



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA - UEPB
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA - PRPGP
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E
CONSERVAÇÃO - PPGEC

**EFEITO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO DE INSETOS SOBRE
POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE), PARAÍBA, BRASIL**

CAMPINA GRANDE

MARÇO – 2014

ALLEKSANDRA DIAS DA SILVA HENRIQUES

**EFEITO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO DE INSETOS SOBRE
POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE), PARAÍBA, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para a obtenção do título de mestre em Ecologia.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra – UEPB.

CAMPINA GRANDE

MARÇO - 2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

H519e Henriques, Alleksandra Dias da Silva.

Efeito de reguladores de crescimentos de insetos sobre populações de aedes aegypti (Diptera: Culicidae), Paraíba, Brasil [manuscrito] / Alleksandra Dias da Silva Henriques. - 2014. 56 p. : il.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação, 2014.

"Orientação: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra, Departamento de Biologia".

1. Dengue. 2. Insetos vetores. 3. Inseticidas. I. Título.

21. ed. CDD 616.921

ALLEKSANDRA DIAS DA SILVA HENRIQUES

**EFEITO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO DE INSETOS SOBRE
POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE), PARAÍBA, BRASIL**

Aprovado em 28 de Fevereiro de 2014.

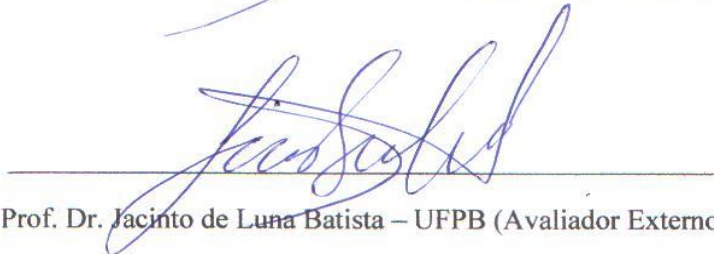
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra – UEPB (Orientador)



Prof.ª Dr.ª Maria Avany Bezerra Gusmão – UEPB (Avaliadora Interna)



Prof. Dr. Jacinto de Luna Batista – UFPB (Avaliador Externo)

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, por tudo que Ele é e que representa em minha vida... e por me abençoar com mais essa vitória.

Aos meus pais, que me deram a vida, me amaram e educaram, além de sempre terem me instruído quanto à importância do estudo para o meu crescimento pessoal e profissional...bem como, a todos meus familiares, que direta ou indiretamente sempre me ajudaram...vocês também fazem parte dessa conquista!

Ao meu esposo, um anjo que Deus enviou para minha vida, que sempre me apoiou, incentivou em todos os momentos e que sempre me ofereceu o suporte necessário para que eu pudesse estudar e alcançar os meus objetivos acadêmicos...muito obrigada meu amor, Te amo!

À minha princesinha, Ana Beatriz, que foi a minha inspiração e motivação para seguir em frente, em todos aqueles momentos em que eu fraquejei... Te amo, minha florzinha!

À minha sogra, que em todos os momentos em que precisei me ausentar em função da pesquisa, sempre cuidou do meu bem mais precioso, a minha filha, com todo amor, carinho e cuidados...sem a sua ajuda eu jamais teria conseguido, muito obrigada!

Ao Professor Dr. Eduardo Barbosa Beserra, que sempre esteve à frente dessa pesquisa com muita competência e por todos os conhecimentos que a mim foram transmitidos durante os anos de orientação, que se estendeu desde a graduação até o mestrado.

Aos professores convidados da banca examinadora pelas observações e importantes contribuições dadas ao trabalho.

À toda equipe do Laboratório de Entomologia do Núcleo de Bioecologia e Sistemática de Insetos (UEPB), os meus amigos e colaboradores, por toda disponibilidade em me ajudar. Vocês foram mais do que apenas colegas de trabalho...pessoas que marcaram a minha vida e que conquistaram cada um com sua individualidade, um lugar cativo no meu coração e também a minha eterna gratidão...sem a ajuda de vocês, definitivamente, eu não teria conseguido!

Por fim, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado e a Universidade Estadual de Paraíba (UEPB), em especial, ao Programa de Mestrado em Ecologia e Conservação, pela oportunidade de vivenciar esse mestrado e por todo o aprendizado obtido durante os dois anos de curso.

A todos, muito obrigada.

RESUMO

O diflubenzuron e novaluron são Reguladores do Crescimento de Insetos de uso recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em água potável e possuem grande potencial de ação sobre populações de *Aedes aegypti*. O estudo teve como objetivos estabelecer o status de suscetibilidade de quatro populações naturais de *A. aegypti* a esses inseticidas, determinar os seus efeitos residuais, bem como, caracterizar a atuação do diflubenzuron sobre a fase larval do inseto e sobre a oviposição e viabilidade dos ovos do vetor. Na avaliação da suscetibilidade e da atividade residual utilizaram-se as doses recomendadas pela OMS para ambos os produtos, 0,25 mg/l do diflubenzuron e 0,02 mg/l do novaluron. O efeito do diflubenzuron sobre o desenvolvimento larval foi avaliado submetendo larvas de primeiro estágio (L₁) de duas populações de *A. aegypti* a cinco concentrações do inseticida, 0,0025, 0,125, 0,025, 0,0375 e 0,05 mg/l. Para testar a ação do produto sobre o comportamento de oviposição, as fêmeas foram submetidas a um teste de múltipla escolha, no qual foram utilizadas as dosagens de 0,025 e 0,25 mg/l do produto e a um controle contendo água destilada. Os ovos provenientes desse experimento foram testados quanto à viabilidade. Todas as populações apresentaram altos níveis de inibição de emergência de adultos (IE) de 98,9 a 100% de IE, quando submetidas ao diflubenzuron e novaluron. O diflubenzuron apresentou uma atividade residual de 12 semanas sobre duas populações de *A. aegypti* e o novaluron promoveu 100% de IE durante 4 semanas consecutivas nas mesmas populações. Com relação ao efeito do diflubenzuron sobre o desenvolvimento larval de *A. aegypti*, o primeiro instar larval do inseto apresentou uma menor duração em relação aos estágios L₂ e L₃, em todos os tratamentos do diflubenzuron e no instar L₂ foram verificadas as maiores médias de mortalidade quando comparado aos outros estágios de desenvolvimento larval. No que se refere a atividade do inseticida sobre a oviposição e viabilidade dos ovos de *A. aegypti*, evidenciou-se a ocorrência de oviposição de *A. aegypti* nas soluções do diflubenzuron, bem como, viabilidade dos ovos tratados com o inseticida.

Palavras-chave: Insetos vetores, dengue, inibição de emergência de adulto, efeito residual de inseticidas, desenvolvimento e mortalidade larval de insetos.

ABSTRACT

The diflubenzuron and novaluron are Insect Growth Regulators recommended by the World Health Organization (WHO) drinking water and have great potential for action on populations of *Aedes aegypti* use. The study aimed to establish the status of susceptibility of four natural populations of *A. aegypti* and determine the residual effects of these insecticides, as well as characterize the performance of diflubenzuron on larval stage of the insect and on the oviposition and egg viability of the vector. In the evaluation of susceptibility and residual activity were used as recommended by WHO for both products, 0.25 mg/l of diflubenzuron and 0.02 mg / l of novaluron doses. The effect of diflubenzuron on larval development was evaluated by subjecting first instar larvae (L1) of two populations of *A. aegypti* to five concentrations of the insecticide, 0.0025, 0.125, 0.025, 0.0375 and 0.05 mg/l for test the action of the product on the oviposition behavior, females were subjected to a multiple choice test, in which the dosages of 0.025 and 0.25 mg/l of the product and the eggs were used in this experiment were tested for viability. All populations showed high levels of inhibition of adult emergence (IE), 98.9 to 100% for IE, when submitted to diflubenzuron and novaluron. The diflubenzuron showed a residual activity of 12 weeks on two populations of *A. aegypti* and novaluron promoted 100 % of IE for 4 consecutive weeks in the same populations. Regarding the effect of diflubenzuron on larval development of *A. aegypti*, the first instar insect showed a shorter duration compared to L₂ and L₃ stages in all treatments of diflubenzuron and L₂ instar were recorded the highest average mortality compared to the other stages of larval development. As regards pesticide activity on oviposition and viability of eggs of *A. aegypti*, showed the occurrence of oviposition of *A. aegypti* in the solutions of diflubenzuron, as well as the viability of the eggs treated with the insecticide.

Keywords: Insect vectors, dengue, inhibition of adult emergence, residual effect of insecticides, development and larval mortality of insects

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Atividade residual do diflubenzuron sobre populações de <i>Aedes aegypti</i>	22
Figura 2. Inibição de emergência de adulto IE (%) em populações de <i>Aedes aegypti</i> submetidas ao diflubenzuron.....	23
Figura 3. Emergência de adultos em populações de <i>Aedes aegypti</i> submetidas a atividade residual do diflubenzuron.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Suscetibilidade larval de populações de <i>Aedes aegypti</i> ao diflubenzuron (0,25 mg/l) e novaluron (0,02 mg/l).....	20
Tabela 2. Atividade residual do novaluron sobre populações de <i>Aedes aegypti</i>	24
Tabela 3. Duração dos estágios larvais de populações de <i>Aedes aegypti</i> , a partir de larvas tratadas com diferentes concentrações do diflubenzuron.....	36
Tabela 4. Mortalidade (%) por estágio larval em amostras de <i>Aedes aegypti</i> , submetidas a diferentes concentrações do diflubenzuron.....	38
Tabela 5. Oviposição e viabilidade dos ovos de populações <i>Aedes aegypti</i> , submetidas a duas concentrações do diflubenzuron.....	39

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	9
OBJETIVOS.....	12
PERGUNTAS E HIPÓTESES.....	13
MANUSCRITO I: Suscetibilidade larval e atividade residual do diflubenzuron e novaluron em populações de <i>Aedes aegypti</i> (L.) (Diptera: Culicidae), Paraíba, Brasil.....	14
Resumo.....	15
Abstract.....	15
Introdução.....	16
Material e métodos.....	17
Coletas de amostras de <i>Aedes aegypti</i> em campo.....	17
Técnica para manutenção de <i>Aedes aegypti</i> em laboratório.....	17
Suscetibilidade das populações de <i>Aedes aegypti</i> ao diflubenzuron e novaluron.....	18
Avaliação do efeito residual do diflubenzuron e novaluron sobre larvas de <i>Aedes aegypti</i>	18
Análise dos dados.....	19
Resultados e Discussão.....	19
Suscetibilidade de populações de <i>Aedes aegypti</i> ao diflubenzuron e novaluron.....	19
Efeito residual do diflubenzuron e novaluron sobre larvas de <i>Aedes aegypti</i>	21
Agradecimentos.....	26
Referências.....	26
MANUSCRITO II. Efeito do diflubenzuron sobre o ciclo de vida de <i>Aedes aegypti</i> (L.) (Diptera: Culicidae), Paraíba, Brasil	29

