey, México. Mosquito Vector Control and Biology in Latin America - A third Symposium, **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 9 (4) 452.
- Rai, K.S. 1991. *Aedes albopictus* in the Americas. **Annu. Rev. Entomol.** 36: 459-484.

- Reid, J.W. 1985. Chave de identificação e lista de referências bibliográficas para espécies continentais sulamericanas de vida livre da ordem Cyclopoida **Bol. Zoo.**, Univ. S. Paulo **9**: 17-143.
- Rettich, F. 1979. Laboratory and field investigations in czechoslovakia with fenitrothion, pirimiphos-methyl, temephos and other organophosphorous larvicides applied as sprays for control of *Culex pipiens molestus* Forskal and *Aedes cantans* Meigen. **Mosquito News** **39** (2): 320-328.
- Rietzler, A.C. 1995. "Alimentação, ciclo de vida e análise de co-existência de espécies de Cyclopoida na Represa de Barra Bonita", São Carlos. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo (Campus de São Carlos), 385 pp.
- Riviere, F. & Thirel, R. 1981. La Prédation du copépode *Mesocyclops leuckart pilosa* (Crustacea) sur les larves de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* et de *Ae. (St.) polynesiensis* (Dip.: Culicidae) essais préliminaires d'utilisation comme agent de lutte biologique. **Entomophaga** **26** (4): 427-439.
- Riviere, F.; Kay, B.H.; Klein, J.M. & Sechan, Y. 1987. *Mesocyclops aspericornis* (Copepoda) and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for the biological control of *Aedes* and *Culex* vectors (Diptera: Culicidae) breeding in crab holes, tree holes, and artificial containers. **J. Med. Entomol.** **24**: 425-430.
- Roberts, D.R.; Hoch, A.L.; Peterson, N.E. & Pinheiro, F.P. 1981. Programa multidisciplinario de vigilancia de las enfermedades infecciosas en zonas colindantes con la carretera Transamazônica en Brasil. IV Estudio entomologico. **Bol. Of. Sanit. Panam** **91** (5): 379-398.

- Ruas Neto, A.L.; Caldas, E.P. & Souza, M.A.T. 1984. Projeto de controle de simuliídeos: plano de pesquisa e dados coligidos. **B. Saúde**, Porto Alegre, **11** (2): 17-20.
- Russel, B.M.; Kuir, L.E.; Weinstein, p. & Kay, B.H. 1996. Surveillance of the mosquito *Aedes aegypti* and its biocontrol with the copepod *mesocyclops aspericornis* in Australian wells and gold mines. **Medical and Veterinary Entomology** **10**: 155-160.
- Santos, L.U.; Souza, A.B.; Andrade, C.F.S. & Pilleggi de Souza, C.E. 1995. Avaliação do emprego de *Bacillus thuringiensis* - H-14 para o controle de mosquitos em um cemitério. **Rev. Pat. Tropical** **23** (2): 151-158.
- Serufo, J.C.; Souza, A.M.; Tavares, V.A.; Jammal, M.C. & Silva, J.G. 1993a. Dengue in the South-eastern region of Brazil: Historical analysis and epidemiology. **Rev. Saúde públ. São Paulo**, **27** (3): 157-167.
- Serufo, J.C.; Oca, H.M.; Tavares, V.A.; Souza, A.M.; Rosa, R.V.; Jamam, M.C.; Lemos, J. R.; Oliveira, M.A.; Nogueira, R.M.R. & Schatzmayr, H.G. 1993b. Isolation of Dengue virus type 1 from larvae of *Aedes albopictus* in Campos Altos city, State of Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** **88** (3): 503-504.
- Service, M.W. 1983. Biological control of mosquitoes - Has it a future? **Mosquito News** **43** (2): 113-120.
- Shidrawi, G.R. 1992. Programa mundial de la O.M.S. para la vigilancia de vectores resistentes alos plaguicidas. **Bol. Of. Sanit. Panam.** **113** (3): 223-232.
- Smith, G.C. & Francy, D.B. 1991. Laboratory studies of a brazilian strain of *Aedes albopictus* as a potential vector of mayaro and oropouche viruses. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** **7**: 89-93.

