

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Pós-Graduação em Biologia Parasitária

Mariana Rocha David

**Avaliação temporal de aspectos relacionados à
capacidade vetorial de populações de *Aedes aegypti*
com diferentes perfis de resistência a inseticidas**

Dissertação submetida à coordenação do curso de Pós-Graduação em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Biologia Parasitária.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Maciel de Freitas

RIO DE JANEIRO

Março de 2012

D249 David, Mariana Rocha

Avaliação temporal de aspectos relacionados à capacidade vetorial de populações de *Aedes aegypti* com diferentes perfis de resistência a inseticidas / Mariana Rocha David. – Rio de Janeiro, 2012. xvi, 127 f. : il. ; 30 cm.

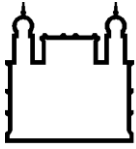
Dissertação (mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biologia Parasitária, 2012.

Bibliografia: f. 108-123

1. Dengue. 2. *Aedes aegypti*; 3. Resistência; 4. Capacidade Vetorial.

I. Título.

CDD 614.432 3



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Pós-Graduação em Biologia Parasitária

AUTOR: Mariana Rocha David

Avaliação temporal de aspectos relacionados à capacidade vetorial de populações de *Aedes aegypti* com diferentes perfis de resistência a inseticidas

ORIENTADOR: Prof. Dr. Rafael Maciel de Freitas

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Cléber Galvão – Presidente (FIOCRUZ/Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro)

Prof. Dra. Cláudia Codeço (FIOCRUZ/Centro de Métodos Quantitativos, Rio de Janeiro)

Prof. Dra. Maria Lourdes Macoris (Superintendência de Controle de Endemias, São Paulo)

Prof. Dr. Moacyr Silva (Fundação Getúlio Vargas, Rio de Janeiro)

Prof. Dr. Ademir Martins (FIOCRUZ/Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro)

Rio de Janeiro, 26 de março de 2012.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, com recursos da Fundação Oswaldo Cruz, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

À minha mãe, Maria Ignez, mãe e amiga, por
sonhar sempre junto comigo.

AGRADECIMENTOS

Ao meu amigo e orientador desde a graduação, Rafael, pela confiança em mim depositada, dedicação, paciência e carinho e por me ensinar muito mais que biologia. Conte sempre comigo.

Obrigada aos amigos do Laboratório de Transmissores de Hematozoários. Todos sempre ajudam um pouquinho, até mesmo sem perceber. Em especial, gostaria de agradecer ao Dr. Ricardo Lourenço pela oportunidade de estar aqui hoje, oportunidade essa que se tornou um objetivo de vida. Sou muito grata em trabalhar ao seu lado. Obrigada ao Gabriel, companheiro desde a graduação, Bia, Lilha, Reginaldo, Beto e Maycon pela ajuda e amizade.

A toda a equipe do Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores. Vocês verdadeiramente me “adotaram”, me sinto muito honrada em trabalhar com um grupo tão unido e de enorme seriedade. Um agradecimento muito especial à Gabi por dividir comigo este projeto e se tornar uma grande amiga. Tenho certeza que nossa parceria ainda será muito duradoura. Gostaria de agradecer também à Dra. Denise Valle pela grande colaboração, ótimas discussões e por tudo que aprendi. Obrigada ao Rafael Guedes e Valdice de Paula pela ajuda com a criação dos mosquitos e manutenção das colônias.

À minha família, especialmente à minha mãe, por estar sempre ao meu lado, me ouvir e aconselhar nas horas mais difíceis. Obrigada também por toda a ajuda nos momentos de correria e os mimos de sempre. Gostaria de agradecer também à minha irmã Fernanda, Tia Bebel, Vovó Gilda e Papai por todo amor que me cerca todos os dias e pela torcida de que tudo desse certo.

Ao Hugo pelo carinho, amizade, amor e apoio incondicionais.

Ao Dr. Cléber Galvão, pela revisão desta dissertação, e aos demais membros da banca examinadora.

Às minhas amigas “não-biólogas” Nádia, Clarice e Renata, à Vivi e aos amigos da natação, Equipes MARguaça e OTreino, pelos momentos maravilhosos de alegria e por todo o carinho, apoio e força.

Ao Instituto Oswaldo Cruz e o Instituto de Biologia do Exército pelo apoio financeiro e técnico para a realização do nosso trabalho.

À Comissão de Pós-Graduação em Biologia Parasitária pelo esforço e dedicação que resultam na excelência de nosso curso. Um obrigado especial à Luciane Wandermurem por estar sempre pronta a ajudar e tirar nossas dúvidas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro e concessão da minha bolsa de mestrado.

"As estrelas são todas iluminadas. Não será para que cada um possa, um dia, encontrar a sua?"

(O Pequeno Príncipe, Antoine de Saint-Exupéry)

ÍNDICE

RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1.INTRODUÇÃO.....	01
1.1.Dengue.....	01
1.2.Vetores do dengue.....	01
1.3.Principais medidas de controle de vetores.....	03
1.4.Mecanismos de resistência a inseticidas	06
1.5.Desenvolvimento da resistência a inseticidas.....	07
1.6.Estratégias de manejo da resistência a inseticidas.....	09
1.7.Aptidão (fitness) relativa dos indivíduos resistentes na ausência de inseticidas.....	10
1.8.Capacidade vetorial e resistência a inseticidas.....	12
2. JUSTIFICATIVA.....	14
3. OBJETIVOS.....	16
3.1.Objetivo geral.....	16
3.2.Objetivos específicos.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
4.1.Obtenção em campo das populações de <i>Aedes aegypti</i>	17
4.2.Avaliação de aspectos da biologia de populações de campo de <i>Aedes aegypti</i> relacionados à capacidade vetorial e análises estatísticas empregadas.....	18
4.2.1.Cinética do desenvolvimento larvar.....	19
4.2.2.Tolerância ao jejum de formas adultas.....	22
4.2.3.Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas.....	23
4.2.4.Sucessos de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas.....	24
4.3.Perfil e histórico da resistência a inseticidas das populações de campo de <i>Aedes aegypti</i> e sua relação com os parâmetros biológicos estudados.....	25
5. RESULTADOS.....	27
5.1. Aspectos gerais da biologia das populações de <i>Aedes aegypti</i> estudadas.....	27
5.1.1.Cinética do desenvolvimento larvar.....	27
5.1.2.Tolerância ao jejum de formas adultas e comprimento de asas.....	29
5.1.3.Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas.....	32

5.1.4.Sucesso de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas.....	33
5.1.5.Perfil e histórico da resistência a inseticidas das populações de campo de <i>Aedes aegypti</i>	37
5.2.Aspectos específicos da biologia das populações de <i>Aedes aegypti</i> estudadas e a resistência aos inseticidas temephos e deltametrina.....	39
5.2.1.Campo Grande/MS.....	39
5.2.1.1.Cinética do desenvolvimento larvar.....	39
5.2.1.2.Tolerância ao jejum de formas adultas.....	42
5.2.1.3.Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas.....	46
5.2.1.4.Sucesso de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas.....	48
5.2.2.Duque de Caxias/RJ.....	53
5.2.2.1.Cinética do desenvolvimento larvar.....	53
5.2.2.2.Sobrevivência em jejum de formas adultas.....	56
5.2.2.3.Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas.....	60
5.2.2.4.Sucesso de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas.....	62
5.2.3.Parnamirim/RN	67
5.2.3.1.Cinética do desenvolvimento larvar.....	67
5.2.3.2.Sobrevivência em jejum de formas adultas.....	70
5.2.3.3.Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas.....	74
5.2.3.4.Sucessos de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas.....	76
5.2.5.Santarém/PA.....	81
5.2.5.1.Cinética do desenvolvimento larvar.....	81
5.2.5.2.Tolerância ao jejum de formas adultas.....	84
5.2.5.3.Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas.....	88
5.2.5.4.Sucessos de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas.....	90
6.DISSCUSSÃO.....	96
7.CONCLUSÕES.....	106
8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	108

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 4.1.....	20
Figura 4.2.....	22
Figura 4.3.....	23
Figura 5.1.....	29
Figura 5.2.....	30
Figura 5.3.....	31
Figura 5.4.....	32
Figura 5.5.....	33
Figura 5.6.....	34
Figura 5.7.....	35
Figura 5.8.....	36
Figura 5.9.....	37
Figura 5.10.....	40
Figura 5.11.....	42
Figura 5.12.....	43
Figura 5.13.....	44
Figura 5.14.....	45
Figura 5.15.....	46
Figura 5.16.....	47
Figura 5.17.....	48
Figura 5.18.....	49
Figura 5.19.....	50
Figura 5.20.....	51
Figura 5.21.....	52
Figura 5.22.....	55
Figura 5.23.....	56
Figura 5.24.....	57
Figura 5.25.....	58
Figura 5.26.....	59
Figura 5.27.....	60

Figura 5.28.....	61
Figura 5.29.....	62
Figura 5.30.....	63
Figura 5.31.....	64
Figura 5.32.....	65
Figura 5.33.....	66
Figura 5.34.....	69
Figura 5.35.....	70
Figura 5.36.....	71
Figura 5.37.....	72
Figura 5.38.....	73
Figura 5.39.....	74
Figura 5.40.....	75
Figura 5.41.....	76
Figura 5.42.....	77
Figura 5.43.....	78
Figura 5.44.....	79
Figura 5.45.....	80
Figura 5.46.....	83
Figura 5.47.....	84
Figura 5.48.....	85
Figura 5.49.....	86
Figura 5.50.....	87
Figura 5.51.....	88
Figura 5.52.....	89
Figura 5.53.....	90
Figura 5.54.....	91
Figura 5.55.....	92
Figura 5.56.....	93
Figura 5.57.....	94
Figura Suplementar I.....	124

Figura Suplementar II.....	125
Figura Suplementar III.....	126
Figura Suplementar IV.....	127

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 4.1.....	18
Tabela 5.1.....	28
Tabela 5.2.....	28
Tabela 5.3.....	38
Tabela 5.4.....	41
Tabela 5.5.....	41
Tabela 5.6.....	54
Tabela 5.7.....	54
Tabela 5.8.....	68
Tabela 5.9.....	68
Tabela 5.10.....	82
Tabela 5.11.....	82
Tabela 5.12.....	95

RESUMO

Considera-se que a resistência a inseticidas estaria associada a custos na aptidão dos indivíduos resistentes, uma vez que recursos energéticos seriam realocados para a produção e manutenção dos mecanismos responsáveis pela resistência. Neste contexto, este estudo visa avaliar temporalmente como alguns parâmetros biológicos relacionados à capacidade vetorial de *A. aegypti* estão associados à resistência aos inseticidas em populações provenientes de Campo Grande/MS (CG), Duque de Caxias/RJ (DC), Parnamirim/RN (PN) e Santarém/PA (ST). A variação temporal do perfil de resistência a temephos (organofosforado) e deltametrina (piretróide) foi monitorada a cada três meses, durante um ano, assim como algumas características biológicas deste mosquito. O tempo de desenvolvimento de larvas L1 até a fase adulta foi medido através da observação de 120 indivíduos de cada população e para cada mês. Além disso, observou-se o sexo, a tolerância ao jejum e comprimento de asa dos adultos resultantes. Com a finalidade de avaliar a sobrevivência e aspectos relacionados à fecundidade, 60 fêmeas adultas foram mantidas individualmente em tubos de plástico cilíndricos. Todos os experimentos foram realizados em paralelo com a linhagem Rockefeller, como controle ambiental. As populações das diferentes localidades e Rockefeller mostraram diferenças significativas para alguns dos parâmetros estudados, o que provavelmente reflete a adaptação às condições ambientais locais e ao laboratório, respectivamente. As fêmeas apresentaram menor tolerância ao jejum que os machos. Há evidências de que a resistência a ambos os inseticidas esteja negativamente correlacionados com algumas das características biológicas avaliadas para todas as populações, sugerindo uma menor aptidão dos indivíduos resistentes na ausência dos inseticidas. Mosquitos da CG apresentaram menor tolerância ao jejum (~ 72h para fêmeas e 111h para os machos), tamanho de asa e sucesso de oviposição (muitas fêmeas não puseram ovos) associados à maior resistência a deltametrina. População DC parece ser a mais afetada pela resistência a inseticidas, já que o desenvolvimento larval, tolerância ao jejum (~ 66h para fêmeas e 116h para os machos), tamanho da asa, sobrevivência (~ 15 dias) e fecundidade (apenas durante a primeira semana de experimentos) de fêmeas adultas foram associados à resistência ao temephos. Considerando PN, a sobrevivência de fêmeas adultas de *Ae. aegypti* variou de acordo com a resistência ao temephos (~ 23 dias), enquanto isso, o sucesso de oviposição (para a primeira semana de monitoramento) e a fecundidade foram, aparentemente, associados à resistência à deltametrina. Há evidências de que o tempo de desenvolvimento e a fecundidade de ST estejam associados à resistência ao temephos, bem como a tolerância ao jejum (~79h para fêmeas e 116h para os machos) e comprimento de asas pareceram variar de acordo com a resistência à deltametrina. Estas observações suportam a hipótese de que a resistência a inseticidas é positiva durante as intervenções baseadas no controle químico, por exemplo. No entanto, na ausência destes compostos, a resistência pode resultar em custos sobre a aptidão dos indivíduos resistentes, o que reforça a hipótese de que a resistência aos inseticidas possa alterar capacidade vetorial de mosquitos.

ABSTRACT

Insecticide resistance is considered to be associated with fitness costs due to the re-allocation of metabolic resources to production and maintenance of mechanisms responsible for resistance. In this context, this study aimed to assess how insecticide resistance is associated with some life history traits related to vectorial capacity of *A. aegypti* in Brazilian populations from Campo Grande/MS (CG), Duque de Caxias/RJ (DC), Parnamirim/RN (PN) and Santarém/PA (ST). The profile and temporal variation in temephos (organophosphate) and deltamethrin (pyrethroid) resistances were monitored every three months, during one year, as well as some mosquito traits. The development time elapsed between L1 larvae and the adult stage was measured through the observation of 120 individual larvae from each population and for every month. Additionally, it was observed sex, starvation time and wing length for resulting adults. In order to evaluate survival and fecundity aspects, 60 adult females were kept individually in cylindrical plastic tubes. All experiments were performed in parallel with the Rockefeller strain, as a control of insecticide susceptibility. The populations of different localities and Rockefeller showed significant differences for some of the parameters studied, which probably reflects adaptation to local environmental conditions and to the laboratory, respectively. Females showed shorter starvation time than males. There is evidence that insecticide resistance for both insecticides is negatively correlated with some of the biological traits evaluated for all populations evaluated, suggesting lower fitness of resistant individuals in the absence of insecticide. Mosquitoes from CG showed lower starvation time (~72h for females and 111h for males), wings size and oviposition success (many females did not lay eggs) associated with increased deltamethrin resistance. DC population seemed to be the most affected by insecticide resistance, since larval development, starvation time (~66h for females and 116h for males), wing size; survival (~ 15 days) and fecundity (only during the first week of experiments) of adult females were somehow associated with temephos resistance. With respect to PN, *Ae. aegypti* female survival varied according to temephos resistance (~ 23 days); meanwhile, oviposition success (for the first week of monitoring) and fecundity were apparently associated with deltamethrin resistance. There is evidence that the development time and fecundity of ST were associated with temephos resistance, as well as starvation time (~ 79h for females and 116h for males) and wings length appeared to vary in accordance to deltamethrin resistance. These observations support the hypothesis that insecticide resistance is positive during chemical control interventions, for instance. However, in the absence of these compounds, resistance may result in fitness costs on those resistant individuals, reinforcing the hypothesis that insecticide resistance affect mosquito vectorial capacity.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Dengue

A dengue se configura atualmente como um dos maiores problemas mundiais de saúde pública, afetando anualmente 50-100 milhões de pessoas em todo o mundo (Guzmán e Kourí 2003). No momento, o vírus dengue é o responsável por mais casos de doença e morte do que qualquer outro vírus transmitido por artrópodes (Guzmán e Kourí 2002). O aumento da incidência da doença nas últimas décadas está relacionado ao intenso crescimento populacional humano e à urbanização desordenada, especialmente nos países em desenvolvimento, aliados à ineficiência da gestão de recursos e das práticas de controle de vetores (Gubler 1998; Lambrechts et al. 2009). Assim, a precariedade dos sistemas de saneamento básico, abastecimento de água e coleta de lixo favorecem a proliferação de insetos transmissores desta e de outras enfermidades.

O dengue é um vírus de RNA fita-simples positiva, pertencente à família Flaviviridae e ao gênero *Flavivirus*. São quatro sorotipos antigenicamente distintos denominados DENV-1, 2, 3 e 4 (Gluber e Kuno 1997). Em humanos, os quatro sorotipos causam uma doença febril cujos sintomas aparecem cerca de 3 a 14 dias após a picada de vetores infectados e se manifesta clinicamente sob a forma clássica ou sob a forma hemorrágica (Gluber e Kuno 1997; Rigau-Perez et al. 1998). Atualmente, a dengue está presente em mais de 100 países (WHO e TDR 2009). Acredita-se que o vírus seja originário da Ásia e tenha se disseminado pelo mundo durante o período das grandes navegações (Gluber e Kuno 1997). Nas Américas, os primeiros registros da ocorrência de epidemias de dengue datam da segunda metade do século XVIII (Roush 1789 apud. Guzmán e Kourí 2003). Já no Brasil, após um longo período ausente ou silencioso, a primeira epidemia no passado recente ocorreu em 1986 (Silva Jr et al. 2002). Desde então, a dengue apresenta um padrão sazonal de maior incidência no verão, período de maior temperatura e pluviosidade.

1.2. Vetores do dengue

A transmissão do vírus dengue entre humanos está associada às fêmeas de mosquitos do gênero *Aedes* (Diptera: Culicidae), as quais o adquirem após a ingestão de sangue contendo partículas virais. No mosquito, o vírus dengue se replica em diversos tecidos, mas somente quando atinge as glândulas salivares da fêmea, num período geralmente

compreendido entre 10-14 dias e conhecido como período de incubação extrínseco (PIE), que esta se torna infectiva. A partir deste momento, o vírus será inoculado na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado juntamente com a saliva do inseto em todas as picadas subsequentes (Gluber e Kuno 1997).

Embora fêmeas das espécies *Ae. albopictus*, *Ae. polynesisensis* e *Ae. scutellaris* possam atuar como vetores em algumas regiões (Gluber e Kuno 1997), o *Ae. aegypti* é o único vetor conhecido do dengue nas Américas e é altamente susceptível a este vírus (Lourenço-de-Oliveira et al. 2004). Sua distribuição geográfica atual compreende as zonas tropicais e subtropicais do planeta, predominando em áreas urbanas e periurbanas (Braks et al. 2003). Esta espécie de origem africana foi provavelmente introduzida no Brasil durante o período colonial trazida pelos navios negreiros, tendo importância epidemiológica primeiramente como vetor da febre amarela (Consoli e Lourenço-de-Oliveira 1994; Lounibos 2002). No final da década de 1950, o *Ae. aegypti* foi considerado erradicado do território brasileiro, após intensas medidas de controle lideradas inicialmente por Oswaldo Cruz e, posteriormente, pela Fundação Rockefeller. Porém, uma vez que a espécie não foi eliminada de toda a América, o Brasil foi colonizado novamente após a década de 1970 (Braga e Valle 2007a). Atualmente, o *Ae. aegypti* encontra-se presente nos 26 Estados brasileiros e no Distrito Federal (SVS 2006).

Esta espécie está adaptada ao ambiente sinantrópico e apresenta íntima associação com os seres humanos. Fêmeas de *Ae. aegypti* são encontradas principalmente no ambiente urbano de zonas metropolitanas (Braks et al. 2003), se alimentam raramente de fontes açucaradas e possuem preferência pelo sangue humano (Edman et al. 1992). Observa-se que as fêmeas freqüentemente realizam mais de uma alimentação sanguínea por ciclo gonotrófico, além de diversas tentativas interrompidas no mesmo ou em diferentes hospedeiros (Halstead 2008). É um mosquito diurno, com maior atividade ao amanhecer e no final da tarde (Consoli e Lourenço-de-Oliveira 1994). Além disso, utiliza como sítios de oviposição predominantemente recipientes artificiais associados ao homem (Peryassu 1908) preenchidos pela chuva ou utilizados como recipiente de armazenamento de água para uso doméstico. Dentre os quais se destacam pneus, caixas d'água, tonéis, pratos de planta e ralos, dependendo da oferta de depósitos em cada localidade (Consoli e Lourenço-de-Oliveira 1994; Maciel-de-Freitas et al. 2007a; David et al. 2009).

Até o momento, não há vacinas, medicamentos profiláticos ou quimioterápicos específicos disponíveis para o tratamento de pacientes com dengue. Deste modo, o único meio disponível para redução da transmissão é o controle do mosquito vetor (Gluber 1998; Rigau-Pérez 1998; Morrison et al. 2008), uma vez que a erradicação do *Ae. aegypti* e do vírus não é uma meta atingível no contexto atual. Idealmente, as atividades de controle do *Ae. aegypti* devem manter a população do vetor abaixo de um nível crítico, a partir do qual a transmissão do dengue seria reduzida, evitando assim o surgimento de epidemias (Focks 2003; Morrison et al. 2008). Presentemente, o controle do *Ae. aegypti* é complexo e constitui um grande desafio para a saúde pública.

1.3. Principais medidas de controle de vetores

O controle de vetores pode ser exercido, principalmente, por meio do controle mecânico, biológico e químico (Rose 2001). Para o vetor *Ae. aegypti*, a eliminação de sítios de oviposição ou impedimento do acesso das fêmeas a estes recipientes são as atividades mais eficazes de controle mecânico (Rozendaal 1997, IOC 2011). Para tal, recomendam-se, por exemplo, melhorias nos sistemas de abastecimento de água, uma vez que recipientes utilizados para armazenamento de água freqüentemente têm papel importante como criadouros de *Ae. aegypti* em centros urbanos onde o fornecimento é irregular ou inexistente (Barrera et al. 1993; Maciel-de-Freitas et. al. 2007a). A modificação destes recipientes através do uso de tampas e telas, eliminando o acesso do mosquito às proximidades da lâmina d'água, pode amenizar o problema, reduzindo a infestação e a população de mosquitos adultos (Maciel-de-Freitas e Lourenço-de-Oliveira 2011).

Em localidades onde o abastecimento de água é regular, campanhas educativas podem alertar a população da importância de criadouros menores e comumente sujeitos ao regime de chuvas, tais como ralos e vasilhames plásticos (David et al. 2009). Adicionalmente, o emprego de telas, mosquiteiros e repelentes podem reduzir o contato entre humanos e mosquitos, dificultando a emergência e epidemias. Porém, estes tipos de intervenção exigem planejamento por parte do governo e, principalmente, comprometimento massivo da população, o que geralmente só ocorre durante grandes epidemias (Morrison et al. 2008). Além disso, tais medidas devem ser duradouras para que sejam realmente eficazes.

O controle biológico, por sua vez, se baseia na utilização de organismos predadores, parasitas ou competidores. Dentre as vantagens deste tipo de intervenção, destacam-se a não contaminação ambiental e a especificidade contra a espécie alvo. Entretanto, devem ser utilizadas apenas espécies nativas, o que nem sempre é fácil, pois vetores são muitas vezes espécies invasoras e, em algumas localidades, podem não ter inimigos naturais. A dificuldade e o custo de criação em larga escala de alguns organismos também podem ser um problema (Rozendaal 1997).

Peixes que se alimentam de larvas e o *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) são os organismos mais empregados, embora o potencial para utilização no controle de outras bactérias, fungos, protozoários, insetos e crustáceos venha sendo averiguado (Rozendaal 1997). Diversas espécies de peixe são empregadas para o controle em criadouros naturais e artificiais. No nordeste brasileiro a espécie *Betta splendens* é bastante utilizada em tanques domésticos (Cavalcanti et al. 2007). Já o Bti vem sendo empregado no controle de *Ae. aegypti* como alternativa aos larvicidas neurotóxicos, aos quais muitas populações já desenvolveram altos níveis de resistência (Braga e Valle 2007b). A bactéria produz cristais tóxicos que se solubilizam no ambiente alcalino do intestino médio dos insetos susceptíveis, causando lise celular e, conseqüentemente, sua morte (Whalon e Wingerd 2003). Entretanto, o Bti possui baixa persistência no ambiente (Rozendaal 1997).

Por fim, o emprego de fungos entomopatogênicos no controle de vetores vem sendo investigado (Scholte et al. 2007). Diferentes espécies de fungo se mostraram patogênicas para adultos de *Ae. aegypti* (Leles et al. 2010), contudo duas delas são mais estudadas: *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* (Scholte et al. 2007; De Paula et al. 2008). De acordo com a metodologia proposta, os mosquitos são passivamente infectados por conídios dos fungos entomopatogênicos quando repousam em áreas impregnadas com óleo contendo esporos. Estes aderem e penetram na cutícula do mosquito e crescem internamente, produzindo toxinas que levam o inseto à morte (Scholte et al. 2004). Em anofelinos, a infecção por esse fungo também levou à redução do desenvolvimento do *Plasmodium chabaudi*, da habilidade das fêmeas em se alimentar de sangue (Blanford et al. 2005) e da sua fecundidade (Scholte et al. 2006).

Já o controle químico emprega xenobióticos, mais especificamente inseticidas, para diminuir a densidade populacional do vetor. Os principais inseticidas utilizados no controle

químico podem ser divididos em quatro classes: organoclorados, piretróides, organofosforados e carbamatos. Todos atuam sobre o sistema nervoso central dos insetos (Palchick 1996).

Os organoclorados são compostos químicos que contém moléculas de carbono, hidrogênio e cloro (Ware e Whitacre 2000). O mais famoso deles é sem dúvida o DDT, primeiro inseticida amplamente utilizado e pioneiro no controle das formas adultas de mosquitos. Empregado inicialmente nos programas de controle de anofelinos transmissores de malária na década de 1940, o DDT reduziu rapidamente a incidência desta e outras doenças transmitidas por insetos (Roberts 2010). Os piretróides são compostos sintéticos similares àqueles produzidos por plantas do gênero *Chrysanthemum* (Rozendal 1997).

Sabe-se que organoclorados e piretróides atuam sobre os canais de sódio das membranas celulares das células nervosas (Ware e Whitacre 2000). Normalmente, após um estímulo, estas proteínas permitem a entrada de íons Na^+ na célula, o que resulta na onda de despolarização da membrana plasmática e na transmissão do impulso nervoso. Logo depois, os canais adotam uma conformação inativa e bloqueiam a passagem do Na^+ , permitindo que a membrana retorne ao potencial de repouso (Alberts et al. 2007). Os organoclorados e piretróides mantêm os canais de sódio abertos, o que leva à passagem contínua de impulsos nervosos, causando paralisia e subsequente morte do inseto (Hemingway et al. 2004). Atualmente, o uso dos organoclorados encontra-se proibido em muitos países devido à sua alta persistência no ambiente e acúmulo em tecidos animais (Roberts 2010). Os piretróides, por sua vez, são vastamente empregados no controle de vetores devido à menor toxicidade para grupos não-alvo, como aves e mamíferos (Rozendaal 1997).

Os organofosforados são inseticidas que contém fósforo, altamente tóxicos para os vertebrados, porém com baixo acúmulo nos tecidos animais e persistência no ambiente (Rozendal 1997). Já os carbamatos são compostos menos tóxicos, derivados do ácido carbâmico (Ware e Whitacre 2000). Todavia, ambos atuam inibindo a Acetilcolinesterase (AChE) (Hemingway et al. 2004). Esta enzima atua no sistema nervoso hidrolisando a acetilcolina, neurotransmissor responsável por estimular a abertura de canais iônicos específicos presentes na junção de neurônios e células musculares que permitem o fluxo de íons e a passagem de impulsos nervosos (Alberts et al. 2007). A inativação da AChE resulta no acúmulo de acetilcolina nas sinapses nervosas, impedindo a interrupção da propagação do

impulso nervoso. Conseqüentemente, o sistema nervoso permanece continuamente estimulado, causando paralisia e morte no inseto.

A implementação dos inseticidas como principal arma contra insetos vetores de doenças tropicais, juntamente com o desenvolvimento de medicamentos e vacinas, gerou a expectativa de que muitas destas doenças logo seriam erradicadas do planeta (Lourenço-de-Oliveira 2005). Porém, o aparecimento de populações de vetores resistentes aos inseticidas devido ao seu uso contínuo se tornou um importante obstáculo ao controle e erradicação desses insetos, influenciando a re-emergência de doenças por eles transmitidas.

1.4. Mecanismos de resistência a inseticidas

Um fenômeno bastante conhecido é a não-letalidade de alguns indivíduos quando há contato com certa dose de inseticida. Conceitualmente, a resistência pode ser definida como a capacidade de uma população de insetos de tolerar uma dose de inseticida que normalmente causaria sua morte (Braga e Valle 2007b).

Os principais mecanismos que conferem tolerância aos inseticidas podem ser classificados em resistência metabólica e alteração do sítio alvo, que, freqüentemente juntos, conferem resistência à maioria dos inseticidas disponíveis (Hemingway et al. 2004). Além destes, alterações na cutícula do inseto podem reduzir a taxa de penetração do inseticida e alterações comportamentais podem fazer com que o inseto evite o contato com o mesmo (Taylor 1986; Braga e Valle 2007b). Vale ressaltar que o mesmo mecanismo pode conferir resistência a mais de uma classe de inseticida, o que é denominado resistência cruzada.

A resistência metabólica ocorre quando há aumento nos níveis ou na atividade de enzimas de detoxificação. Esterases, monooxigenases e glutathione-S-transferases (GST) são os principais grupos que atuam neste processo, tornando os compostos químicos tóxicos, como os inseticidas, mais solúveis em água, facilitando assim sua eliminação do organismo (Hemingway et al. 2004; Braga e Valle 2007b).

Assim, a resistência pode resultar da mudança funcional destas enzimas, como documentado em moscas domésticas (Oppenoorth e van Asperen 1960) e na mosca varejeira *Lucilia cuprina* (Newcomb et al. 1997). Estas duas espécies adquiriram a capacidade de hidrolisar organofosforados por meio de uma mutação no gene que codifica um tipo de esterase. Adicionalmente, o aumento da produção destas proteínas via mudanças nos genes que regulam a

transcrição e/ou através de amplificação gênica também pode conferir resistência metabólica (French-Constant et al. 2004). No mosquito *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) observa-se a superprodução de esterases, resultante de modificações nos genes reguladores e do aumento das cópias dos alelos que codificam estas proteínas (Raymond et al. 2001).

Em *Ae. aegypti*, até o momento, não foram detectadas mudanças funcionais nas enzimas de detoxificação citadas anteriormente (Marcombe et al. 2009). Desta forma, a resistência a inseticidas nesta espécie está correlacionada com a atividade aumentada de pelo menos um tipo de enzima envolvida no metabolismo de xenobióticos (Marcombe et al. 2009; Martins et al. 2009; Melo-Santos et al. 2010; Somwang et al. 2011). Por exemplo, foi detectado aumento na atividade de esterases e GST em populações de *Ae. aegypti* do nordeste brasileiro resistentes a organofosforados (Montella et al. 2007).

Mudanças nas proteínas sobre as quais atuam os inseticidas, como o canal de sódio e a AchE, podem tornar os insetos resistentes. Este tipo de modificação, conhecida como alteração do sítio-alvo, resulta na diminuição ou perda da afinidade entre o composto químico e o sítio sobre o qual este atua (Hemingway et al. 2004). O fenótipo que confere resistência ao DDT e a piretróides é conhecido como *knockdown resistance (kdr)*, uma vez que as contrações involuntárias seguidas de morte provocadas pela ligação destes compostos no canal de sódio (chamadas de efeito *knockdown*) não ocorre nos indivíduos que possuem tal característica (Busvine 1951). O *kdr* resulta de modificações na estrutura do canal de sódio, fazendo com que já foi descrito para diferentes espécies de insetos, dentre elas *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) (Busvine 1951), *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) (Martinez-Torres et al. 1998) e o próprio *Ae. aegypti* (Severson et al. 1997).

Alterações na seqüência de aminoácidos da AchE podem conferir resistência a organofosforados e carbamatos (Hemingway et al. 2004). De fato, mutações que diminuem a sensibilidade desta enzima a estes compostos já foram detectadas em alguns insetos, dentre eles *Anopheles gambiae* e *Culex pipiens* (French-Constant et al. 2004), porém ainda não em *Ae. aegypti* (Montella et al. 2007; Marcombe et al. 2009; Melo-Santos et al. 2010).

1.5. Desenvolvimento da resistência a inseticidas

A exposição aos inseticidas não está relacionada ao surgimento da resistência, pois, mesmo antes da sua utilização no controle, indivíduos que portam alelos que os tornam

resistentes já estão presentes na população, mas em baixas frequências (Crow 1957; Ridley 2006). Além disso, insetos herbívoros, por exemplo, frequentemente possuem alta atividade das enzimas de detoxificação, característica necessária para lidar com compostos secundários produzidos pelas plantas dos quais se alimentam. Neste cenário, mosquitos poderiam desenvolver mecanismos semelhantes que os permitissem conviver com material vegetal depositado nos criadouros (Taylor 1986; Roush e McKenzie 1987; Mallet 1989). Assim, diferentes espécies e populações podem naturalmente variar seus níveis de tolerância aos inseticidas, mesmo antes de submetidas ao controle químico (Ferrari 1996.)

Devido à raridade inicial dos caracteres relacionados à resistência, uma diminuição significativa das populações-alvo ocorre após as primeiras aplicações dos inseticidas. Contudo, com o uso indiscriminado desta ferramenta, indivíduos resistentes se tornam cada vez mais frequentes como consequência direta da seleção exercida pelo aumento da concentração destes compostos tóxicos no ambiente (Crow 1957). Deste modo, o desenvolvimento da resistência a inseticidas é sem dúvida uma das mais notórias evidências da ocorrência da Seleção Natural.

A Seleção Natural foi proposta em 1859 por Charles Darwin na publicação *On the Origin of Species* como o processo em virtude do qual “uma variação por mínima que seja se conserva e se perpetua - se for útil (...) nas suas relações por demais complexas com os outros seres organizados e com as condições físicas da vida”. (Darwin, 1859). Assim, a Seleção Natural atua não somente na sobrevivência dos indivíduos, mas também no seu êxito em deixar descendentes, para os quais são transmitidos os caracteres hereditários favoráveis. Atualmente, sabe-se que a Seleção Natural implica em mudanças na composição genética das populações, através do aumento das frequências dos alelos que afetam positivamente a sobrevivência e o sucesso reprodutivo dos indivíduos.

Alelos relacionados à resistência aos inseticidas são altamente vantajosos em ambientes nos quais há o controle químico, uma vez que a parcela resistente da população sobrevive em detrimento dos indivíduos susceptíveis. Conseqüentemente, a frequência destes genótipos tende a aumentar rapidamente. A velocidade com que isso ocorre não depende exclusivamente do volume e intensidade de aplicação dos inseticidas, porém também da variabilidade genética da espécie ou população em questão sobre a qual a seleção natural atua (Ferrari 1996; Hemingway et al. 2004). Normalmente variações genéticas surgem em uma população através de mutações aleatórias no DNA, recombinação gênica ou migração (Ridley 2006). Especula-se ainda que a

rápida evolução da resistência tenha sido facilitada pelo fato de que os principais inseticidas empregados atualmente afetam um único sítio-alvo, onde, teoricamente, uma única mutação pode ser suficiente para conferir altos níveis de resistência (Roush e McKenzie 1987; Mallet 1989).

1.6. Estratégias de manejo da resistência a inseticidas

Muito se discute acerca de estratégias para prevenir ou retardar o aparecimento de populações de insetos resistentes aos inseticidas químicos atualmente disponíveis. Dentre elas está o emprego simultâneo de duas ou mais classes de inseticidas no campo. Esta tática baseia-se na suposição de que a frequência dos alelos de resistência em dois loci distintos é inicialmente tão baixa que seria muito difícil encontrá-los em um mesmo indivíduo. No mesmo pressuposto apóia-se a prática de alternância de inseticidas. Se a frequência de indivíduos resistentes começa a aumentar devido à utilização de um tipo de composto químico, estes morrerão com a troca para um segundo composto (Ferrari 1996).