Resumo.....	30
Abstract.....	30
Introdução.....	31
Material e métodos.....	32
Coleta de amostras de <i>Aedes aegypti</i> em campo.....	32
Técnica para manutenção de <i>Aedes aegypti</i> em laboratório.....	32
Efeito do diflubenzuron sobre a fase larval de <i>Aedes aegypti</i>	33
Avaliação da oviposição e viabilidade dos ovos de <i>Aedes aegypti</i> , em função da atividade do diflubenzuron.....	33
Análise dos dados.....	34
Resultados e discussão.....	35
Efeito do diflubenzuron sobre a fase larval de <i>Aedes aegypti</i>	35
Oviposição e viabilidade dos ovos de populações de <i>Aedes aegypti</i> , em função da atividade do diflubenzuron.....	39
Agradecimentos.....	41
Referências.....	41
CONCLUSÕES GERAIS.....	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
ANEXO.....	48

INTRODUÇÃO GERAL

Os culicídeos incluem os mais importantes vetores de patógenos ao homem, sendo responsáveis por perdas humanas e econômicas bastante significativas. A família Culicidae é dividida em três subfamílias: Toxorhynchitinae, Anophelinae e Culicinae, esta que possui diversos gêneros, sendo o *Culex* e o *Aedes* os mais conhecidos (BIZZARRO, 2012).

Do gênero *Aedes*, a espécie de maior importância é o *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae), que é o vetor primário dos sorotipos virais da dengue, VDEN-1, VDEN-2, VDEN-3, VDEN-4 e VDEN-5 (BIZZARRO, 2012; VASILAKIS, 2013). É um mosquito antropofílico comum de ambientes domésticos urbanos, com hábito diurno para a hematofagia, preferência para oviposição em criadouros com água limpa (TAUIL, 2002), mas com aptidão para ovipositar em água poluída, uma adaptação que favorece a sua ocorrência em condições consideradas desfavoráveis ao seu desenvolvimento (BESERRA et al. 2010).

De acordo com Dantas e Passoni (2003), a dengue é em termos de morbidade e mortalidade, a mais importante arbovirose que afeta o homem, sendo responsável por mais de 100 milhões de casos ao ano em mais de 61 países, portanto, a fim de reduzir o número de casos da doença, são adotadas medidas para o controle do inseto, pois ele é o único elo vulnerável na cadeia de transmissão da dengue (TAUIL, 2002). As estratégias de controle para a disseminação do inseto estão baseadas principalmente no emprego de inseticidas químicos (FONTOURA, 2008), que são adotados mesmo quando este se encontra em baixos níveis populacionais.

No estado da Paraíba, desde o ano de 2011, ocorreu a substituição na utilização do organofosforado temefós, por Reguladores de Crescimento de Insetos (RCIs), inseticidas recomendados pela Organização Mundial de saúde (OMS). O novaluron foi utilizado em um primeiro momento e, posteriormente, adotou-se o diflubenzuron (SINAN/SES-PB, 2011), que vem sendo utilizado até o momento no intuito de controlar as populações do vetor. A substituição foi necessária devido à ineficácia do organofosforado em campo, o que ocorreu em consequência do desenvolvimento de resistência por populações de *A. aegypti* ao produto, que foi evidenciada através de estudos realizados com populações naturais do inseto de vários municípios do estado da Paraíba (BESERRA et al. 2007; DINIZ, 2008; SILVA, 2010; GAMBARRA et al. 2013).

O diflubenzuron é representado quimicamente (IUPAC) por 1-(4-clorofenil)-3-(2,6-difluorobenzoil)-uréia e o novaluron por 1-(3-cloro-4-(1,1,2-trifluoro-2-trifluoromethoxy)-fenil)-3-(2,6-difluorobenzoil)-uréia, as doses recomendadas para os produtos são de 0,25

mg/l e 0,02 mg/l, respectivamente (WHO, 2006 e 2008). Essas inseticidas apresentam como mecanismo de ação, a inibição da síntese e deposição de quitina necessária ao processo de ecdise, o que interrompe o desenvolvimento dos insetos (FARNESI, et al. 2012; RAJASEKAR; JEBANESAN, 2012).

Diversos estudos tem demonstrado a atividade dos RCIs sobre a estrutura da larva, a sobrevivência e o desenvolvimento de *A. aegypti* (ARREDONDO-JIMÉNEZ e VALDEZ-DELGADO, 2006; MARTINS e SILVA, 2004; MULLA et al. 2003; SUMAN et al. 2010) e também sobre a matriz peritrófica, ovários e ovos de algumas espécies de insetos (ARAKANE et al. 2008; MANSUR et al. 2010).

Ao avaliar o mecanismo de ação dos RCIs evidencia-se que estes produtos são mais seletivos para os insetos e, portanto, podem ser considerados mais seguros a maioria dos organismos do meio. Contudo, pelo fato de não ser espécie-específicos para o *A. aegypti*, a utilização demasiada desses produtos pode desestabilizar os ecossistemas em que são administrados, pois afeta tanto os insetos alvos, quanto os não alvos do sistema de controle da dengue, determinando diversos impactos sobre outras populações de insetos (KEER et al. 2009) e ainda contribui para a ocorrência de populações resistentes de *A. aegypti* (MARTINS e SILVA, 2004).

De acordo com Poletti e Omoto, (2003), a resistência a inseticidas é a habilidade de uma linhagem biológica em tolerar doses tóxicas, que normalmente seriam letais a maioria dos indivíduos de uma população, uma capacidade que resulta de um processo acelerado de evolução, em que indivíduos resistentes são selecionados a partir da exposição contínua aos inseticidas (BRAGA; VALLE, 2007).

As diferenças genéticas existentes entre os indivíduos são consideradas como a “matéria-prima” da evolução, existindo uma relação entre o valor adaptativo médio e os níveis de variabilidade que a população apresenta. Segundo o teorema fundamental de Fisher (1930), a taxa de mudança evolutiva é proporcional à diversidade genética das populações, portanto, a evolução das respostas adaptativas ocorre pelo efeito da seleção natural, sobre a variação genética existente nas mesmas.

Nessa perspectiva, à aplicação continuada de inseticidas de mesmo grupo químico e mecanismo de ação, favorece variantes genéticas específicas nas populações alvos (MACHADO; FIÚZA, 2009), pois seleciona aqueles indivíduos que possuem as características necessárias para sobreviver aos inseticidas a que são expostos e os organismos com as melhores

respostas às condições do meio, são os que deixam mais genes para as próximas gerações, contribuindo para o estabelecimento de populações resistentes (PAIVA, 2006).

Considerando o fato de já existirem registros de resistência por populações naturais de insetos aos RCIs (BRAGA; VALLE, 2007) e de que desde o ano de 2011, essa classe de inseticidas foi introduzida no programa de controle do *A. aegypti* do estado da Paraíba (SINAN/SES-PB, 2011), objetivou-se avaliar o status de suscetibilidade de populações naturais de *A. aegypti* provenientes do município de Campina Grande-PB, ao diflubenzuron e novaluron, bem como, verificar os efeitos dos RCIs sobre o desenvolvimento do inseto.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar o status de suscetibilidade e os efeitos do diflubenzuron e novaluron, sobre amostras de populações naturais de *Aedes aegypti*.

Objetivos Específicos

- Submeter as amostras populacionais de *A. aegypti* ao diflubenzuron e novaluron, a fim de observar se houve o desenvolvimento de resistência a esses inseticidas.
- Avaliar o efeito residual dos inseticidas sobre larvas de *A. aegypti*.
- Caracterizar a atuação do diflubenzuron sobre a fase larval do *A. aegypti* e sobre a oviposição e viabilidade dos ovos do vetor.

PERGUNTAS E HIPÓTESES

Perguntas

- As populações naturais de *A. aegypti* são resistentes ou suscetíveis ao diflubenzuron e novaluron?
- Qual o efeito residual do diflubenzuron e novaluron sobre populações de *A. aegypti*?
- Qual o efeito do diflubenzuron sobre o desenvolvimento da fase larval do *A. aegypti* e sobre a oviposição e viabilidade dos ovos do vetor?

Hipóteses

- As populações naturais de *A. aegypti* são resistentes ao diflubenzuron e novaluron.
- As populações naturais de *A. aegypti* são suscetíveis ao diflubenzuron e novaluron.
- O diflubenzuron e novaluron apresenta um alto efeito residual, o que acarreta uma maior persistência no meio e melhor controle do vetor.
- O diflubenzuron e novaluron apresenta um baixo efeito residual e isto culmina em uma menor persistência no meio, diminuindo a capacidade de controle sobre o vetor.
- A atividade larvicida do diflubenzuron é eficaz ao longo do desenvolvimento larval do *A. aegypti* e a exposição ao produto afeta a oviposição e a viabilidade dos ovos do inseto.
- A atividade larvicida do diflubenzuron não é eficaz ao longo do desenvolvimento larval do *A. aegypti* e a exposição ao produto não afeta a oviposição e a viabilidade dos ovos do inseto.

MANUSCRITO I:

Suscetibilidade larval e atividade residual do diflubenzuron e novaluron em populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae), Paraíba, Brasil

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa – PRPGP
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação – PPGEC

Suscetibilidade larval e atividade residual do diflubenzuron e novaluron em populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae), Paraíba, Brasil

ALLEKSANDRA D. S. HENRIQUES¹ e EDUARDO B. BESERRA².

Universidade Estadual da Paraíba. Rua Baraúnas, 351, Bodocongó. Campina Grande, PB, Brasil.

¹sandydias@gmail.com, ²ebeserra@uepb.edu.

Resumo - O diflubenzuron e novaluron são Reguladores do Crescimento de Insetos (RCIs) de uso recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em água potável e possuem grande potencial de ação sobre populações naturais de *Aedes aegypti*. Nessa perspectiva, o presente estudo teve como objetivos estabelecer o status de suscetibilidade, bem como, determinar os efeitos residuais desses inseticidas sobre populações do vetor. As amostras foram submetidas às doses recomendadas pela OMS para ambos os produtos, 0,25 mg/l do diflubenzuron e 0,02 mg/l do novaluron. Todas as populações foram suscetíveis a ambos os inseticidas, tendo em vista, os altos níveis de Inibição de Emergência de Adultos (IE) observados, de 98,9 a 100%. O diflubenzuron demonstrou uma atividade residual de 12 semanas sobre o *A. aegypti* e o novaluron promoveu 100% de IE durante 4 semanas consecutivas de avaliação. Os resultados evidenciaram que ainda não houve o desenvolvimento de resistência aos reguladores de crescimento nas quatro populações naturais avaliadas e que os inseticidas apresentam um alto poder residual, portanto, elevado potencial para uso no controle de populações de *A. aegypti*.