- Ruas Neto, A.L.; Caldas, E.P. & Souza, M.A.T. 1984. Projeto de controle de simuliídeos: plano de pesquisa e dados coligidos. **B. Saúde**, Porto Alegre, **11** (2): 17-20.
- Russel, B.M.; Kuir, L.E.; Weinstein, p. & Kay, B.H. 1996. Surveillance of the mosquito *Aedes aegypti* and its biocontrol with the copepod *mesocyclops aspericornis* in Australian wells and gold mines. **Medical and Veterinary Entomology** **10**: 155-160.
- Santos, L.U.; Souza, A.B.; Andrade, C.F.S. & Pilleggi de Souza, C.E. 1995. Avaliação do emprego de *Bacillus thuringiensis* - H-14 para o controle de mosquitos em um cemitério. **Rev. Pat. Tropical** **23** (2): 151-158.
- Serufo, J.C.; Souza, A.M.; Tavares, V.A.; Jammal, M.C. & Silva, J.G. 1993a. Dengue in the South-eastern region of Brazil: Historical analysis and epidemiology. **Rev. Saúde públ. São Paulo**, **27** (3): 157-167.
- Serufo, J.C.; Oca, H.M.; Tavares, V.A.; Souza, A.M.; Rosa, R.V.; Jamam, M.C.; Lemos, J. R.; Oliveira, M.A.; Nogueira, R.M.R. & Schatzmayr, H.G. 1993b. Isolation of Dengue virus type 1 from larvae of *Aedes albopictus* in Campos Altos city, State of Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** **88** (3): 503-504.
- Service, M.W. 1983. Biological control of mosquitoes - Has it a future? **Mosquito News** **43** (2): 113-120.
- Shidrawi, G.R. 1992. Programa mundial de la O.M.S. para la vigilancia de vectores resistentes alos plaguicidas. **Bol. Of. Sanit. Panam.** **113** (3): 223-232.
- Smith, G.C. & Francy, D.B. 1991. Laboratory studies of a brazilian strain of *Aedes albopictus* as a potential vector of mayaro and oropouche viruses. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** **7**: 89-93.

Observações e Recomendações

Tendo em vista o planejamento da adoção de modernos procedimentos de manejo integrado, a erradicação do *Aedes aegypti* impõe que se coloque em prática o uso do controle biológico, com base nos seguintes pressupostos:

1 - Fundamentos Técnicos:

1.1 - Verificar a ocorrência ou não de resistência do inseto-alvo a inseticida organofosforado do tipo Temephos. O controle biológico, particularmente o executado com inseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* subspécie *israelensis* -B.t.i., é uma alternativa válida e complementar que permite prolongar a vida útil dos dois tipos de inseticidas, especialmente se for levado em conta a ausência de resistência natural de mosquitos ao B.t.i. após mais de 20 anos de uso (Grantz, 1996).

1.2 - A utilização de B.t.i., ou outro agente de controle biológico, ao contrário do que ocorre com o inseticida químico, não interfere com os inimigos naturais (predadores e parasitas) de modo prejudicial.

1.3 - O controle biológico realizado com inseticidas à base de B.t.i. pode se valer da oferta de produtos emergentes de fabricação nacional.

1.4 - O programa de erradicação como um todo deve oferecer alternativas de fácil assimilação e aceitação por parte da população das áreas envolvidas.

2 - Agentes de Controle de Origem Biológica que Poderão ser Usados e, ou, Detetores de Potencial para Uso.

2.1 - Inseticidas bacterianos à base de B.t.i., são os mais recomendados, pois sua eficácia/eficiência já foi amplamente demonstrada na literatura. Além disso, mostra-se disponível comercialmente no mercado interno, na forma dos produtos Teknar[®] e Vectobac[®], que podem ser empregados em diferentes tipos de criadouros.

2.2 - Não obstante o disposto no sub-item 2.1 -, a pesquisa e desenvolvimento de mais formulações do princípio ativo específico (protoxinas) do B.t.i., devem ser consideradas, principalmente para incrementar a performance dos inseticidas, objetivando o melhor atingimento do alvo, bem como persistência da ação.

2.3 - Outros agentes de controle biológico, que não bactérias larvícidas, podem ser utilizados desde que em programas de manejo integrado. São exemplos o emprego de copépodes, microsporídeos, planárias e larvas predadoras (toxotríquitos). Todavia, a utilização carece de mais investimentos para a ampliação dos estudos.

3 - Factibilidade do Uso do *Bacillus thuringiensis* subspécie *israelensis*.

3.1 - Existem cerca de 20 produtos à base de B.t.i. comercializados no mundo, porém somente 2 estão disponíveis neste momento no Brasil: Vectobac[®] e Teknar[®].

3.2 - No presente, a disponibilidade de inseticida biológico à base de B.t.i., é apresentada na forma de suspensão aquosa. Este tipo de formulação possui limitações, pois sua eficácia no tempo depende do tipo de criadouro (dimensões, profundidade, qualidade da água, finalidade da água, etc). A pesquisa e desenvolvimento de novas formulações das protoxinas de B.t.i. devem ser estimulados, objetivando maior adequação dos produtos aos criadouros típicos de *Ae. aegypti*, para obtenção de maior persistência do controle.

3.3 - A indústria nacional possui tecnologia e capacidade para produzir inseticidas à base de B.t.i., incluindo uma variedade de formulações.

3.4 - Tendo em vista as peculiaridades regionais e locais no que se refere à ocupação do espaço urbano, aspectos socio-econômicos e culturais, notadamente quanto aos hábitos de consumo e uso doméstico de águas, que repercutem sobre os tipos de criadouros do vetor, é recomendável a realização de projetos-piloto, com o objetivo de fornecer subsídios que permitam a adequação da operacionalização em nível de campo, nas diferentes situações.