A dose de inseticida e a frequência de aplicação também estão relacionadas à velocidade com que a resistência se torna comum em populações de insetos. Não há seleção com o uso de doses muito altas, insuficientes para discriminar resistentes e susceptíveis, para aquelas populações cujos níveis de resistência ainda são baixos e/ou ainda não se encontram homocigotos para mutações que conferem resistência do tipo sítio-alvo (Roush e McKenzie 1987). Por outro lado, a aplicação de doses moderadas e esparsas de inseticidas não-residuais pode limitar a intensidade da pressão seletiva, preservando assim os genes de susceptibilidade. Entretanto, esta estratégia não é eficaz quando a resistência já está disseminada e/ou precisa-se eliminar uma grande parte da população de vetores (Georghiou 1994). Alternativamente, outra maneira de adiar a evolução da resistência é o causar a morte dos insetos após sua reprodução, porém antes de se tornarem aptos a transmitir doenças (Read et al. 2009). No caso do *Aedes aegypti* e do dengue as fêmeas colocam ovos logo na primeira semana de vida e só se tornam infectivas cerca de 10 após ingerir o sangue contendo partículas virais (Salazar et al. 2007). Desta maneira, a desova de todas as fêmeas, tanto as susceptíveis quanto as resistentes, seriam postas livres de pressão de seleção, mas o vetor morreria antes que se completasse o PIE.

A manutenção de áreas não tratadas com inseticidas, denominadas refúgios, as quais possibilitam a migração de indivíduos susceptíveis para os locais tratados (Comins 1977; Rausher

2001) também é recomendada. O sucesso das estratégias anteriormente mencionadas será facilitado caso os genótipos resistentes possuam alguma desvantagem na ausência dos inseticidas.

1.7. Aptidão (*fitness*) relativa dos indivíduos resistentes na ausência de inseticidas

A aptidão, ou *fitness*, dos indivíduos determina o grau que estes contribuirão com sua prole para a próxima geração. Assim, também é chamado de sucesso reprodutivo e está associado às variações genéticas sobre as quais a seleção natural atua (Ridley 2006). Considera-se o desenvolvimento da resistência aos inseticidas, seriam associadas a custos na aptidão dos indivíduos na ausência destes no ambiente (Crow, 1957). Em outras palavras, ocorreria um balanço (*trade-off*) entre a resistência e características biológicas relacionadas à aptidão. De fato, isso já foi observado em diversas espécies de insetos (Carrière et al. 1994; Berticat et al. 2002; Bourget et al. 2004; Ribeiro 2008).

Neste contexto, o custo da resistência pode ser definido como mudanças negativas na fisiologia e/ou nas características da história de vida dos organismos que reduzem sua aptidão na ausência da pressão seletiva (Costau et al 2000). Tais efeitos seriam decorrentes, por exemplo, da realocação de recursos energéticos para a produção e/ou amplificação dos mecanismos associados à detoxificação ou insensibilidade aos inseticidas. Este conceito já era mencionado por Darwin como “Lei da compensação”, na qual “a fim de poder despende de um lado, a natureza é obrigada a economizar de outro” (Darwin, 1859).

Acredita-se que a resistência de mosquitos do gênero *Culex* aos inseticidas organofosforados seja um dos exemplos deste processo. Sabe-se que neste gênero alelos de resistência ordinariamente induzem à superprodução de esterases (Fournier et al. 1987), a qual pode ser até 50 vezes maior que a produção normal (Raymond et al. 2001). Já em populações resistentes da espécie *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae), as esterases correspondem a até 3% do total de proteínas (Devonshire e Moores 1982). Nestes casos, a superprodução de enzimas sugere que os custos da resistência observados (Foster et. al. 2000; Berticat et al. 2008) sejam decorrentes da limitação de recursos energéticos/reprodutivos (Chevillon et al. 1999).

Uma vez que os inseticidas atualmente empregados no controle de vetores e pragas agrícolas têm como alvo importantes enzimas do sistema nervoso, e resistência do tipo alteração do sítio-alvo implica em alterações na seqüência de aminoácidos destas proteínas. Assim, mutações nos canais de sódio e na AchE poderiam influenciar o desenvolvimento (Hoffmann et

al. 1992) e a sensibilidade dos insetos aos estímulos ambientais associados à sua sobrevivência e reprodução. Na prática, tais alterações já foram associadas à maior mortalidade de imaturos em *Anopheles gambiae* (Djogbénu et al. 2010) e *Culex quinquefasciatus* (Berticat et al. 2008), a diminuições na resposta a estímulos olfatórios em *Myzus persicae* (Foster et. al 1999) e *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) (Lilly et al. 1994) e um maior risco de predação em *Culex pipiens* (Berticat et al. 2004).

Outra possibilidade é que o custo da resistência esteja associado à seleção de novas mutações, o que comumente perturba o desenvolvimento do organismo. Uma nova mutação, ainda que vantajosa, pode levar a alterações em outras partes do fenótipo, o que muito provavelmente será prejudicial. Entretanto, se o resultado final for positivo, a seleção natural a favorecerá mesmo assim (Ridley 2006). Um dos exemplos deste caso é o da mosca *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae). O aparecimento de mutações que conferem resistência leva à assimetria no desenvolvimento (McKenzie e O'Farrel 1993). Mesmo assim, a vantagem da resistência se sobrepuja ao custo e a mutação é rapidamente selecionada na presença dos inseticidas.

Finalmente, uma explicação alternativa para os custos frequentemente observados seriam as grandes reduções populacionais, chamadas de “gargalos”, sofridas após a intensa aplicação dos inseticidas e seguidas de intenso endocruzamento, perda de variabilidade genética e fixação de alelos deletérios por deriva gênica (Carrière et al. 1994).

Independentemente das causas biológicas responsáveis pela redução da aptidão dos indivíduos resistentes, estes estarão em desvantagem nos ambientes livres de inseticidas. Sendo assim, a seleção natural tende a reduzir a frequência dos genótipos relacionados à resistência. Isto é especialmente importante para o manejo da resistência aos inseticidas, uma vez que a interrupção da utilização de determinado composto poderia ser suficiente para fazer com que população voltasse a ser susceptível em determinado intervalo de tempo (Crow 1957; Tabashnik et al. 1994).

Contudo, a seleção natural atua simultaneamente em diferentes loci, o que significa que pode favorecer genótipos que reduzam os possíveis efeitos colaterais deletérios das mutações relacionadas à resistência aos inseticidas (Raymond et al. 2001; Ridley 2006). Com o passar das gerações o custo pode ser completamente superado e, como consequência, a resistência pode se

tornar estável (Tabashnik et al. 1994). Além disso, os alelos mais custosos podem ser substituídos por outros com baixo ou nenhum custo (Guillemaud et al. 1998).

1.8. Capacidade vetorial e resistência a inseticidas

Dentre as características biológicas possivelmente afetadas pelo custo da resistência aos inseticidas estão aquelas que se relacionam com a veiculação de agentes patogênicos por insetos vetores. Tratando-se de mosquitos, a habilidade de uma população em transmitir um determinado patógeno a uma população de hospedeiros suscetíveis é designada capacidade vetorial (Klempner et al. 2007).

O conceito de capacidade vetorial (CV) foi originalmente cunhado para anofelinos transmissores da malária por Garret-Jones, em 1964, e deste então vem sendo empregado para outros sistemas vetor/patógeno, como o *Aedes aegypti*/vírus dengue (Anderson e Rico-Hesse 2006; Maciel-de-Freitas et al. 2007b; Rivero et al. 2010). Assim, foi a CV definida como sendo o número de infecções que uma população de um determinado vetor por distribuir por dia em um dado lugar e época, assumindo condições de não-imunidade (Garret-Jones 1964). Matematicamente foi definida como:

$$CV = m.b.c.a^n.P^n / -\log_e P$$

Onde a é o número médio de picadas por dia; b é a probabilidade que um mosquito infectado tem de transmitir o parasito ao picar um hospedeiro humano susceptível; c é a probabilidade que um mosquito tem de se infectar com o parasito enquanto pica um hospedeiro humano infectado; m é o número médio de fêmeas de mosquito por pessoa, n é a duração do período extrínseco de incubação do parasito (decorrido entre a ingestão do sangue contendo os parasitas e a chegada destes nas glândulas salivares das fêmeas); P é a taxa de sobrevivência diária do mosquito.

A resistência aos inseticidas por si só já está relacionada à capacidade vetorial à medida que aumenta o número de mosquitos que sobrevive ao controle químico, ou seja, permite maiores densidade populacional e sobrevivência do vetor (McCarrol et al. 2000; Rivero et al. 2010). Contudo isso não significa necessariamente que a transmissão de doenças seguirá o mesmo padrão, pois o custo da resistência pode potencialmente se manifestar em diversas outras características biológicas direta ou indiretamente envolvidas na CV. Em suma, a resistência aos

inseticidas pode afetar de forma positiva ou negativa a CV, dependendo se há ou não custo na aptidão dos indivíduos resistentes e de como este se manifesta.

2. JUSTIFICATIVA

Recentemente, diversos estudos vêm buscando elucidar a relação entre a resistência aos inseticidas e a transmissão de doenças. McCarroll et al. (2000) mostraram que mosquitos resistentes da espécie *Culex quinquefasciatus* têm menores chances de transmitir filariose quando comparados aos suscetíveis, o que especula-se estar associado à alta atividade de esterases, que impediria o desenvolvimento das filárias. Ademais, a resistência tem sido relacionada à menor fecundidade (Kumar et al. 2009) e sobrevivência (Chevillon 1997; Gazave et al. 2001; Agnew et al. 2004) com relação à populações suscetíveis, o que as tornaria menos eficientes como vetores na ausência de inseticidas. Por outro lado, há indícios de que resistência possa afetar a imunidade dos vetores, tornando-os mais permissivos a infecções (Berticat et al. 2002; Howard et al. 2010).

Deste modo, o desenvolvimento da resistência aos inseticidas atualmente empregados no controle de vetores envolve mudanças em diversas características da biologia dos artrópodes. Neste sentido é de grande importância determinar como tais alterações influenciam a infecção, o desenvolvimento e a transmissão de agentes patogênicos veiculados por diversas espécies de insetos (Rivero et al. 2010). Além disso, teoricamente, a possibilidade do envolvimento dos mecanismos responsáveis pela resistência a inseticidas com possível custo na aptidão dos indivíduos pode determinar a rapidez com a qual estes evoluem em populações naturais, assim como a velocidade do retorno à suscetibilidade após a retirada dos compostos do ambiente (Crow 1957). Assim, entender a relação da resistência a inseticidas e outros caracteres também é determinante para o controle dos vetores e para o manejo da própria.

Neste contexto, este estudo pretendeu avaliar temporalmente, na ausência de inseticidas, algumas características da biologia de *Ae. aegypti* relacionadas à CV em populações naturais originárias de quatro regiões do Brasil. Foram registrados o tempo de desenvolvimento dos imaturos, a tolerância ao jejum de formas adultas, sobrevivência de fêmeas adultas e aspectos da fecundidade.

Apesar de não estar numericamente contido na equação da capacidade vetorial de mosquitos, o tempo de desenvolvimento das formas imaturas pode impactar a taxa de veiculação de patógenos à medida que determina a rapidez com que os indivíduos atingem o estágio adulto, no qual ocorre a alimentação sanguínea das fêmeas, a reprodução e a aquisição e/ou transmissão de parasitas. Adicionalmente, é durante as fases de larva e pupa que os mosquitos estão mais sujeitos à predação. Deste modo, o tempo de desenvolvimento larvar pode afetar a densidade de

mosquitos e, indiretamente, a CV. Já a tolerância ao jejum, ou seja, o tempo pelo qual os indivíduos resistem sem fontes nutricionais, seria uma maneira indireta de medir os níveis de reserva energética dos adultos ao emergir (Djogbénu et. al 2010).

Um dos parâmetros biológicos mais importantes na dinâmica de transmissão do dengue seria a sobrevivência do vetor (Luz et al. 2003), já quanto mais tempo a fêmea do mosquito sobrevive, maiores são as chances de aquisição e replicação do vírus e, por consequência, de transmissão da dengue para um novo hospedeiro. Por fim, aspectos relacionados à fecundidade, como sucesso no repasto sanguíneo e a quantidade de ovos estão relacionados com a taxa de picada e a dinâmica populacional e densidade do vetor, respectivamente. Além disso, o processo de Seleção Natural favorece, em última instância, aqueles indivíduos que apresentam maior sucesso reprodutivo (Begon et al. 2007).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar temporalmente parâmetros biológicos relacionados à capacidade vetorial de *Aedes aegypti* em populações de campo com diferentes perfis e históricos de resistência a inseticidas.

3.2. Objetivos específicos

Avaliar os seguintes parâmetros biológicos relacionados à capacidade vetorial em quatro meses do ano em cada população buscando relacioná-los à resistência a inseticidas:

- Tempo de desenvolvimento de imaturos;
- Tolerância ao jejum de machos e fêmeas adultas;
- Sobrevivência de fêmeas adultas;
- Sucesso de oviposição e fecundidade.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Obtenção em campo das populações de *Aedes aegypti*

Para a realização das avaliações propostas foram utilizados mosquitos *Ae. aegypti* oriundos da geração F1 de indivíduos coletados no campo com o auxílio de armadilhas de ovos (ovitrapas) com infusão de feno (Fay e Eliason 1966). Os ovos foram coletados em quatro municípios brasileiros: Campo Grande (CG), no Mato Grosso do Sul; Duque de Caxias (DC), no Rio de Janeiro; Parnamirim (PN), no Rio Grande do Norte e Santarém (ST), no Pará. Procurou-se abranger as quatro principais regiões do país com perfil endêmico-epidêmico para dengue.

O município de Campo Grande (20°27'S, 54°37'O) fica localizado nos estado do Mato Grosso do Sul, na região Centro-Oeste do Brasil. Ao longo do período de estudo, durante o inverno as médias diárias variaram entre 9,9°C e 29,9°C, já no verão variaram entre 22,1°C e 28,3°C. De fevereiro de 2010 a janeiro de 2011 foram notificados quase 28.000 casos de dengue no município. Já a cidade de Duque de Caxias (22°47'S, 43°18'O), fica localizada no Rio de Janeiro, na região Sudeste do país. Ao longo do período de estudo, as médias diárias durante o inverno variaram entre 17,8°C e 24,9°C, já no verão variaram entre 22,5°C e 29,3°C. De fevereiro de 2010 a novembro de 2010 foram notificados 1.058 casos de dengue no município. Em Parnamirim (05°54'S, 35°15'O) foram registradas as médias diárias variando entre 23,6°C e 26,0°C durante o inverno, já e entre 25,3°C e 29,4°C no verão. Foram notificados 112 casos de dengue na cidade durante o período de coletas. Por fim, em Santarém (02°26'S, 54°42'O) as médias diárias variaram entre 24,7°C e 30,0°C no inverno, já no verão variaram entre 23,9°C e 29,4°C. Neste município, foram notificadas 680 ocorrências de dengue (SISAM 2012; SINAN 2012).

Mensalmente, foram instaladas 120 ovitrapas em três áreas fixas, de aproximadamente 01 km² em cada município, totalizando 360 armadilhas por localidade. Para cada município foram selecionados quatro meses de coleta entre janeiro de 2010 e janeiro de 2011 para realização de ensaios de avaliação dos perfis de resistência e parâmetros da biologia (Tabela 4.1), cuja positividade das armadilhas variou entre 1,7% e 52,5% (Campo Grande), 20,5% e 82,1% (Duque de Caxias), 24,8% e 66,9% (Parnamirim) e 22,9% e 78,8% (Santarém).

Tabela 4.1. Meses selecionados para avaliação dos perfis de resistência e parâmetros da biologia de *Ae. aegypti* e os respectivos percentuais de positividade das armadilhas.

População	Coleta 1		Coleta 2		Coleta 3		Coleta 4	
	CG	Fev/Mar 2010*	43,1/33,5 %	Jul/Ago 2010*	18,1/7,8%	Set 2010	20,5%	Jan 2011
DC	Jan 2010	76,8%	Mai 2010	78,5%	Ago 2010	31,3%	Nov 2010	30,5%
PN	Jan 2010	29,3%	Mai 2010	52,2%	Ago 2010	35,2%	Dez 2010	36,7%
ST	Abr 2010	54,8%	Jul 2010	60,8%	Out 2010	31,3%	Jan 2011	68,3%

*Devido à baixa quantidade de ovos foram utilizados dois meses de coletas.

Os ovos coletados foram postos para eclosão em água desclorada no Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores, do Instituto Oswaldo Cruz. As larvas resultantes foram criadas em bacias contendo água desclorada e 1g de ração comercial para gatos (Friskies®, Purina, São Paulo, SP). As pupas resultantes foram transferidas para gaiolas cilíndricas (17,5 cm altura x 16,5 cm de diâmetro) e os adultos identificados quanto à espécie segundo as chaves dicotômicas propostas por Consoli e Lourenço-de-Oliveira (1994). Estabeleceram-se então colônias de *Ae. aegypti* provenientes de cada localidade e mês selecionado, cujas fêmeas eram mantidas com solução açucarada 10% *ad libitum* e alimentadas semanalmente em cobaias anestesiadas (CEUA P-0498/08) para obtenção da geração F1, utilizada em todos os ensaios de avaliação dos parâmetros da biologia e dos perfis de resistência, exceto para Campo Grande nos meses de julho e agosto (Coleta 2) quando foi utilizada a F2, devido à baixa quantidade de ovos na geração parental. Ao longo do texto as diferentes coletas serão nomeadas pela sigla da população (CG, DC, PN e ST) e o número da coleta conforme a tabela 4.1.

4.2. Avaliação de aspectos da biologia de populações de campo de *Aedes aegypti* relacionados à capacidade vetorial e análises estatísticas empregadas

A avaliação dos parâmetros da biologia de *Ae. aegypti* relacionados à capacidade vetorial foi realizada para todas as coletas anteriormente citadas, sempre em paralelo com indivíduos

Rockefeller (Rock). Acredita-se que esta cepa represente a mais antiga linhagem de laboratório de *Ae. aegypti*, mantida desde o final do século XIX (Kuno 2010), portanto antes da introdução dos inseticidas como principal arma contra artrópodes vetores. Deste modo, é empregada atualmente como referência para susceptibilidade a inseticidas e controle ambiental no laboratório, já que foi colonizada há bastante tempo.

4.2.1. Cinética do desenvolvimento larvar

Nessa etapa do experimento, em cada um dos meses avaliados, 120 larvas L1 de cada população de campo e 36 larvas Rockefeller foram mantidas individualmente em placas de cultura de tecidos de 12 poços até a fase de pupa, quando eram transferidas para tubos plásticos cilíndricos. Geralmente, eram realizados simultaneamente dois experimentos de população para cada controle Rockefeller (designados de Rock A a H).

Optou-se por manter as larvas individualizadas em detrimento da criação em grupos para evitar a competição entre as mesmas por recursos (Agnew et al. 2002). Além disso, evitaram-se problemas de pseudoreplicação, ou seja, como as larvas não realizam a transição para a fase de pupa simultaneamente, os grupos passariam a ter quantidades diferentes de indivíduos à medida que fosse ocorrendo a pupação. Desta maneira, seria difícil manter constante a quantidade de alimento por larva em cada estágio. Por fim, a criação individual permite registrar com maior precisão o momento no qual cada indivíduo realizou a muda pela presença da exúvia, uma vez que é difícil diferenciar larvas de estádios próximos pelo tamanho quando estas estão em grupos.

Cada poço recebeu inicialmente 4 ml de água deionizada. Com o auxílio de uma pipeta automática, foram adicionados 100µl de uma solução contendo 0,04mg de levedura de cerveja (Prolev, Recife, PE) no 1º dia, 0,04mg no 2º dia, 0,08mg no 3º dia, 0,16mg no 4º dia, 0,32mg no 5º dia, 0,64mg no 6º dia e 0,32mg a cada dia subsequente de experimento (Tun-Lin et al. 2000). Para evitar a decantação da levedura, a solução era mantida em agitação em um misturador automático (Figura 4.1). O desenvolvimento foi monitorado através de três observações diárias (08:00, 13:00 e 17:00), durante as quais foram registradas a mortalidade e a mudança de estádio para cada indivíduo, até que os imaturos alcançassem a fase alada. Os indivíduos mortos foram computados e retirados, assim como as exúvias. Assim, foram obtidas durações aproximadas de cada estádio larvar e da fase de pupa em horas. As placas contendo as larvas foram mantidas em

estufas B.O.D a $28\pm 1^\circ\text{C}$ e 80% de umidade relativa. Para cada adulto resultante foi registrado o sexo.

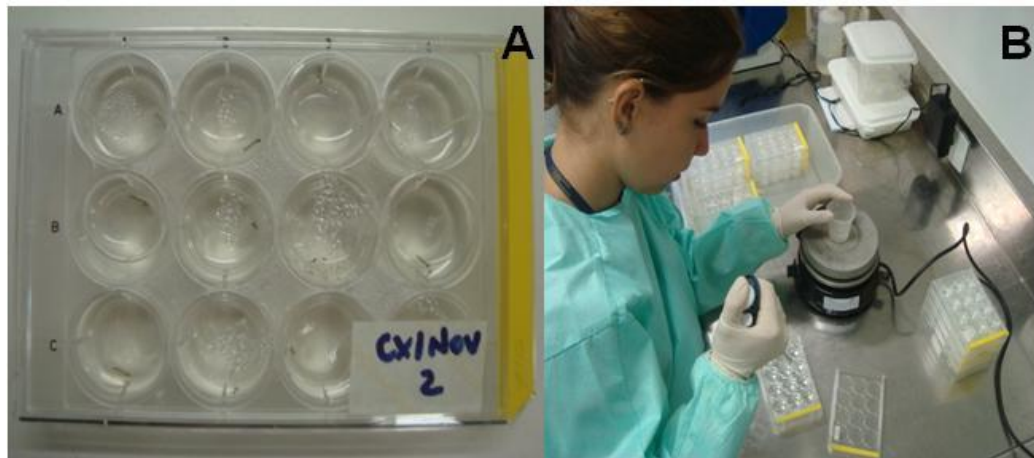


Figura 4.1. Larvas foram mantidas individualmente em poços de placas de cultura de tecidos (A) e foram alimentadas com solução contendo quantidades padronizadas de levedura (B).

Após a comparação dos dados obtidos para as larvas Rockefeller nos diferentes experimentos, observou-se grande variabilidade nos tempos totais de desenvolvimento dos controles (Figura 4.2). Deste modo, a comparação direta da cinética de desenvolvimento dos indivíduos provenientes das diferentes coletas de campo não seria adequada. Assim, optou-se por normalizar por postos os valores obtidos para as populações de campo pelos valores obtidos para seus respectivos controles Rockefeller. Para tal, os tempos totais de desenvolvimento da população de campo e do seu controle foram ordenados de forma crescente e foram obtidas razões população/Rockefeller de acordo com a posição que estes valores ocupam na ordenação. Porém, já que foi amostrado um número maior de indivíduos provenientes das coletas de campo (120) do que de Rockefeller (36), os dados da população de campo foram divididos em N subgrupos respeitando-se a ordem crescente, sendo N o número de larvas Rockefeller que completaram seu desenvolvimento. De cada subgrupo obteve-se uma média, dividindo-o pelo valor de Rockefeller correspondente de acordo com a ordenação. Assim, foi gerada uma nova série de dados para cada coleta de cada localidade, denominada razão Pop/Rock. Intuitivamente, quando a razão Pop/Rock for superior ao valor 1,0 assume-se que a população de campo desenvolveu-se mais lentamente que a Rock. Da mesma forma, razões inferiores a 1,0 indicam que a população de campo chegou ao estágio de pupa mais rapidamente que Rock. Por exemplo,

119 indivíduos da coleta CG2 completaram o desenvolvimento de larva ao adulto, simultaneamente com 29 indivíduos controle (Rockefeller). Os tempos totais de desenvolvimento dos dois grupos foram ordenados de forma crescente e, aquele que está em maior número (CG2) teve seu N dividido pelo N de Rockefeller. Desta maneira, foram formados 29 subgrupos com os dados CG2 (26 grupos de 04 e 05 grupos de 05 indivíduos), sempre respeitando a ordem crescente. Por fim, de cada subgrupo foi obtida uma média que foi dividida pelo tempo total do indivíduo controle correspondente pela ordenação.

Subseqüentemente verificou-se, por meio do teste Shapiro-Wilk, que os dados da razão Pop/Rock possuem distribuição diferente da normal ($W = 0,9092$; $p\text{-valor} < 0,01$). Deste modo, as diferentes coletas de cada localidade foram comparadas inicialmente por meio do teste de Kruskal-Wallis. Caso houvesse diferenças significativas, as coletas eram comparadas de forma pareada por meio de um teste de múltiplas comparações *post-hoc* Kruskal-Wallis. Resumidamente, este teste compara o módulo da diferença (D) entre os ranques médios de dois grupos a um valor crítico considerando-se 5% de significância e corrigido para os números de observação de cada grupo e de o de comparações (Siegel e Castellan 1998). Dessa forma, seremos capazes de comparar a duração da razão Pop/Rock para cada mês de coleta em cada localidade. Os gráficos gerados e as análises anteriormente descritas foram feitos com o auxílio do software R 2.13.0 (R Development Core Team 2011).

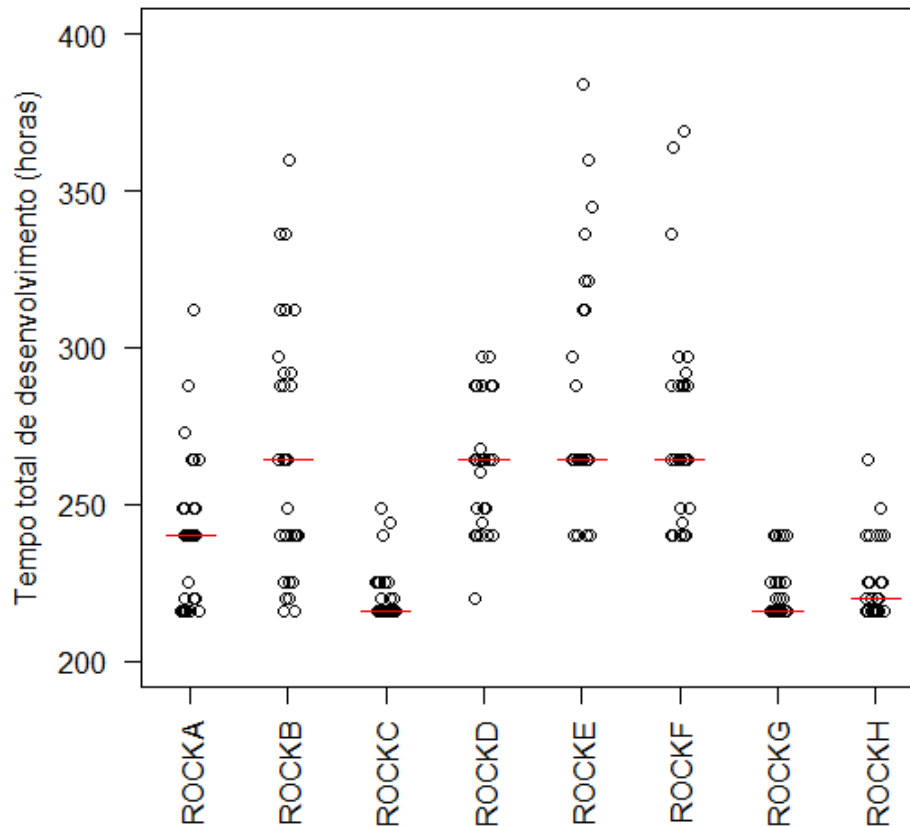


Figura 4.2. Tempo total de desenvolvimento dos controles Rockfeller (ROCK A ao H). A mediana do tempo total de desenvolvimento de cada conjunto de dados está representada pelo segmento em vermelho.

4.2.2. Tolerância ao jejum de formas adultas

Foram registrados os tempos aproximados de tolerância ao jejum com o objetivo de quantificar de forma indireta os níveis de reserva energética que os adultos possuíam ao emergir. Para os adultos provenientes das placas de cultura de tecidos foi oferecido somente água desclorada, sem qualquer tipo de nutriente. A partir daí anotou-se através de duas observações diárias (8:00, 17:00) o momento aproximado da morte de cada indivíduo, momento em que o comprimento da asa era aferido na lupa com auxílio de uma lâmina milimetrada.

Com o auxílio do software R 2.13.0 (R Development Core Team 2011) foram construídas pelo método de Kaplan-Meier curvas de sobrevivência independentes para machos e fêmeas de cada coleta, intencionando-se detectar possíveis diferenças entre os sexos. Por conseguinte, as diferentes curvas foram comparadas duas a duas por meio do Teste *log-rank* com correção do p-valor pelo método de Bonferroni (Morettin e Bussab 2010). O valor exato do p-valor foi dado sempre que possível. Não foi necessário normalizar estes dados pelos controles, já que não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os controles Rockefeller.

4.2.3. Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas

Para este experimento, os mosquitos foram criados em bacias na estufa B.O.D. a $28\pm 1^\circ\text{C}$ em condições de densidade e alimentação padronizadas em laboratório (Consoli e Lourenço-de-Oliveira 1994). Os ensaios referentes à sobrevivência e fecundidade das fêmeas adultas foram realizados através da manutenção de 60 fêmeas de 2 a 3 dias pós-emergência de cada população, individualmente postas em tubos plásticos cilíndricos. Estes continham algodão umedecido coberto com papel filtro no fundo, que serviu de substrato para oviposição. Foi oferecida solução açucarada 10% *ad libitum* até aproximadamente 36 horas antes da alimentação sanguínea em camundongos anestesiados, que ocorreu uma vez por semana, durante cerca de 10 minutos por mosquito (Protocolo CEUA L-0007/09) (Figura 4.3).

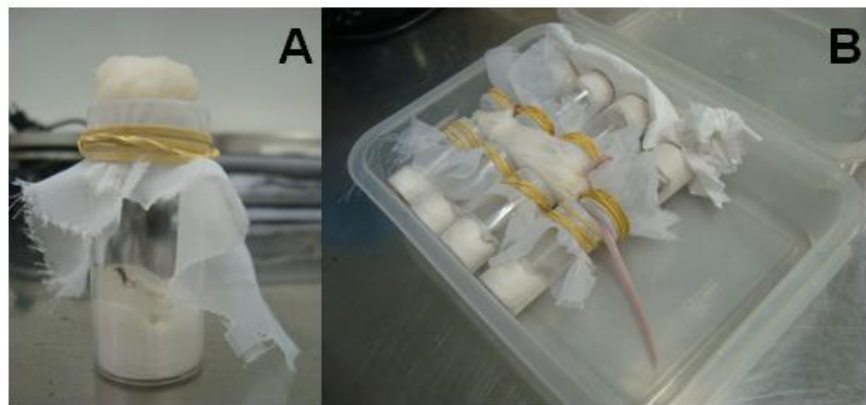


Figura 4.3. Fêmeas de *Aedes aegypti* mantidas individualmente em tubos plásticos cilíndricos com algodão umedecido no fundo (A) e alimentadas semanalmente em camundongos anestesiados (B).

A mortalidade dos indivíduos foi verificada diariamente, até o 60º dia, quando as fêmeas restantes foram mortas. Todas as fêmeas tiveram o comprimento de asa medido na lupa com auxílio de uma lâmina milimetrada. Entretanto, o comprimento das asas destes indivíduos não pode ser usado nas análises, pois possuem um forte viés. Após alguns dias nos tubos plásticos cilíndricos, as asas dos mesmos se quebravam naturalmente devido ao vôo e ao manuseio para retirada da postura. Como consequência, só estão disponíveis informações das asas das fêmeas que morreram logo no início dos experimentos.

Foram construídas curvas de sobrevivência para cada localidade e respectivas coletas através do método de Kaplan-Meier, as quais foram comparadas duas a duas por meio do *log-rank*, com correção do p-valor pelo método de Bonferroni (Morettin e Bussab 2010). O valor exato do p-valor foi dado sempre que possível.

4.2.4. Sucessos de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas

Aspectos relacionados ao sucesso reprodutivo das populações foram observados para os mesmos indivíduos mencionados no tópico anterior. Na véspera de cada alimentação sanguínea (com exceção da primeira), o papel filtro foi substituído, permitindo o registro da quantidade de ovos postos por cada fêmea por semana (Figura 4.3).

As informações referentes à contagem de ovos foram tratadas de duas maneiras distintas. Foi denominado “sucesso de oviposição” o conjunto de dados relativo a todas as fêmeas vivas no momento da contagem, adicionando-se zero ovo para aquelas que não realizaram a oviposição. Subseqüentemente, a “fecundidade” foi obtida considerando-se apenas as fêmeas cuja postura semanal continha ao menos um ovo. Foi constatado por meio do teste Shapiro-Wilk que os dados referentes ao sucesso de oviposição e à fecundidade possuem distribuição diferente da normal ($W = 0,74$; $p\text{-valor} < 0,05$; $W = 0,91$; $p\text{-valor} < 0,05$, respectivamente). Assim, comparações ocorreram por meio do teste de Kruskal-Wallis. Caso houvesse diferenças significativas, as coletas eram comparadas duas a duas por meio de um teste de múltiplas comparações *post-hoc* Kruskal-Wallis (Siegel e Castellan 1998).

As análises anteriormente descritas foram feitas utilizando-se os dados relativos às três primeiras semanas de experimento, uma vez que após este período muitos mosquitos já haviam morrido e o número de observações se tornaria bastante reduzido. Por exemplo, durante a quarta semana de experimentos para as coletas de Duque de Caxias, havia 10, 44, 27 e 08 indivíduos

vivos, sendo que 08, 14, 14 e 06 colocaram ovos, respectivamente. Além disso, as comparações entre grupos ocorreram dentro da mesma semana de experimento visando comparar fêmeas de idade fisiológica semelhante.

4.3. Perfil e histórico da resistência a inseticidas das populações de campo de *Aedes aegypti* e sua relação com os parâmetros biológicos estudados

O perfil e a variação temporal da resistência aos inseticidas temephos (larvicida organofosforado) e deltametrina (adulticida piretróide), empregados rotineiramente no controle de *Ae. aegypti* no Brasil, foram monitorados por meio de bioensaios quantitativos do tipo dose-resposta, sendo tema de outra dissertação de mestrado na Biologia Parasitária (procedimentos em Lima et al. 2003). As razões de resistência (RR) foram calculadas para temephos e deltametrina para cada população/coleta dividindo-se a concentração letal que mata 95% da população de campo pela concentração letal que mata 95% dos indivíduos Rockefeller, linhagem referência para susceptibilidade a inseticidas. De acordo com os critérios propostos pelo Ministério da Saúde, são consideradas resistentes a organofosforados e/ou piretróides as populações que apresentam as respectivas razões de resistência superiores a 3,0.

Foi observado o padrão de variação anual dos níveis de resistência aos compostos testados a partir dos resultados obtidos para as quatro coletas de cada localidade, juntamente com a flutuação dos parâmetros biológicos avaliados nos mesmos períodos. Desta maneira, foram construídos gráficos que contém as razões de resistência ao temephos e à deltametrina e uma medida sumária e uma medida de dispersão do parâmetro em questão para cada coleta da mesma localidade. Para curvas de sobrevivência em jejum e curvas de sobrevivência de fêmeas adultas, foi representado o valor mediano da sobrevida (aquele ponto no qual 50% dos indivíduos já morreram) juntamente com o intervalo de confiança de 95% para este ponto (Carvalho et al. 2005). Por outro lado, para o tempo de desenvolvimento normalizado pelos controles, comprimento de asas, sucesso de oviposição e fecundidade foram representados a mediana e os percentis 25% e 75%, uma vez que estes dados possuem distribuição diferente da normal e assimétrica.

É importante ressaltar que as análises anteriormente descritas foram apresentadas somente entre as coletas da mesma localidade, ou seja, não foram feitas comparações entre os resultados obtidos para os diferentes municípios. Isso deve ao fato de que estes estão contidos em

diferentes regiões do Brasil, com dinâmicas climáticas distintas, assim como provavelmente devem ser o processo de evolução e os mecanismos responsáveis pela resistência aos inseticidas testados.