Palavras-chave: Insetos vetores; reguladores do crescimento de insetos; inibição de emergência de adulto; efeito residual de inseticidas.

Abstract - The diflubenzuron and novaluron are Insect Growth Regulators (IGRs) of use recommended by the World Health Organization (WHO) drinking water and have great potential for action on natural populations of *Aedes aegypti*. In this perspective, the present study aimed to establish the status of susceptibility, as well as determine the residual effects of these insecticides on vector populations. The samples recommended by the WHO for both products, 0.25 mg/l diflubenzuron and 0.02 mg/l of novaluron were subjected doses. All populations were susceptible to both insecticides, given the high levels of inhibition of adult emergency (IE) observed, from 98.9 to 100%. The diflubenzuron showed a residual activity about 12 weeks of *A. aegypti* and novaluron IE promoted 100% for 4 consecutive weeks assessment. The results showed that there has been no development of resistance to growth regulators evaluated the four natural populations and that insecticides have a high residual power and thus a high potential for use in controlling populations of *A. aegypti*.

Keywords : Insect vectors , insect growth regulators , inhibition of adult emergence , residual effect of insecticides

Introdução

O *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) é um inseto que está amplamente distribuído nas regiões tropicais, principalmente em locais de pouca infraestrutura, o que favorece o seu desenvolvimento e estabelecimento no meio urbano (Beserra *et al* 2010). Esse culicídeo é o principal vetor do vírus da dengue e suas populações naturais são continuamente submetidas ao controle químico, a fim de reduzir o surgimento de surtos da doença (Fontoura 2008).

Os Reguladores de Crescimento de Insetos (RCIs), diflubenzuron e novaluron, são produtos de grande potencial de ação sobre o *A. aegypti*, recomendados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para uso em água potável (WHO 2006, 2008). Esses inseticidas atuam pela inibição da síntese e deposição de quitina durante o processo de ecdise (Rajasekar & Jebanesan 2012; Farnesi *et al* 2012) e também apresentam uma baixa diluição, o que contribui para o aumento de sua residualidade na água e, conseqüentemente, para uma maior persistência no meio e melhor controle do vetor (WHO 2007). A eficácia do diflubenzuron foi demonstrada por Martins & Silva (2004) e Suman *et al* (2010) e do novaluron por Mulla *et al* (2003) e Arredondo-Jiménez & Valdez-Delgado (2006).

No estado da Paraíba, desde o ano de 2011, o diflubenzuron tem sido utilizado continuamente nos programas de controle do *A. aegypti* (SINAN/SES-PB, 2011), o que configura um período de utilização superior a dois anos e até o momento nada se conhece sobre a resposta das populações naturais do vetor em relação aos RCIs.

Como há necessidade de avaliar continuamente a suscetibilidade dos insetos aos inseticidas, a fim de verificar a eficiência do controle químico realizado. O presente estudo teve como objetivos estabelecer o status de suscetibilidade, bem como, determinar os efeitos residuais do diflubenzuron e novaluron sobre populações de *A. aegypti*.

Material e Métodos

I. Coleta de amostras de *Aedes aegypti* em campo

A pesquisa foi conduzida com amostras populacionais de *A. aegypti* coletadas em quatro bairros do município de Campina Grande-PB (07°13'50''S; 35°52'52''W), que apresentavam altos Índices de Infestação Predial (I.P.P.), de acordo com a preconização da OMS (I.I.P entre 1 e 3,9% representa uma situação de alerta pra a ocorrência de dengue; I.I.P>4% indica o risco direto de surto da doença).

Os locais selecionados foram os bairros Alto Branco (5,8%), Bodocongó (5,8%), Nova Brasília (4,0%) e Cruzeiro (3,1%). Em cada uma dessas áreas foram instaladas cinquenta armadilhas ovitrampas para a coleta de ovos, distribuídas no intra e peridomicílio de residências escolhidas aleatoriamente e recolhidas após quatro dias da instalação.

II. Técnica para manutenção de *Aedes aegypti* em laboratório

As criações do inseto foram conduzidas no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Bioecologia e Sistemática de Insetos da Universidade Estadual de Paraíba (UEPB), seguindo a metodologia descrita em Beserra *et al* (2007, 2008).

As palhetas das ovitrampas oriundas do campo foram acondicionadas em bandejas plásticas, com um terço de sua capacidade preenchida por água destilada, para a conseqüente eclosão larval. Quando alcançado o quarto instar larval (L₄), as larvas fixadas sobre lâminas, observadas com auxílio de microscópio estereoscópio e identificadas utilizando a chave dicotômica contida em Forattini (2002) e Rueda (2004).

Atingida à empupação, as pupas foram transferidas em copos descartáveis (250 ml) para gaiolas destinadas à criação de insetos adultos, constituídas por uma armação de madeira revestida por tecido voil (40 x 40 x 20 cm). No interior de cada gaiola foi colocado um copo descartável de 250 ml com água destilada, contendo no seu interior um funil plástico revestido

por papel filtro, para servir como substrato de oviposição. Aos adultos ofertou-se uma solução glicosada de mel a 20% e às fêmeas repasto sanguíneo em *Coturnix coturnix* (codorna) durante trinta minutos, três vezes por semana.

III. Suscetibilidade das populações de *Aedes aegypti* ao diflubenzuron e novaluron

Avaliou-se as quatro amostras populacionais naturais de *A. aegypti* e a linhagem Rockefeller como população suscetível de referência, estas foram submetidas às concentrações de 0,25 mg/l do diflubenzuron (25% i.a. Champion Farmoquímico LTDA) e de 0,02 mg/l do novaluron (92,5% pp Bayer Environmental Science), que são as doses recomendadas para o uso nos programas de controle do vetor (WHO 2006, 2008), bem como, à água destilada como controle.

Para cada tratamento, 25 larvas do mosquito no início do instar L₃ foram distribuídas em copos descartáveis, em um volume de 400 ml da solução aquosa para o diflubenzuron e 100 ml para o novaluron e para o controle os mesmos volumes de água destilada, sendo cada um dos tratamentos repetidos em quatro vezes.

Em ambos os experimentos, os copos foram cobertos com tecido voil para evitar o escape de mosquitos adultos e em cada copo amostrado adicionou-se 1mg de ração para peixe ornamental a cada dois dias, para favorecer o desenvolvimento e crescimento larval. As avaliações foram diárias até a ocorrência da mortalidade de todos os indivíduos ou a emergência dos adultos nos controles.

A Inibição de Emergência de Adulto (IE) é um parâmetro para a ação dos reguladores de crescimento dos insetos e foi calculada através da fórmula: $IE\% = 100 - (T \times 100/C)$.

Onde: T= porcentagem de sobreviventes ou emergidos no grupo tratado; C= porcentagem de sobreviventes ou emergidos no grupo controle.

IV. Avaliação do efeito residual do diflubenzuron e novaluron sobre larvas de *Aedes aegypti*

Nessa fase experimental, avaliou-se a linhagem Rockfeller e a população de *A. aegypti* coletada no bairro Bodocongó, pois dentre as amostras populacionais naturais avaliadas, esta apresentou um dos maiores I.I.P., o valor de 5,8%.

As larvas de ambas as populações foram expostas às soluções aquosas dos inseticidas, nas concentrações de 0,25 mg/l para o diflubenzuron e de 0,02 mg/l para o novaluron. Os testes foram realizados em bandejas plásticas utilizando o volume de 1,5l de ambas as soluções e o mesmo volume de água destilada para o controle. Em cada tratamento foram utilizadas 25 larvas em estágio L₃, repetido em quatro vezes.

Durante todo o experimento, ofertou-se ração para peixe ornamental às larvas a cada dois dias, para garantir o desenvolvimento dos indivíduos e as bandejas foram cobertas com telas de tecido voil para evitar o escape dos adultos.

Quando havia a emergência de todos os adultos no grupo controle, o nível de água era repostado e um novo grupo de 25 larvas adicionado às bandejas, sendo as remanescentes contadas e registrada diariamente a sua mortalidade. Em ambos os testes, o tempo de atividade residual foi registrado, bem como, a Inibição da Emergência de Adulto (IE).

V. Análise dos dados

Os resultados foram submetidos análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), utilizando o software estatístico ASSISTAT 7.7 beta.

Resultados e Discussão

I. Suscetibilidade de populações de *Aedes aegypti* ao diflubenzuron e novaluron

As amostras populacionais de *A. aegypti* apresentaram altos níveis de suscetibilidade e, conseqüentemente, elevada Inibição de Emergência de Adulto (IE), valores entre 98,9 a 100% (Tabela 1). Esses resultados indicaram que as populações de *A. aegypti* estudadas são

suscetíveis aos inseticidas, haja vista, que o padrão de mortalidade verificado para as populações de campo foi o mesmo observado para a população suscetível de referência (Rockfeller), não havendo diferenças significativas entre as mesmas, tanto para o diflubenzuron ($F=0,3418$; $P>0,05$), quanto para o novaluron ($F=0,7174$; $P>0,05$). Resultados que corroboram outros estudos que verificaram a eficácia desses RCIs no controle de populações naturais de *A. aegypti* (Martins & Silva 2004; Thavara *et al* 2007; Mulla *et al* 2003).

Assim como nessa pesquisa, Silva (2006) também evidenciou a eficácia do diflubenzuron sobre todos os estágios larvais de *A. aegypti* promovendo de 98 a 100% de mortalidade, nas concentrações de 0,015 e 0,02 mg/l do inseticida. Alta mortalidade observada por Mulla *et al* (2003), que ao utilizar sub dosagens de 0,00025 mg/l do novaluron, verificaram 100% de IE, assim como o observado nesse estudo.

Tabela 1. Suscetibilidade larval de populações de *Aedes aegypti* ao diflubenzuron (0,25 mg/l) e novaluron (0,02 mg/l).

Populações de <i>Aedes aegypti</i>	n (larval)	Tempo de exposição ao diflubenzuron (dias)	IE% diflubenzuron	Mortalidade (%) diflubenzuron	
				Controle	Inseticida
Rockfeller	200	11	100	4	100
Alto Branco	200	19	100	4	100
Bodocongó	200	11	100	4	100
Cruzeiro	200	16	98,9	3	99,0
Nova Brasília	200	16	98,9	3	99,0
Populações de <i>Aedes aegypti</i>	n (larval)	Tempo de exposição ao novaluron (horas)	IE% novaluron	Mortalidade (%) novaluron	
				Controle	Inseticida
Rockfeller	200	24	100	6	100
Alto Branco	200	24	100	1	100
Bodocongó	200	24	100	3	100
Cruzeiro	200	24	100	3	100
Nova Brasília	200	24	100	4	100

Inibição de Emergência de Adulto (IE).

Observou-se nas larvas amostradas, que após a exposição ao diflubenzuron foi necessário o intervalo de 11 a 19 dias, até que todas as larvas testadas sofressem muda do estágio L₃ para o estágio L₄ e, conseqüentemente, que fosse alcançada a mortalidade total da amostra (Tabela 1), o que também foi verificado no estudo realizado por Silva (2006), no qual parte das larvas expostas ao inseticida tiveram seu tempo de desenvolvimento prolongado por ação do inseticida.

Alguns autores tem alcançado altas mortalidades larvais e, conseqüentemente, elevados níveis de IE, utilizando doses acima do que é recomendado pela OMS, como Jahan *et al* (2011) que obtiveram 100% de inibição de emergência de adultos nas doses de 1, 10 e 100ppm do diflubenzuron; Arredondo-Jiménez & Valdez-Delgado (2006) que demonstraram a eficácia do novaluron gerando 99% de mortalidade sobre larvas de *A. aegypti*, ao utilizar a concentração de 0,166 mg/l e Nwankwo *et al* (2011), que avaliaram o efeito do novaluron sobre larvas de quarto estágio do vetor e alcançaram a mortalidade de 95% na dosagem de 200 mg/l. Dosagens superiores às utilizadas no presente estudo, que obteve de 98,8% a 100% de IE, nas doses de 0,25 mg/l do diflubenzuron e 0,02 mg/l do novaluron, comprovando a eficiência dos produtos e o elevado nível de suscetibilidade das populações avaliadas.

II. Efeito residual do diflubenzuron e novaluron sobre larvas de *Aedes aegypti*

O diflubenzuron apresentou uma atividade residual de 12 semanas (84 dias) sobre as duas populações de *A. aegypti* avaliadas, Rockfeller e Bodocongó, resultado que corrobora os obtidos por Thavara *et al* (2007) e Marcombe *et al* (2011), que demonstraram a persistência do produto durante 16 semanas, bem como, no estudo realizado por Garcia-Neto *et al* (2013), que constataram 10 semanas de atividade residual do diflubenzuron sobre populações do vetor.

Observou-se até a quarta reposição larval do experimento uma alta mortalidade larval, em ambas as populações tratadas com o diflubenzuron (Figura 1). Contudo, após a quinta reposição das larvas (77º dia), observou-se que a sobrevivência nas amostras foi similar à

observada nos grupos controles, indicando que o efeito residual do inseticida teria cessado (Figura 3).

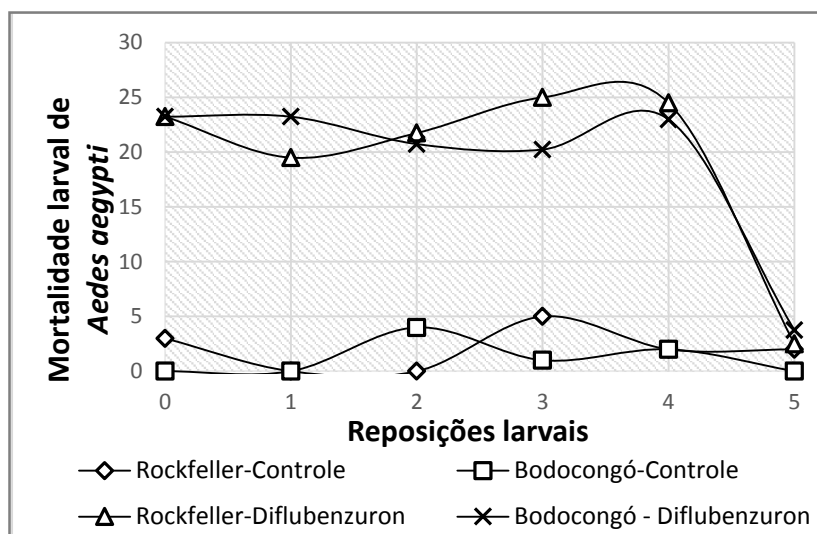


Figura 1. Atividade residual do diflubenzuron sobre populações de *Aedes aegypti*.

Com relação à inibição de emergência de adulto, as duas populações demonstraram valores semelhantes entre si. Rockfeller apresentou o valor máximo de 100% de IE, na terceira reposição larval (20º dia) e o valor mínimo de 10%, que foi verificado após a quinta reposição larval (77º dia) (Figura 2). A população de Bodocongó alcançou o limiar máximo de 93% de IE, o que foi verificado em dois momentos do experimento, no início do teste (no primeiro grupo de larvas tratadas com o inseticida) e na segunda amostra de larvas expostas ao produto, provenientes da primeira reposição larval (10º dia). Já o valor mínimo apresentado correspondeu a 15% de IE, que assim como na população de referência foi verificada na última reposição larval do teste (77º dia) (Figura 2).

Os resultados de sobrevivência e de inibição de emergência de ambas as populações, mostraram uma diminuição na eficácia do produto, ao longo dos 84 dias de experimento. Possivelmente, isto ocorreu devido a diluição da concentração inicial do experimento (0,25 mg/l) como consequência do acréscimo de água a cada reposição larval, realizado a fim de manter a solução à volume constante (1,5l), bem como, pela instabilidade do diflubenzuron em

solução aquosa, em função da hidrólise de seus componentes e devido ao seu curto tempo de meia-vida de aproximadamente 0,5 dias (WHO 2006).

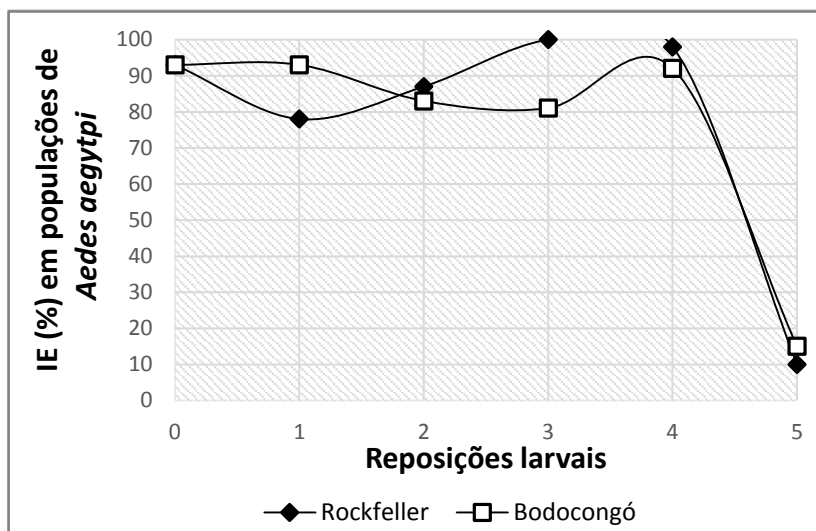


Figura 2. Inibição de emergência de adulto IE (%) em populações de *Aedes aegypti* submetidas ao diflubenzuron.

Nas duas populações avaliadas evidenciou-se um aumento na emergência de adultos, a partir das larvas tratadas com o inseticida (Figura 3). Contudo, observou-se que a formação de ímagos ocorreu inicialmente na amostra Bodocongó e isto se deu após a primeira reposição larval das amostras, no 12º dia de experimento. Verifica-se, portanto, relativa discrepância desse resultado em relação aos de Garcia-Neto *et al* (2013), que também analisaram o efeito residual do inseticida sobre populações naturais de *A. aegypti*, porém constataram que a formação de pupas e, conseqüentemente, a emergência de adultos, ocorreu apenas depois do 20º dia de avaliação, do total de 71 dias de experimento.

Ao considerar o número total de larvas que foram submetidas ao diflubenzuron (n=600/população), observou que houve a emergência de 72 ímagos para a população Bodocongó, e apenas, 36 insetos para Rockfeller, o que correspondeu respectivamente, à proporção de 12 e 6% das larvas tratadas. Contudo, apesar da diferença evidenciada entre Rockfeller e Bodocongó, ao analisar todos os dados obtidos ao longo do experimento, não se

observou diferenças significativas entre as duas amostras populacionais de *A. aegypti* ($F=0,0641$; $P>0,05$).

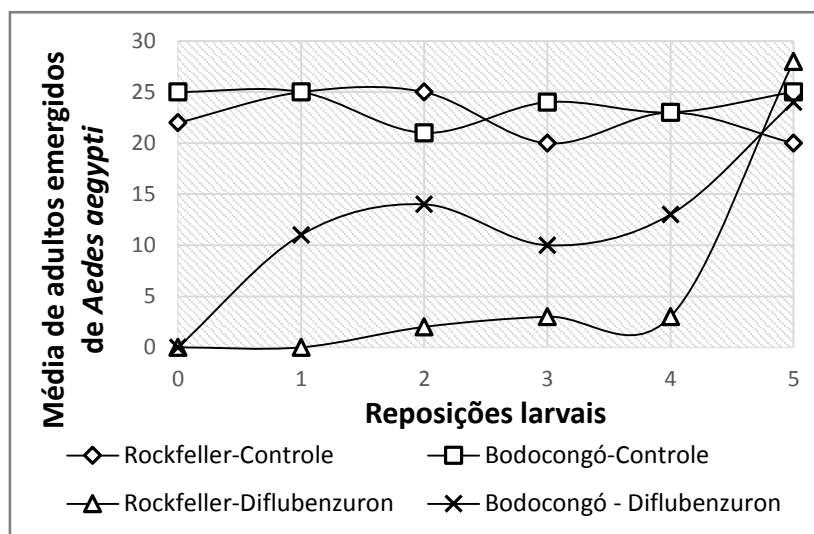


Figura 3. Emergência de adultos em populações de *Aedes aegypti* submetidas a atividade residual do diflubenzuron.

Para o novaluron observou-se que o inseticida permaneceu eficaz durante quatro semanas de avaliação, havendo a necessidade de apenas 24 horas de exposição ao produto para verificar a mortalidade total das larvas. Observou-se, conseqüentemente, 100% de IE para Rockfeller e Bodocongó (Tabela 2), não havendo diferenças significativas entre estas, quanto à atividade residual do produto ($F=4$; $P>0,05$).