5. RESULTADOS

5.1. Aspectos gerais da biologia das populações de *Aedes aegypti* estudadas

5.1.1. Cinética do desenvolvimento larvar

Foram obtidas para cada população medidas descritivas da duração aproximada de cada estadio larvar (L1 a L4), assim como da duração da fase de pupa, do tempo total de desenvolvimento (compreendido entre a de eclosão dos ovos e emergência dos adultos) e da razão Pop/Rock (Tabela 5.1). Os tempos totais medianos de desenvolvimento foram de aproximadamente 240, 240, 264, 240 e 249 horas para as populações de CG, DC, PN, Rock e ST, respectivamente.

Os valores médios obtidos para as razões Pop/Rock variaram de 0,98 a 1,08. Os indivíduos de Campo Grande apresentaram o tempo de desenvolvimento significativamente menor quando comparado às demais populações (CG *versus* DC: $D = 214,73$; $p\text{-valor} < 0,05$; CG *versus* PN: $D = 164,83$; $p\text{-valor} < 0,05$; CG *versus* ST: $D = 157,66$; $p\text{-valor} < 0,05$). Adicionalmente, as larvas provenientes do grupo de Duque de Caxias apresentaram desenvolvimento mais lento também quando comparadas à Parnamirim e Santarém (DC *versus* PN: $D = 49,89$; $p\text{-valor} < 0,05$; DC *versus* ST: $D = 57,07$; $p\text{-valor} < 0,05$). Não foram detectadas diferenças significativas entre as populações de Parnamirim e Santarém (Figura 5.1). A mortalidade total durante o desenvolvimento larvar foi de 17,07%, 2,3%, 7,8%, 12,70% e 3,73% para as populações de Campo Grande, Duque de Caxias, Parnamirim, Rockefeller e Santarém, respectivamente.

Tabela 5.1. Mediana, média e desvio-padrão (DP) da duração aproximada dos quatro estádios larvares (L1 a L4) e da fase de pupa dos imaturos de *Ae. aegypti* provenientes das coletas de Campo Grande/MS, Duque de Caxias/RJ, Parnamirim/RN, Rockefeller e Santarém/PA.

Duração Aprox.	Localidades														
	Campo Grande			Duque de Caxias			Parnamirim			Rockefeller			Santarém		
	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP
L1 (h)	33	36,10	9,73	33	39,06	13,10	48	45,45	16,62	33	38,64	12,69	28	34,60	12,71
L2(h)	24	24,30	7,26	24	24,23	5,07	24	23,87	4,03	24	23,46	5,18	24	26,64	8,20
L3 (h)	48	49,53	10,11	48	46,64	8,64	48	46,58	10,82	48	47,39	9,74	48	49,44	9,49
L4 (h)	87	95,81	29,64	91	101,01	33,08	92	101,32	34,24	87	95,16	29,90	96	103,46	28,10
Pupa (h)	48	46,00	5,30	48	46,04	5,33	48	46,03	5,37	48	45,97	6,20	48	46,39	6,30
Total (h)	240	249,87	36,74	240	257,01	39,69	264	262,76	40,17	240	248,8	35,10	249	259,82	36,77
Pop/Rock	1,00	0,98	0,05	1,07	1,08	0,08	1,03	1,05	0,05	-	-	-	1,03	1,04	0,05

Tabela 5.2. Mediana, média e desvio-padrão (DP) da sobrevivência em jejum em horas e comprimento de asas de machos e fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes das coletas de Campo Grande/MS, Duque de Caxias/RJ, Parnamirim/RN, Rockefeller e Santarém/PA.

Sobreviv. Aprox. (horas)	Populações														
	Campo Grande			Duque de Caxias			Parnamirim			Rockefeller			Santarém		
	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP
Fêmeas	81	78,02	19,43	72	82,44	25,46	72	85,87	30,58	87	89,73	23,96	96	91,97	23,07
Asa (mm)	2,25	2,22	0,18	2,35	2,31	0,14	2,20	2,25	0,15	2,25	2,23	0,14	2,30	2,23	0,18
Machos	120	116,00	31,31	120	121,49	35,26	120	118,45	32,16	120	122,63	26,92	129	133,78	33,08
Asa (mm)	1,85	1,85	0,10	1,90	1,87	0,08	1,85	1,86	0,09	1,85	1,86	0,09	1,85	1,85	0,12

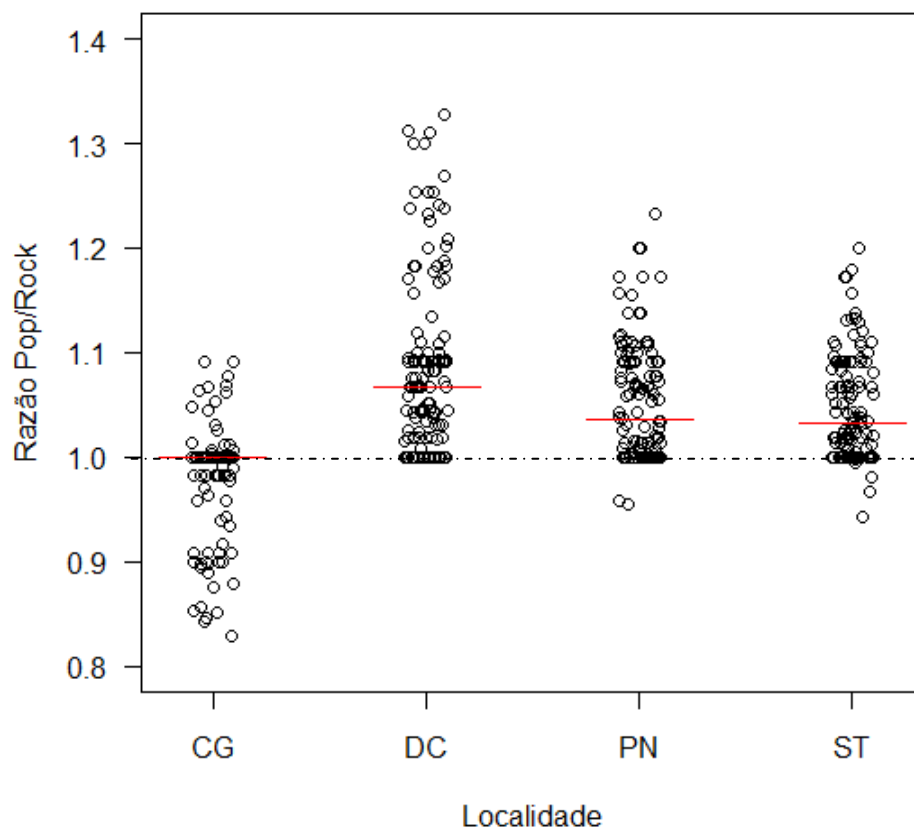


Figura 5.1. Razão Pop/Rock entre o tempo total de desenvolvimento das populações de Campo Grande (CG), Duque de Caxias (DC), Parnamirim (PN) e Santarém (ST) e seus respectivos controles Rockfeller. O valor mediano de cada conjunto de dados está representado pelo segmento em vermelho. A linha tracejada representa a situação na qual a população de campo possui tempo de desenvolvimento igual ao dos controles Rockefeller (Razão Pop/Rock = 1).

5.1.2. Tolerância ao jejum de formas adultas e comprimento de asas

Notavelmente, os machos toleraram o jejum por mais tempo que as fêmeas ($\chi^2 = 724$; g.l = 1, p-valor < 0,0001) (Figura 5.2), padrão este que se repetiu nas 16 amostras analisadas. Deste modo, os diferentes grupos foram sempre comparados considerando-se o sexo.

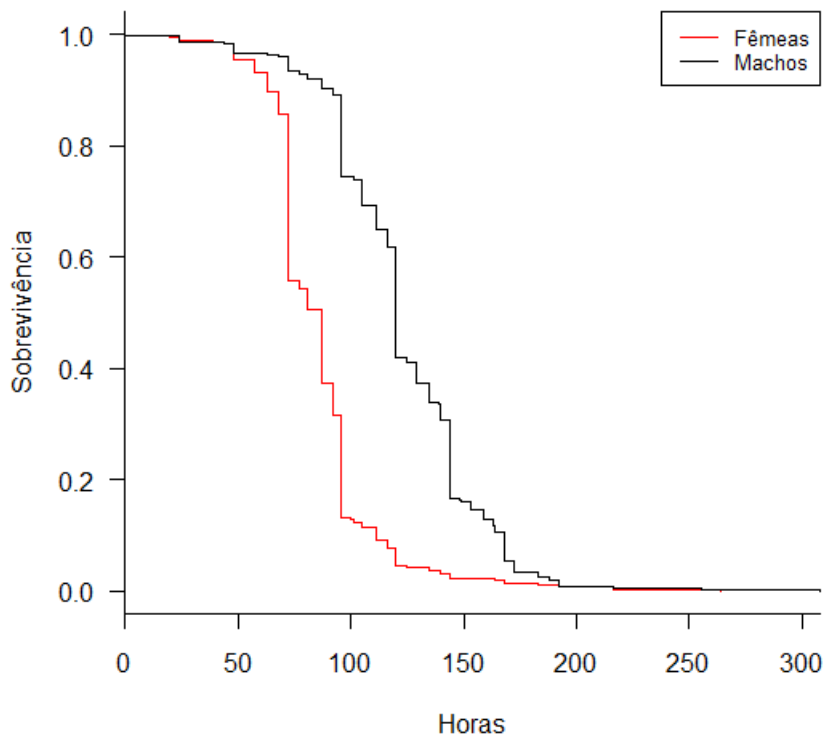


Figura 5.2. Curvas de sobrevivência em jejum de fêmeas e machos de *Ae. aegypti* provenientes da geração F1 dos indivíduos coletados em Campo Grande (CG), Duque de Caxias (DC), Parnamirim (PN) e Santarém (ST) e da população de laboratório (ROCK).

Dentre as fêmeas, o tempo tolerância ao jejum foi de aproximadamente 78, 82, 86, 90 e 92 horas para CG, DC, PN, Rock e ST, respectivamente (Tabela 5.2). As fêmeas de Santarém sobreviveram por significativamente mais tempo quando comparadas às de Campo Grande ($\chi^2 = 46,3$; g.l = 1, p-valor < 0,0001) e Duque de Caxias ($\chi^2 = 19,3$; g.l = 1, p-valor < 0,0001). Campo Grande resistiu menos ao jejum com relação à Rockefeller ($\chi^2 = 14,4$; g.l = 1, p-valor = 0,0001) (Figura 5.3). Quanto ao tamanho corporal, as fêmeas de Duque de Caxias obtiveram asas expressivamente mais longas que as demais populações (DC *versus* CG: D = 106,19; p-valor < 0,05; DC *versus* PN: D = 76,73; p-valor < 0,05; DC *versus* ROCK: D = 105,53; p-valor < 0,05; DC *versus* ST: D = 91,13; p-valor < 0,05) (Tabela 5.2).

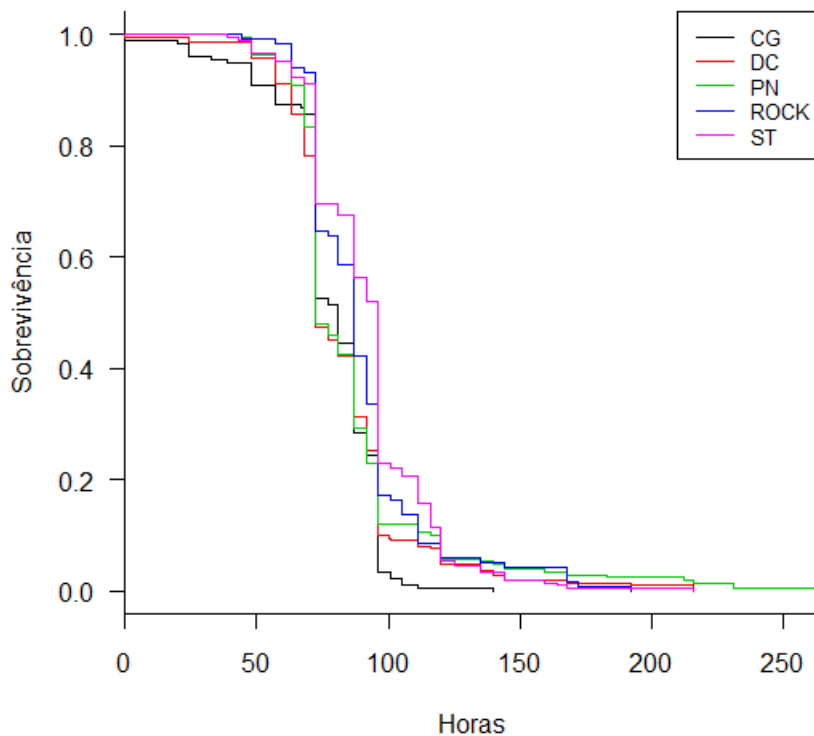


Figura 5.3. Curvas de sobrevivência em jejum das fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes da geração F1 dos indivíduos coletados em Campo Grande (CG), Duque de Caxias (DC), Parnamirim (PN), Rockefeller (ROCK) e Santarém (ST).

Quanto aos machos, o tempo médio de tolerância ao jejum foi de aproximadamente 116, 121, 118, 123 e 134 horas para Campo Grande, Duque de Caxias, Parnamirim, Rockefeller e Santarém, respectivamente (Tabela 5.2). Os machos do grupo de Santarém apresentaram tempo de tolerância ao jejum superior ao de Campo Grande ($\chi^2 = 39,5$; g.l = 1; p-valor < 0,0001), Parnamirim ($\chi^2 = 24,4$; g.l = 1; p-valor < 0,0001) e Rockefeller ($\chi^2 = 12$; g.l = 1; p-valor = 0,0005) (Figura 5.4). As asas dos machos de Duque de Caxias foram consideradas maiores que as asas dos machos de Campo Grande ($D = 95,28$; p-valor < 0,05) (Tabela 5.2).

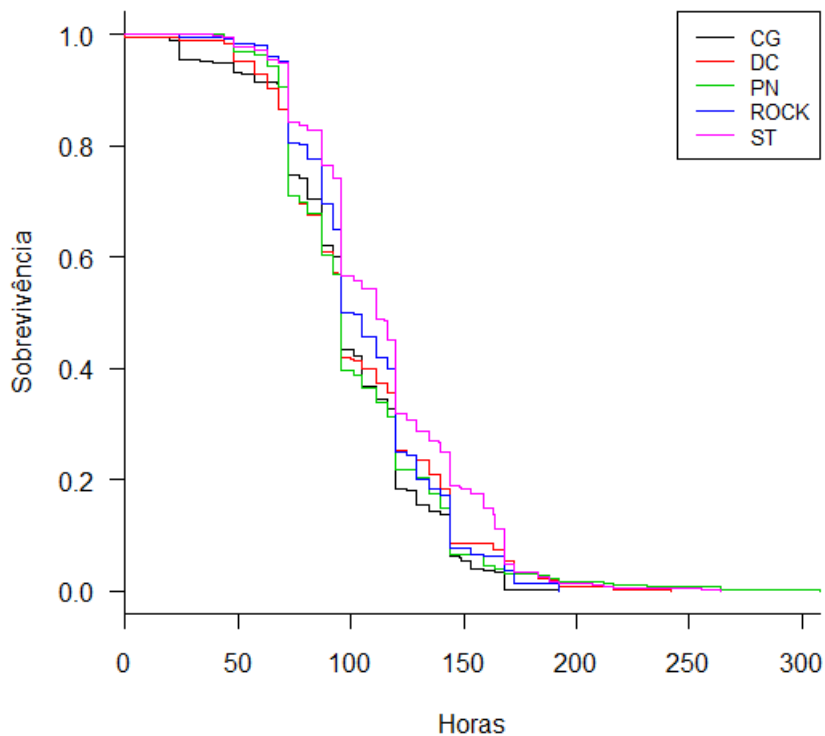


Figura 5.4. Curvas de sobrevivência em jejum dos machos de *Ae. aegypti* provenientes da geração F1 dos indivíduos coletados em Campo Grande (CG), Duque de Caxias (DC), Parnamirim (PN), Rockefeller (ROCK) e Santarém (ST).

5.1.3. Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas

Curvas de sobrevivência foram construídas para cada população após o monitoramento individual da mortalidade de fêmeas de *Ae. aegypti*. As populações de Campo Grande, Duque de Caxias, Parnamirim, Rockefeller e Santarém apresentaram um tempo médio de sobrevivência de aproximadamente 28, 25, 31, 35 e 34 dias, respectivamente.

Após a comparação das curvas, foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. As fêmeas do grupo de Duque de Caxias viveram por menos tempo que as fêmeas originárias das populações de Parnamirim ($\chi^2 = 13,6$; g.l = 1; p-valor = 0,0002), Rockefeller ($\chi^2 = 28,4$; g.l = 1; p-valor < 0,0001) e Santarém ($\chi^2 = 15,6$; g.l = 1; p-valor < 0,0001). Campo Grande

sobreviveu menos que Rockefeller ($\chi^2 = 25,2$; g.l = 1; p-valor < 0,0001). Todas as populações possuíram indivíduos vivos após o decorrer dos 60 dias de monitoramento (Figura 5.5).

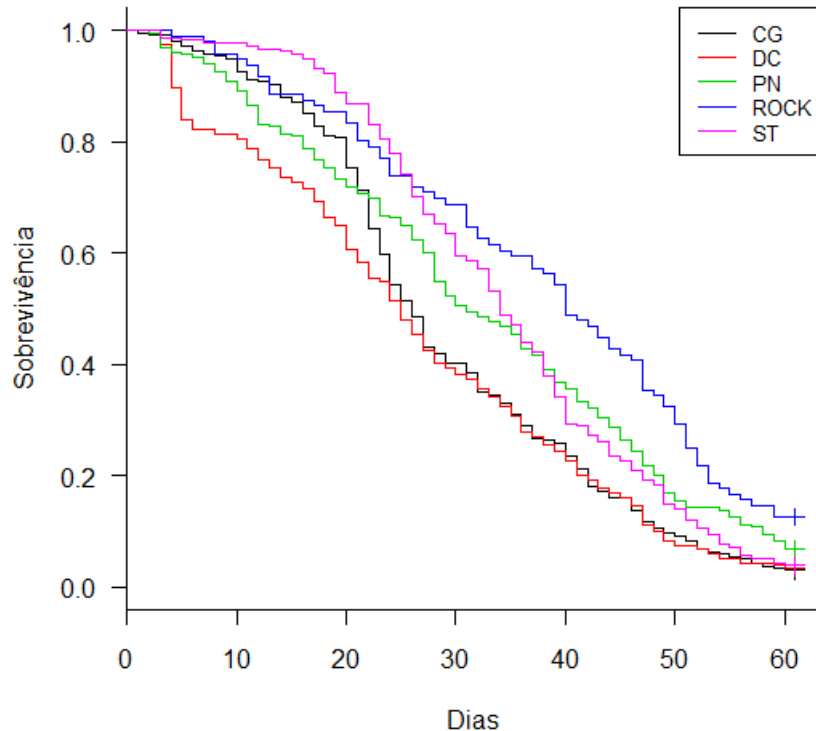


Figura 5.5. Curvas de sobrevivência das fêmeas adultas provenientes das populações de Campo Grande (CG), Duque de Caxias (DC), Parnamirim (PN), Rockefeller (ROCK) e Santarém (ST).

5.1.4. Sucesso de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas

Parâmetros relacionados à reprodução das cinco populações foram monitorados semanalmente através da oferta de alimentação sanguínea e contagem de ovos postos por indivíduo. Para a primeira semana, aproximadamente 51%, 63%, 56%, 70% e 36% das fêmeas das populações de Campo Grande, Duque de Caxias, Parnamirim, Rockefeller e Santarém realizaram o repasto sanguíneo. Já para as segunda e terceira semanas, os percentuais foram 43%, 32%, 29%, 60% e 30% e 37%, 28%, 33%, 64% e 14%, respectivamente.

Primeiramente, a média e o desvio padrão do sucesso de oviposição foram representados considerando as três primeiras semanas para cada população (Figura 5.6). Não foram detectadas

diferenças significativas entre as semanas da mesma população ao nível de 5% de significância. Subseqüentemente, a média e o desvio padrão da fecundidade foram representados (Figura 5.7). Novamente, Não foram detectadas diferenças significativas entre as semanas da mesma população. Posteriormente, a média e o desvio padrão do sucesso de oviposição e da fecundidade foram representados considerando as diferentes populações para cada semana (Figuras 5.8 e 5.9, respectivamente) Assim, foi comparada a fecundidade de indivíduos com idade fisiológica semelhante.

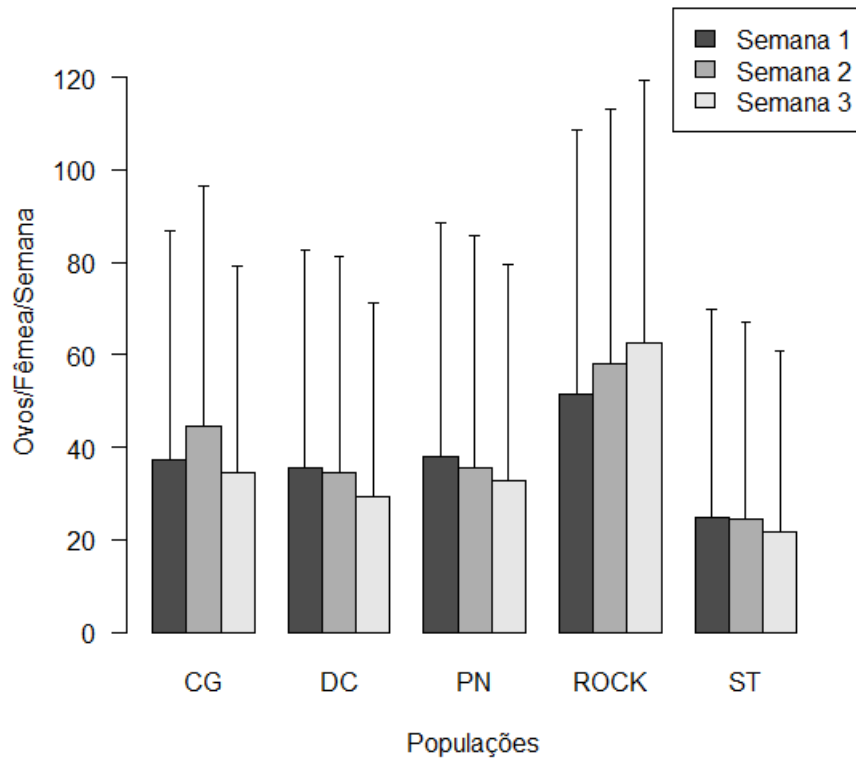


Figura 5.6. Média e desvio padrão do sucesso de oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti* de Campo Grande (CG), Duque de Caxias (DC), Parnamirim (PN), Rockefeller (ROCK) e Santarém (ST) nas três primeiras semanas de monitoramento.

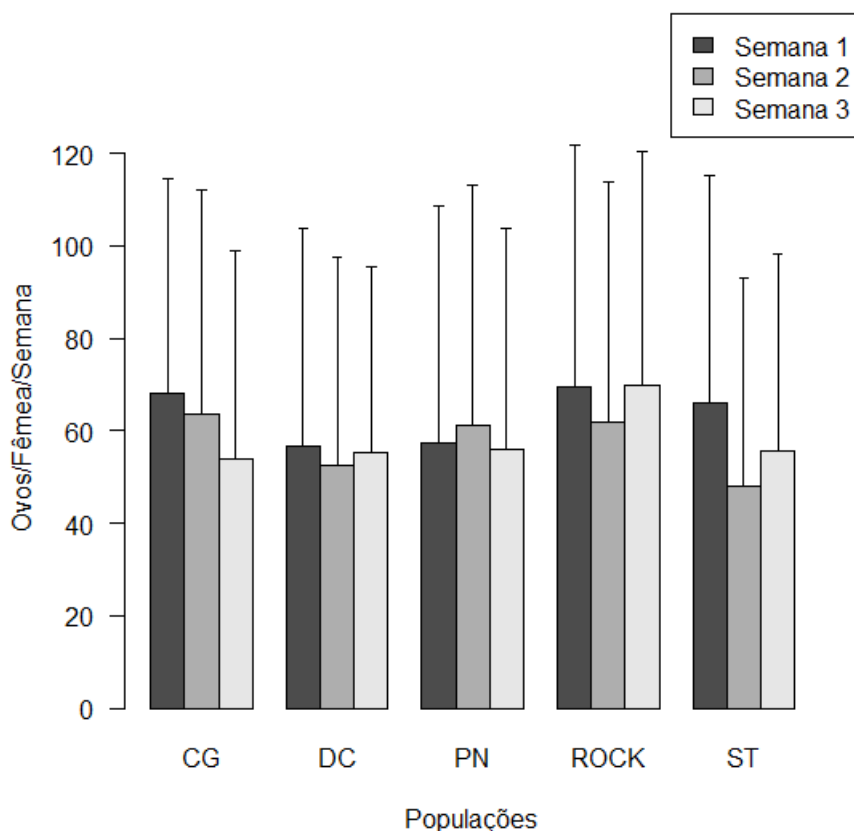


Figura 5.7. Média e desvio padrão da fecundidade das fêmeas de *Ae. aegypti* de Campo Grande (CG), Duque de Caxias (DC), Parnamirim (PN), Rockefeller (ROCK) e Santarém (ST) nas três primeiras semanas de monitoramento.

O sucesso de oviposição das fêmeas de Santarém durante a semana 01 foi considerado inferior à das demais populações (ST *versus* CG: $D = 80,34$; $p\text{-valor} < 0,05$; ST *versus* DC: $D = 85,80$; $p\text{-valor} < 0,05$; ST *versus* PN: $D = 94,37$; $p\text{-valor} < 0,05$; ST *versus* ROCK: $D = 161,63$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.8). Entretanto, quando considerada a fecundidade, ou seja, apenas as posturas com pelo menos 01 ovo, não foram detectadas diferenças estatisticamente importantes entre as populações para esta semana (Figura 5.9). Tratando-se da semana 02, o sucesso de oviposição relativo à Rockefeller foi efetivamente maior que o de Duque de Caxias ($D = 85,80$; $p\text{-valor} < 0,05$), Parnamirim ($D = 117,52$; $p\text{-valor} < 0,05$) e Santarém ($D = 169,07$; $p\text{-valor} < 0,05$). Ademais, o número de ovos correspondentes à população de Santarém foi inferior ao da população de Campo Grande ($D = 105,87$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.8). Novamente não foram detectadas diferenças estatisticamente importantes entre as populações quanto à fecundidade, ou

seja, retirando da análise as fêmeas que não colocaram ovos (Figura 5.9). Por fim, com relação à terceira semana, o sucesso de oviposição do grupo Rockefeller foi superior quando comparada aos demais grupos (ROCK *versus* CG: $D = 86,94$; $p\text{-valor} < 0,05$; ROCK *versus* DC: $D = 122,78$; $p\text{-valor} < 0,05$; ROCK *versus* PN: $D = 107,6$; $p\text{-valor} < 0,05$; ROCK *versus* ST: $D = 163,03$; $p\text{-valor} < 0,05$). Além disso, Santarém ainda mostrou sucesso de oviposição inferior à de Campo Grande ($D = 76,09$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.8). Com relação à fecundidade, não foram encontradas diferenças importantes entre as populações (Figura 5.9).

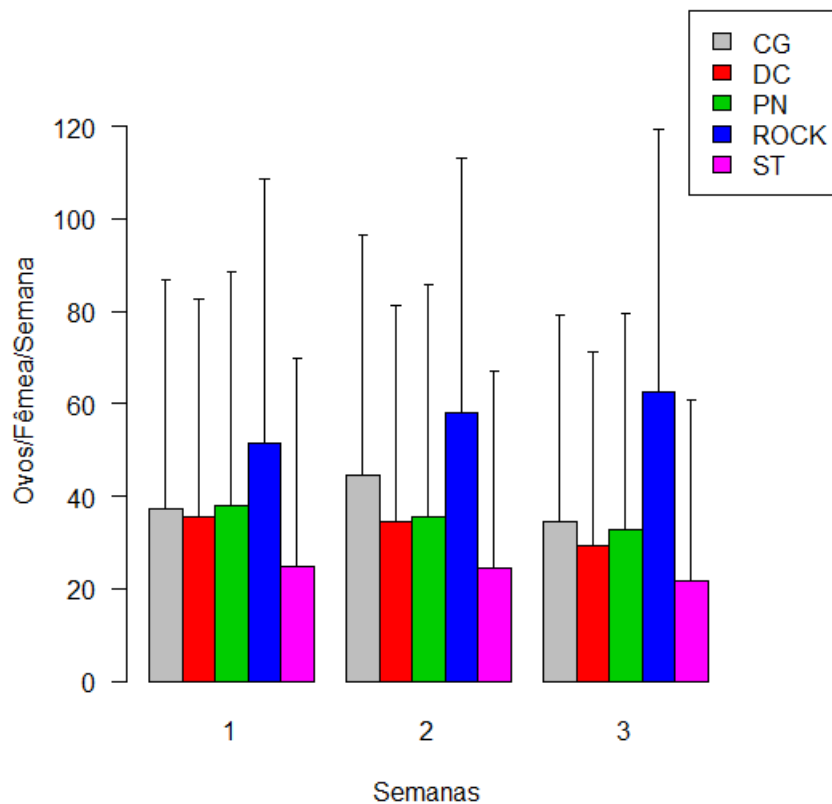


Figura 5.8. Média e desvio padrão do sucesso de oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti* de Campo Grande (CG), Duque de Caxias (DC), Parnamirim (PN), Rockefeller (ROCK) e Santarém (ST) nas três primeiras semanas de experimentos.

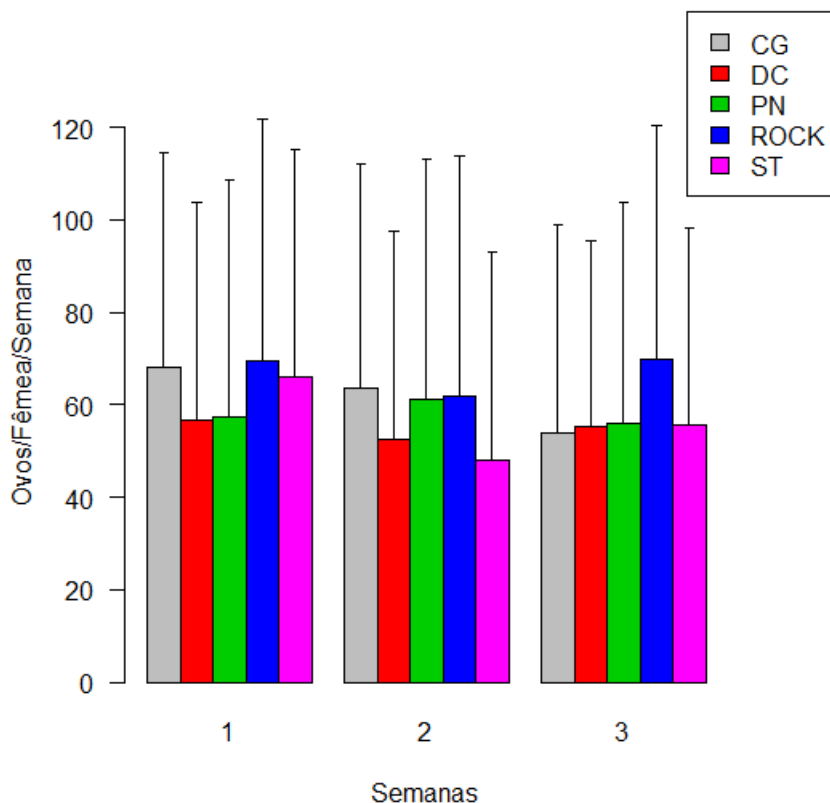


Figura 5.9. Média e desvio padrão da fecundidade das fêmeas de *Ae. aegypti* de Campo Grande (CG), Duque de Caxias (DC), Parnamirim (PN), Rockefeller (ROCK) e Santarém (ST) nas três primeiras semanas de experimentos.

5.1.5. Perfil e histórico da resistência a inseticidas das populações de campo de *Aedes aegypti*

A variação temporal das razões de resistência para o organofosforado temephos e o piretróide deltametrina foram obtidos por meio de bioensaios quantitativos do tipo dose-resposta para as quatro coletas realizadas durante aproximadamente um ano, para cada localidade. De acordo com os critérios propostos pelo Ministério da Saúde, todas as populações são consideradas resistentes a organofosforados e piretróides, uma vez que apresentam as respectivas razões de resistência superiores a 03. Isso significa que a concentração de inseticida letal para 95% dos indivíduos é no mínimo três vezes maior que a necessária para matar a mesma proporção de cepa susceptível de referência, Rockfeller (Tabela 5.3).

As populações com as menores razões de resistência para o inseticida temephos foram Parnamirim e Campo Grande, cujos valores variaram de 6,3 a 7,1 e 4,6 a 7,9, respectivamente. Por outro lado, as razões de Santarém e Duque de Caxias variaram de 8,6 a 10,3 e 9,8 a 13,3, respectivamente. Todas as populações apresentaram uma tendência à diminuição da resistência para este inseticida ao longo do ano de monitoramento. Parnamirim mostrou uma queda menos expressiva, cerca de 11%, enquanto Duque de Caxias apresentou uma redução de aproximadamente 26% (Garcia, comunicação pessoal) (Tabela 5.3).

Considerando a resistência à deltametrina, Parnamirim mostrou as menores razões de resistência, entre 10,1 e 14,2, que tenderam a aumentar ao longo do ano. Campo Grande apresentou valores elevadíssimos, flutuantes entre 58,2 e 97,8 e sem padrão temporal constante de variação aparente. Assim como Santarém e Duque de Caxias, cuja resistência a este piretróide variou de 35,1 a 57,7 e de 44,5 a 79,5, respectivamente. Notavelmente, a razão de resistência à deltametrina é altamente flutuante, chegando, por exemplo, a uma variação de 40% em um intervalo de três meses, como visto para Campo Grande (Garcia, comunicação pessoal) (Tabela 5.3).

Tabela 5.3. Razões de Resistência 95% (RRs) para temephos e deltametrina das coletas provenientes de Campo Grande/MS, Duque de Caxias/RJ, Parnamirim/RN e Santarém/PA (Garcia, comunicação pessoal).

RR ₉₅	Campo Grande				Duque de Caxias			
	CG1	CG2	CG3	CG4	DC1	DC2	DC3	DC4
Temephos	7,9	5,8	4,6	4,6	13,3	10,7	10,9	9,8
Deltametrina	97,8	58,2	88,3	85,4	61,3	79,5	64,4	44,5
RR ₉₅	Parnamirim				Santarém			
	PN1	PN2	PN3	PN4	ST1	ST2	ST3	ST4
Temephos	7,1	6,4	6,3	6,3	10,2	10,3	8,6	9,0
Deltametrina	11,6	10,1	12,4	14,2	57,7	35,1	55,1	49,3

5.2. Aspectos específicos da biologia das populações de *Aedes aegypti* estudadas e a resistência aos inseticidas temephos e deltametrina

5.2.1. Campo Grande/MS

5.2.1.1. Cinética do desenvolvimento larvar

Foram obtidas, para cada coleta, medidas descritivas da duração aproximada de cada estadio larvar (L1 a L4), assim como da duração da fase de pupa, do tempo total de desenvolvimento (compreendido entre a de eclosão dos ovos e emersão dos adultos) e da razão Pop/Rock (Tabela 5.4).

Os valores médios obtidos para as razões Pop/Rock variaram de 0,9 a 1,01 (Tabela 5.4). O desenvolvimento larvar dos indivíduos provenientes da coleta CG1 foi significativamente mais rápido que o das demais coletas (CG1 *versus* CG2: $D = 45,83$; $p\text{-valor} < 0,05$; CG1 *versus* CG3: $D = 65,04$; $p\text{-valor} < 0,05$; CG1 *versus* CG4: $D = 45,42$; $p\text{-valor} < 0,05$), ao passo que não foram detectadas diferenças significativas entre CG2, CG3 e CG4 (Figura 5.10). A mortalidade durante o desenvolvimento larvar foi de 20,71%, 0,83%, 3,42% e 43,33% para CG1, CG2, CG3, e CG4, respectivamente.