Tabela 2. Atividade residual do novaluron sobre duas populações do *Aedes aegypti*.

Populações de <i>Aedes aegypti</i>	Nº total de larvas amostradas		Nº total de larvas mortas		Mortalidade larval (%)		IE (%)
	Controle	Inseticida	Controle	Inseticida	Controle	Inseticida	
Rockfeller	75	300	7	300	9,3	100	100
Bodocongó	75	300	6	300	8,0	100	100

Inibição de Emergência de Adulto (IE).

Como verificado nesse estudo, alguns trabalhos tem evidenciado a atividade residual do novaluron. Mulla *et al* (2003) também avaliando o efeito do produto sobre populações de *A.*

aegypti, utilizaram concentrações de 1 a 20 µg/l do inseticida e verificaram que ocorreu uma IE de 80 a 100% das larvas amostradas e a eficácia do produto se estendeu durante 60 dias. Em contrapartida, quando expuseram as amostras a concentrações mais elevadas, verificaram que a ação do inseticida prolongou-se para 190 dias, promovendo uma IE de 86 a 96% nas amostras testadas.

Durante as quatro semanas de avaliação desse estudo, verificou-se que a dosagem de 0,02 mg/l do novaluron foi suficiente para gerar 100% de IE nas duas populações de *A. aegypti*, efeito residual superior ao obtido por Arredondo-Jiménez & Valdez-Delgado (2006), que utilizaram dosagens mais elevadas, porém alcançaram como limiar máximo 97% de IE, não atingindo os 100% durante quatorze semanas de avaliação do experimento.

Fontoura *et al* (2012) também demonstraram a persistência de oito semanas do novaluron sobre duas populações de *A. aegypti*, para um teste realizado no interior de uma residência (ambiente fechado) e de cinco a seis semanas para dois experimentos realizados em ambientes externos. Contudo, observaram em ambos os testes, que o inseticida inibiu completamente a emergência de adulto nas primeiras quatro semanas de exposição ao produto, o que legitima os resultados constatados aqui, pois evidenciou-se 100% de IE, durante o mesmo período de tempo, tanto para a população Rockfeller, quanto para a Bodocongó.

Ao avaliar os resultados obtidos para o diflubenzuron e novaluron, percebe-se que apesar dos anos de uso dos produtos em campo, não houve o desenvolvimento de resistência pelas populações de *A. aegypti* avaliadas e que os RCIs possuem um alto potencial no controle de populações do inseto. Isso se deve sobretudo ao seu mecanismo de ação, mas também é influenciado pela sua atividade residual, o que ocasiona uma maior persistência em campo e favorece o controle do vetor.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da Bolsa de Mestrado e à Universidade Estadual da Paraíba, em especial ao Laboratório de Entomologia do Núcleo de Bioecologia e Sistemática de Insetos, por todo o suporte oferecido para a realização desse trabalho.

Referências

- Arredondo-Jiménez JI, Valdez-Delgado KM (2006) Effect of Novaluron (Rimon 10 EC) on the mosquitoes *Anopheles albimanus*, *Anopheles pseudopunctipennis*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* from Chiapas, Mexico. *Med Vet Entomol.* 4: 377-87.
- Beserra EB, Fernandes CRM, Queiroga MFC, Castro-Júnior FP (2007) Resistência de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. *Neotropical Entomology.* 36 (2): 303- 307.
- Beserra EB, Castro-Júnior FP (2008) Biologia Comparada de Populações de *Aedes* (Stegomyia) *aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) da Paraíba. *Neotropical Entomology* 37: 81-85.
- Beserra EB, Fernandes CRM, Sousa JT, Freitas EM, Santos KD (2010) Efeito da qualidade da água no ciclo de vida e na atração para oviposição de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology* 39 (6): 1016-1023.
- Farnesi LC, Brito JM, Linss JG, Pelajo-Machado M, Valle D, Rezende GL (2012) Physiological and morphological aspects of *Aedes aegypti* developing larvae: effects of the chitin synthesis inhibitor Novaluron. *Plos One* 7: 1-9.
- Fontoura N G (2008) Efeito do Novaluron - um Inibidor da Síntese de Quitina - sobre *Aedes aegypti* em laboratório e simulado de campo. Rio de Janeiro, Instituto Oswaldo Cruz. 90 p
- Fontoura NG, Bellinato DF, Valle D, Lima JBL (2012) The efficacy of a chitin synthesis inhibitor against field populations of organophosphate-resistant *Aedes aegypti* in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 107 (3): 387-3957.
- Forattini OP (2002) *Culicidologia Médica*. São Paulo: Edusp, 860p.

Garcia-Neto LJ, Cavalcanti LPG, Pontes RJS, Oliveira JW (2013) Influence of water replacement on diflubenzuron duration effect in the control of *Aedes aegypti* in simulated field conditions, in Northeastern Brazil. *J Health Biol Sci.* 1: 21-26.

Jahan N, Razaq J, Jan A (2011) Laboratory Evaluation of Chitin Synthesis Inhibitors (Diflubenzuron and Buprofezin) Against *Aedes aegypti* larvae from Lahore, Pakistan. *Pakistan J. Zool.* 43(6): 1079-1084.

Marcombe S, Darriet V, Agnew P, Etienne M, Yp-Tcha MM, Yébakima AC, Orbel V (2011) Field efficacy of new larvicide products for control of multi-resistant *Aedes aegypti* populations in Martinique (French West Indies). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 84 (1): 118–126.

Martins F, Silva IG (2004) Avaliação da atividade inibidora do diflubenzuron na ecdise das larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37(2): 135-138.

Mulla MS, Thavara U, Tawatsin A, Chompoonsri J, Zaim M, Su TY (2003) Laboratory and field evaluation of novaluron, a new insect growth regulator (IGR), against *Aedes aegypti*. *Journal of Vector Ecology.* 28: 241-254.

Nwankwo EN, Okonkwo NJ, Ozumba NA, Okafor EG (2011). Comparative studies on the larvicidal action of Novaluron (Mosquiron® 100EC) and *Moringa oliefera* (LAM) seed oil against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *International Multi-Disciplinary Journal.* 5 (18): 424-437.

Rajasekar P, Jebanesan A (2012) Efficacy of IGRs compound Novaluron and Buprofezin against *Culex quinquefasciatus* mosquito larvae and pupal control in pools, drains and tanks. *International Journal of Research in Biological Sciences* 2(1): 45-47.

Rueda LM (2004) Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue Virus Transmission. *Zootaxa.* 589: 1-60.

Silva JJ (2006) Potencial dos Reguladores de Crescimento de Insetos (IGRs), Diflubenzuron e Methoprene no controle de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) em Urberlândia – MG. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia, Urberlândia, Brasil, p 75.

Sistema de Agravos de Notificação (SINAN/SES-PB). Secretaria Estadual de Saúde-Paraíba. João Pessoa – PB, Boletim Epidemiológico da Dengue. 2011.

Suman DS, Parashar BD, Prakash S (2010) Effect of sublethal dose of diflubenzuron and azadirachtin on various life table attributes of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 47: 996–1002.

Thavara U, Tawatsin A, Chansang C, Asavadachanukorn P, Zaim M, Mulla MS (2007) Simulated field evaluation of the efficacy of two formulations of diflubenzuron, a chitin synthesis inhibitor against larvae of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in water-storage containers. Southeast Asian. J. Trop. Med. Public Health 38: 269-275.

World Health Organization (WHO) (2006) Diflubenzuron in drinking water: Use for vector control in drinking water sources and containers. Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality, Geneva.

World Health Organization (WHO) (2007) Novaluron in drinking-water: Use for vector control in drinking-water sources and containers, Geneva.

World Health Organization (WHO) (2008) Novaluron in drinking-water: Use for vector control in drinking-water sources and containers. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality, Geneva.

MANUSCRITO II:

Efeito do diflubenzuron sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti*
(L.) (Diptera: Culicidae), Paraíba, Brasil

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa – PRPGP
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação – PPGECC

**Efeito do diflubenzuron sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae),
Paraíba, Brasil**

ALLEKSANDRA D. S. HENRIQUES¹ e EDUARDO B. BESERRA².

Universidade Estadual da Paraíba. Rua Baraúnas, 351, Bodocongó. Campina Grande, PB, Brasil.

¹sandydias@gmail.com, ²ebeserra@uepb.edu.

Resumo – O diflubenzuron é um regulador do crescimento de insetos, que atua diretamente sobre a formação do exoesqueleto, através da inibição da síntese e deposição de quitina sobre a cutícula, interferindo no desenvolvimento e sobrevivência larval dos insetos. Nessa perspectiva, esse trabalho objetivou caracterizar a atuação do diflubenzuron sobre o desenvolvimento larval, a oviposição e a viabilidade dos ovos de *Aedes aegypti*. O efeito sobre o desenvolvimento larval do inseto foi avaliado submetendo larvas de primeiro estágio (L₁) de *A. aegypti* a cinco concentrações do inseticida, 0,0025, 0,125, 0,025, 0,0375 e 0,05 mg/l. Para testar a ação do produto sobre o comportamento de oviposição, as fêmeas foram submetidas a um teste de múltipla escolha, no qual foram utilizadas as dosagens de 0,025 e 0,25 mg/l do diflubenzuron e a um controle contendo apenas água destilada. Posteriormente, os ovos provenientes desse experimento foram testados quanto à viabilidade. O primeiro instar larval de *A. aegypti* apresentou uma menor duração em relação aos estágios L₂ e L₃, em todos os tratamentos do diflubenzuron e no instar L₂ foram verificadas as maiores médias de mortalidade, quando comparado aos outros estágios de desenvolvimento larval. Evidenciou-se a ocorrência de oviposição de *A. aegypti* nas soluções do diflubenzuron, bem como, viabilidade dos ovos tratados com o inseticida.

Palavras-chave: Reguladores do crescimento de insetos, desenvolvimento larval, mortalidade larval, oviposição.

Abstract – The diflubenzuron is an insect growth regulator, which acts directly on the formation of the exoskeleton, by inhibiting the synthesis and deposition of chitin on the cuticle, interfering with the development and survival of larval insects. This study aimed to characterize the performance of diflubenzuron on larval development, oviposition and egg viability of *Aedes aegypti*. The effect on larval insect development was evaluated by subjecting the first larval stage (L₁) of *A. aegypti* at five concentrations of the insecticide, 0.0025, 0.125, 0.025, 0.0375 and 0.05 mg/l. To test the action of the product on the oviposition behavior, females were subjected to a multiple choice test, in which the dosages of 0.025 and 0.25 mg/l of diflubenzuron and a control containing only distilled water were used. The eggs from this experiment were tested for viability. The first instar larvae of *A. aegypti* showed a shorter duration compared to L₂ and L₃ stages in all treatments of diflubenzuron and L₂ stage the highest average mortality were observed when compared to other stages of larval development. Evidenced the occurrence of oviposition of *A. aegypti* in solutions of diflubenzuron, as well as viability of eggs treated with the insecticide.