Tabela 5.4. Mediana, média e desvio-padrão (DP) da duração aproximada dos quatro estádios larvares (L1 a L4), da fase de pupa, do tempo total de desenvolvimento e da normalização pelos controles Rockefeller (Pop/Rock) de *Ae. aegypti* referentes às coletas de Campo Grande/MS.

Duração Aprox.	Coletas em Campo Grande/MS											
	CG1			CG2			CG3			CG4		
	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP
L1 (h)	48	49,18	5,56	28	29,11	2,29	33	33,29	5,36	33	32,03	8,76
L2(h)	24	22,67	5,15	20	20,91	3,23	29	31,24	8,71	20	20,96	3,46
L3 (h)	48	44,11	8,34	48	49,10	5,73	63	57,73	11,10	48	45,14	7,61
L4 (h)	96	97,1	28,45	72	80,62	14,12	120	118,5	34,70	77	81,93	13,57
Pupa (h)	48	47,14	4,11	48	46,55	3,94	48	43,97	6,43	48	46,85	5,92
Total (h)	264	257,60	33,82	216	226,10	16,10	288	282,2	36,95	220	226,80	14,49
Pop/Rock	0,9	0,90	0,04	1,00	1,00	0,02	1,00	1,01	0,04	1,00	0,99	0,01

Tabela 5.5. Mediana, média e desvio-padrão (DP) da sobrevivência em jejum em horas e comprimento de asas de machos e fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes das coletas de Campo Grande/MS.

Sobreviv. Aprox (horas)	Coletas em Campo Grande/MS											
	CG1			CG2			CG3			CG4		
	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP
Fêmeas	72	65,84	22,58	87	84,56	12,81	87	81,11	16,67	96	86,52	17,03
Asa (mm)	2,25	2,21	0,09	2,40	2,36	0,11	2,00	2,03	0,08	2,40	2,41	0,10
Machos	111	115,77	24,74	120	123,00	22,12	116	117,81	36,51	120	105,02	57,00
Asa (mm)	1,90	1,88	0,08	1,90	1,89	0,08	1,75	1,75	0,07	1,90	1,91	0,07

Aparentemente não há efeitos negativos da resistência aos inseticidas temephos e deltametrina no tempo de desenvolvimento da população proveniente do município de Campo Grande (Figura 5.11).

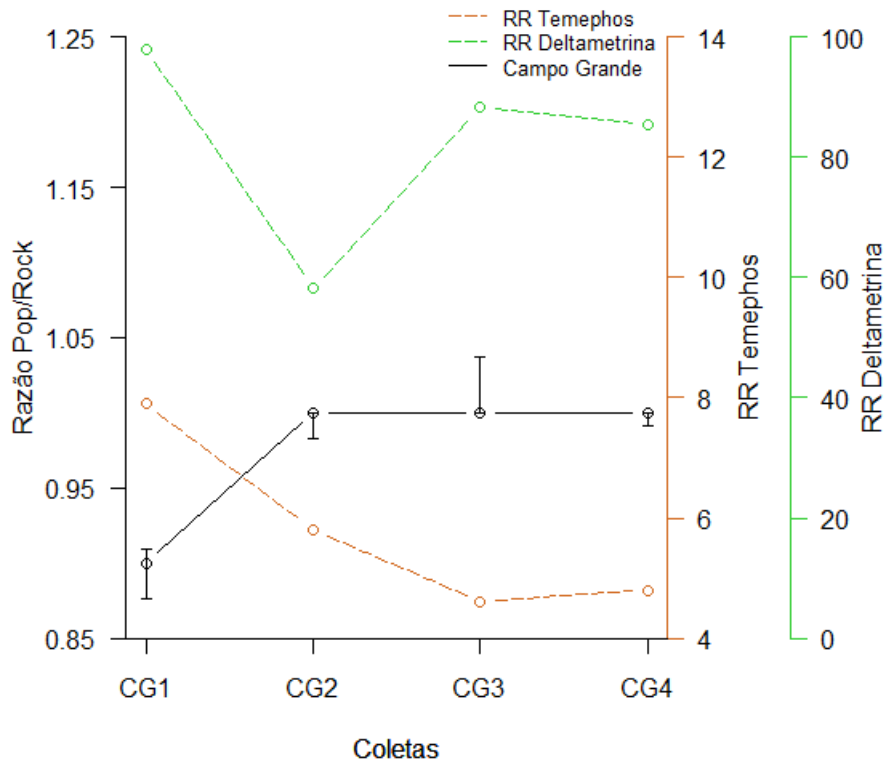


Figura 5.11. Variação da Razão Pop/Rock e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas CG1, CG2, CG3 e CG4. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

5.2.1.2. Tolerância ao jejum de formas adultas

Dentre as fêmeas, o tempo médio de sobrevivência em jejum foi de aproximadamente 66, 85, 81 e 87 horas para as coletas CG1, CG2, CG3 e CG4, respectivamente (Tabela 5.5). As fêmeas do grupo CG1 sobreviveram significativamente menos em jejum quando comparadas às demais coletas (CG1 *versus* CG2: $\chi^2 = 27,2$; g.l = 1, p-valor < 0,0001; CG1 *versus* CG3: $\chi^2 = 16$; g.l = 1, p-valor < 0,0001; CG1 *versus* CG4: $\chi^2 = 25,2$; g.l = 1, p-valor < 0,0001) (Figura 5.12). Quanto ao tamanho das asas, os indivíduos dos grupos CG4 e CG2 apresentaram esta estrutura

significativamente mais longa em relação aos indivíduos dos grupos CG1(CG4 *versus* CG1: $D = 29,45$; $p\text{-valor} < 0,05$; CG2 *versus* CG1: $D = 42,65$; $p\text{-valor} < 0,05$) e CG3 (CG4 *versus* CG3: $D = 54,16$; $p\text{-valor} < 0,05$; CG2 *versus* CG1: $D = 42,65$; $p\text{-valor} < 0,05$). O comprimento de asa das fêmeas da coleta CG1 foi considerado maior que o das fêmeas da coleta CG3 ($D = 45,87$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Tabela 5.5).

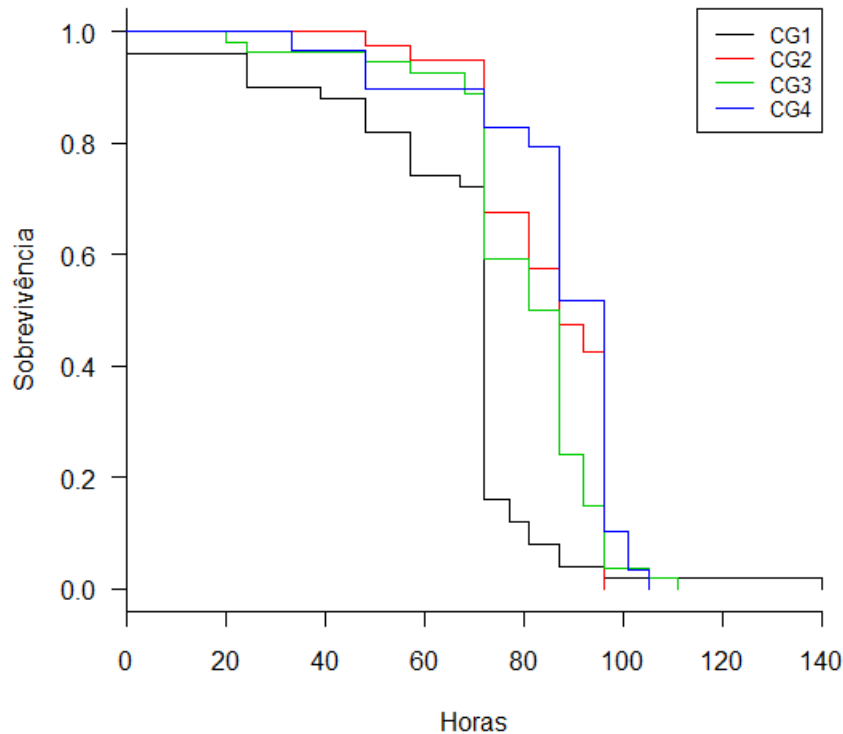


Figura 5.12. Curvas de sobrevivência em jejum das fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes da geração F1 dos indivíduos coletados em Campo Grande/MS.

Quanto aos machos, o tempo médio de sobrevivência em jejum foi de aproximadamente 116, 123, 118 e 105 horas para as coletas CG1, CG2, CG3 e CG4, respectivamente (Tabela 5.5). Não ocorreram diferenças significativas para a tolerância ao jejum entre os machos dos diferentes meses (Figura 5.13). As asas dos machos de CG3 se revelaram expressivamente menores do que as asas das demais coletas (CG3 *versus* CG1: $D = 73,34$; $p\text{-valor} < 0,05$; CG3 *versus* CG2: $D = 81,79$; $p\text{-valor} < 0,05$; CG3 *versus* CG1: $D = 98,09$; $p\text{-valor} < 0,05$;) (Tabela 5.5).

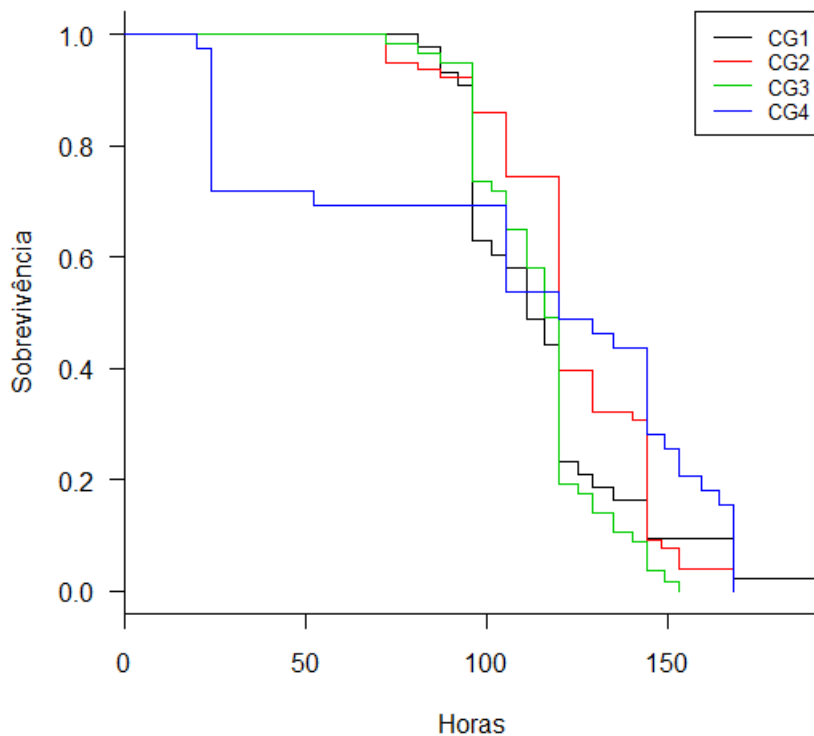


Figura 5.13. Curvas de sobrevivência em jejum dos machos de *Ae. aegypti* provenientes da geração F1 dos indivíduos coletados em Campo Grande/MS.

A representação gráfica evidencia a superioridade dos machos sobre as fêmeas quanto à tolerância ao jejum (Figura 5.14) e o maior tamanho de asas das fêmeas com relação aos machos (Figura 5.15). Todavia, o padrão de variação destes parâmetros ao longo do ano foi, na maioria dos casos, semelhante entre os sexos. Fêmeas da coleta CG1 e CG3 apresentaram menor tolerância ao jejum, menor tamanho de asa e nos momentos de maior razão de resistência à deltametrina. Estes parâmetros tenderam a variar de maneira inversa à resistência a deltametrina, ou seja, mostra uma tendência de queda quando a resistência aumenta e uma tendência de aumento quando a resistência diminui. Para os machos, a tolerância ao jejum se comporta da mesma maneira, porém de forma mais sutil. Não parece haver qualquer relação entre o comprimento das asas e a tolerância ao jejum com a resistência ao tempo (Figura 5.14 e 5.15).

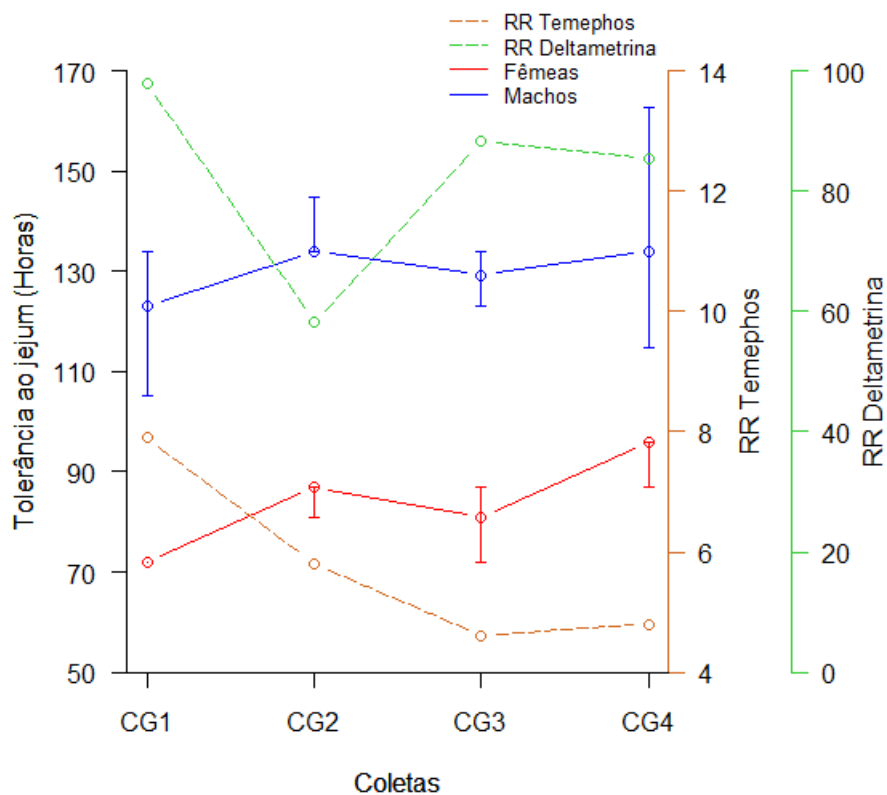


Figura 5.14. Mediana e intervalo de confiança (95%) das curvas de tolerância ao jejum de machos e fêmeas de *Ae. aegypti* das quatro coletas de Campo Grande e as respectivas razões de resistência para temephos e deltametrina.

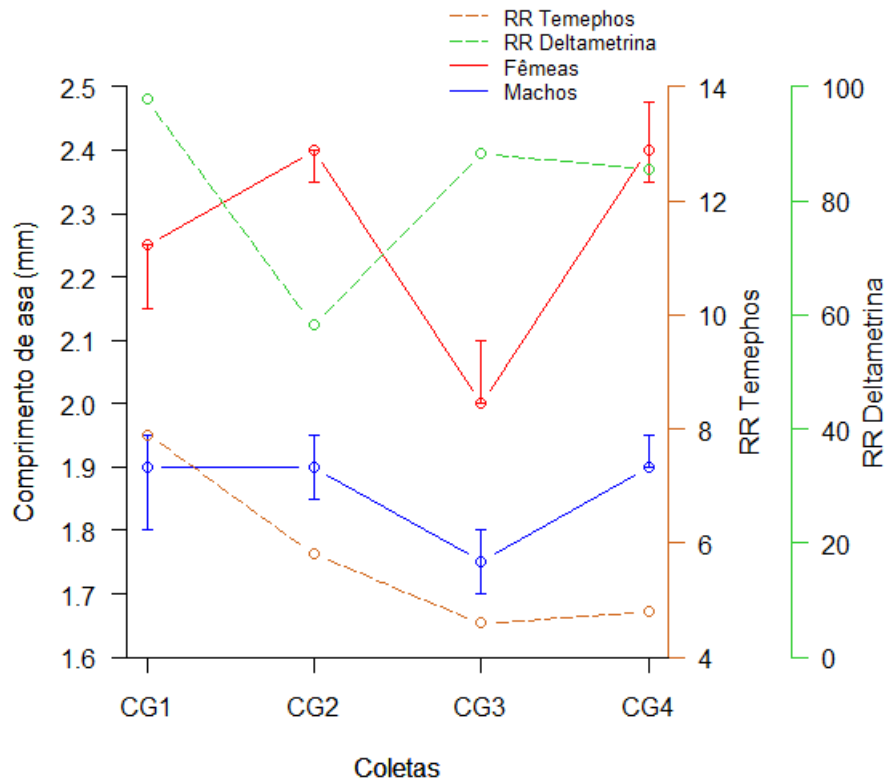


Figura 5.15. Variação do comprimento de asa (mm) de machos e fêmeas de *Ae. aegypti* e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas CG1, CG2, CG3 e CG4.

Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

5.2.1.3. Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas

Curvas de sobrevivência foram construídas para cada coleta de Campo Grande após o monitoramento individual das fêmeas de *Ae. aegypti*. As coletas de CG1, CG2, CG3 e CG4 um tempo médio de sobrevivência de aproximadamente 33, 28, 29, e 24 dias, respectivamente. Após a comparação das curvas, foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. As fêmeas do grupo CG4 sobreviveram significativamente menos que as fêmeas do grupo CG1 ($\chi^2 = 23,6$; g.l = 1, p-valor < 0,0001). As coletas CG1, CG2 e CG3 possuíram indivíduos vivos após o decorrer dos 60 dias de monitoramento (Figura 5.16).

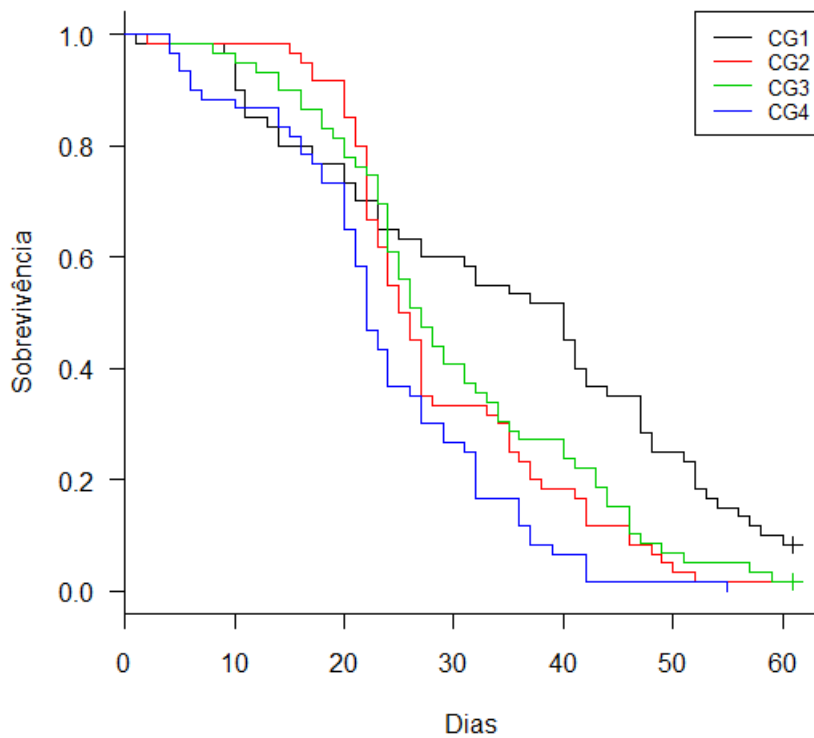


Figura 5.16. Curvas de sobrevivência das fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes da população de Campo Grande/MS, mantidas individualmente em tubos plásticos cilíndricos e alimentadas com sacarose e sangue.

A variação temporal da mediana e intervalo de confiança (95%) das curvas de sobrevivência das fêmeas das quatro coletas foi comparada às flutuações na razão de resistência a temephos e deltametrina. Aparentemente, não existe redução na sobrevivência nos momentos de maior resistência a estes compostos (Figura 5.17).

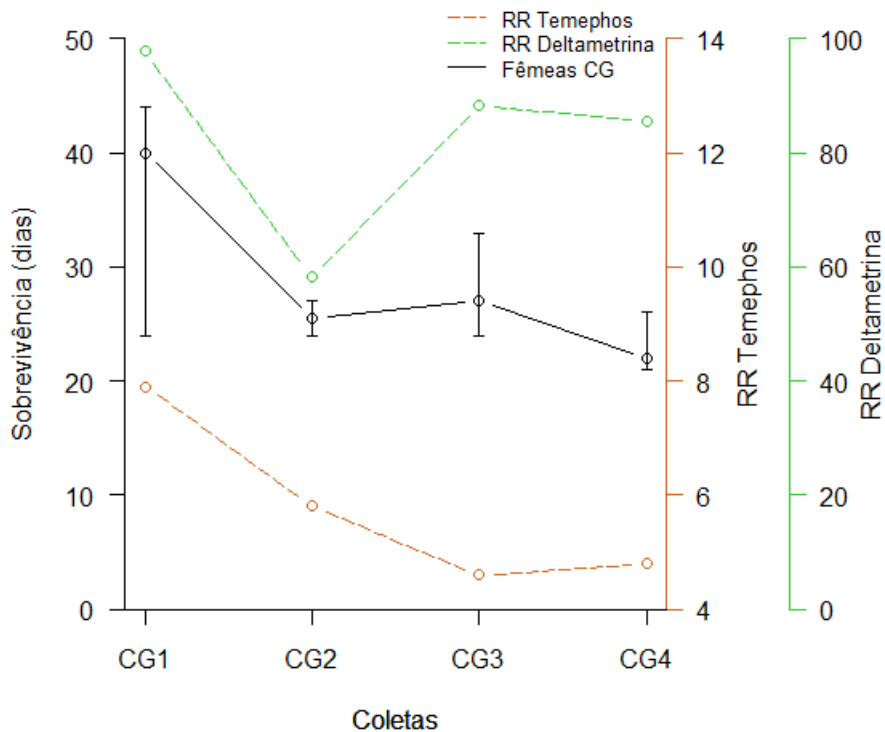


Figura 5.17. Mediana e intervalo de confiança (95%) das curvas de sobrevivência das fêmeas de *Ae. aegypti* das quatro coletas de Campo Grande e as respectivas razões de resistência para temephos e deltametrina.

5.2.1.4. Sucesso de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas

O sucesso de oviposição e a fecundidade das fêmeas originárias das quatro coletas foram registrados através da contagem semanal de ovos postos por indivíduo. A parcela de fêmeas que se alimentou de sangue durante as semana 01 foi cerca de 34%, 56%, 41% e 72% para CG1, CG2, CG3 e CG4, respectivamente, enquanto na segunda alimentação 24%, 50%, 47%, 48% das fêmeas realizaram o repasto sanguíneo. Por fim, na terceira semana aproximadamente 25%, 40%, 34%, 50% dos mosquitos se alimentaram de sangue.

Média e desvio padrão do sucesso de oviposição foram apresentados para as diferentes coletas para cada semana (Figura 5.18). Em seguida, a média e o desvio padrão da fecundidade

foram representados (Figura 5.19). Assim, foram comparadas as fêmeas das diferentes coletas considerando de acordo com a semana de experimento.

Considerando o sucesso de oviposição, não há diferenças significativas entre as coletas para primeira semana. Com relação à segunda semana, o número de ovos correspondentes à coleta CG1 e CG3 foram inferiores ao das coletas CG2 (CG1 *versus* CG2: D = 35,11; p-valor < 0,05; CG3 *versus* CG2: D = 30,71; p-valor < 0,05) e CG4 (CG1 *versus* CG4: D =43,22; p-valor < 0,05; CG3 *versus* CG4: D =38,82; p-valor < 0,05). Finalmente, tratando-se da terceira semana, a fecundidade do grupo CG4 foi considerada novamente superior com relação aos grupos CG1(D = 27,66; p-valor < 0,05) e CG3 (D = 26,78; p-valor < 0,05) (Figura 5.18). Entretanto, tais discrepâncias encontradas para as semanas 02 e 03 não se mantêm quando considerada a fecundidade, ou seja, apenas os indivíduos que realizaram oviposição (Figura 5.19).

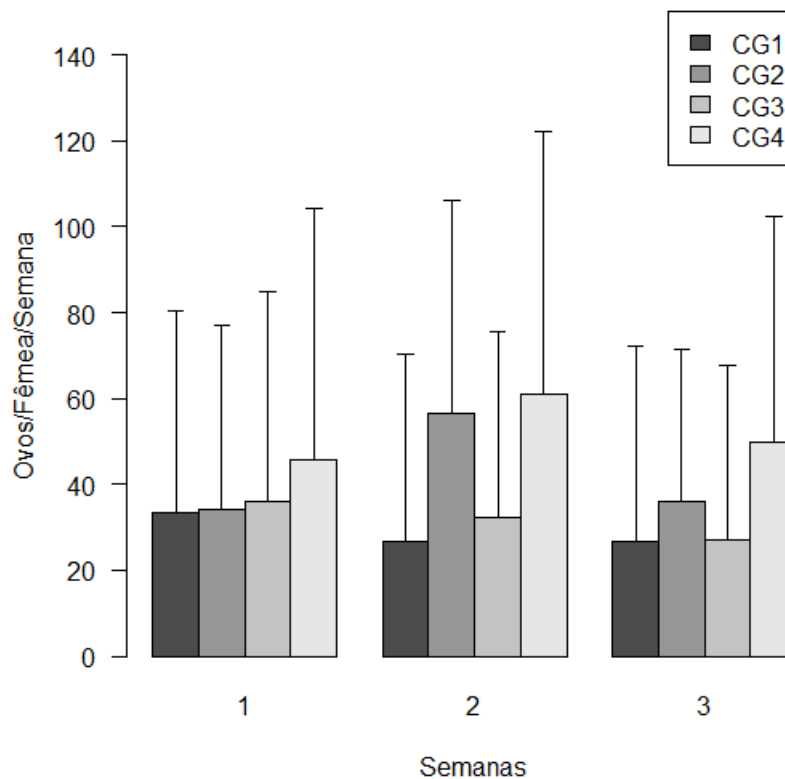


Figura 5.18. Campo Grande/MS: média e desvio padrão do sucesso de oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti*, monitorado semanalmente.

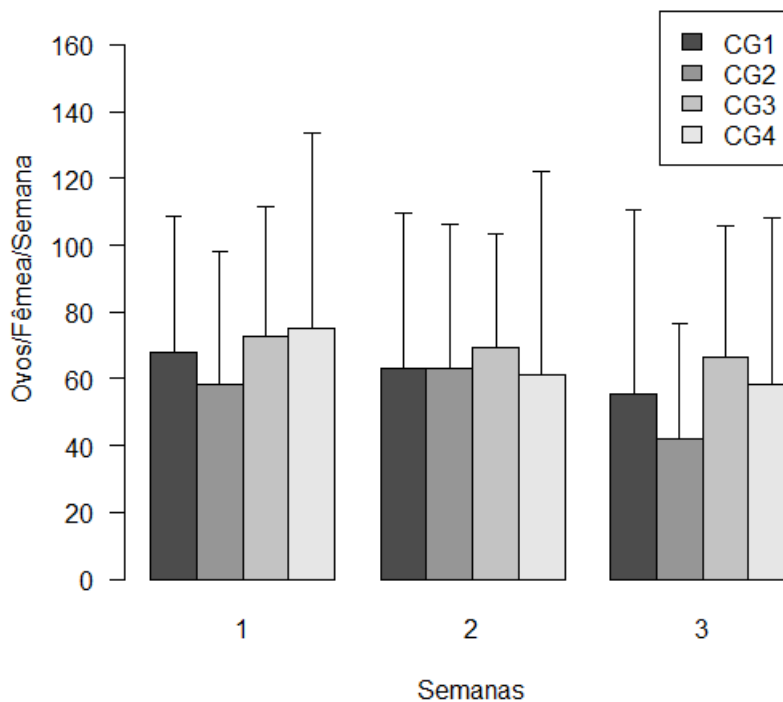


Figura 5.19. Campo Grande/MS: média e desvio padrão da fecundidade de fêmeas de *Ae. aegypti*, monitorada semanalmente.

Os momentos de maior sucesso de oviposição mostraram menores razões de resistência à deltametrina, enquanto que maior resistência a este composto parece estar associada com os momentos de menor sucesso de oviposição (Figura 5.20). Novamente, tais diferenças não aconteceram considerando-se a fecundidade, assim como não há qualquer relação com os níveis de resistência obtidos (Figura 5.21).

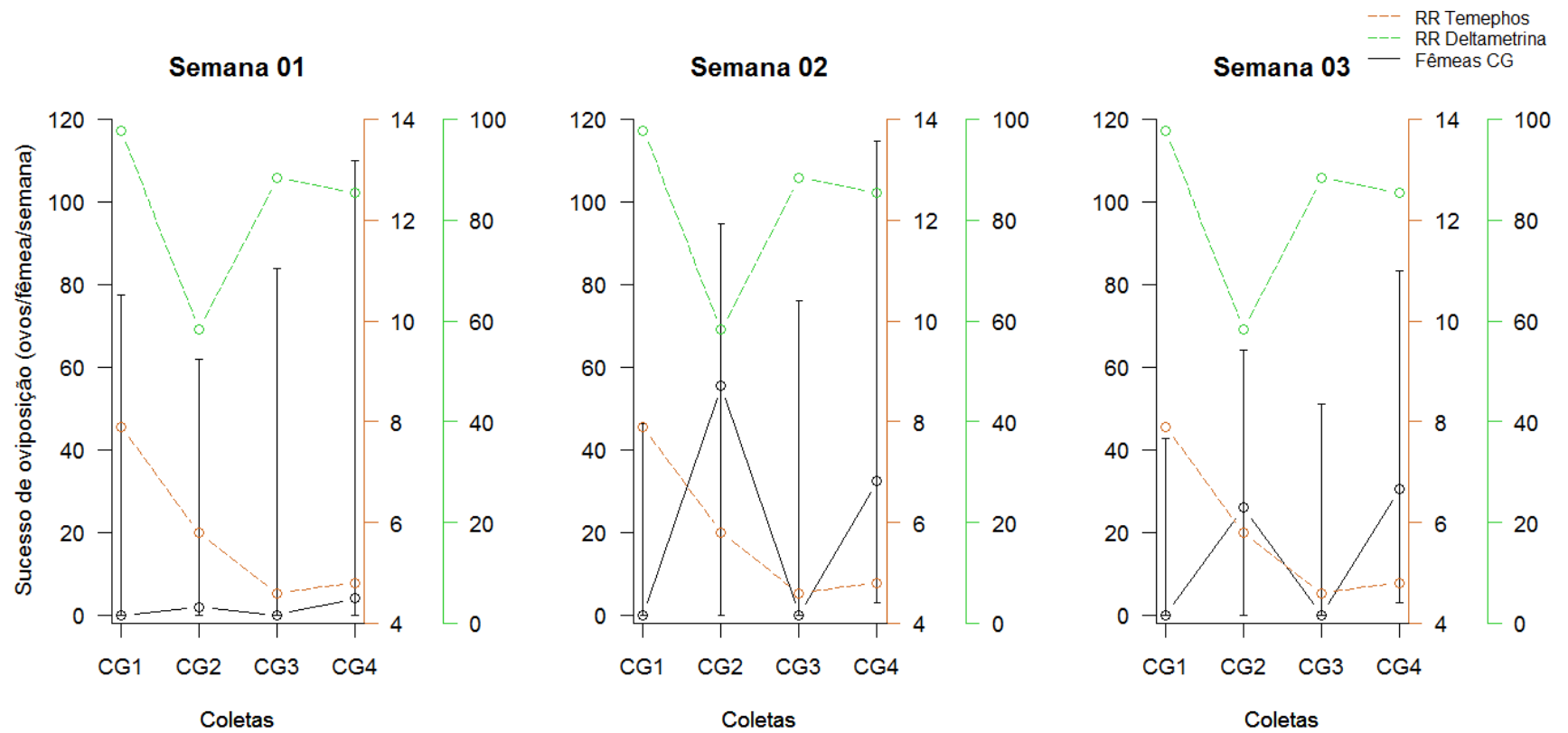


Figura 5.20. Variação do sucesso de oviposição total de fêmeas de *Ae. aegypti* e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas CG1, CG2, CG3 e CG4 por semana. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

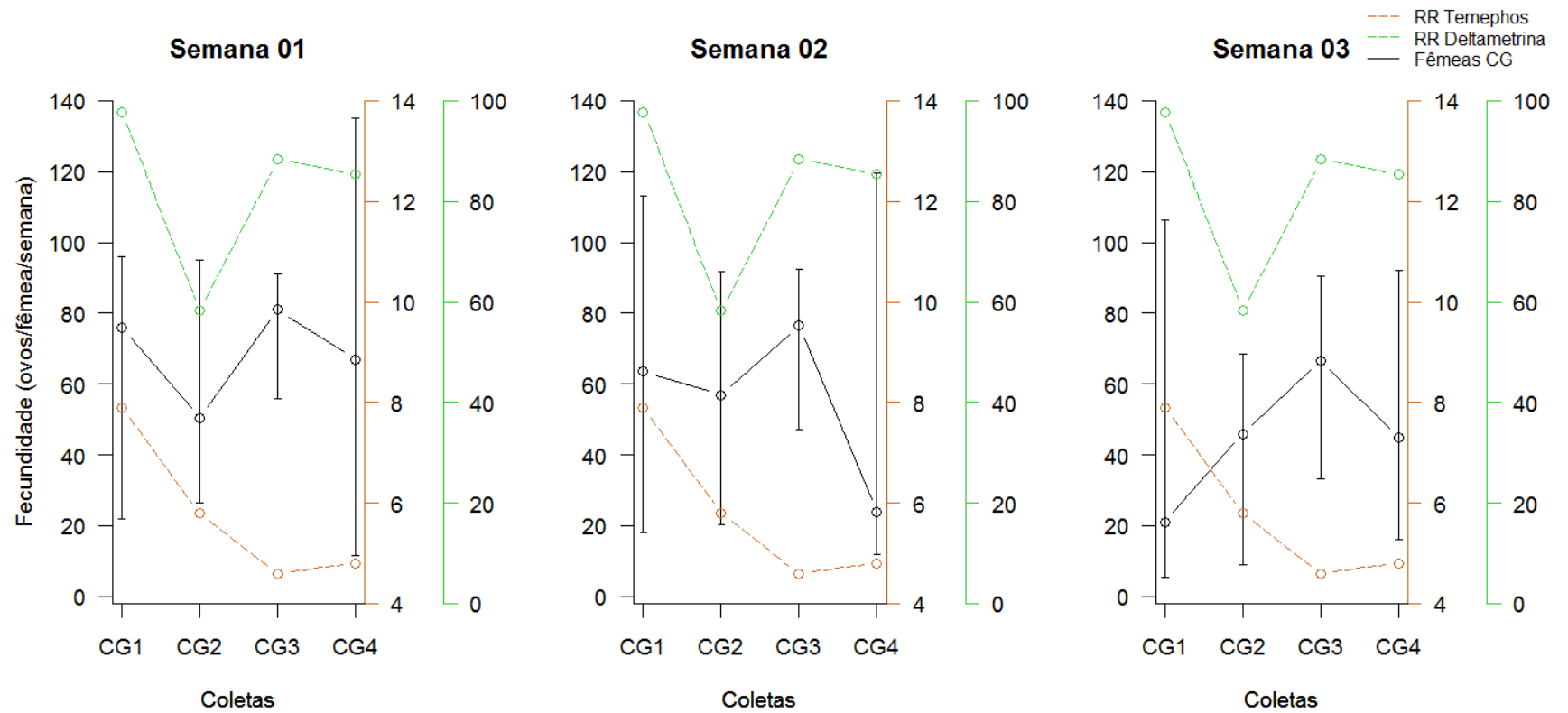


Figura 5.21. Variação da fecundidade de fêmeas de *Ae. aegypti* e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas CG1, CG2, CG3 e CG4 por semana. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

5.2.2. Duque de Caxias/RJ

5.2.2.1. Cinética do desenvolvimento larvar

Para cada coleta de Duque de Caxias, foram obtidas medidas descritivas da duração aproximada de cada estadio larvar (L1 a L4), assim como da duração da fase de pupa, do tempo total de desenvolvimento (compreendido entre a de eclosão dos ovos e emersão dos adultos) e da razão Pop/Rock.

Os valores médios da razão Pop/Rock variaram entre 1,04 e 1,17 (Tabela 5.7). Foi visto que os indivíduos pertencentes ao grupo DC1 apresentaram desenvolvimento de ovo à forma adulta mais lento que os demais (DC1 *versus* DC2: $D = 61,48$; $p\text{-valor} < 0,05$; DC1 *versus* DC3: $D = 38,75$; $p\text{-valor} < 0,05$; DC1 *versus* DC4: $D = 51,59$; $p\text{-valor} < 0,05$). Por outro lado, o decorrer do desenvolvimento das coletas DC2, DC3 e DC4 foi semelhante (Figura 5.22). A mortalidade dentro dos grupos DC1, DC2, DC3 e DC4 durante as fases imaturas foi de 0,84%, 1,67%, 5,88% e 0,84%, respectivamente.

Tabela 5.6. Mediana, média e desvio-padrão (DP) da duração aproximada dos quatro estadios larvares (L1 a L4), da fase de pupa, do tempo total de desenvolvimento e da normalização pelos controles Rockefeller (Pop/Rock) de *Ae. aegypti* referentes às coletas de Duque de Caxias/RJ.

Duração Aprox.	Coletas em Duque de Caxias/RJ											
	DC1			DC2			DC3			DC4		
	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP
L1 (h)	48	52,08	9,81	28	28,28	2,86	48	49,13	6,52	28	26,91	2,08
L2(h)	24	26,57	7,26	24	23,29	3,32	24	22,59	5,01	24	24,43	2,41
L3 (h)	39	39,91	10,91	48	49,34	6,76	48	48,00	6,56	48	49,40	5,37
L4 (h)	115	119,45	43,12	81	83,65	14,17	120	119,62	29,39	79	81,80	10,19
Pupa (h)	48	46,17	5,58	48	46,11	4,36	48	45,47	6,54	48	46,36	4,70
Total (h)	284	284,32	44,42	225	230,74	16,55	288	285,72	29,64	225	228,93	12,59
Pop/Rock	1,18	1,17	0,08	1,02	1,04	0,04	1,07	1,06	0,03	1,02	1,07	0,10

Tabela 5.7. Mediana, média e desvio-padrão (DP) da sobrevivência em jejum em horas e comprimento de asas de machos e fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes das coletas de Duque de Caxias/RJ.

Sobreviv. Aprox. (horas)	Coletas em Duque de Caxias/RJ											
	DC1			DC2			DC3			DC4		
	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP
Fêmeas	72	76,61	17,02	92	91,06	19,80	72	89,62	39,78	72	74,28	16,14
Asa (mm)	-	-	-	2,45	2,41	0,10	2,15	2,16	0,07	2,40	2,37	0,08
Machos	120	116,16	26,87	144	147,17	31,17	111	112,74	31,68	120	107,16	35,13
Asa (mm)	-	-	-	1,9	1,89	0,06	1,8	1,82	0,07	1,9	1,90	0,07

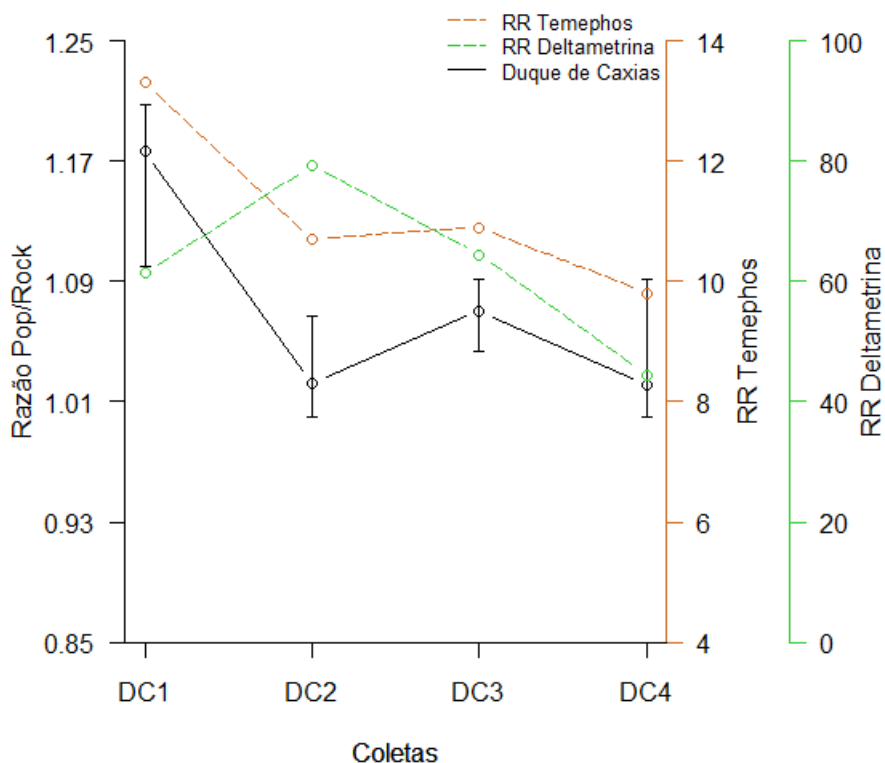


Figura 5.23. Variação da Razão Pop/Rock e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas DC1, DC2, DC3 e DC4. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

5.2.2.2 Sobrevivência em jejum de formas adultas

Após o registro do tempo de vida dos mosquitos adultos nas condições anteriormente mencionadas para cada coleta de Duque de Caxias (Tabela 5.7), foram construídas curvas de sobrevivência para machos e fêmeas. Foram detectadas diferenças significativas entre as curvas para ambos os sexos. O comprimento das asas foi medido apenas a partir da segunda coleta desta população (Figuras 5.24 e 5.25).

Dentre as fêmeas, o tempo médio de tolerância ao jejum foi de aproximadamente 77, 91, 90 e 74 horas para as coletas DC1, DC2, DC3 e DC4, respectivamente (Tabela 5.7). Os indivíduos provenientes do grupo DC2 persistiram por mais tempo sem alimentação que os indivíduos dos grupos DC1 ($\chi^2 = 16,1$; g.l = 1, p-valor < 0,0001) e DC4 ($\chi^2 = 18,9$; g.l = 1, p-

valor $< 0,0001$) (Figura 5.24). O tamanho das asas das fêmeas da coleta DC3 foi notadamente menor com relação às coletas DC2 ($D = 78,18$; p -valor $< 0,05$) e DC4 ($D = 61,55$; p -valor $< 0,05$) (Tabela 5.7).

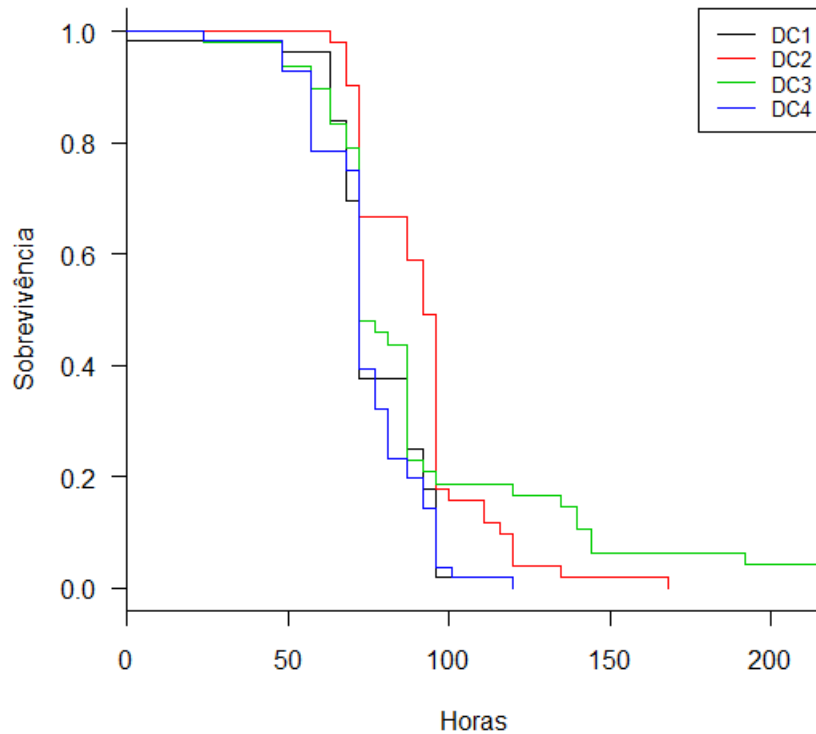


Figura 5.24. Curvas de sobrevivência em jejum das fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes da geração F1 dos indivíduos coletados em Duque de Caxias/RJ.

O tempo médio de tolerância ao jejum dos machos foi de aproximadamente 116, 147, 113 e 107 horas para as coletas DC1, DC2, DC3 e DC4, respectivamente (Tabela 5.7). Assim, o grupo DC2 sobreviveu por mais tempo em jejum que os demais (DC2 *versus* DC1: $\chi^2 = 29,9$; $g.l = 1$; p -valor $< 0,0001$; DC2 *versus* DC3: $\chi^2 = 30,9$; $g.l = 1$; p -valor $< 0,0001$; DC2 *versus* DC4: $\chi^2 = 52,8$; $g.l = 1$; p -valor $< 0,0001$) (Figura 5.25). De maneira similar às fêmeas, as asas os machos da coleta DC3 foram menores com relação às coletas DC2 ($D = 47,90$; p -valor $< 0,05$) e DC4 ($D = 52,48$; p -valor $< 0,05$) (Tabela 5.7).

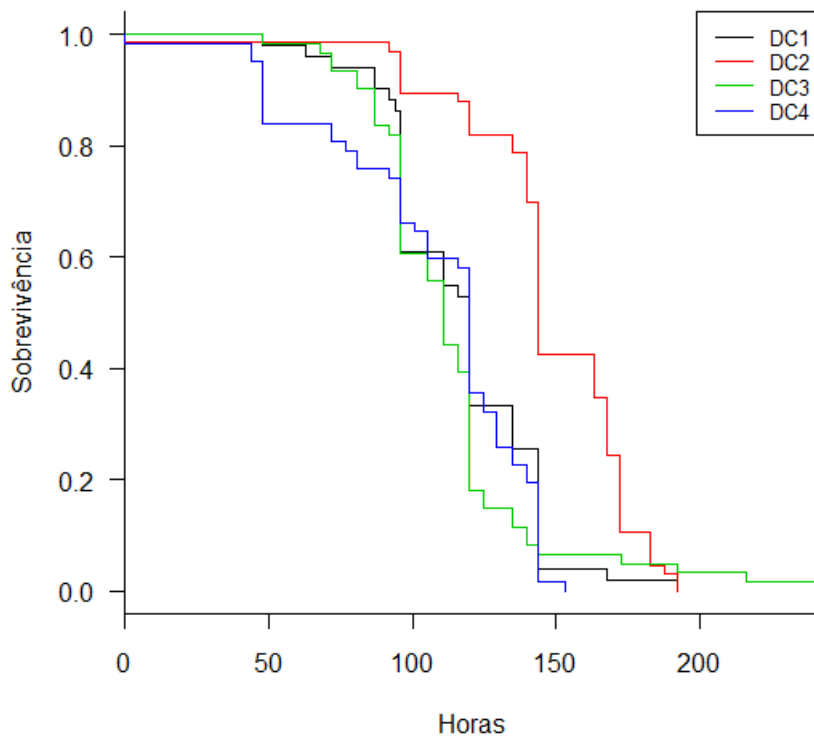


Figura 5.25. Curvas de sobrevivência em jejum dos machos de *Ae. aegypti* provenientes da geração F1 dos indivíduos coletados em Duque de Caxias/RJ.

Evidentemente, os machos apresentaram uma maior tolerância ao jejum (Figura 5.26) e menor tamanho corporal, medido indiretamente pelo comprimento de asas (Figura 5.27), que as fêmeas. Apesar disso, o padrão de variação entre os sexos foi muito semelhante. Em ambos os casos, os mosquitos mostraram maiores tolerância ao jejum e tamanho de asas nos dois pontos de menor resistência ao inseticida temephos (Figuras 5.26 e 5.27).

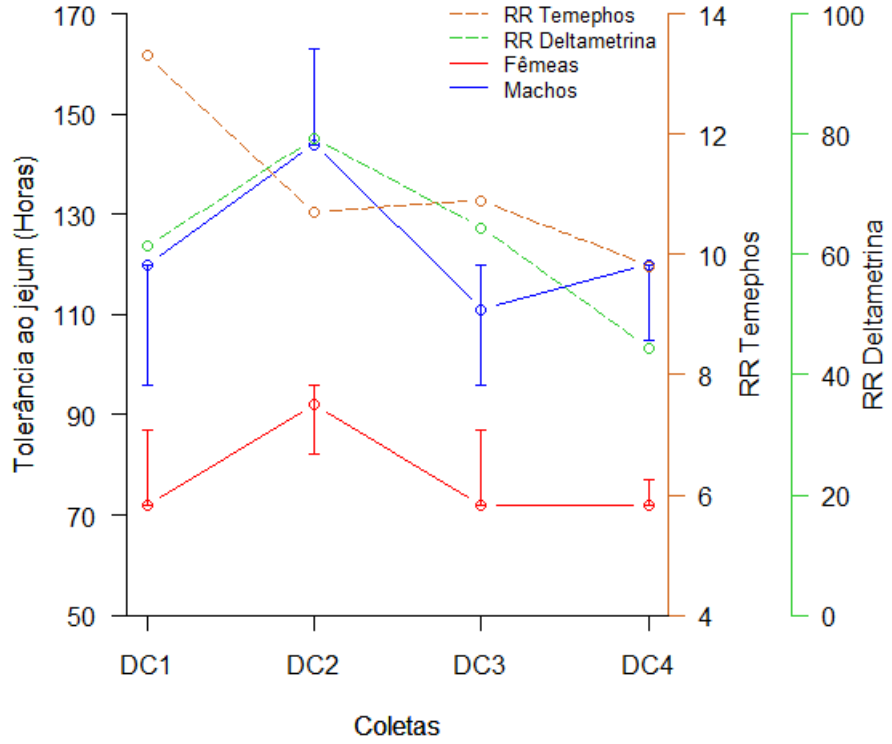


Figura 5.26. Mediana e intervalo de confiança (95%) das curvas de tolerância ao jejum de machos e fêmeas de *Ae. aegypti* das quatro coletas de Duque de Caxias e as respectivas razões de resistência para temephos e deltametrina.

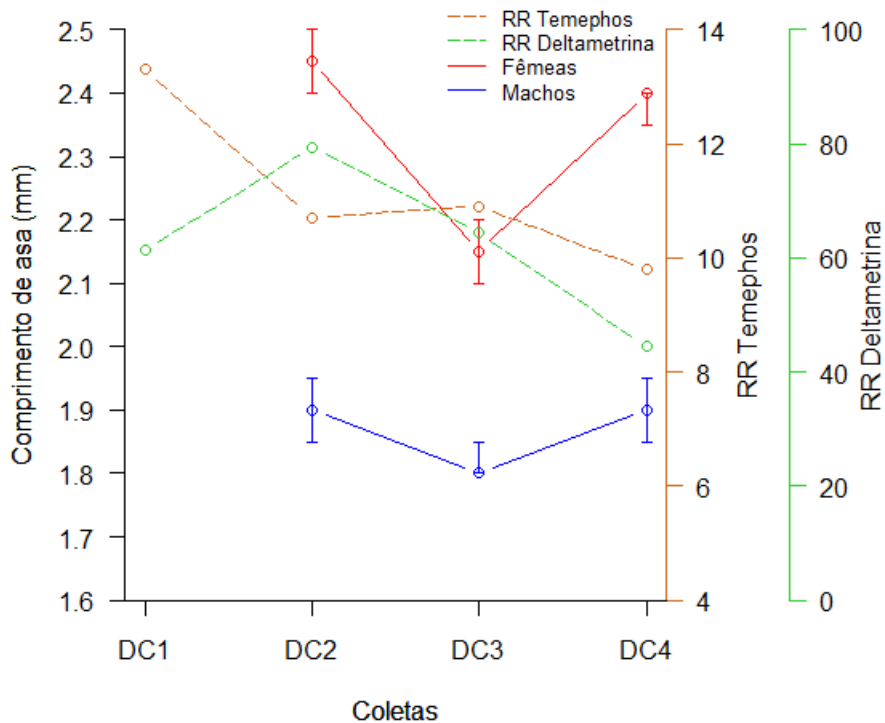


Figura 5.27. Variação do comprimento de asa (mm) de *Ae. aegypti* e da Razão de Resistência (RR) de temephos e deltametrina entre as coletas DC1, DC2, DC3 e DC4. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

5.2.2.3. Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas

Após o monitoramento individual das fêmeas de *Ae. aegypti* das coletas de Duque de Caxias, foram construídas curvas de sobrevivência para cada grupo. As coletas de DC1, DC2, DC3 e DC4 um tempo médio de sobrevivência de aproximadamente 15, 40, 30 e 22 dias, respectivamente. Após a comparação das curvas, foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. As fêmeas do grupo DC2 sobreviveram por mais tempo que os demais grupos (DC2 *versus* DC1: $\chi^2 = 24,8$; g.l = 1; p-valor < 0,0001; DC2 *versus* DC3: $\chi^2 = 16,5$; g.l = 1; p-valor < 0,0001; DC2 *versus* DC4: $\chi^2 = 45,7$; g.l = 1; p-valor < 0,0001). Adicionalmente, a coleta DC3 também mostrou maior sobrevivência com relação à coleta DC4 ($\chi^2 = 13,1$; g.l = 1; p-valor

= 0,0003). Os grupos DC1, DC2 e DC4 apresentaram indivíduos vivos após o decorrer dos 60 dias de monitoramento (Figura 5.28).

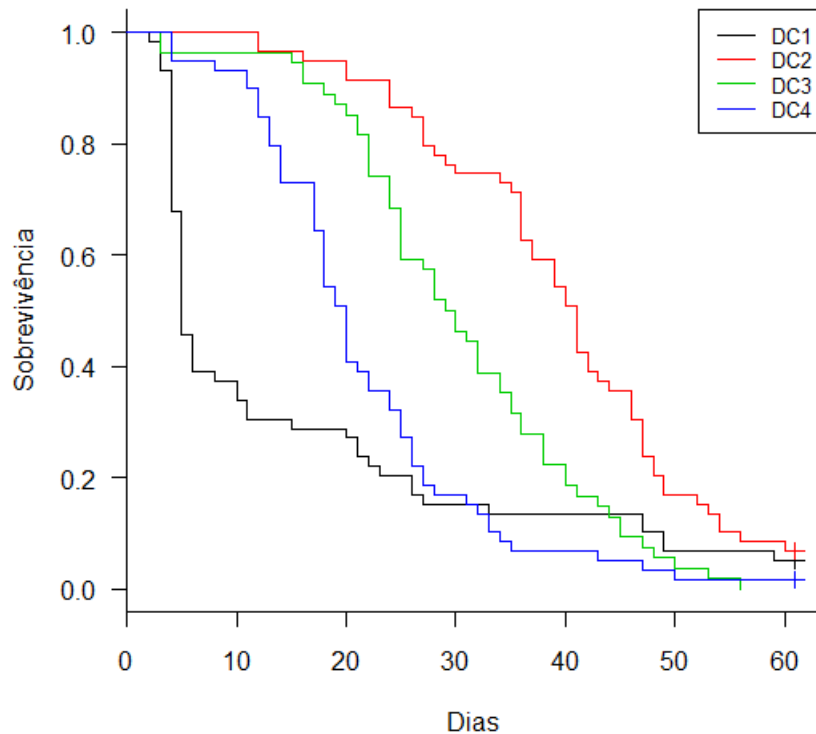


Figura 5.28. Curvas de sobrevivência das fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes da população de Duque de Caxias/RJ, mantidas individualmente em tubos plásticos cilíndricos e alimentadas com sacarose e sangue.

A variação temporal da mediana e intervalo de confiança (95%) das curvas de sobrevivência das fêmeas das quatro coletas foi comparada às flutuações na razão de resistência a temephos e deltametrina. Nota-se um aumento considerável da sobrevivência das fêmeas de Duque de Caxias com a queda acentuada da razão de resistência ao temephos de 13,3 para 10,7 (coletas DC1 e DC2, respectivamente). Entretanto, quando a magnitude da variação da resistência foi menor, entre 9,8 e 10,9, parece não haver relação entre este parâmetro e a sobrevivência das fêmeas adultas (Figura 5.29).

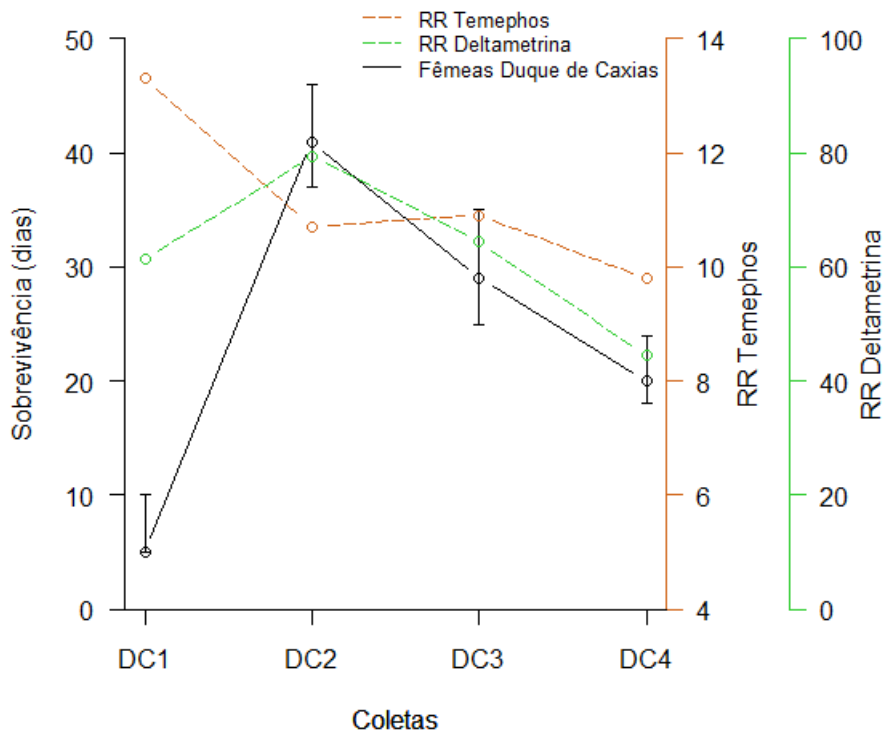


Figura 5.29. Mediana e intervalo de confiança (95%) das curvas de sobrevivência das fêmeas de *Ae. aegypti* das quatro coletas de Duque de Caxias e as respectivas razões de resistência para temephos e deltametrina.

5.2.2.4. Sucesso de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas

Comparações foram feitas com os dados coletados durante as três primeiras semanas de experimento, já que após este período o número de observações se torna restrito. Conforme feito anteriormente, foram obtidos média e desvio padrão do sucesso de oviposição por fêmea por semana (Figura 5.30) e da fecundidade (Figura 5.31). Após a primeira oferta de alimentação sanguínea foi constatado que 91%, 64%, 79% e 34% dos indivíduos das coletas DC1, DC2, DC3 e DC4 ingeriram sangue, respectivamente. Para as duas semanas subseqüentes o sucesso no repasto sanguíneo foi de 39%, 14%, 44% e 36% e 38%, 17%, 43% e 20%, respectivamente.

Considerando todas as fêmeas vivas no momento da contagem dos ovos, ou seja, o sucesso de oviposição, não há diferenças significativas entre as coletas para a primeira semana

(Figura 5.30). Entretanto, quando é levada em conta a fecundidade, ou seja, apenas aqueles indivíduos que realizaram oviposição, a quantidade de ovos da coleta DC2 é significativamente maior que a da coleta DC1 ($D = 25,01$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.31). A comparação do sucesso de oviposição dos grupos durante a semana 02 revelou a superioridade do grupo DC3 com relação ao grupo DC2 ($D = 42,52$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.30), contudo essa diferença não se mantém quanto à fecundidade (Figura 5.31). Com relação à terceira semana de registros, o número de ovos correspondentes ao sucesso de oviposição da coleta DC3 foi novamente superior ao de DC2 ($D = 26,24$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.30). Essa diferença não se mantém quanto à fecundidade, e DC2 é maior que a de DC4 nesta situação ($D = 26,24$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.31).

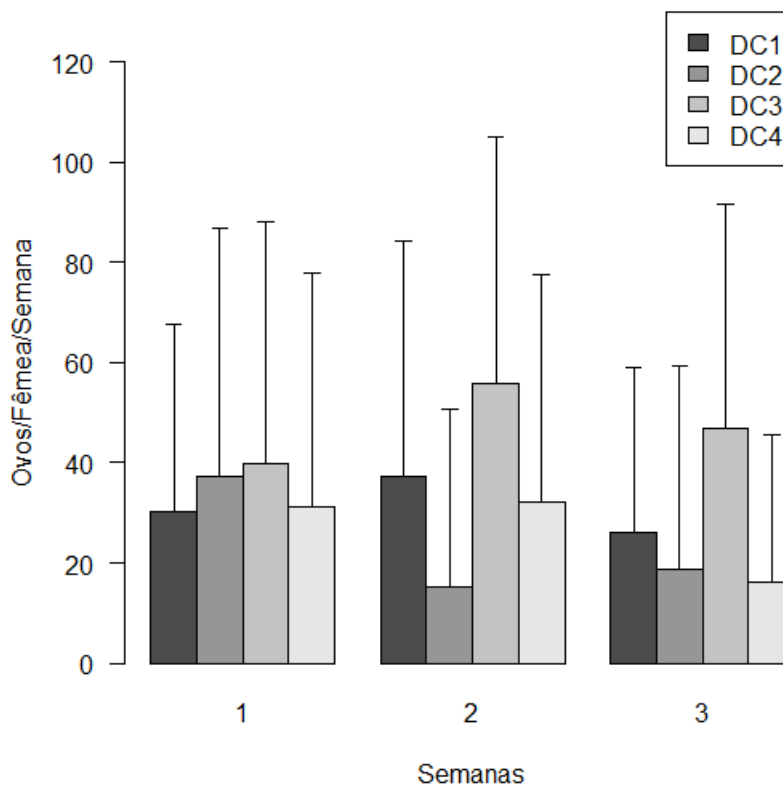


Figura 5.30. Duque de Caxias/RJ: média e desvio padrão do sucesso de oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti*, monitorado semanalmente.

Não parece haver qualquer relação do sucesso de oviposição com os níveis de resistência à temephos e deltametrina (Figura 5.32). Não há diferenças entre as coletas considerando-se a fecundidade. Porém, mesmo assim parece haver uma tendência de redução da fecundidade com o aumento da razão de resistência ao temephos para a primeira postura de ovos (semana 01) (Figura 5.33).

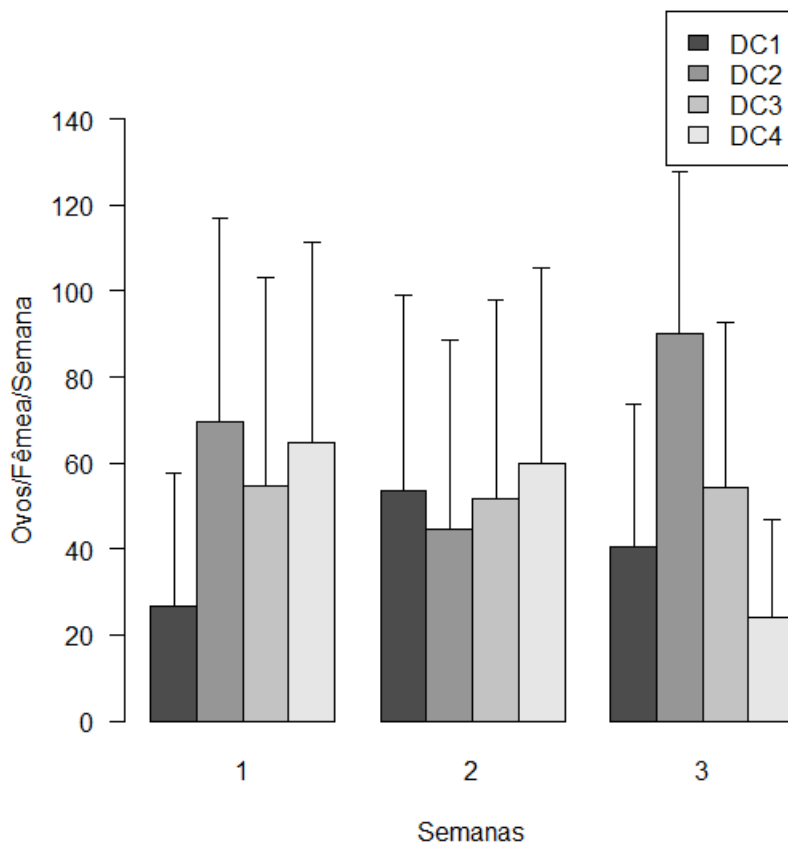


Figura 5.31. Duque de Caxias/RJ: média e desvio padrão média e desvio padrão da fecundidade das fêmeas de *Ae. aegypti*, monitorado semanalmente.

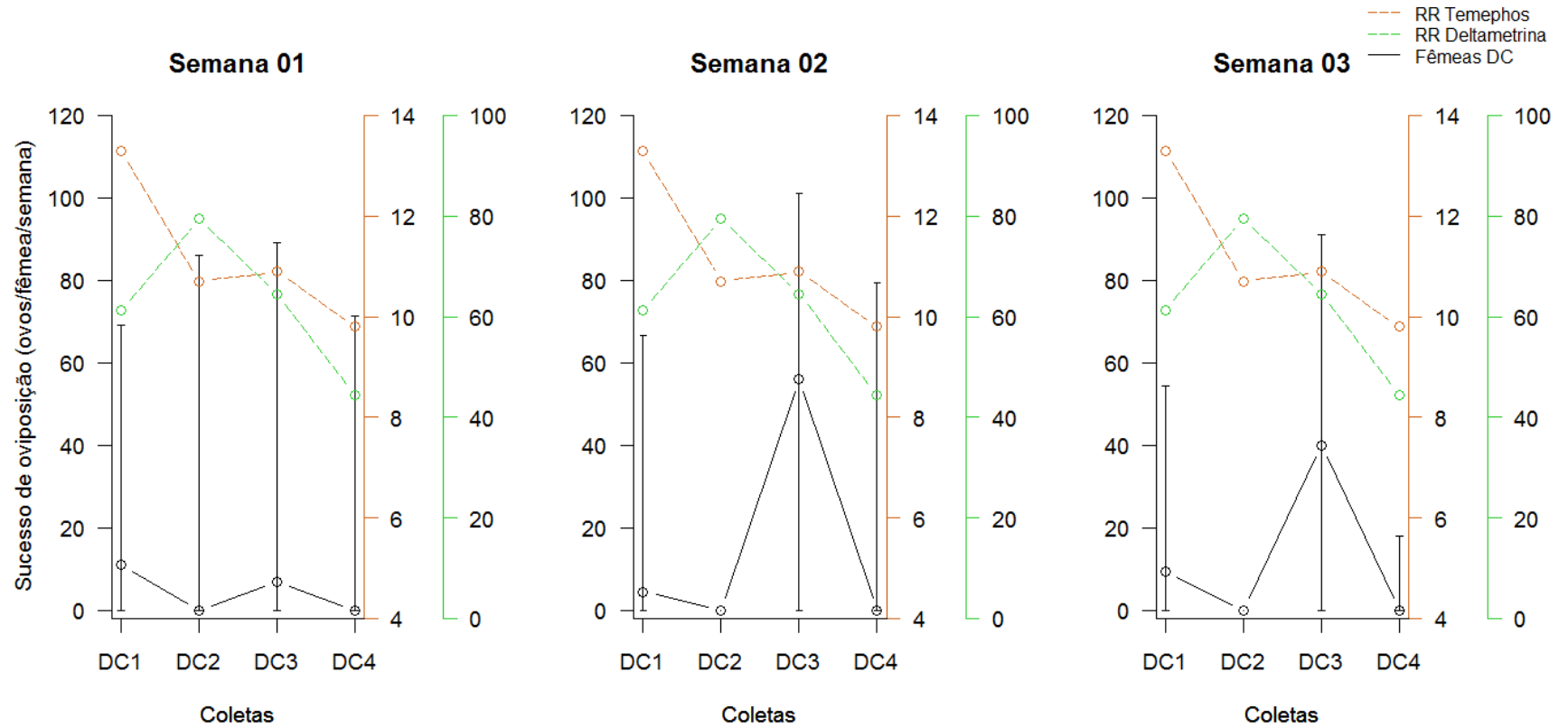


Figura 5.32. Variação do sucesso de oviposição total de fêmeas de *Ae. aegypti* e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas DC1, DC2, DC3 e DC4 por semana. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

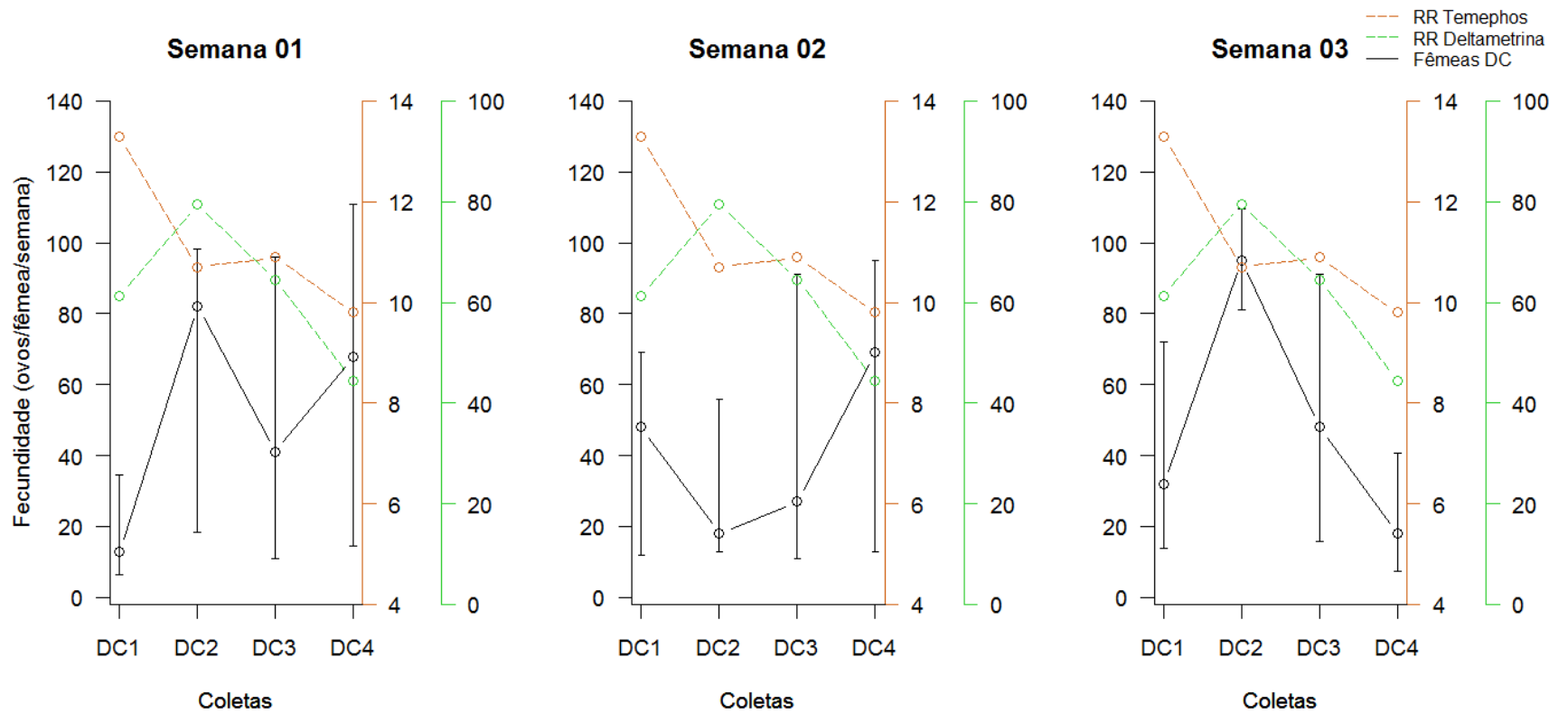


Figura 5.33. Variação da fecundidade de fêmeas de *Ae. aegypti* e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas DC1, DC2, DC3 e DC4 por semana. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

5.2.3. Parnamirim/RN

5.2.3.1. Cinética do desenvolvimento larvar

Medidas descritivas da duração aproximada de cada estadio larvar (L1 a L4), assim como da duração da fase de pupa, do tempo total de desenvolvimento (compreendido entre a de eclosão dos ovos e emersão dos adultos) e da razão Pop/Rock para cada coleta de Parnamirim encontram-se na Tabela 5.8.