Keywords: insect growth regulators; larval development, larval mortality, oviposition.

Introdução

O desenvolvimento do *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) requer a ocorrência de mudas periódicas de seu exoesqueleto (ecdises), portanto, para que não haja interferências neste processo, é necessária uma interação precisa entre a degradação da quitina do velho exoesqueleto e a biossíntese da quitina necessária à composição de uma nova cutícula (Gullan & Cranston 2012, Farnesi *et al* 2012).

O diflubenzuron é um Regulador de Crescimento de Insetos (RCI) que tem sido adotado no controle de populações de *A. aegypti*, que atua diretamente sobre a formação do exoesqueleto pela inibição da síntese e deposição da quitina sobre a cutícula, o que afeta o desenvolvimento dos insetos, bem como, a sua sobrevivência (Arakane *et al* 2008; Mansur *et al* 2010).

Martins & Silva (2004) relataram a eficiência desse inseticida no controle de espécies de mosquitos, especialmente sobre populações de *A. aegypti* nas quais evidenciou uma interrupção das ecdises larvais e Suman *et al* (2010) evidenciaram que a exposição de larvas de culicídeos a doses subletais do diflubenzuron provocou uma série de deficiências na viabilidade e reprodução dos adultos, comprometendo o desenvolvimento dos insetos.

De acordo com Farnesi *et al* (2012) a ação do produto decorre da alteração no teor de quitina durante o processo de crescimento do inseto e, a nível histológico, da formação de uma cutícula descontínua ou morfológicamente alterada em algumas regiões do exoesqueleto, o que o torna mais sensível para resistir ao processo de muda e, por conseguinte, resulta em sua mortalidade larval.

Nessa perspectiva, o presente trabalho objetivou caracterizar a atividade do diflubenzuron sobre os estágios larvais de *A. aegypti*, bem como, sobre à oviposição e viabilidade dos ovos de populações do vetor.

Material e Métodos

I. Coleta de amostras de *Aedes aegypti* em campo.

A pesquisa foi conduzida utilizando uma amostra de *Aedes aegypti* coletada no bairro de Bodocongó (I.P.P 5,8%), situado na zona oeste da cidade de Campina Grande, PB (07°13'50''S; 35°52'52''W). Nessa área foram instaladas cinquenta armadilhas ovitrampas para coleta de ovos, distribuídas no intra e peridomicílio de residências escolhidas ao acaso, que foram recolhidas após quatro dias da instalação.

II. Técnica para manutenção de *Aedes aegypti* em laboratório

A criação do inseto (F₁) foi conduzida no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Bioecologia e Sistemática de Insetos da Universidade Estadual de Paraíba (UEPB), seguindo a metodologia descrita em Beserra *et al* (2007, 2008).

As palhetas das ovitrampas oriundas das coletas em campo foram acondicionadas em bandejas plásticas, para a consequente eclosão larval. Quando alcançado o quarto estágio larval (L₄), as larvas foram fixadas sobre lâminas, visualizadas com auxílio de microscópio estereoscópio e identificadas utilizando a chave dicotômica contida em Forattini (2002) e Rueda (2004).

Atingida à empupação, as pupas foram transferidas para gaiolas destinadas à criação de adultos, contendo um copo descartável de 250 ml com água destilada e no seu interior um funil plástico revestido por papel filtro, para servir como substrato de oviposição e possibilitar o armazenamento dos ovos da F₁ de *A. aegypti* e, conseqüentemente, permitir a realização dos bioensaios laboratoriais. Aos adultos da criação ofertou-se uma solução glicosada de mel a 20% e às fêmeas, repasto sanguíneo em *Coturnix coturnix* (codorna) durante trinta minutos, três vezes por semana.

III. Efeito do diflubenzuron sobre a fase larval de *Aedes aegypti*

Duas amostras populacionais de *Aedes aegypti* foram avaliadas, uma população natural (Bodocongó) e uma linhagem laboratorial de referência (Rockfeller) mantida em laboratório sem exposição ao inseticida.

Com intuito de verificar o tempo de desenvolvimento dos estágios larvais e a atividade do produto sobre os estágios larvais, larvas (L₁) de ambas as populações foram submetidas a cinco concentrações do diflubenzuron, 0,0025, 0,0125, 0,025, 0,0375 e 0,05 mg/l, que correspondem respectivamente, às subdosagens 1, 5, 10, 15 e 20% da dose recomendada do inseticida (0,25 mg/l) (WHO, 2006).

Os experimentos foram realizados em copos descartáveis, com um volume de 400ml para cada solução diluída em água destilada. Foram testados 25 indivíduos repetidos em quatro vezes, além de um grupo controle que foi exposto apenas à água destilada.

Para permitir o desenvolvimento larval ofertou-se ração para peixe ornamental a cada dois dias e as avaliações foram diárias até que se alcançasse a mortalidade de todos os indivíduos ou a emergência dos adultos das amostras.

IV. Avaliação da oviposição e viabilidade dos ovos de *Aedes aegypti*, em função da atividade do diflubenzuron

Os ovos da Rockfeller e da geração F₁ da população de Bodocongó foram colocados para eclosão e desenvolvimento larval em água destilada até atingida a fase de pupa. As pupas foram sexadas com base no tamanho, e acasaladas em gaiolas de criação de adultos, em um total de 10 casais em quatro repetições. Aos adultos foi ofertado uma solução de mel a 20% e às fêmeas três repastos sanguíneos em *C. coturnix*, antes que se desse início ao teste de oviposição.

Para testar a repelência à oviposição em função do inseticida, realizou-se um teste de múltipla escolha, utilizando o diflubenzuron nas concentrações de 0,025 e 0,25 mg/l, que

correspondem à 10 e 100% da dose recomendada (WHO, 2006) e também à água destilada como controle. As soluções foram colocadas simultaneamente em cada gaiola de adulto após a realização de três repastos sanguíneos, em dias alternados. Cada solução foi ofertada em um volume de 150 ml no interior de copos descartáveis, estes que continham um funil plástico revestido por papel filtro, o qual servia como substrato de oviposição. O papel filtro foi substituído a cada 24h e os ovos coletados durante três dias consecutivos.

Para se avaliar a atratividade das coleções de água para oviposição de *A. aegypti* foi determinado o índice de oviposição ativa (IOA), dado pela fórmula de Kramer & Mulla (1979):

$$IOA = \frac{Nt - Nc}{Nt + Nc}$$

Onde Nt = número de ovos na solução teste e Nc = número de ovos na solução controle. Segundo esses autores, o $IOA \geq +0,3$ indica atratividade, enquanto que $IOA \leq -0,3$, indica que a solução teste é repelente para a oviposição.

Os ovos de cada população foram armazenados durante sete dias em câmara climatizada (BOD) a temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e posteriormente foram submetidos a um teste de viabilidade realizado em bandejas plásticas, no qual a proporção de ovos viáveis foi o resultado da eclosão de larvas após 24h de submersão, durante cinco dias consecutivos.

V. Análise dos dados

Os dados foram analisados seguindo o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x6 (duas populações e seis tratamentos) para avaliar a duração e a mortalidade dos estágios larvais e em esquema fatorial 2x3 (duas populações e três tratamentos) para a analisar a preferência à oviposição e a viabilidade dos ovos. As variáveis biológicas foram submetidas a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o pacote estatístico ASSISTAT 7.7 beta.

Resultados e Discussão

I. Efeito do diflubenzuron sobre a fase larval *Aedes aegypti*.

Verificou-se que o tempo de duração para os para estágios larvais foi bastante similar entre Rockefeller e Bodocongó, não havendo uma distinção significativa entre estas populações para o desenvolvimento dos estágios larvais L₂ (F=0,08; P>0,05) e L₃ (F=1,19; P>0,05). Para ambas as populações, apenas no instar L₂ observou-se uma interação significativa entre o desenvolvimento larval e os tratamentos do diflubenzuron (F=0,08; P>0,05), pois se observou maiores períodos de duração larval, na medida em que havia o aumento das dosagens do inseticida (Tabela 3).

O período médio de duração do instar L₁ foi de 1,0 dia para todos os tratamentos empregados. Em contrapartida, nos instares L₂ e L₃ as médias variaram entre 2,0 e 2,75 dias para a população Rockefeller e para Bodocongó variaram entre 2,0 e 2,87 dias. Observou-se, portanto, que o primeiro instar larval de *A. aegypti* apresentou uma menor duração em relação a L₂ e L₃ em todos os tratamentos a que as populações foram submetidas (Tabela 3).

As médias para o período de desenvolvimento dos estágios L₁, L₂ e L₃ variaram no total entre 1,0 e 2,87 dias (Tabela 3), resultado semelhante ao observado no estudo realizado por Manrique-Saide *et al* (1998), que avaliaram o desenvolvimento de *A. aegypti* na ausência do diflubenzuron e verificaram as médias de duração para esses instares larvais variando entre 1,0 e 2,8 dias.

Resultados que também foram similares aos observados por Silva *et al* (1998) e Beserra e Castro-Jr (2008), que verificaram os valores médios de duração de 0,8 a 2,6 dias e de 1,0 a 2,2 dias para os mesmos instares de *A. aegypti*, em larvas criadas sem exposição ao produto. Assim, é possível inferir que embora o diflubenzuron tenha propriedade inseticida ao causar mortalidade larval durante o processo de muda, o inseticida não atuou modificando o tempo de desenvolvimento nas populações do inseto que foram estudadas.

Não foi possível observar o tempo total de desenvolvimento do estágio L₄, pois as larvas que conseguiram evoluir até esse instar morreram e não mudaram para a fase de pupa. Portanto, mesmo tendo ocorrido o desenvolvimento larval, o inseto não conseguiu atingir a fase adulta, o que é um fator importante, pois baixos índices de infestação pelo *A. aegypti*, reduzem significativamente o risco de transmissão de dengue ao homem (Taiul 2002).

Tabela 3. Duração dos estágios larvais de populações de *Aedes aegypti*, a partir de larvas tratadas com diferentes concentrações do diflubenzuron.