Os valores médios da razão Pop/Rock variaram entre 1,01 e 1,10. Os indivíduos pertencentes ao grupo PN2 apresentaram desenvolvimento larvar significativamente mais duradouro que os demais (PN2 *versus* PN1: $D = 24,71$; $p\text{-valor} < 0,05$; PN2 *versus* PN3: $D = 46,60$; $p\text{-valor} < 0,05$; PN2 *versus* PN4: $D = 72,89$; $p\text{-valor} < 0,05$). Adicionalmente, as larvas da coleta PN4 também mostraram se desenvolver mais rapidamente quando comparadas àquelas das coletas PN1 e PN3 (PN4 *versus* PN1: $D = 48,18$; $p\text{-valor} < 0,05$; PN4 *versus* PN3: $D = 26,28$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.34). A mortalidade dentro dos grupos PN1, PN2, PN3 e PN4 durante as fases de larva e pupa foi de 20,83%, 1,67%, 5% e 0,83%, respectivamente.

Aparentemente, não há relação entre o tempo de desenvolvimento da população de Parnamirim e os níveis de resistência à temephos e deltametrina (Figura 5.35).

Tabela 5.8. Mediana, média e desvio-padrão (DP) da duração aproximada dos quatro estadios larvares (L1 a L4), da fase de pupa, do tempo total de desenvolvimento e da normalização pelos controles Rockefeller (Pop/Rock) das coletas de Parnamirim/RN.

Duração Aprox.	Coletas em Parnamirim/RN											
	PN1			PN2			PN3			PN4		
	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP
L1 (h)	72	68,91	10,10	48	46,66	7,26	48	46,57	5,29	24	24,40	1,21
L2(h)	24	23,05	4,46	24	23,78	5,25	24	23,76	3,57	24	24,69	2,15
L3 (h)	33	32,92	7,42	48	53,14	9,79	48	45,84	8,28	52	51,46	4,76
L4 (h)	72	81,51	22,07	120	129,53	33,17	105	113,33	33,05	72	77,54	8,84
Pupa (h)	48	46,30	6,51	48	46,52	5,07	48	45,37	5,55	48	45,97	4,40
Total (h)	249	253,10	25,90	292	299,58	36,34	266	273,41	33,69	220	224,06	10,69
Pop/Rock	1,06	1,06	0,03	1,09	1,10	0,05	1,01	1,03	0,05	1,00	1,00	0,02

Tabela 5.9. Mediana, média e desvio-padrão (DP) da sobrevivência em jejum em horas e comprimento de asas de machos e fêmeas provenientes das coletas de Parnamirim/RN.

Sobreviv. Aprox. (horas)	Coletas em Parnamirim/RN											
	PN1			PN2			PN3			PN4		
	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP
Fêmeas	92	92,59	23,13	72	88,87	34,52	72	86,91	41,90	72	75,62	10,28
Asa (mm)	-	-	-	-	-	-	2,15	2,12	0,08	2,40	2,38	0,06
Machos	144	145,76	39,17	111	109,90	23,84	96	104,34	19,27	129	121,26	32,11
Asa (mm)	-	-	-	-	-	-	1,80	1,80	0,07	1,95	1,92	0,05

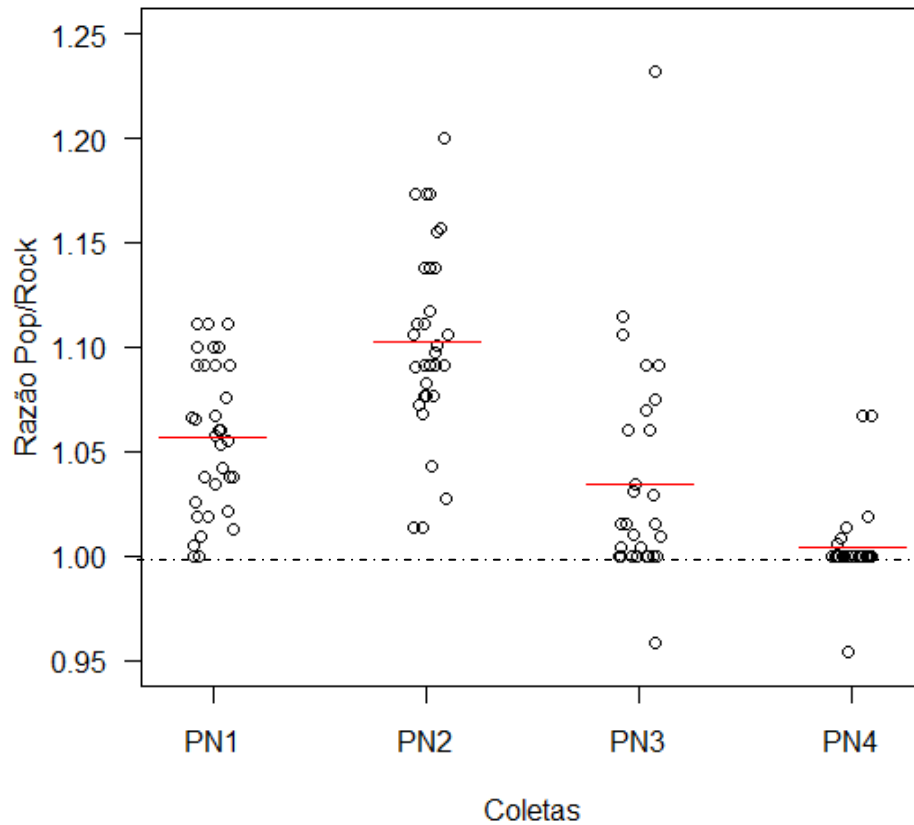


Figura 5.34. Razão Pop/Rock entre o tempo total de desenvolvimento dos indivíduos da geração F1 das coletas de Parnamirim/RN e seus respectivos controles Rockefeller. O valor mediano de cada conjunto de dados está representado pelo segmento em vermelho. A linha tracejada representa a situação na qual a coleta possui tempo de desenvolvimento igual ao seu respectivo controle Rockefeller (Razão Pop/Rock = 1).

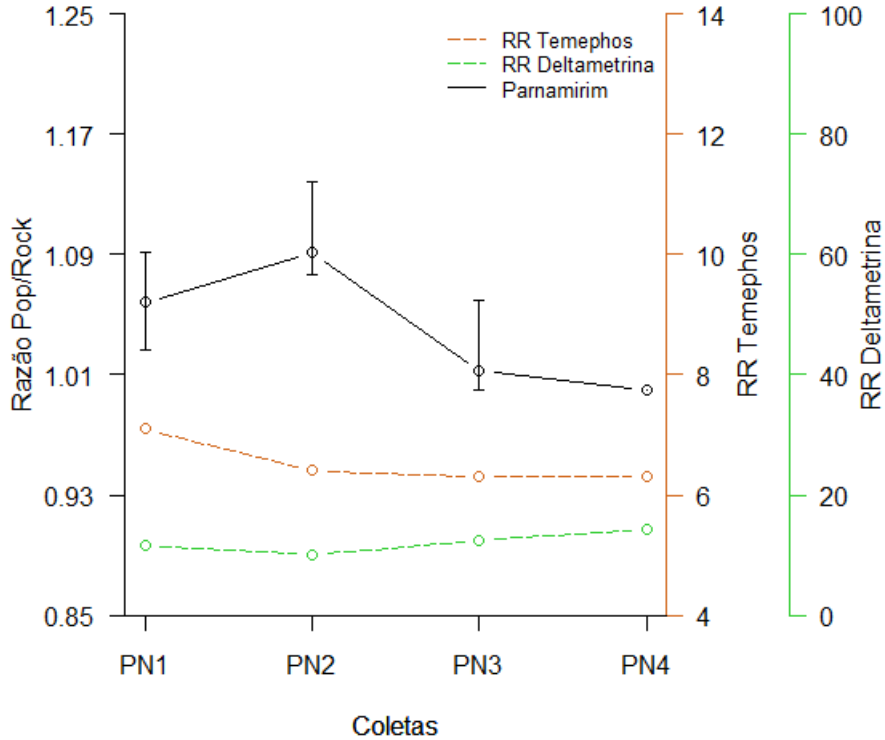


Figura 5.35. Variação da Razão Pop/Rock e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas PN1, PN2, PN3 e PN4. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

5.2.3.2 Sobrevivência em jejum de formas adultas

Curvas de sobrevivência para fêmeas e machos de cada coleta de Parnamirim estão nas figuras 5.36 e 5.37, respectivamente. Medidas descritivas destes dados podem ser encontradas na Tabela 5.9, assim como informações sobre o comprimento de asa das coletas PN3 e PN4.

Com relação às fêmeas, o tempo médio de sobrevivência em jejum foi de aproximadamente 93, 89, 87 e 76 horas para as coletas PN1, PN2, PN3 e PN4, respectivamente (Tabela 5.9), entretanto não há diferenças significativas entre os grupos (Figura 5.36). O comprimento de asas das fêmeas das coletas PN3 e PN4 foram efetivamente diferentes ($D = 52,14$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Tabela 5.9 e Figura 5.39).

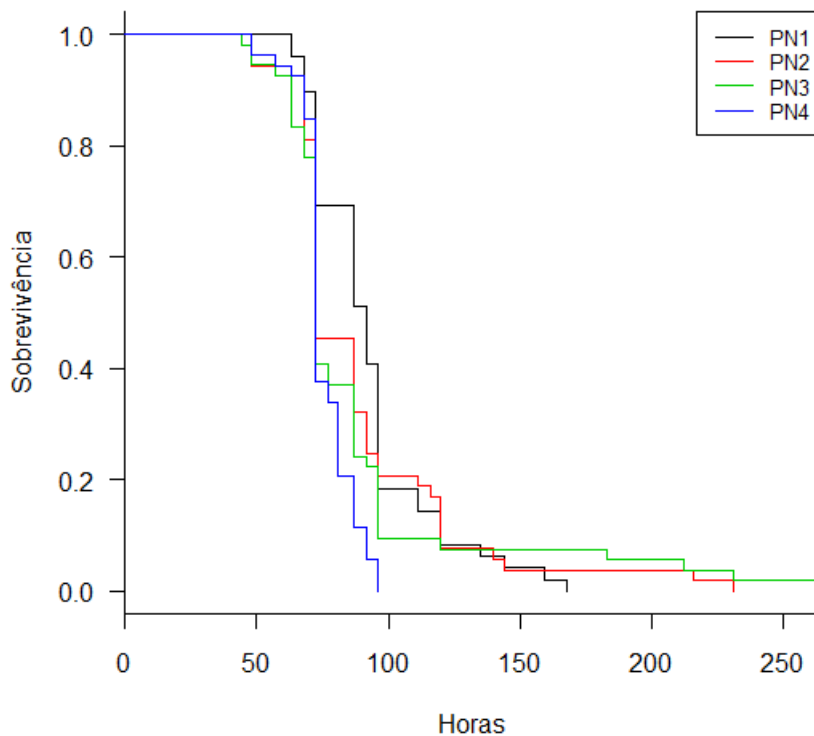


Figura 5.36. Curvas de sobrevivência em jejum das fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes da geração F1 dos indivíduos coletados em Parnamirim/RN.

O tempo médio de sobrevivência dos machos sob as condições anteriormente mencionadas foi de aproximadamente 146, 110, 104 e 121 horas para as coletas PN1, PN2, PN3 e PN4, respectivamente (Tabela 5.9). O grupo PN1 sobreviveu por mais tempo que PN2 ($\chi^2 = 29,9$; g.l = 1; p-valor < 0,0001) e PN3 ($\chi^2 = 46,7$; g.l = 1; p-valor < 0,0001). A sobrevivência do grupo PN4 também foi superior à do grupo PN3 ($\chi^2 = 23,4$; g.l = 1; p-valor < 0,0001) (Figura 5.37). De modo similar às fêmeas, as asas os machos da coleta PN3 e PN4 foram diferentes ($D = 52,48$; p-valor < 0,05) (Tabela 13 e Figura 5.39).

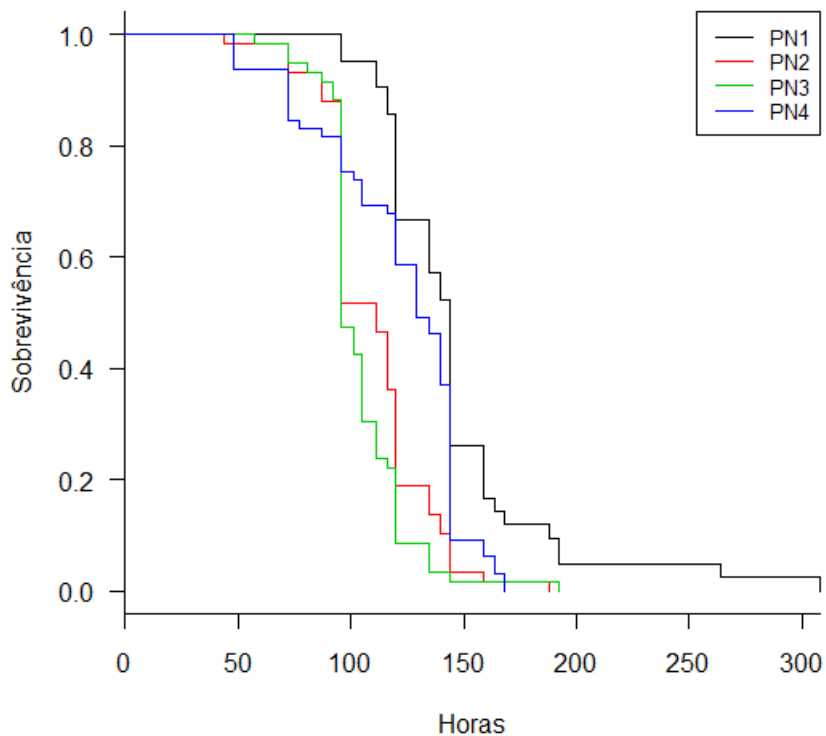


Figura 5.37. Curvas de sobrevivência em jejum dos machos de *Ae. aegypti* provenientes da geração F1 dos indivíduos coletados em Parnamirim/RN.

Conforme observado para as demais localidades, os machos apresentaram uma maior tolerância ao jejum (Figura 5.38) e menor comprimento de asas (Figura 5.39), que as fêmeas. Não há relação clara entre estes parâmetros e os níveis de resistência à temephos e deltametrina (Figuras 5.38 e 5.39).

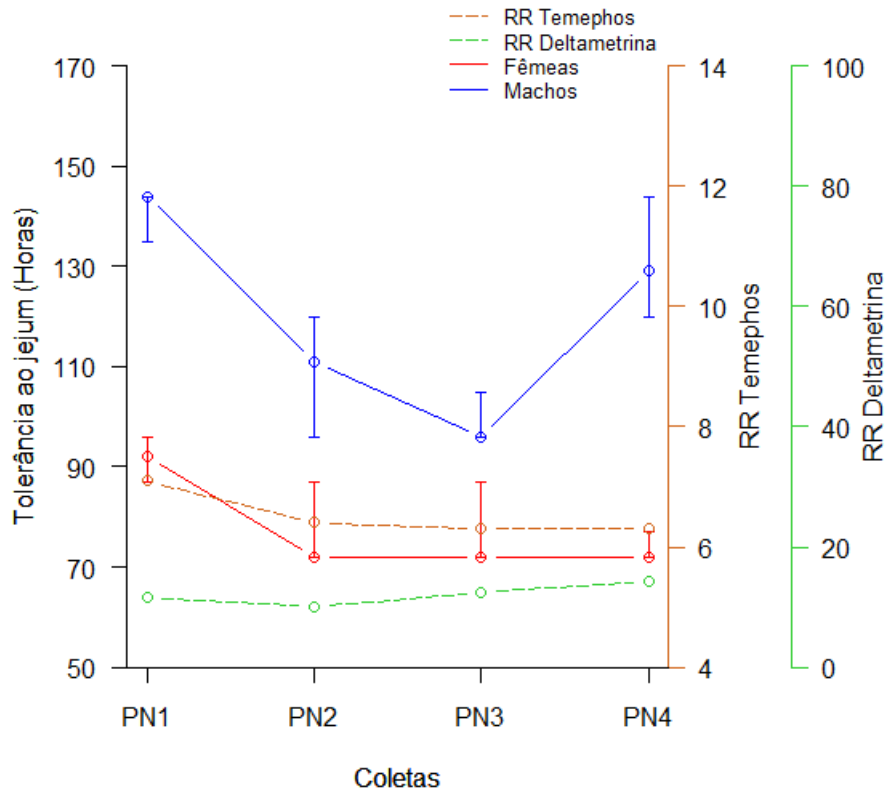


Figura 5.38. Mediana e intervalo de confiança (95%) das curvas de tolerância ao jejum de machos e fêmeas de *Ae. aegypti* das quatro coletas de Parnamirim e as respectivas razões de resistência para temephos e deltametrina.

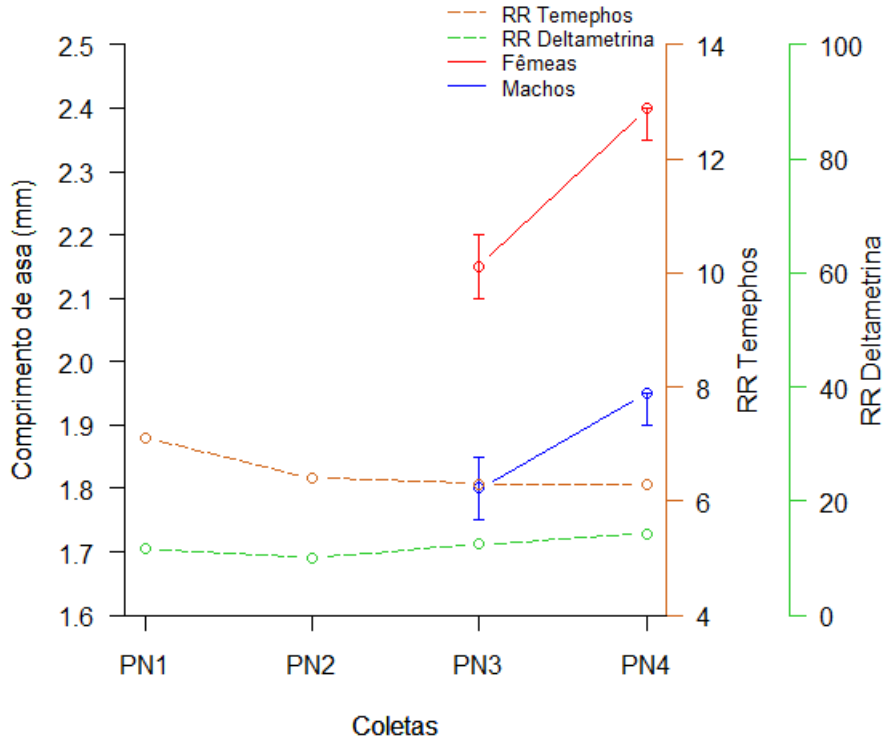


Figura 5.39. Variação do comprimento de asa (mm) de *Ae. aegypti* e da Razão de Resistência (RR) de temephos e deltametrina entre as coletas PN1, PN2, PN3 e PN4. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

5.2.3.3. Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas

A sobrevivência média para as coletas PN1, PN2, PN3 e PN4 foi de 23, 41, 36 e 30 dias, respectivamente. A comparação das curvas revelou que o grupo PN2 obteve maior sobrevivência que os grupos PN1 ($\chi^2 = 21,6$; g.l = 1; p-valor < 0,0001) e PN3 ($\chi^2 = 12,1$; g.l = 1; p-valor = 0,0005). Os grupos PN1, PN2 e PN4 apresentaram indivíduos vivos após o decorrer dos 60 dias de monitoramento (Figura 5.40).

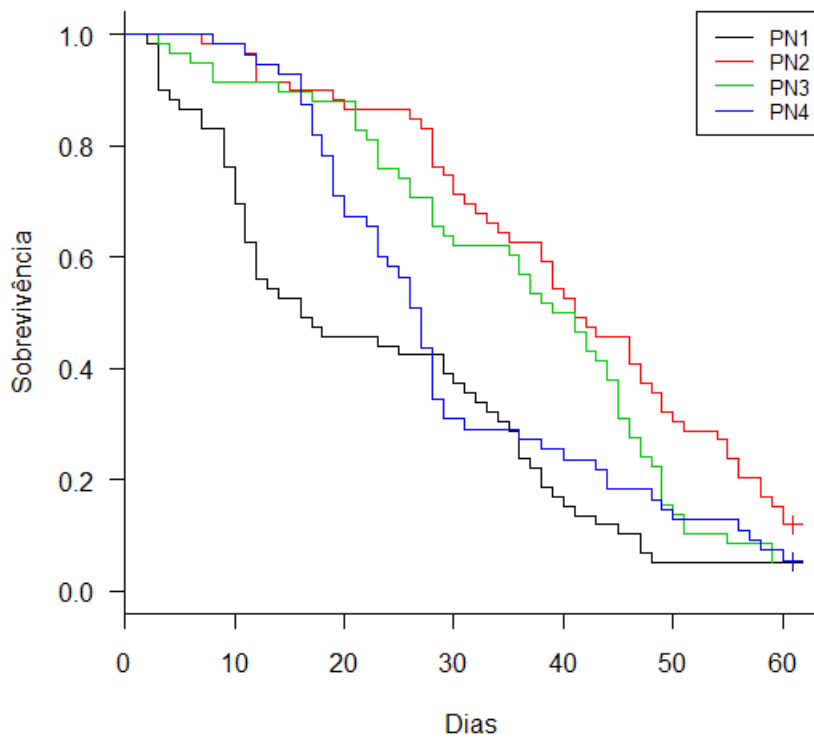


Figura 5.40. Curvas de sobrevivência das fêmeas provenientes da população de Parnamirim/RN, mantidas individualmente em tubos plásticos cilíndricos e alimentadas com sacarose e sangue.

A variação da sobrevivência das fêmeas Parnamirim foi comparada às mudanças na razão de resistência a temephos e deltametrina, obtidas no mesmo período. Nota-se um aumento da sobrevivência das fêmeas com a queda da razão de resistência ao temephos de 7,1 para 6,4 (coletas PN1 e PN2, respectivamente). Entretanto, a sobrevivência de PN4 diminuiu com a relação a PN3, mesmo a resistência ao temephos tendo permanecido praticamente constante. Não parece haver relação entre a sobrevivência e a resistência à deltametrina (Figura 5.41).

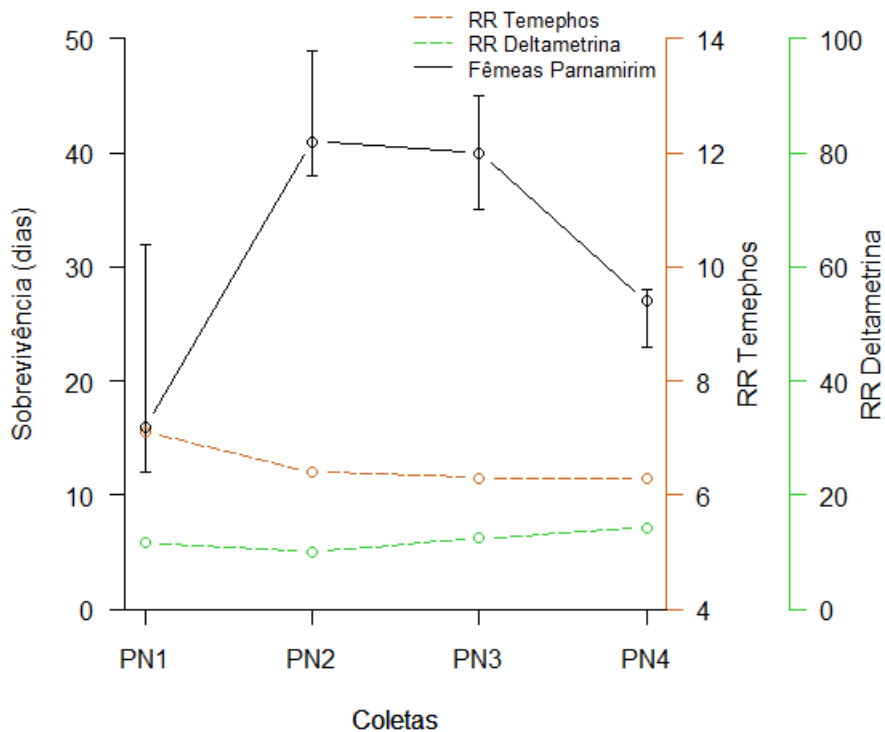


Figura 5.41. Mediana e intervalo de confiança (95%) das curvas de sobrevivência das fêmeas das quatro coletas de Parnamirim e as respectivas razões de resistência para temephos e deltametrina.

5.2.3.4. Sucessos de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas

Comparações foram feitas com os dados provenientes das três primeiras semanas de experimento. Conforme feito anteriormente, foram obtidos média e desvio padrão do sucesso de oviposição (Figura 5.42) e da fecundidade (Figura 5.43). O sucesso de alimentação correspondente às semanas 01, 02 e 03 para as coletas PN1, PN2, PN3 e PN4 foi de 60%, 85%, 60% e 18%; 30%, 43%, 43%, e 2% e 19%, 33%, 38%, e 36%, respectivamente.

Com relação à primeira semana de postura de ovos, as fêmeas da coleta PN2 obtiveram sucesso de oviposição significativamente maior que o as fêmeas das coletas PN3 ($D = 36,19$; $p\text{-valor} < 0,05$) e PN4 ($D = 66,53$; $p\text{-valor} < 0,05$). Do mesmo modo, o sucesso de oviposição também foi diferente entre PN1 e PN4 ($D = 55,80$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.42). Ao considerar a fecundidade, essas diferenças não se mantêm (Figura 5.43). Para o sucesso de oviposição da

semana 02, os indivíduos dos grupos PN2 e PN3 colocaram mais ovos que os indivíduos dos grupos PN1 (PN1 *versus* PN2: $D = 34,49$; $p\text{-valor} < 0,05$; PN1 *versus* PN3: $D = 36,21$; $p\text{-valor} < 0,05$) e PN4 (PN4 *versus* PN2: $D = 25,01$; $p\text{-valor} < 0,05$; PN4 *versus* PN3: $D = 46,25$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.42). Novamente essas diferenças não se matem quando a comparação se refere à fecundidade. Tratando-se da semana 03, só há diferenças entre os grupos quanto à fecundidade. A quantidade de ovos por indivíduo da coleta PN2 é maior com relação a PN1 ($D = 22,31$; $p\text{-valor} < 0,05$) e PN3 ($D = 17,49$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.43).

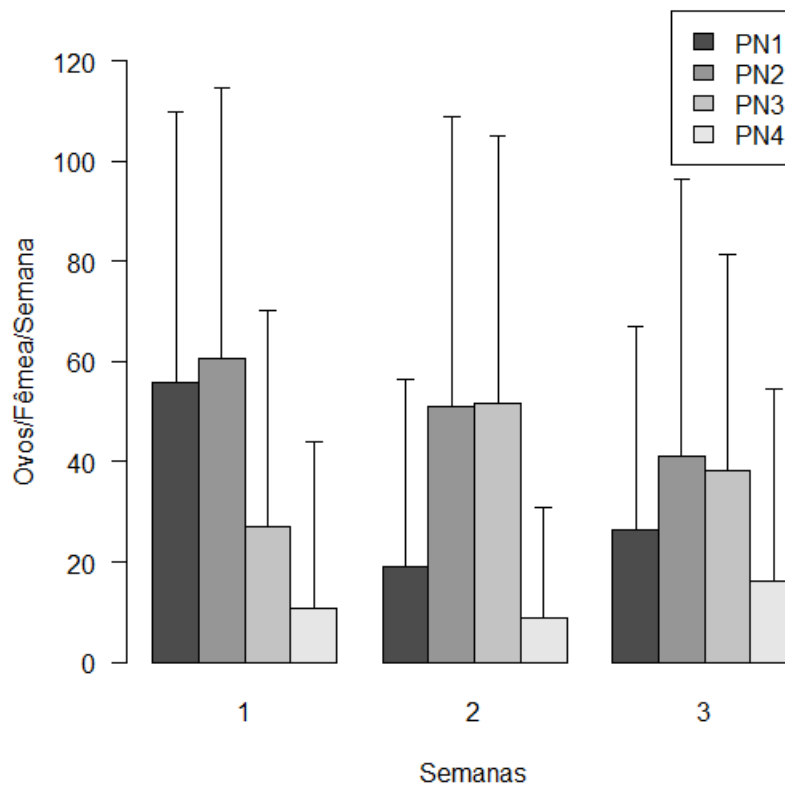


Figura 5.42. Parnamirim/RN: média e desvio padrão média e desvio padrão do sucesso de oviposição das fêmeas de *Ae. aegypti*, monitorado semanalmente.

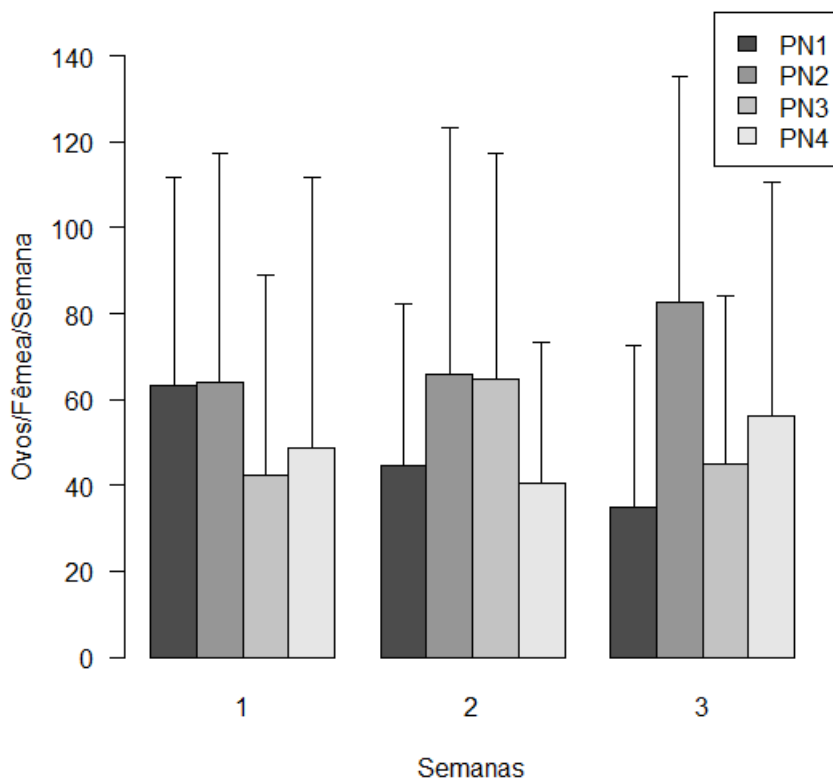


Figura 5.43. Parnamirim/RN: média e desvio padrão média e desvio padrão da fecundidade das fêmeas, monitorado semanalmente.

A representação gráfica sugere que o sucesso de oviposição possa estar inversamente relacionado aos níveis de resistência à deltametrina para a semana 01, correspondente à primeira postura de ovos (Figura 5.44). Considerando-se a fecundidade, aparentemente também há relação com a resistência à deltametrina, sobretudo para as semanas 02 e 03, mesmo que a variação deste parâmetro não tenha sido estatisticamente significativa na maioria dos casos (Figura 5.45).

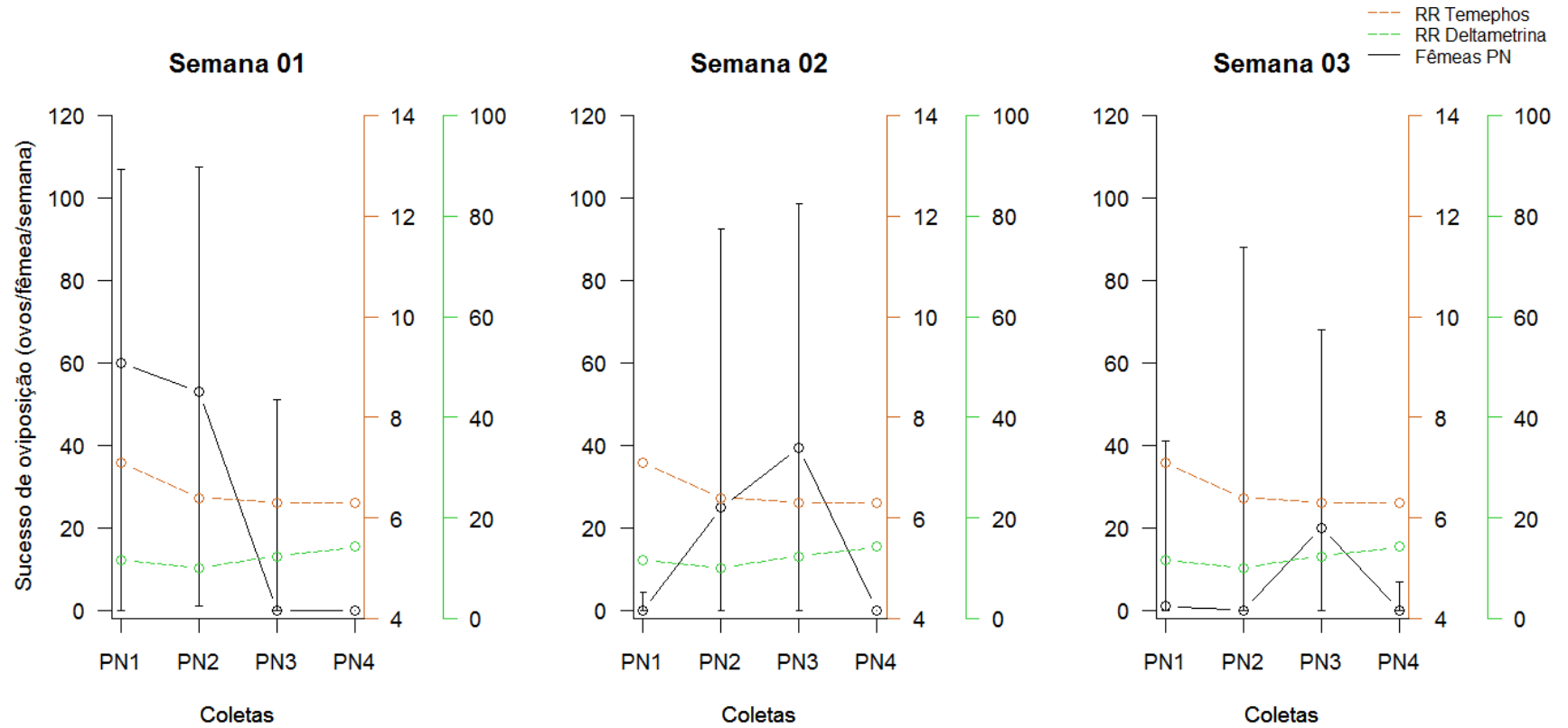


Figura 5.44. Variação do sucesso de oviposição e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas PN1, PN2, PN3 e PN4 por semana. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

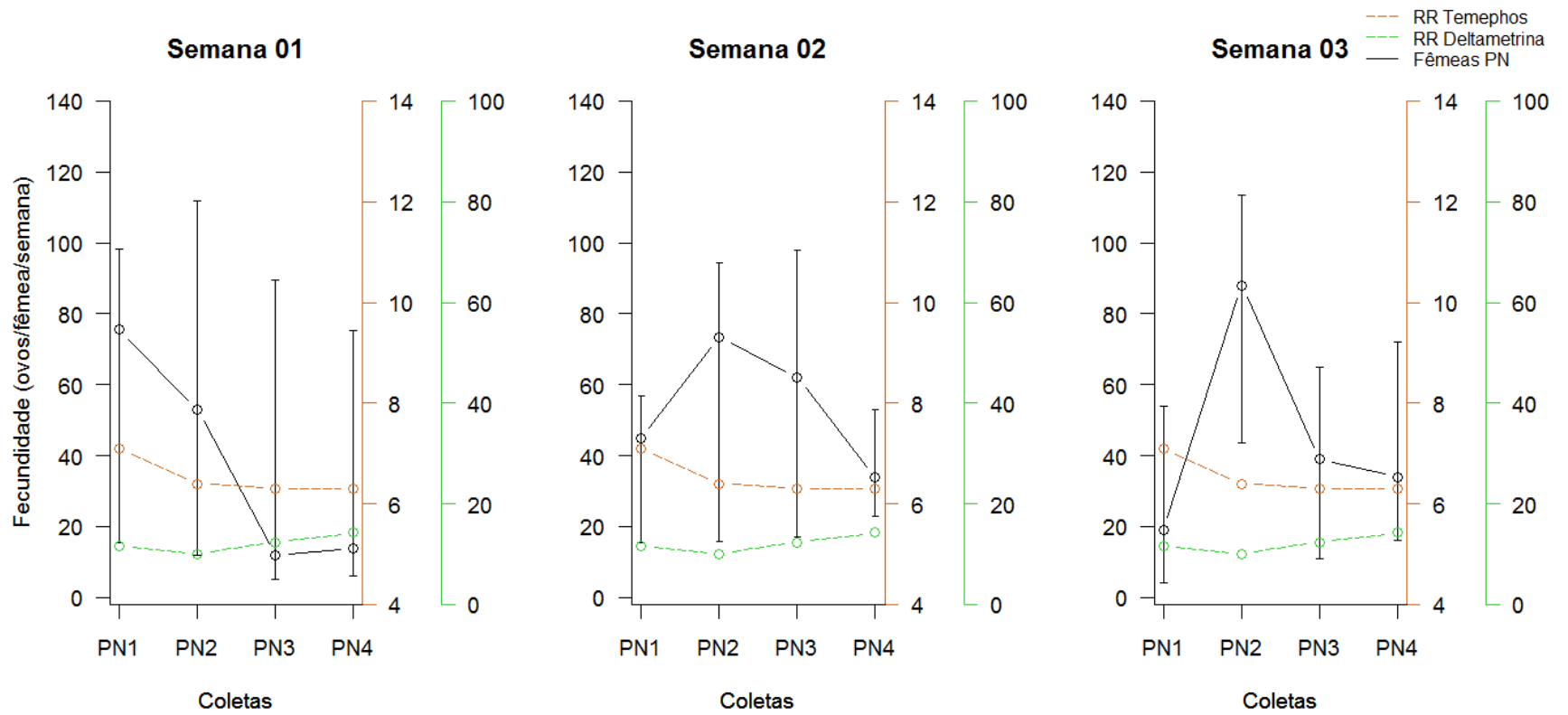


Figura 5.45. Variação da fecundidade e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas PN1, PN2, PN3 e PN4 por semana. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

5.2.4. Santarém/PA

5.2.4.1. Cinética do desenvolvimento larvar

Medidas descritivas da duração aproximada de cada estadio larvar (L1 a L4), da fase de pupa, do tempo total de desenvolvimento (compreendido entre a de eclosão dos ovos e emersão dos adultos) e da razão Pop/Rock foram obtidas para cada coleta de Santarém (Tabela 5.10).

Os valores médios da razão Pop/Rock variaram entre 1,02 e 1,08. As formas imaturas do grupo ST1 atingiram a fase adulta mais lentamente que as dos grupos ST3 e ST4 (ST1 *versus* ST3: D = 49,63; p-valor < 0,05; ST1 *versus* ST4: D= 37,86; p-valor < 0,05). Ademais, a coleta ST2 mostrou atraso do desenvolvimento larvar em relação à coleta ST3 (ST2 *versus* ST3: D = 28,27; p-valor < 0,05) (Figura 5.46). Durante os experimentos referentes grupos ST1, ST2, ST3 e ST4, 1,59%, 2,50%, 6,67% e 4,17% dos indivíduos morreram durante as fases imaturas, respectivamente.

Tabela 5.10. Mediana, média e desvio-padrão (DP) da duração aproximada dos quatro estádios larvares (L1 a L4), da fase de pupa, do tempo total de desenvolvimento e da normalização pelos controles Rockefeller (Pop/Rock) de mosquitos *Ae. aegypti* das coletas de Santarém/PA.

Duração Aprox.	Coletas em Santarém/PA											
	ST1			ST2			ST3			ST4		
	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP
L1 (h)	52	54,33	8,48	24	25,24	2,80	28	28,85	2,86	29	30,08	5,37
L2(h)	24	24,67	8,47	24	25,62	3,05	29	35,16	8,34	20	21,06	3,30
L3 (h)	48	44,74	11,31	48	49,67	7,01	53	55,35	9,53	48	47,92	5,86
L4 (h)	120	123,96	26,76	87	86,51	11,98	120	117,68	30,73	87	85,85	12,18
Pupa (h)	48	46,18	5,97	48	46,48	8,20	48	45,50	5,57	48	47,37	4,83
Total (h)	288	293,79	31,37	240	233,65	16,60	280,5	281,06	29,94	236,0	231,78	13,87
Pop/Rock	1,09	1,08	0,06	1,04	1,05	0,04	1,00	1,02	0,03	1,02	1,03	0,03

Tabela 5.11. Mediana, média e desvio-padrão (DP) da sobrevivência em jejum em horas e comprimento de asas de machos e fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes das coletas de Santarém/PA.

Sobrev. Aprox. (horas)	Coletas em Santarém/PA											
	ST1			ST2			ST3			ST4		
	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP
Fêmeas	79,5	86,44	29,94	96,0	90,72	16,90	87,0	88,66	18,32	96,0	101,60	21,53
Asa (mm)	-	-	-	2,35	2,30	0,11	2,00	2,02	0,08	2,35	2,35	0,08
Machos	116	121,10	40,30	144	141,00	25,12	120	119,54	19,52	164	154,44	31,87
Asa (mm)	-	-	-	1,90	1,88	0,11	1,75	1,73	0,06	1,95	1,95	0,05

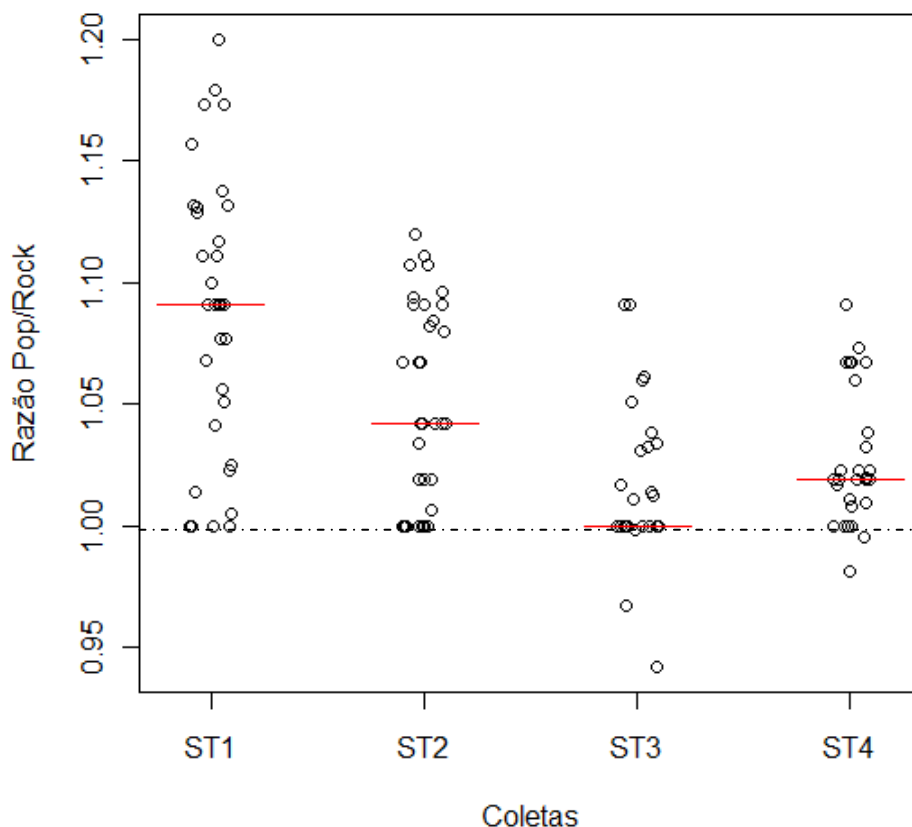


Figura 5.46. Razão Pop/Rock entre o tempo total de desenvolvimento dos indivíduos da geração F1 das coletas de Santarém/PA e seus respectivos controles Rockefeller. O valor mediano de cada conjunto de dados está representado pelo segmento em vermelho. A linha tracejada representa a situação na qual a coleta possui tempo de desenvolvimento igual ao seu respectivo controle Rockefeller (Razão Pop/Rock = 1).

O tempo de desenvolvimento de Santarém parece estar associado ao nível de resistência ao temephos. As coletas ST1 e ST2 mostraram atraso no desenvolvimento e as maiores razões de resistência a este composto (10,2 e 10,3, respectivamente) com relação a ST3 e ST4, cujas razões de resistência ao temephos foram 8,6 e 8,9, respectivamente. Não parece haver associação entre o tempo de desenvolvimento de ovo ao adulto e a resistência à deltametrina (Figura 5.47).

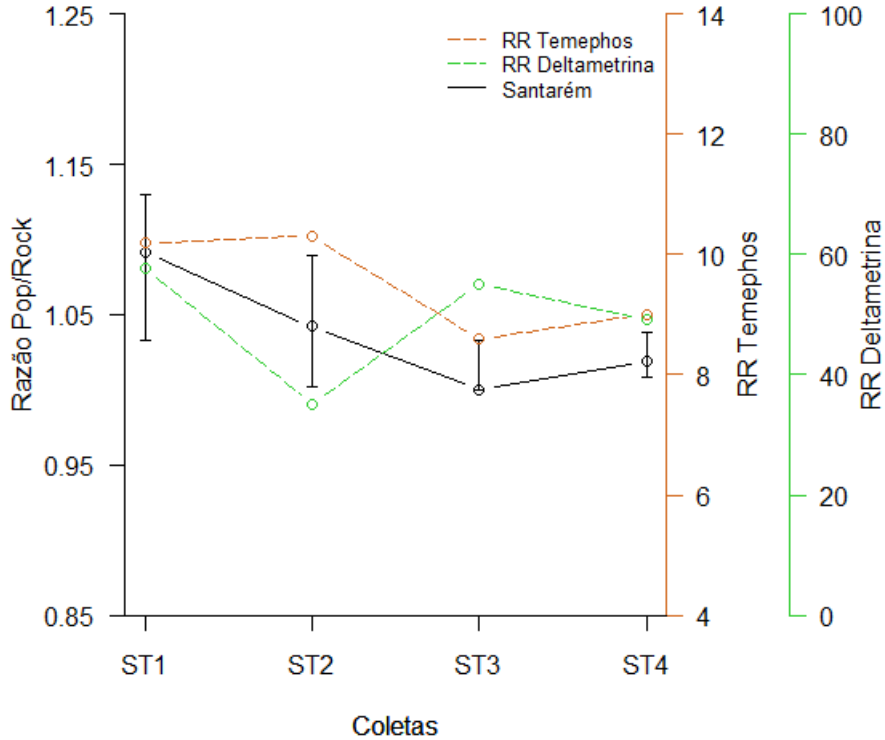


Figura 5.47. Variação da Razão Pop/Rock e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas ST1, ST2, ST3 e ST4. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

5.2.4.2. Tolerância ao jejum de formas adultas

Curvas de sobrevivência para fêmeas e machos de cada coleta de Santarém estão nas figuras 5.48 e 5.49, respectivamente. Medidas descritivas destes dados e do comprimento de asas das coletas ST2, ST3 e ST4 podem ser encontradas na Tabela 5.11.

O tempo médio de sobrevivência em jejum das fêmeas das foi coletas ST1, ST2, ST3 e ST4 foi de aproximadamente 87, 91, 87 e 102 horas, respectivamente (Tabela 5.11). Não há diferenças significativas entre as coletas (Figura 5.48). O comprimento de asas das fêmeas das coletas ST3 foi significativamente menor com relação às coletas ST2 ($D = 62,55$; $p\text{-valor} < 0,05$) e ST4 ($D = 75,44$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Tabela 5.11 e Figura 5.51).

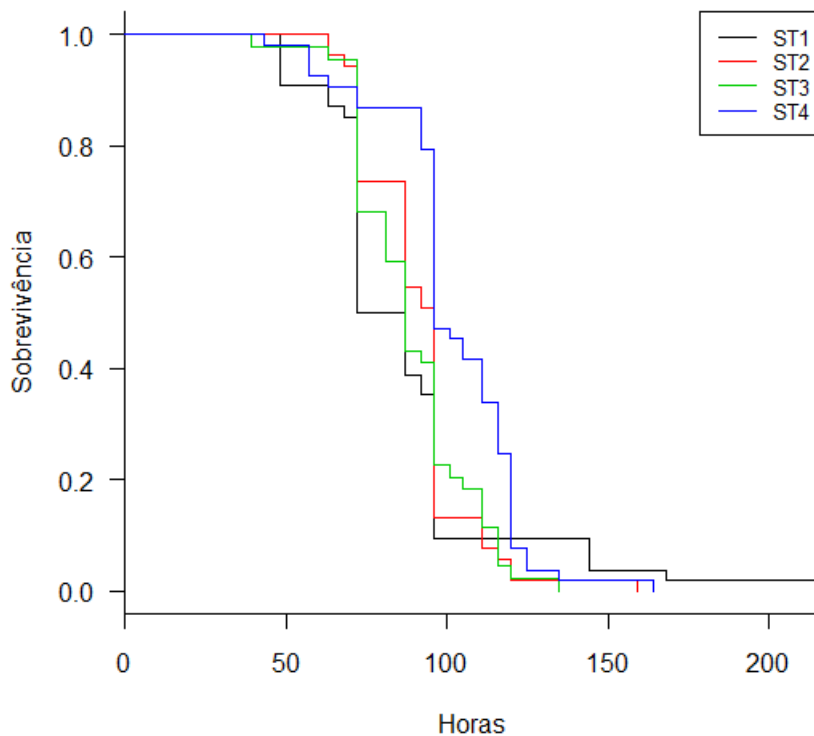


Figura 5.48. Curvas de sobrevivência em jejum das fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes da geração F1 dos indivíduos coletados em Santarém/PA.

O tempo médio de sobrevivência dos machos foi de aproximadamente 121, 141, 120 e 154 horas para as coletas ST1, ST2, ST3 e ST4, respectivamente (Tabela 5.11). A sobrevivência da coleta ST4 em jejum foi superior que ST1 ($\chi^2 = 15,6$; g.l = 1, p-valor < 0,0001) e ST3 ($\chi^2 = 59,5$; g.l = 1, p-valor < 0,0001). O mesmo aconteceu para ST2 com relação à ST3 ($\chi^2 = 27,1$; g.l = 1, p-valor < 0,0001) (Figura 5.49). As asas do grupo ST3 foram menores que as asas de ST2 (D = 61,05; p-valor < 0,05) e ST4 (D = 96,82; p-valor < 0,05) e as de ST2 menores em comparação a ST4 (D = 35,77; p-valor < 0,05) (Tabela 5.11 e Figura 5.51).

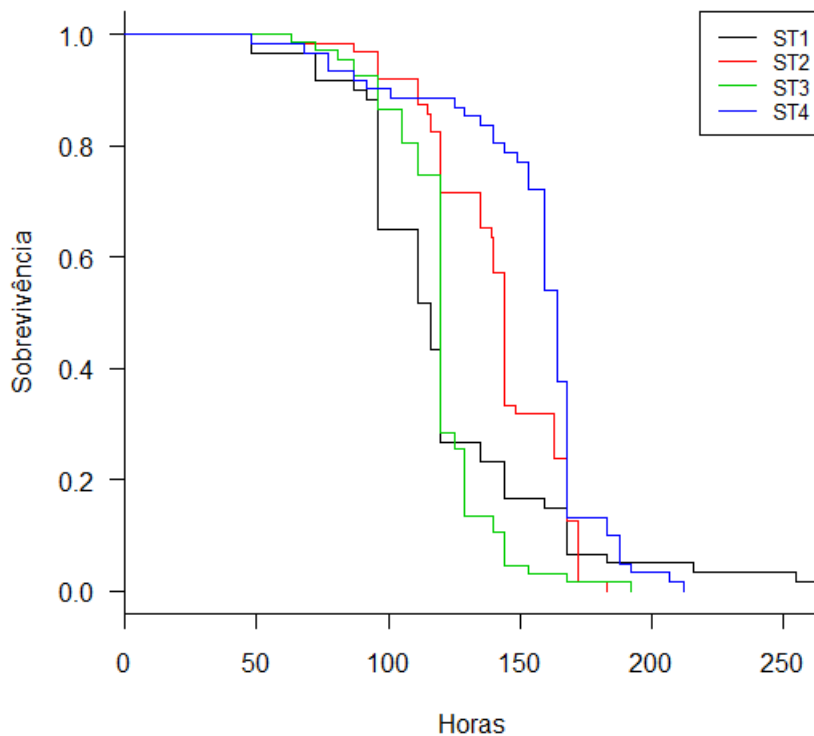


Figura 5.49. Curvas de sobrevivência em jejum dos machos de *Ae. aegypti* provenientes da geração F1 dos indivíduos coletados em Santarém/PA.

A tolerância ao jejum apresenta uma possível associação com a resistência à deltametrina para ambos os sexos, embora esta pareça ser mais sutil para as fêmeas. Assim, a tolerância ao jejum foi maior nos momentos de menor resistência a este composto (ST2 e ST4) e tendeu a diminuir com o aumento da razão de resistência à deltametrina (ST1 e ST3) (Figura 5.50). A variação do comprimento de asas parece se comportar da mesma maneira (Figura 5. 51). Não há relação entre estes parâmetros e o nível de resistência ao temephos.

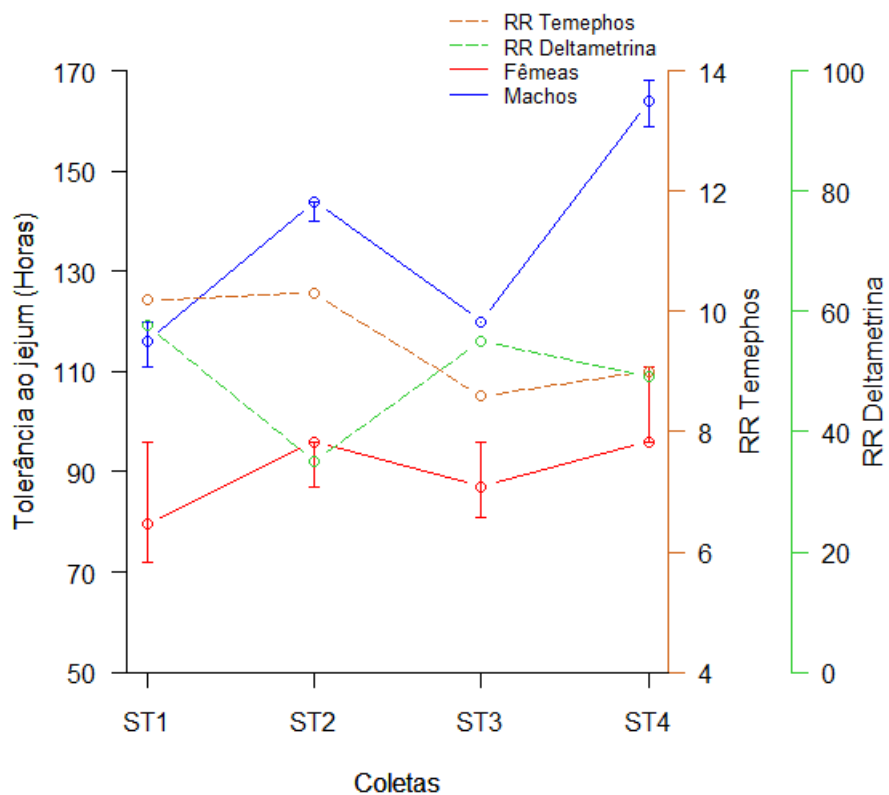


Figura 5.50. Mediana e intervalo de confiança (95%) das curvas de tolerância ao jejum de machos e fêmeas de *Ae. aegypti* das quatro coletas de Santarém e as respectivas razões de resistência para temephos e deltametrina.

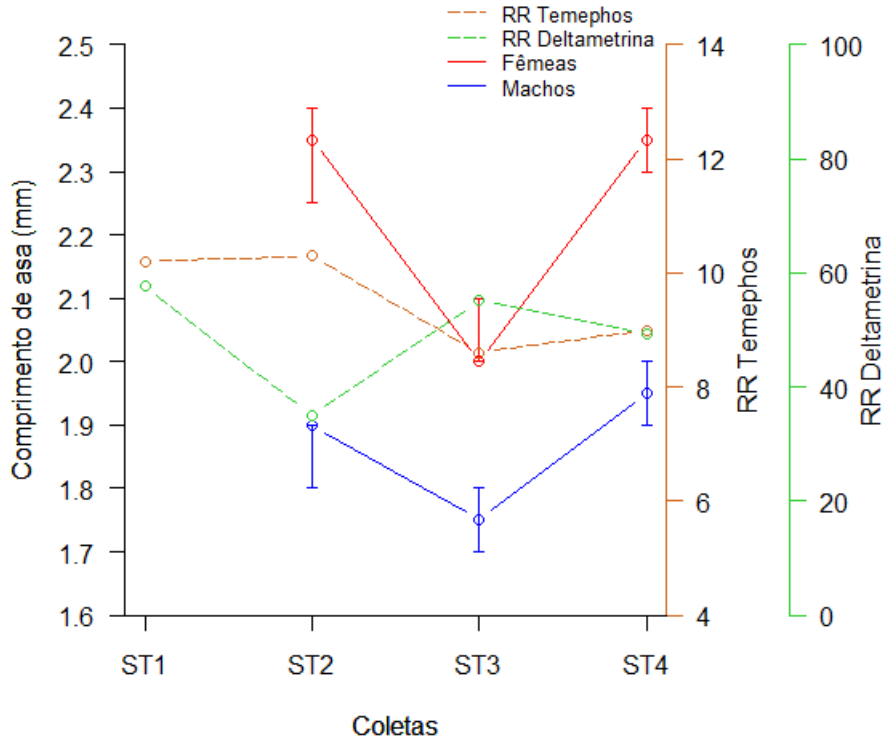


Figura 5.51. Variação do comprimento de asa (mm) de *Ae. aegypti* e da Razão de Resistência (RR) de temephos e deltametrina entre as coletas ST1, ST2, ST3 e ST4. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

5.2.4.3. Padrão de sobrevivência de fêmeas adultas

Após o monitoramento individual das fêmeas adultas de *Ae. aegypti*, curvas de sobrevivência foram construídas para coleta de Santarém. A sobrevivência média foi de 39, 36, 32 e 33 dias para as coletas ST1, ST2, ST3 e ST4. Após a comparação das curvas, foi constatado que o grupo ST1 por mais tempo que os grupos ST3 ($\chi^2 = 8,7$; g.l = 1; p-valor < 0,0001) e ST4 ($\chi^2 = 14,7$; g.l = 1; p-valor < 0,0001). Havia indivíduos vivos após o decorrer dos 60 dias de monitoramento nas coletas ST1, ST2 e ST3 (Figura 5.52).

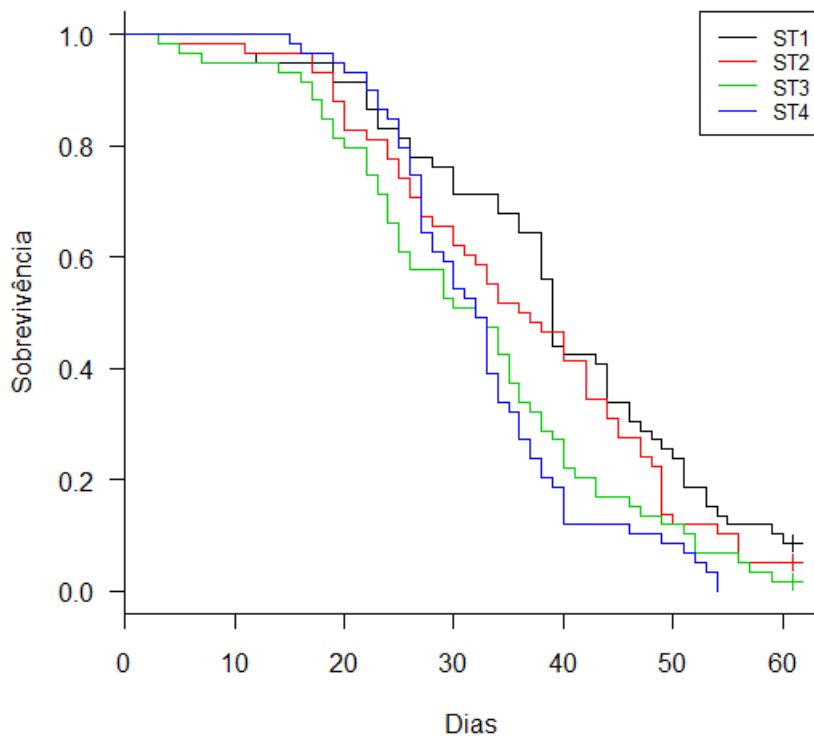


Figura 5.52. Curvas de sobrevivência das fêmeas de *Ae. aegypti* provenientes da população de Santarém/PA, mantidas individualmente em tubos plásticos cilíndricos e alimentadas com sacarose e sangue.

Não há nenhuma associação visível entre a sobrevivência de fêmeas adultas mantidas com alimentação açucarada e sanguínea e os níveis de resistência aos inseticidas testados (Figura 5.53).

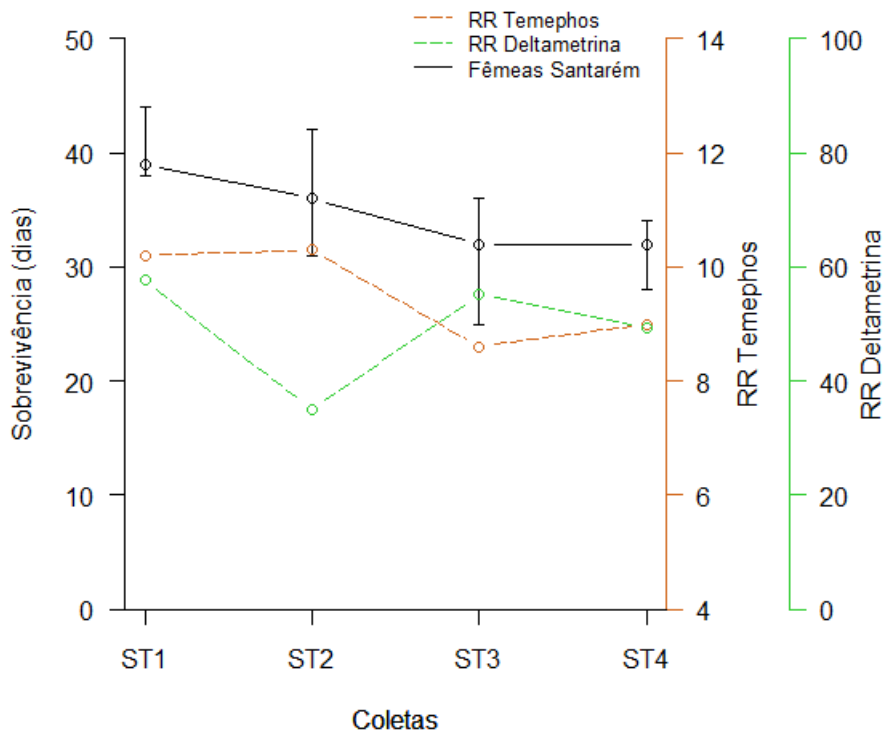


Figura 5.53. Mediana e intervalo de confiança (95%) das curvas de sobrevivência das fêmeas de *Ae. aegypti* das quatro coletas de Santarém e as respectivas razões de resistência para temephos e deltametrina.

5.2.5.4. Sucessos de alimentação e oviposição e fecundidade de fêmeas adultas

Foram feitas comparações com os dados registrados durante as três primeiras semanas de experimento e foram obtidos média e desvio padrão do sucesso de oviposição (Figura 5.54) e da fecundidade (Figura 5.55). O sucesso de alimentação correspondente às semanas 01, 02 e 03 para as coletas ST1, ST2, ST3 e ST4 foi de 71%, 39%, 32% e 5%; 45%, 13%, 48%, e 17% e 6%, 21%, 13%, e 16%, respectivamente.

Com relação à primeira semana de postura de ovos, as fêmeas da coleta ST1 mostraram sucesso de oviposição significativamente maior que as demais (ST1 *versus* ST2: $D = 51,93$; p -valor $< 0,05$; ST1 *versus* ST3: $D = 44,42$; p -valor $< 0,05$; ST1 *versus* ST4: $D = 66,71$; p -valor $< 0,05$). Para o sucesso de oviposição da semana 02, os indivíduos dos grupos ST1 novamente

obtiveram maior sucesso que os mosquitos dos grupos ST2 ($D = 51,40$; $p\text{-valor} < 0,05$) e ST4 ($D = 44,26$; $p\text{-valor} < 0,05$). Além disso, o mesmo aconteceu para ST3 com relação a ST2 ($D = 33,34$; $p\text{-valor} < 0,05$) (Figura 5.54). Não há diferenças significativas entre as coletas para a semana 03, assim como para todas as semanas quando considerada a fecundidade (Figuras 5.54 e 5.55).

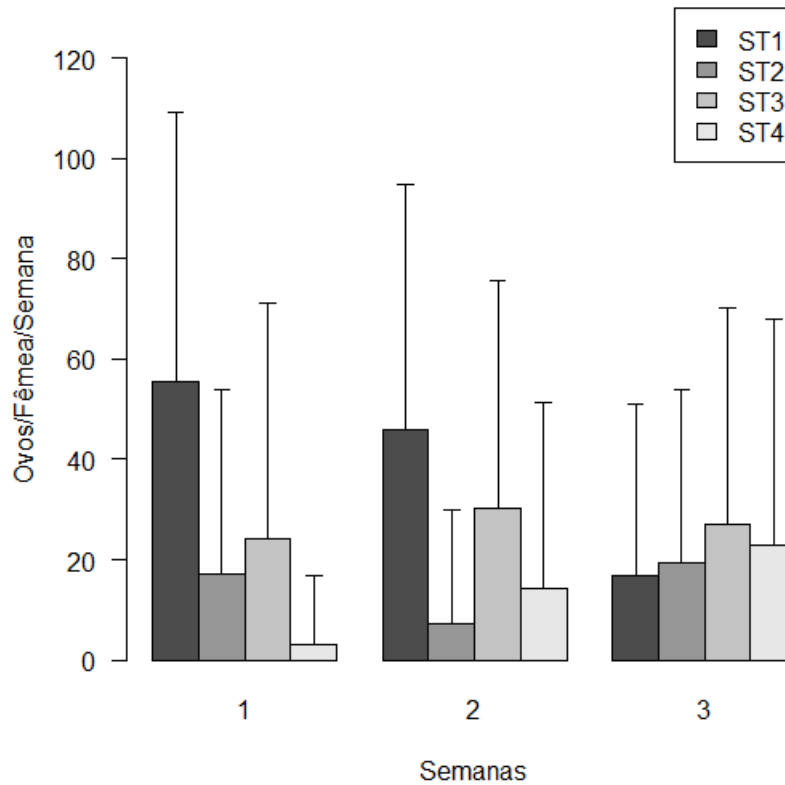


Figura 5.54. Santarém/PA: média e desvio padrão do sucesso de oviposição de fêmeas de *Ae. aegypti* por semana de experimento.

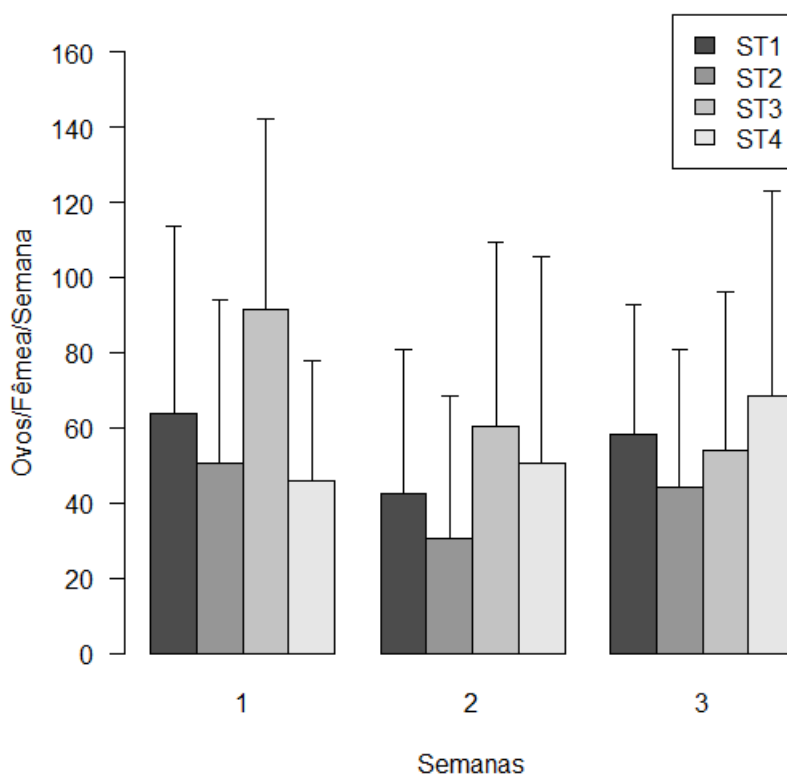


Figura 5.55. Santarém/PA: média e desvio padrão da fecundidade de fêmeas de *Ae. aegypti* por semana de experimento.

Não há relação aparente entre o sucesso de oviposição e os níveis de resistência calculados (Figura 5.56). Considerando-se a fecundidade, mesmo não havendo diferenças estatisticamente significativas entre as coletas, a flutuação deste parâmetro para as três primeiras semanas de experimentos parece estar relacionada à variação da resistência ao temephos. Assim, a fecundidade tende a aumentar nos momentos de menor razão de resistência e a diminuir quando a mesma aumenta (Figura 5.57).