Tratamentos do diflubenzuron (mg/l)	Duração do estágio L ₁ (dias) ^{n.s}	
	Rockfeller	Bodocongó
Controle (Água)	1,0	1,0
0,0025	1,0	1,0
0,0125	1,0	1,0
0,025	1,0	1,0
0,0375	1,0	1,0
0,05	1,0	1,0
Tratamentos do diflubenzuron (mg/l)	Duração do estágio L ₂ (dias) ¹	
	Rockfeller	Bodocongó
Controle (Água)	2,0±0,81 Aa	2,0±0,81 Aa
0,0025	2,37±0,47 Aa	2,25±0,5 Aa
0,0125	2,25±0,28 Aa	2,37±0,25 Aa
0,025	2,5±0,47 Aa	2,62±0,47 Aa
0,0375	2,62±0,28 Aa	2,62±0,47 Aa
0,05	2,75±0,5 Aa	2,87±0,25 Aa
C.V (%)	11,19	
Tratamentos do diflubenzuron (mg/l)	Duração do estágio L ₃ (dias) ^{n.s}	
	Rockfeller	Bodocongó
Controle (Água)	1,75±0,5	2,0±0,81
0,0025	2,37±0,47	2,25±0,47
0,0125	2,25±0,28	2,37±0,48
0,025	2,5±0,4	2,62±0,4
0,0375	2,5±0,48	2,62±0,47
0,05	2,5±0,4	2,87±0,4
C.V (%)	10,30	

¹ Teste de Tukey (P<0,05); ^{n.s} Não significativo pelo Teste F (P<0,05);

Médias originais. Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferiram entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Para efeito da análise estatística os dados foram transformados em \sqrt{x} . O estágio larval L₄ não foi considerado, pois em nenhuma das amostras tratadas com o inseticida, houve ecdisse desse instar para a fase de pupa.

O diflubenzuron apresentou atividade larvicida sobre toda a fase larval de *A. aegypti*, embora Rockfeller e Bodocongó tenham apresentado médias de mortalidade significativamente distintas para os estágios larvais L₁ (F= 4.8907; P<0,05), L₃ (F=4.1739; P<0,05) e L₄ (F=5.6264 P<0,05) (Tabela 4).

Não foram observadas diferenças significativas entre as populações estudadas para o instar L₂ (F= 0.9393; P>0,05), pois ambas apresentaram altas mortalidades em todos os tratamentos do inseticida. Nesse estágio larval foram verificadas as maiores médias mortalidades dentre as larvas amostradas, 39% para a Rockfeller e 48% para Bodocongó (Tabela 4).

As médias de mortalidade das larvas L₃ que foram expostas às concentrações do diflubenzuron variaram de 21 a 29% para a população Rockfeller e de 15 a 24% para Bodocongó, valores que foram inferiores aos verificados no estágio L₂, no qual se verificou as maiores mortalidades (Tabela 4). Esses dados corroboram o estudo de Martins & Silva (2004), que observaram no estágio L₃ de *A. aegypti* uma maior tolerância à ação inibidora do inseticida, quando comparado aos instares mais jovens. De acordo com Grosscurt (1978) o diflubenzuron atua sobre todos os estágios larvais da maioria dos culicídeos, porém sua atividade ocorre principalmente nos estágios larvais mais jovens, pelo fato destes serem mais sensíveis a atividade do inseticida

Nas larvas L₄ da população Rockfeller houve de 13 a 23% de mortalidade e nas larvas de Bodocongó de 20 a 30% (Tabela 4). Resultado similar ao observado por Silva (2006), que também evidenciou uma pequena redução de mortalidade em larvas de *A. aegypti* mais velhas, embora tenha verificado a eficácia do diflubenzuron sobre todos os estágios de desenvolvimento larval do inseto.

Tabela 4. Mortalidade (%) por estágio larval em amostras de *Aedes aegypti*, submetidas a diferentes concentrações do diflubenzuron.

Tratamentos do diflubenzuron (mg/l)	Mortalidade larval (%) de larvas L ₁ ^{n.s}	
	Rockfeller	Bodocongó
Controle (Água)	0,0	0,0
0,0025	21,0±6,0	14,0±11,54
0,0125	35,0±10,51	18,0±15,14
0,025	22,0±20	24,0±16,97
0,0375	14,0±2,3	14,0±5,16
0,05	24,0±3,26	7,0±2,0
C.V (%)	38,99	
Tratamentos do diflubenzuron (mg/l)	Mortalidade larval (%) de larvas L ₂ ^{n.s}	
	Rockfeller	Bodocongó
Controle (Água)	14,0±5,16	3,0±3,82
0,0025	39,0±6,0	48,0±16,32
0,0125	30,0±6,92	29,0±11,94
0,025	39,0±6,83	35,0±8,24
0,0375	34,0±7,65	44,0±5,65
0,05	35,0±6,0	46,0±7,65
C.V (%)	14,51	
Tratamentos do diflubenzuron (mg/l)	Mortalidade larval (%) de larvas L ₃ ^{n.s}	
	Rockfeller	Bodocongó
Controle (Água)	0,0	0,0
0,0025	21,0±6,0	16,0±11,77
0,0125	23,0±6,0	15,0±3,82
0,025	24,0±5,65	23,0±3,82
0,0375	29,0±6,83	22,0±2,3
0,05	27,0±9,45	24,0±11,77
C.V (%)	23,56	
Tratamentos do diflubenzuron (mg/l)	Mortalidade larval (%) de larvas L ₄ ^{n.s}	
	Rockfeller	Bodocongó
Controle (Água)	0,0	0,0
0,0025	19,0±6,0	22,0±15,49
0,0125	13,0±8,86	30,0±10,58
0,025	15,0±19,14	24,0±10,83
0,0375	23,0±6,0	20,0±3,26
0,05	14,0±7,65	27,0±5,03
C.V (%)	42,8	

^{n.s} Não significativo pelo Teste F (P<0,05).

Médias originais. Para efeito da análise estatística, os dados foram transformados em \sqrt{x} .

II. Oviposição e viabilidade dos ovos em populações de *Aedes aegypti*, em função da atividade do diflubenzuron

A população Rockefeller ovipositou em maior quantidade que Bodocongó, tanto no controle, quanto nas dosagens do inseticida. Na concentração de 0,025 mg/l do diflubenzuron, Rockefeller apresentou a média de 27,33 ovos, enquanto para Bodocongó a média foi de 13,58 ovos. Na concentração de 0,25 mg/l, Rockefeller teve a média de 43,41 ovos, e Bodocongó, a média de 12,58 ovos (Tabela 5). Constatou-se, portanto, diferenças significativas no número de ovos por fêmeas das duas populações avaliadas ($F= 12,6499$; $P<0,05$).

Em ambas as populações houve uma considerável preferência das fêmeas para ovipositar nos recipientes que continham apenas água destilada, haja vista, o maior número de ovos observado nos controles (Tabela 5). Isto corrobora os resultados verificados por Lopes *et al* (1993), que também evidenciaram que as fêmeas de *A. aegypti* geralmente são atraídas para ovipositar em locais que contenham água limpa.

Tabela 5. Oviposição e viabilidade dos ovos de populações *Aedes aegypti*, submetidas a duas concentrações do diflubenzuron.

Populações de <i>Aedes aegypti</i>	Controle ^{n,s} (Água)	0,025 mg/l ^{n,s}	0,25 mg/l ^{n,s}
Número de ovos			
Rockefeller	60,75 ± 0,18	27,33 ± 0,05	43,41 ± 0,1
Bodocongó	20,83 ± 0,57	13,58 ± 0,29	12,58 ± 0,44
C.V (%)		31,11	
Viabilidade dos ovos (%)			
Rockefeller	55,09 ± 0,05	85,27 ± 0,12	86,29 ± 0,13
Bodocongó	47,56 ± 0,03	53,33 ± 5,24	40,76 ± 3,86
C.V (%)		38,46	

^{n,s} Não significativo pelo Teste F ($P<0,05$).

Médias originais. Para efeito da análise estatística, os dados foram transformados em $\text{Log}(x)$.

A população Rockefeller quando exposta às concentrações de 0,025 e 0,25mg/l, apresentou os IAOs de -0,37 e de -0,16, respectivamente, e Bodocongó, -0,21 e -0,24. De acordo com Kramer & Mulla (1979), esses valores não indicam que as dosagens do diflubenzuron foram repelentes à oviposição de *A. aegypti*. Pode-se inferir, portanto, que o diflubenzuron não é capaz de produzir repelência às fêmeas de *A. aegypti* e que em condições de campo, a utilização desse produto não atua contra à oviposição em potenciais criadouros do mosquito.

Para Beserra *et al* (2010), a oviposição de *A. aegypti* não está associada ao grau de poluição da água, está relacionada às condições que o meio apresenta para o desenvolvimento e sobrevivência dos imaturos. Deste modo, a seleção de um local adequado para oviposição é fundamental para a sua distribuição e, conseqüentemente, para o estabelecimento de suas populações.

A ocorrência de ovos nos tratamentos com o diflubenzuron demonstra a habilidade do inseto em ovipositar na presença do inseticida, o que evidencia a alta capacidade adaptativa desse vetor (Tauil 2002) e também favorece o sucesso evolutivo da espécie, pois em condições de campo o produto imprime uma pressão seletiva sobre as populações do inseto. Segundo Consoli & Oliveira (1994) vários fatores podem estimular às fêmeas do inseto na seleção de locais para oviposição, dentre eles, as características físicas, químicas e biológicas do ambiente.

Com relação à viabilidade dos ovos de *A. aegypti*, evidenciou-se diferenças significativas entre as populações estudadas ($F= 4,2223$; $P<0,05$). Os ovos da Rockefeller provenientes dos tratamentos 0,025 e 0,25 mg/l, apresentaram 85,27 e 86,29% de viabilidade e os de Bodocongó, 53,33 e 40,76%, respectivamente. Verificando-se, portanto, uma maior viabilidade para os ovos da Rockefeller, independente da concentração utilizada, embora não se tenha observado distinção entre os tratamentos empregados ($F=0,5905$; $P>0,05$) (Tabela 7).

Os resultados observados demonstraram valores entre 40,76 e 86,29% de viabilidade dos ovos *A. aegypti*, o que sugeriu que o diflubenzuron não promoveu a inviabilidade dos ovos

quando estes foram expostos diretamente ao produto. Valores superiores aos observados por Suman *et al* (2013), que observaram a viabilidade de 25,5% de ovos de *A. aegypti* quando tratados com o diflubenzuron.

As viabilidades observadas no estudo foram altas, tendo em vista, que foram próximas às observadas por Beserra *et al* (2006, 2010), que verificaram na ausência do diflubenzuron os valores de 61,6 a 78,6% e de 50,4 a 96,2% de viabilidade dos ovos do inseto, o que é um indicativo de que o inseticida também não afetou a viabilidade dos ovos de *A. aegypti*.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de mestrado e à Universidade Estadual da Paraíba, em especial ao Laboratório de Entomologia do Núcleo de Bioecologia e Sistemática de Insetos, por todo o suporte oferecido para a realização desse trabalho.

Referências

Arakane Y, Specht CA, Kramer KJ, Muthukrishnan S, Beeman RW (2008) Chitin synthases are required for survival, fecundity and egg-hatch in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Insect Biochem. Mol. Biol* 38: 959-962.

Beserra EB, Castro-Júnior FP, Santos JW, Santos TS, Fernandes CRM (2006) Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. *Neotropical Entomology* 35(6):853-860.

Beserra EB, Fernandes CRM, Queiroga MFC, Castro-Júnior FP (2007) Resistência de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. *Neotropical Entomology* 36 (2): 303- 307.

Beserra EB, Castro-Júnior FP (2008) Biologia Comparada de Populações de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) da Paraíba. *Neotropical Entomology* 37: 81-85.

Beserra EB, Fernandes CRM, Sousa JT, Freitas EM, Santos, KD (2010). Efeito da qualidade da água no ciclo de vida e na atração para oviposição de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology* 39 (6): 1016-1023,

Consoli RAGB, Oliveira RL (1994) Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 225p.

Farnesi LC, Brito JM, Linss JG, Pelajo-Machado M, Valle D, Rezende GL (2012) Physiological and morphological aspects of *Aedes aegypti* developing larvae: effects of the chitin synthesis inhibitor Novaluron. *Plos One* 7: 1-9.

Forattini OP (2002) *Culicidologia Médica*. São Paulo: Edusp, 860p.

Grosscurt AC (1978) Diflubenzuron: some aspects of its ovicidal and larvicidal mode of action and evaluation of its practical possibilities. *Pesticide Science* 9: 373-386.

Gullan PJ, Cranston PS (2012) *Os insetos: um resumo de Entomologia*. 4ª Ed. Roca, São Paulo, 440p.

Kramer LW, Mulla JM (1979) Oviposition attractants and repellents of mosquitoes: oviposition responses of *Culex* mosquito to organic infusions. *Environ Entomol* 8: 1111-1117.

Lopes J, Silva MAN, Borsato AM, Oliveira VDRB, Oliveira FA (1993) *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* e a culicidofauna associada em área urbana da Região Sul do país. *Rev Saúde Pública* 27: 326-330.

Manrique-Saide P, Delifi n-González H, Parra-Tabla V, Ibáñez-Bernal S (1998) Desarrollo, mortalidad y sobrevivência de las etapas inmaduras de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en neumáticos. *Rev. Biomed.* 9: 84-91.

Mansur JF, Figueira-Mansur J, Santos AS, Santos-Junior H, Ramos IB, Medeiros MN, Machado EA, Kaiser CR, Muthukrishnan S, Masuda H, Melo ACA, Moreira MF (2010) The effect of lufenuron, a chitin synthesis inhibitor, on oogenesis of *Rhodnius prolixus*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 98: 59-67.

Martins F, Silva IG (2004) Avaliação da atividade inibidora do diflubenzuron na ecdise das larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37:135-138.

Rueda LM (2004) Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue Virus Transmission. *Zootaxa*. 589: 1-60.

Silva JJ (2006) Potencial dos Reguladores de Crescimento de Insetos (IGRs), diflubenzuron e Methoprene no controle de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) em Uberlândia – MG. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, p 75.

Silva HHG, Silva IG, Liraik S (1998) Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* em laboratório. *Rev. Patol. Trop.* 27: 51-63.

Suman DS, Parashar BD, Prakash S (2010) Effect of sublethal dose of diflubenzuron and azadirachtin on various life table attributes of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 47: 996–1002.

Suman DS, Wang Y, Bilgrami AL, Gaugler R (2013). Ovicidal activity of three insect growth regulators against *Aedes* and *Culex* mosquitoes. *Acta Tropica*. 128: 103– 109.

Tauil PL (2002) Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. *Caderno de Saúde Pública* 18: 867-871.

World Health Organization (WHO) (2006) Diflubenzuron in drinking water: Use for vector control in drinking water sources and containers. Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality, Geneva.

CONCLUSÕES GERAIS

- As quatro populações naturais de *A. aegypti* provenientes dos bairros Alto Branco, Cruzeiro, Nova Brasília e Bodocongó foram suscetíveis ao diflubenzuron e novaluron.
- O diflubenzuron apresentou uma atividade residual de 12 semanas sobre populações de *A. aegypti* e o novaluron durante 4 semanas de avaliação promoveu 100% de IE. Resultados que demonstram a persistência e a aplicabilidade dos produtos para o controle vetor.
- O diflubenzuron causou mortalidade nas larvas L₁, L₂, L₃ e L₄ das populações Rockfeller e Bodocongó, resultados que demonstram a eficácia do produto sobre todos os estágios do desenvolvimento larval de *A. aegypti*.
- Houve oviposição de *A. aegypti* nos tratamentos do diflubenzuron e os ovos tratados com o inseticida apresentaram valores entre 40,76 e 86,29% de viabilidade. Portanto, o inseticida não foi repelente às fêmeas e não promoveu a inviabilidade dos ovos do inseto, quando estes foram expostos diretamente ao produto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAKANE, Y.; SPECHT, C.A.; KRAMER, K.J; MUTHUKRISHNAN, S.; BEEMAN, R.W. Chitin synthases are required for survival, fecundity and egg-hatch in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. **Insect Biochem. Mol. Biol.** v. 38, p. 959-962, 2008.

ARREDONDO-JIMÉNEZ, J. I.; VALDEZ-DELGADO, K. M. Effect of Novaluron (Rimon 10 EC) on the mosquitoes *Anopheles albimanus*, *Anopheles pseudopunctipennis*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* from Chiapas, Mexico. **Med Vet Entomol.** v. 4, p. 377-87, 2006.

BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; QUEIROGA, M de F. C.; CASTRO-PINTO, F. P. Resistência de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. **Neotropical Entomology.** v. 36, n. 2. p. 303- 307, 2007.

BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; SOUSA, J. T. et al. Efeito da qualidade da água no ciclo de vida e na atração para oviposição de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, Londrina. v. 39, n. 6. p. 1016-1023, 2010.

BIZZARRO, B. **Efeito da saliva de *Aedes aegypti* sobre a diferenciação, maturação e função de dendríticas e na função do linfócito T.** Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, p 75, 2012.

BRAGA, I. M.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia Serviço Saúde.** v. 16. n. 4. p. 279-293, 2007.

DANTAS, V. C. S. D; PASSONI, L. F. C. Dengue: novas manifestações de uma velha doença – “Relato de caso e estudo comparativo entre o vírus do dengue sorotipo 3 e o da febre amarela”. **Revista de Saúde.** v. 37. n. 2, 2003.

DINIZ, M. M. C. S. L. **Custo adaptativo associado à resistência de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) ao Organofosforado Temefós.** Trabalho de Conclusão de Graduação, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2008.

FARNESI, L. C.; BRITO, J. M.; LINSS, J. G. et al. Physiological and morphological aspects of *Aedes aegypti* developing larvae: effects of the chitin synthesis inhibitor Novaluron. **Plos One.** v. 7. p. 1-9, 2012.

FISHER, R. A. **The genetical theory of selection.** Oxford, Inglaterra: Clarendon.1930.

FONTOURA, N. G. **Efeito do Novaluron - um inibidor da síntese de quitina - sobre *Aedes aegypti* em laboratório e simulado de campo.** Rio de Janeiro, Instituto Oswaldo Cruz. 2008. 90 p

GAMBARRA, W. P. T.; MARTINS, W. F. S.; BESERRA, E.B.; ALBUQUERQUE, I. M. C.; APOLINÁRIO, O. K. A. Spatial distribution and esterase activity in populations of *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) resistant to temephos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** v.46, n. 2. p. 178-184, 2013.

KEER, W. E.; PEREIRA, B. B.; CAMPUS-JÚNIOR, E. O.; LUÍS, D. P. Todos contra a dengue. **Extensão.** v. 8 n. 2. p. 155-157, 2009.

MACHADO, V.; FIÚZA, L. M. Evolução e Manejo da Resistência de Insetos. **Biociência & Desenvolvimento.** n 38. p. 68 -74, 2009.

MANSUR, J.F.; FIGUEIRA-MANSUR, J.; SANTOS, A.S.; SANTOS-JUNIOR, H.; RAMOS, I.B.; DE MEDEIROS, M.N.; MACHADO, E.A.; KAISER, C.R.; MUTHUKRISHNAN, S.; MASUDA, H.; MELO, A.C.A.; MOREIRA, M.F. The effect of lufenuron, a chitin synthesis inhibitor, on oogenesis of *Rhodnius prolixus*. **Pestic. Biochem. Physiol.** n. 98, p. 59-67. 2010.

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

PAIVA, M. H. S. **Monitoramento do gene que codifica a esterase envolvido na resistência a inseticidas organofosforados em populações naturais de *Aedes aegypti* do Brasil.** Dissertação de Mestrado. Centro de Pesquisas Ageu Magalhães. Recife. 2006.

POLETTI, M.; OMOTO, C. Resistência de inimigos naturais a pesticidas. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento.** n.30, p. 16-26, 2003.

RAJASEKAR, P.; JEBANESAN, A. Efficacy of IGRs compound Novaluron and Buprofezin against *Culex quinquefasciatus* mosquito larvae and pupal control in pools, drains and tanks. **International Journal of Research in Biological Sciences.** v. 2, n.1. p. 45-47, 2012.

SILVA, A. D. **Distribuição de populações de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) resistentes ao temefós, no município de Campina Grande-PB.** Trabalho de Conclusão de Graduação, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2010.

SISTEMA DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO (SINAN/SES-PB). Secretaria Estadual de Saúde-Paraíba. João Pessoa – PB, **Boletim Epidemiológico da Dengue**. 2011.

SUMAN, D.S.; PARASHAR, B. D.; PRAKASH, S. Effect of sublethal dose of diflubenzuron and azadirachtin on various life table attributes of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **J. Med. Entomol.** v. 47, p. 996–1002, 2010.

TAUIL, P. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 18, p. 867-871, 2002.

VASILAKIS, N. **The Daemon in the Forest: The Emergence of a New Dengue Serotype in Southeast Asia**. Third International Conference on Dengue and Dengue Haemorrhagic (Dengue 2013), The University of Texas Medical Branch, Galveston, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diflubenzuron in drinking water: Use for vector control in drinking water sources and containers**. Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. Geneva, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Novaluron in drinking-water: Use for vector control in drinking-water sources and containers**. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, 2008.