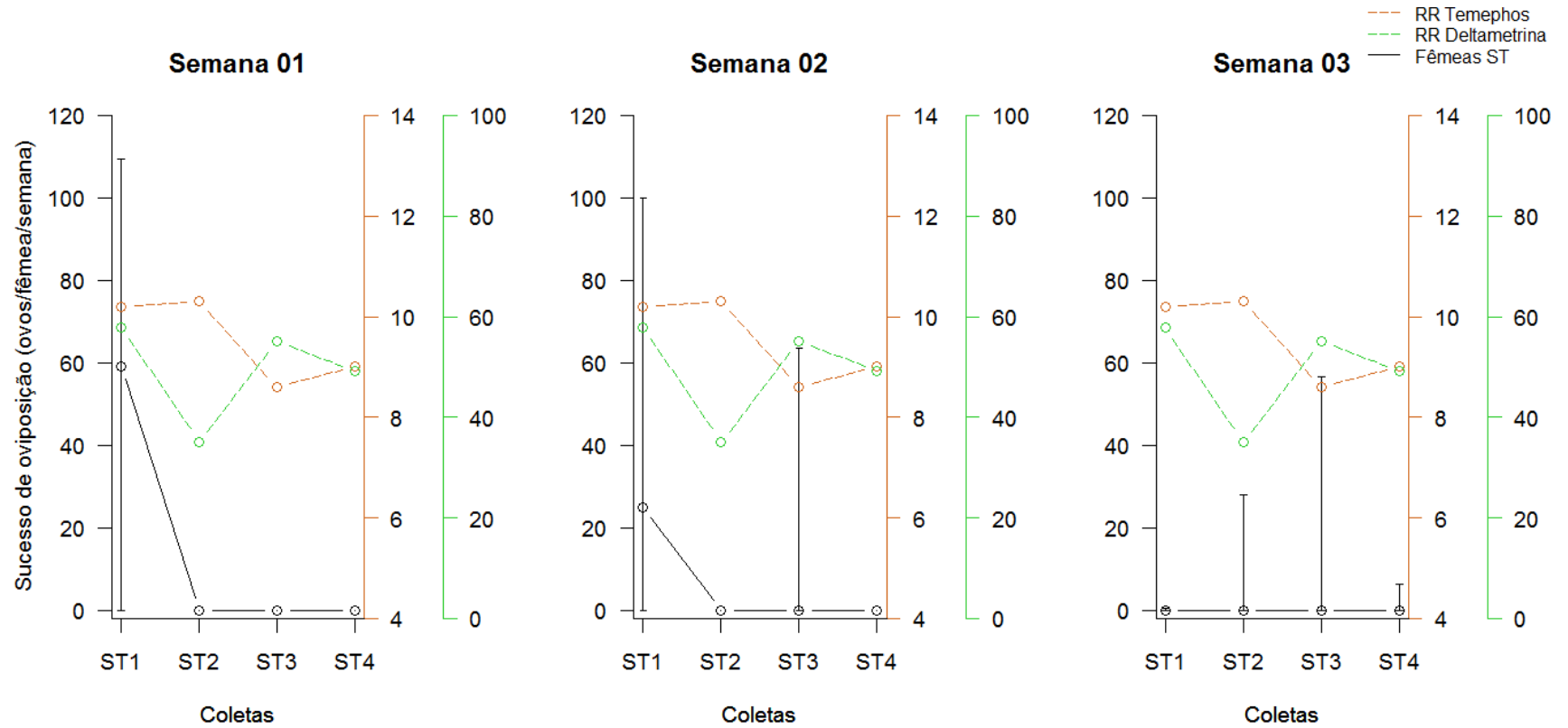


Figura 5.56. Variação do sucesso de oviposição total de fêmeas de *Ae. aegypti* e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas ST1, ST2, ST3 e ST4 por semana. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

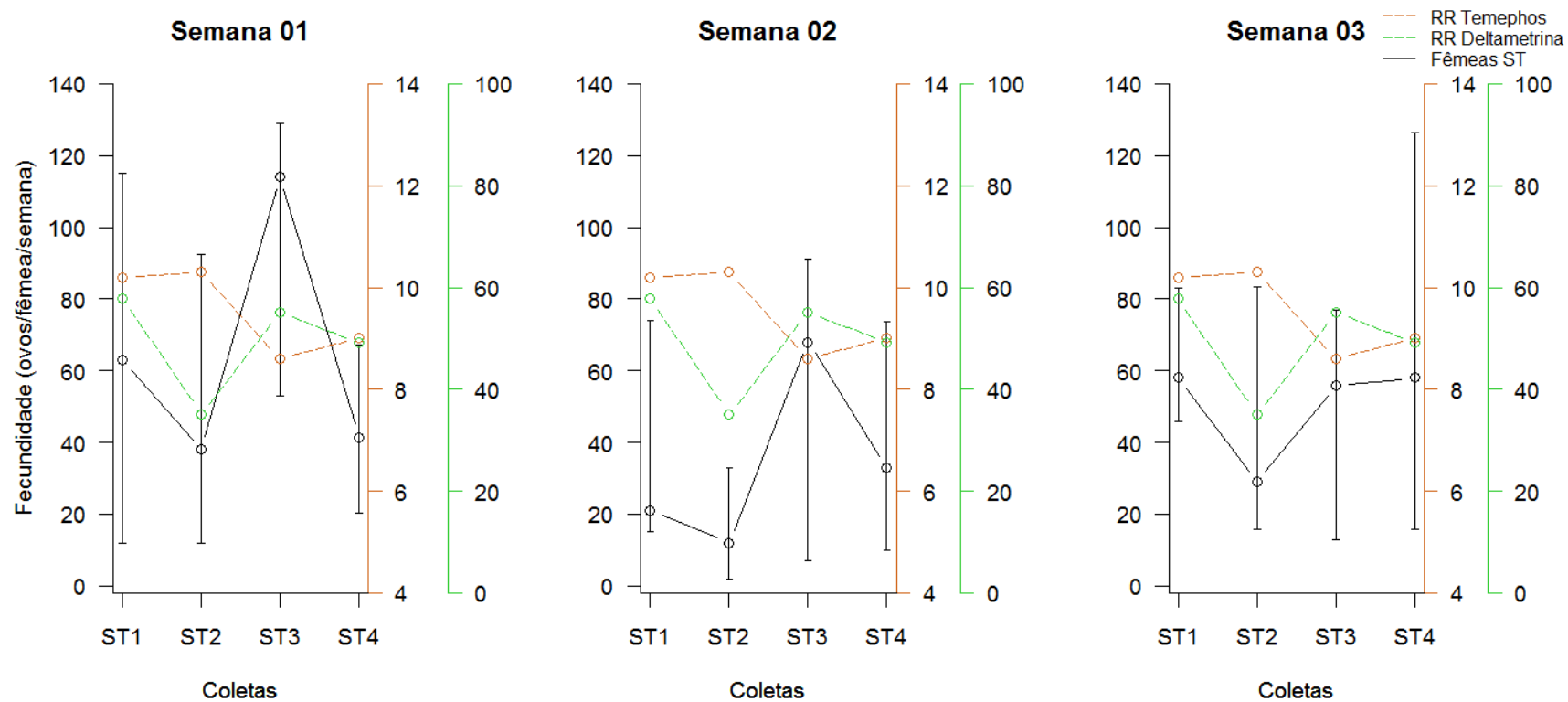


Figura 5.57. Variação da fecundidade total de fêmeas de *Ae. aegypti* e da Razão de Resistência (RR) a temephos e deltametrina entre as coletas ST1, ST2, ST3 e ST4 por semana. Os intervalos representados baseiam-se nos quantis 25% e 75%.

Tabela 5.12. Quadro síntese das relações entre alguns parâmetros biológicos de quatro populações brasileiras de *Ae. aegypti* e os respectivos níveis de resistência aos inseticidas temephos (Temeph) e deltametrina (Delta), as quais corroboram a hipótese de que a resistência resulta em um custo biológico.

População	Desenv. larvar	Tolerância ao jejum	Tamanho de asa	Sobrevivência de fêmeas	Sucesso de oviposição	Fecundidade
Campo Grande	-	↓ (Delta)	↓ (Delta)	-	↓ (Delta)	-
Duque de Caxias	↑(Temeph)	↓ (Temeph)	↓ (Temeph)	↓ (Temeph)	-	↓ (Temeph)
Parnamirim	-	-	-	↓ (Temeph)	↓ (Delta)	↓ (Delta)
Santarém	↑ (Temeph)	↓ (Delta)	↓ (Delta)	-	-	↓ (Temeph)

6. DISCUSSÃO

O presente estudo procurou buscar a relação entre alguns parâmetros biológicos de quatro populações brasileiras de *Ae. aegypti* e os respectivos níveis de resistência aos inseticidas temphos (organofosforado) e deltametrina (piretróide) (Tabela 5.12). Para tal, optou-se pela utilização da geração F1 dos mosquitos coletados no campo, visando preservar ao máximo as características e a variabilidade genética das populações naturais. Diferentemente de outros trabalhos (Berticat et al. 2008; Djogbénou et. al 2010; Melo-Santos et al. 2010), não foi feito qualquer tipo de seleção com inseticidas ou cruzamento com linhagens de laboratório. Assim, sabendo-se que populações de diferentes locais frequentemente diferem em muitas outras características da história de vida além daqueles caracteres envolvidos com a resistência (Leisnham et al. 2008; Suman et al. 2011), variações na biologia e nos níveis de resistência foram relacionados somente para os indivíduos das mesmas localidades, porém coletados em diferentes momentos.

Uma vez que todos os mosquitos foram mantidos sob as mesmas condições no laboratório as diferenças biológicas observadas provavelmente refletem diferenças genéticas entre os mesmos. As populações dos diferentes municípios e Rockefeller apresentaram diferenças significativas para alguns dos parâmetros estudados, o que pode refletir a adaptação às condições ambientais locais e ao laboratório, respectivamente. Quanto à cinética do desenvolvimento larvar, o grupo de Campo Grande mostrou tempo de desenvolvimento significativamente inferior à Duque de Caxias, Parnamirim e Santarém. Além disso, a mediana dos valores da Razão Pop/Rock da população de CG foi igual a 01, o que significa igualdade com a população de laboratório, e diversos pontos encontram-se abaixo desta linha. Conforme observado por Grench et al. (2010), populações de localidades com clima mais ameno tendem a apresentar desenvolvimento larval mais rápido tão e quão somente encontram-se nos períodos de clima mais favorável. De fato, Campo Grande apresenta temperaturas mais amenas com relação às demais localidades, sobretudo no inverno, cujas temperaturas mínimas chegam a 6,6°C (SISAM 2012). As larvas da população de Duque de Caxias também se desenvolveram mais lentamente com relação à Parnamirim e Santarém.

Intuitivamente, poderíamos esperar que, devido à maior permanência no criadouro e depois de se transformar em adulto, as fêmeas apresentassem maior tolerância ao jejum que os machos. Contudo, observamos que os machos apresentaram maior tolerância ao jejum do que as

fêmeas, padrão que se repetiu em todos os grupos. Similarmente, maior sobrevivência dos machos na ausência de qualquer fonte energética já havia sido observado por Costero et al. (1999), os quais atribuíram esta divergência entre os sexos a diferentes necessidades metabólicas. Ademais, sugere-se que os machos emergem com uma quantidade maior de energia, a qual pode ser utilizada rapidamente após a emergência do adulto para o vôo (Huho et al. 2007; Koenraadt et al. 2010). Curiosamente, sabe-se que, quando é fornecida alimentação açucarada, as fêmeas normalmente sobrevivem por mais tempo que os machos (Day 1994; Muir e Kay 1998; Maciel-de-Freitas et al. 2006).

Adicionalmente, a tolerância ao jejum também foi diferente entre populações. As fêmeas de Campo Grande toleraram significativamente menos o jejum que as fêmeas de Santarém e Rockefeller. Além disso, todas as fêmeas já estavam mortas após 150 horas de emergência, enquanto que para as demais localidades o tempo máximo de tolerância variou entre 192 e 264 horas (Figura 5.3). O rápido desenvolvimento larvar de Campo Grande, ou seja, menor tempo de permanência no criadouro, possivelmente se refletiu no baixo acúmulo de reservas energéticas pelas fêmeas durante a fase adulta. O oposto era de se esperar para Duque de Caxias, porém esta população não apresentou maior tolerância ao jejum que as demais. Quanto aos machos, os indivíduos de Santarém apresentaram maior sobrevivência com relação aos demais grupos. Já os tempos máximos de tolerância dos machos de Campo Grande e Rockefeller foi de 192 horas (cujos desenvolvimentos larvares foram mais acelerados) enquanto que para as demais localidades este variou de 242 a 308 horas. Apesar de machos e fêmeas de Duque de Caxias aparentemente não terem acumulado mais reserva energética que os indivíduos das demais populações, mesmo com o desenvolvimento larvar mais lento, algumas diferenças ocorreram quanto ao tamanho das asas. As fêmeas desta população apresentaram as asas significativamente mais longas, enquanto que para os machos esta discrepância ocorreu somente entre Duque de Caxias e Campo Grande, justamente os extremos dos tempos de desenvolvimento larvar.

Fêmeas adultas alimentadas com solução açucarada e sangue da linhagem Rockefeller sobreviveram mais em relação às populações de campo, exceto Parnamirim. Além disso, os sucessos de alimentação e oviposição de Rockefeller foram predominantemente superiores, o que provavelmente reflete a adaptação desta linhagem às condições de laboratório após mais de um século de colonização (Kuno 2010). As fêmeas de Campo Grande e Duque de Caxias sobreviveram menos que as fêmeas de Parnamirim e Santarém. Em contrapartida, Campo Grande

obteve maiores sucessos de alimentação e oviposição que Santarém para as três semanas analisadas. De acordo com Suman et al. (2011), populações de *Culex quinquefasciatus* de localidades com maior amplitude na temperatura anual investiriam mais cedo em reprodução, colocando ovos com maior frequência do que populações de locais com menor variação climática, já que nas primeiras as fêmeas teriam menores expectativas de vida. As temperaturas diárias média de CG entre 9,9°C e 29,5°C, já em Santarém estes valores ficam entre 23,9°C e 30,0°C (SISAM 2012). Frankino e Juliano (1999) já observaram a mesma espécie de balanço entre sobrevivência e reprodução em *Aedes triseriatus*. Quando considerada a fecundidade, ou seja, a quantidade de ovos por posturas positivas, não há diferenças entre as populações.

É possível que a resistência aos organofosforados, como o temephos, seja do tipo metabólica para o *Ae. aegypti*, uma vez que ainda não foram detectadas alterações no seu sítio-alvo, a acetilcolinesterase (Montella et al. 2007; Marcombe et al. 2009; Melo-Santos et al. 2010). A aplicação do temephos no Brasil foi interrompida pelo Ministério da Saúde desde 1999. Segundo Crow (1957), o afrouxamento da pressão se seleção levaria ao retorno à susceptibilidade, cuja rapidez dependeria do custo biológico da resistência. Todas as populações estudadas mostraram uma tendência de queda da resistência a este composto ao longo do ano de estudo, mesmo que de maneira gradualmente lenta (Garcia, comunicação pessoal). Esta tendência pode ser apontada como um indício indireto da ocorrência de uma menor aptidão dos indivíduos resistentes com relação aos susceptíveis na ausência deste inseticida. Tal fenômeno já foi observado para *Culex pipiens* (Chevillon et al. 1997; Lenormand et al. 1999) e *Drosophila melanogaster* (Miyo et al. 2000), igualmente com relação à resistência a organofosforados.

Por outro lado, todas as populações, exceto Parnamirim, apresentaram níveis de resistência à deltametrina bastante elevados. Este inseticida é o principal aduicida empregado no controle de vetores no Brasil. Sabe-se que alterações nas proteínas do canal de sódio são responsáveis por pelo menos parte da resistência aos piretróides em diversas espécies de artrópodes (Busvine 1951; Martinez-Torres et al. 1998), inclusive o *Ae. aegypti* (Severson et al. 1997). Teoricamente, mutações nas seqüências que codificam proteínas-alvo dos inseticidas podem levar a altos níveis de resistência, as quais são rapidamente selecionadas na presença destes compostos no ambiente (Roush e McKenzie 1987; García et al. 2009). Alterações nos canais de sódio comprovadamente envolvidas na resistência à piretróides foram detectadas em todas as populações, exceto Parnamirim (Garcia, comunicação pessoal). De maneira geral, a

variação da resistência à deltametrina não apresentou nenhuma tendência geral de variação ao longo do ano de estudos.

Subseqüentemente, a variação nos níveis de resistência ao temephos e à deltametrina para as diferentes coletas da mesma localidade foi observada e comparada com a variação dos parâmetros biológicos avaliados, já que, conforme se suspeitava, as populações apresentam inúmeras diferenças intrínsecas. Do contrário, os resultados poderiam não estar efetivamente relacionados à resistência, mas sim a outras pressões seletivas ambientais sofridas ao longo da história evolutiva das diferentes populações (Carrière et al. 1994; Bourguet et al. 2004). Além disso, a dinâmica da resistência entre as localidades foi bastante diferente, embora todas sejam consideradas resistentes para as duas classes de inseticida testadas de acordo com os critérios propostos pelo Ministério da Saúde.

Tratando-se do município de Campo Grande, o tempo total de desenvolvimento larvar variou ao longo do ano entre as diferentes coletas. As larvas da coleta CG1 atingiram a fase adulta mais rapidamente em comparação com os demais grupos e, assim como observado para comparação geral entre as populações, somente as fêmeas desta coleta mostraram tolerância ao jejum significativamente menor. Segundo Stearns e Koella (1986), a fase larval é determinante para a aptidão do adulto, uma vez que sua função primária é a aquisição de energia e nutrientes necessários para que o indivíduo atinja quão cedo à fase reprodutiva. Aparentemente, a tolerância ao jejum das fêmeas foi afetada pelo menor tempo larval, diferentemente dos machos. Apesar da cinética do desenvolvimento dos imaturos não estar aparentemente relacionada à resistência aos compostos testados, o cenário é diferente para a tolerância ao jejum e o tamanho das asas, que tendem a diminuir nos pontos de maiores razões de resistência à deltametrina (Figura Suplementar I).

A variação do sucesso de oviposição das fêmeas de Campo Grande parece estar inversamente correlacionada aos níveis de resistência à deltametrina, embora isso não aconteça com relação à fecundidade (Figura Suplementar I). Em outras palavras não ocorreram alterações na quantidade de ovos por fêmea quando consideradas apenas as posturas positivas (>1 ovo), mas apenas quando são considerados todos os indivíduos vivos naquele momento, ou seja, contabilizando as posturas com zero ovo. Desta forma, a resistência a deltametrina não parece impactar em si a quantidade de ovos, mas sim outros parâmetros relacionados à fecundidade, tais como a quantidade de sangue ingerido e o sucesso na alimentação sanguínea e a ocorrência ou

não da postura (mesmo após o repasto). De fato, uma parcela menor das fêmeas das coletas CG1 e CG3, cujo sucesso de oviposição foi menor, alimentaram-se de sangue para as três semanas analisadas. Custos reprodutivos já foram associados à resistência à piretróides em *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) (Campanhola et al. 1991), *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) (Hollingsworth et al. 1997), *Culex pipiens* (Li et al. 2002) e *Musca domestica* (Ahmed e Wilkings 2001).

Considerando a população proveniente das coletas em Duque de Caxias, o tempo de desenvolvimento do ovo ao adulto, a tolerância ao jejum e o tamanho corporal parecem estar associados aos níveis de resistência ao temephos. Assim, a rapidez com a qual os indivíduos alcançaram a fase adulta (menores Razões Pop/Rock), a tolerância ao jejum e o comprimento de asa foram maiores nos momentos de redução na razão de resistência a este organofosforado (Figura Suplementar II). Ao contrário do que seria esperado, aqueles indivíduos cujo desenvolvimento foi mais lento (com maior resistência ao temephos), ou seja, passaram mais tempo na fase larvar se alimentando, obtiveram menores tolerância ao jejum. Atraso no desenvolvimento larval e menor tamanho corporal também já foram observados para populações resistentes a organofosforados de *Culex pipiens*, em criadouros naturais na França (Bourguet et al. 2004). Assim, aparentemente, o excedente energético adquirido pelas larvas não foi aplicado em reserva energética ou crescimento, o que sugere a possibilidade de alocação na superprodução de enzimas de detoxificação, responsável pela resistência aos organofosforados em *Ae. aegypti* (Marcombe et al. 2009). Rivero et al. (2011) mostraram que mosquitos adultos da espécie *Culex pipiens* resistentes a esta classe de inseticida por meio alta produção de esterases possuem 30% menos reservas energéticas que indivíduos susceptíveis da mesma espécie.

A sobrevivência das fêmeas adultas desta localidade variou ao longo do ano de estudo, mostrando aumento expressivo quando ocorre uma queda acentuada na razão de resistência ao temephos de 13,3 para 10,7 entre as coletas DC1 e DC2. A sobrevivência novamente apresenta uma queda após o aumento da resistência para a coleta DC3, porém a coleta DC4 apresenta baixa sobrevivência mesmo com o menor nível de resistência (Figura Suplementar II). Alguns trabalhos já relataram menor sobrevivência das formas adultas provenientes de populações resistentes a organofosforados na ausência de inseticidas em mosquitos do gênero *Culex* (Chevillon et al. 1997; Lenormand et al. 1999; Gazave et al. 2001; Berticat et al. 2008). Os principais mecanismos responsáveis pela redução na longevidade seriam a realocação de recursos, principalmente

lipídeos (Rivero et al. 2011), para manutenção dos mecanismos responsáveis pela resistência e/ou o estresse oxidativo gerado pela maior atividade dos sistemas de detoxificação (Rivero et al. 2010). Outros fatores além da susceptibilidade a inseticidas provavelmente contribuem na determinação da aptidão dos indivíduos (Hollingsworth et al. 1997).

A flutuação da fecundidade durante a primeira semana de experimentos das fêmeas de Duque de Caxias aparentemente se contrapõe à flutuação dos níveis de resistência ao temephos (Figura Suplementar II). Efeitos deletérios da resistência a organofosforados já foram detectados na fecundidade em *Hylyphantes graminicola* (Araneae: Linyphiidae) (Deng et al. 2006), *Myzus persicae* (Foster et al. 2000) e *Musca domestica* (Roush e Plapp 1982). Acredita-se que a resistência potencialmente dificultaria o desenvolvimento ovariano e/ou reduziria a disponibilidade de nutrientes para a produção de vitelo para os ovos (Li et al. 2002).

Quanto à população de Parnamirim, foram detectadas diferenças significativas para o tempo total de desenvolvimento, entretanto estas não parecem ter qualquer relação com os níveis de resistência aos compostos testados, assim como a tolerância ao jejum e comprimento de asas de ambos os sexos. Com relação à sobrevivência das fêmeas adultas, aparentemente há associação com a resistência ao temephos, porém ocorre uma diminuição na sobrevivência dos indivíduos da coleta PN4 a qual não acompanha um aumento na resistência. O aumento da resistência à deltametrina das coletas PN1 e PN2 com relação às coletas PN3 e PN4 foi acompanhada por uma queda no sucesso de oviposição, porém apenas para a primeira semana de monitoramento. A mesma relação pode ser observada se tratando da fecundidade, principalmente para as segunda e terceira semanas (Figura Suplementar III). Os possíveis custos detectados desde então estão de acordo com a hipótese de que genótipos de resistência apresentariam um déficit reprodutivo, caso contrário, seriam mais comuns na ausência de seleção (Crow 1957).

Finalmente, há indícios de que o tempo de desenvolvimento do ovo ao adulto da população de Santarém esteja associado aos níveis de resistência ao organofosforado temephos. Por outro lado, a tolerância ao jejum e o comprimento de asas parece variar de acordo com a razão de resistência ao piretróide deltametrina (Figura Suplementar IV). De forma contra intuitiva, uma das coletas cujo desenvolvimento larval foi mais lento, ST1, apresentou menor tolerância ao jejum com relação à ST4, que permaneceu por menos tempo nas fases imaturas e, teoricamente, adquiriu menos nutrientes e reservas energéticas durante este período. Resultados semelhantes foram obtidos para populações de *Culex pipiens* (Bourguet et al. 2004).

Sobrevivência e sucesso de oviposição de fêmeas adultas mantidas com alimentação açucarada e sanguínea não apresentaram associação com níveis de resistência obtidos, diferentemente da fecundidade, cuja flutuação anual tende a ser antagônica à variação da resistência ao temephos.

Assim, há indícios de que a resistência aos inseticidas temephos e deltametrina esteja negativamente correlacionada com alguns dos parâmetros biológicos avaliados para todas as populações estudadas. Deste modo, na ausência do controle químico no campo, o custo da resistência pode afetar a aptidão dos indivíduos e, por conseguinte, impactar a capacidade vetorial. Entretanto, tais resultados devem ser discutidos cautelosamente, pois o tipo de abordagem empregado neste estudo (assim como por Carrière et al. 1994 e Hollingsworth et al. 1997) revela a associação entre a resistência aos inseticidas e os aspectos da biologia avaliados, mas não prova a relação de causa e efeito.

O atraso no tempo de desenvolvimento dos imaturos à forma adulta, o qual mostrou relação somente com a resistência ao temephos, pode afetar a aptidão dos indivíduos. Alterações na fase larval podem afetar a morfologia, fisiologia e o comportamento durante a fase adulta, o que pode se refletir, em última instância, na habilidade do inseto em sobreviver e se reproduzir (van Uitregt et al. 2011). Além disso, de acordo com Roush e Plapp (1982) alterações neste parâmetro têm um maior efeito no potencial de crescimento de uma população com relação a alterações na fecundidade, como resultado do atraso na maturidade sexual e aumento do tempo de geração (Stearns e Koella 1986; Bourguet et al. 2004). Por fim, aumentos no tempo de desenvolvimento larvar representariam maiores exposição a predadores e, conseqüentemente, taxa de mortalidade. Neste contexto, pode-se relacionar a cinética do desenvolvimento larvar à densidade populacional do vetor, determinante da sua capacidade vetorial (Garret-Jones 1964).

O menor tamanho corporal, medido através do comprimento de asa, já foi relacionado a diversas características da história de vida de mosquitos, dentre elas a menor sobrevivência do adulto, maior dispersão, menor fecundidade, maior susceptibilidade à patógenos e menor tolerância ao jejum (Nasci 1986; Briegel et al. 1990; Kirby e Lindsay 2009; Tun-Lin et al. 2000; Alto et al. 2009; Maciel-de-Freitas et al. 2007c; Uitregt et al. 2011). Desta forma, a variação deste parâmetro tem o potencial de afetar a veiculação de patógenos de acordo com o balanço entre os efeitos positivos e negativos na capacidade vetorial. Por exemplo, Alto et al. (2009) observaram que fêmeas menores de *Ae. aegypti* apresentaram maior susceptibilidade ao vírus dengue em condições de laboratório, o que as tornaria vetores mais competentes. Por outro lado, o menor

tamanho corporal já foi relacionado com uma menor sobrevivência nesta espécie, o que reduziria a capacidade vetorial, uma vez que diminui a probabilidade de sobrevivência ao período de incubação do patógeno, quantidade de alimentações sanguíneas e contato entre vetor-hospedeiro (Nasci 1986).

A reserva energética das fêmeas de *Ae. aegypti* recém emergidas, medida indiretamente por meio da tolerância ao jejum, pode determinar o início da ovogênese, até mesmo antes do repasto sanguíneo, e o número de ovos produzidos (Zhou et al. 2004), assim como o potencial de vôo e o contato com os hospedeiros (Nasci 1986). Assim, teria impacto sobre a fecundidade e a taxa de picada, respectivamente. Os aspectos relacionados à fecundidade, por sua vez, são importantes determinantes da taxa de crescimento populacional (Begon et al. 2007)

Por fim, a sobrevivência de fêmeas de *Ae. aegypti* é um componente chave para a determinação da capacidade vetorial, pois aumentos neste parâmetro podem aumentar exponencialmente os contatos entre indivíduos infectados e potenciais hospedeiros (Luz et al. 2003; Rivero et al. 2010). Além disso, o efeito da longevidade é especialmente importante para a transmissão de parasitas que necessitam de um período mínimo de incubação no vetor. Para o dengue, estima-se que 10 dias sejam necessários para que o vírus atinja as glândulas salivares das fêmeas de *Ae. aegypti* e possa ser transmitido a um novo hospedeiro vertebrado susceptível (Salazar et al. 2007).

A importância do tipo de manifestação e da intensidade do custo na aptidão dos indivíduos resistentes na ausência de inseticidas não se limita à capacidade vetorial, mas também pode definir como a forma como tais caracteres evoluem quando estes compostos não estão presentes no ambiente. O processo de Seleção Natural age por meio de diferenças na sobrevivência e fertilidade entre os genótipos (Ridley 2006). Isso é especialmente importante para o manejo da resistência no campo (Roush e McKenzie 1987).

Conforme já postulado por Crow em 1957, teoricamente, o retorno à susceptibilidade seria naturalmente esperado após a retirada dos xenobióticos do ambiente. De fato, a redução dos níveis de resistência ao temephos no campo aqui relatada e por outros autores (Chevillon et al. 1997; Lenormand et al. 1999; Miyo et al. 2000) corroboram esta hipótese. Ademais, também já foi observada por Melo-Santos et al. (2010) em laboratório após a interrupção do uso deste composto aliada ou não à introdução de indivíduos susceptíveis. Tais resultados enfatizam a importância da migração de indivíduos provenientes de áreas não tratadas (denominadas

refúgios) e da aplicação dos inseticidas preferencialmente antes da época de migração (Comins 1977).

A redução da razão de resistência após a interrupção do uso de determinado composto no controle ressalta a hipótese de que a não detecção do custo da resistência em laboratório não é suficiente para afirmar que este não ocorre no campo. Assim, a menor aptidão dos genótipos resistentes poderia se manifestar somente sob condições ambientais específicas, quando há competição ou simplesmente em caracteres para os quais não estamos olhando e/ou porque as metodologias aplicadas são falhas em detectá-la (Costau et al. 2000).

Contudo, não se deve desconsiderar que o custo da resistência pode não ter se manifestado (Haubruge e Arnaud 2001, McCart et al. 2005). A Seleção Natural atua simultaneamente sobre diversas características genéticas relacionadas à sobrevivência e reprodução dos indivíduos. Desta maneira, a seleção de alelos em outros loci, chamados de “modificadores”, compensariam os efeitos deletérios da resistência (Roush e McKenzie 1987). Este fenômeno é bem estudado para a mosca-varejeira *Lucilia cuprina* e a resistência ao organofosforado diazinon. Após a utilização deste composto durante muito tempo no controle desta espécie, McKenzie et al. (1982) relatam que indivíduos que carregavam alelos de resistência não estavam mais em desvantagem (medida por meio da assimetria corporal) na ausência deste inseticida, conforme havia sido relatado cerca de uma década antes. Alguns anos mais tarde, McKenzie e Clarke (1988) identificaram um complexo gênico selecionado subsequentemente à resistência ao diazinon, responsável por anular o custo na aptidão dos indivíduos resistentes na ausência deste composto. Uma maneira alternativa de reduzir os custos biológicos associados à resistência a xenobióticos é a substituição de alelos mais prejudiciais por outros que apresentem menos efeitos deletérios, o que já foi descrito para *Culex pipiens* e alelos que levam à superprodução de esterases (Guillemaud et al. 1998). Finalmente, o resultado é a estabilidade da resistência ou até mesmo a fixação dos alelos relacionados.

Por fim, o conhecimento adquirido a cerca do processo evolutivo responsável pelo desenvolvimento da resistência aos inseticidas e suas implicações no combate de vetores e pragas vem sendo aplicado no intuito de evitar a perda de eficácia das ferramentas de controle químico atualmente disponíveis. Assim, vem crescendo a busca pelos chamados “inseticidas à prova de evolução”. Resumidamente, a idéia se baseia em atrasar ou até mesmo evitar o desenvolvimento da resistência aos inseticidas atingindo de forma diferencial os indivíduos de acordo com a idade.

A alta e rápida letalidade dos mosquitos que acabaram de emergir e que ainda não se reproduziram (como acontece atualmente) impõe uma forte pressão de seleção sobre os caracteres relacionados à resistência. Assim, a pressão seletiva seria bastante reduzida se a morte ocorrer após boa parte da reprodução, porém antes que estes estejam aptos a transmitir os patógenos a um novo hospedeiro (Koella et al. 2009; Read et al. 2009).

Seguindo esta lógica, esta estratégia visa o controle da doença, mas não necessariamente do vetor (Koella et al. 2009; Read et al. 2009). Este modo de ação desejado poderia ser alcançado, por exemplo, por meio do controle biológico com fungos (Scholte et al. 2007; Thomas e Read 2007; De Paula 2008), o qual causa a morte de grande parte das fêmeas de *Ae. aegypti* após cerca de 7 dias após a infecção (De Paula et al. 2008), quando muitas provavelmente já realizaram um ou duas posturas de ovos, mas antes do período de incubação do vírus dengue, que seria de cerca de 10 dias (Salazar et al. 2007). Outra possibilidade seria a exposição dos mosquitos a doses sub-letais de inseticida, o que levaria à morte apenas os indivíduos mais velhos (Read et al. 2009). Os mais novos não morreriam, mas ainda assim teriam sua viabilidade comprometida (Read et al. 2009). Ademais, a mortalidade dependente da idade poderia ser alcançada devido ao fato de que a susceptibilidade aos inseticidas costuma a aumentar com a idade (Rowland e Hemingway 1987; Rajatileka et al. 2011). Neste contexto, a ocorrência do custo da resistência na aptidão dos indivíduos pode desacelerar ainda mais ou até bloquear a evolução da resistência, já que a pressão seletiva exercida pelos xenobióticos com a utilização deste tipo de abordagem é muito menor, ou seja, dependendo do custo, o benefício da resistência pode não superar as desvantagens (Koella et al. 2009; Read et al. 2009).

7. CONCLUSÕES

- ✓ As populações dos diferentes municípios e Rockefeller apresentaram diferenças significativas para todos os parâmetros estudados, o que provavelmente reflete adaptações às condições bióticas e abióticas específicas de cada localidade e ao laboratório, respectivamente.
- ✓ Os machos toleraram melhor o jejum que as fêmeas em todos os grupos testados e esta divergência entre os sexos sugere que os machos emergem com uma maior quantidade de energia, a qual pode ser utilizada rapidamente após a emergência do adulto para o vôo e dispersão, influenciando o seu sucesso reprodutivo.
- ✓ O rápido desenvolvimento larvar de Campo Grande, ou seja, menor tempo de permanência no criadouro, possivelmente se refletiu no baixo acúmulo de reservas energéticas pelas fêmeas durante a fase adulta. Já as larvas da população de Duque de Caxias se desenvolveram mais lentamente, o que aparentemente influenciou no maior tamanho corporal.
- ✓ Fêmeas adultas alimentadas com solução açucarada e sangue da linhagem Rockefeller sobreviveram mais com relação à maioria das populações de campo e apresentaram os sucessos de alimentação e oviposição predominantemente superiores, o que provavelmente reflete a adaptação desta linhagem às condições de laboratório.
- ✓ O afrouxamento da pressão de seleção com a interrupção da aplicação do temephos no campo desde 1999 e a tendência de queda da resistência a este composto ao longo do ano de estudo sugerem uma menor aptidão dos indivíduos resistentes com relação aos susceptíveis na ausência deste inseticida.
- ✓ Há indícios de que a resistência aos inseticidas temephos e deltametrina esteja negativamente correlacionada com alguns dos parâmetros biológicos avaliados para todas as populações estudadas, o que deve ser discutido com atenção, pois a associação entre a resistência aos inseticidas e os aspectos da biologia avaliados não comprovam a relação de causa e efeito.

- ✓ Os indivíduos das coletas provenientes de Campo Grande mostraram menor tolerância ao jejum, tamanho das asas e sucesso de oviposição nos pontos de maiores razões de resistência à deltametrina.
- ✓ A duração do desenvolvimento do ovo ao adulto, a tolerância ao jejum, o tamanho corporal, a sobrevivência das fêmeas adultas e a fecundidade durante a primeira semana de experimentos parecem estar associados aos níveis de resistência ao temephos para Duque de Caxias.
- ✓ Para Parnamirim, a sobrevivência das fêmeas adultas variou de acordo com a resistência ao temephos. Por outro lado, sucesso de oviposição para a primeira semana de monitoramento e fecundidade aparentemente estão associadas à resistência à deltametrina.
- ✓ O tempo de desenvolvimento do ovo ao adulto e fecundidade da população de Santarém parecem estar associados aos níveis de resistência ao temephos, assim como a tolerância ao jejum e o comprimento de asas parece variar de acordo com a razão de resistência à deltametrina.
- ✓ As alterações observadas corroboram a hipótese de que o desenvolvimento da resistência aos inseticidas nos artrópodes pode resultar em custos na aptidão dos indivíduos resistentes em detrimento dos susceptíveis na ausência destes compostos no ambiente e reforçam a teoria de que a resistência pode alterar a capacidade vetorial dos insetos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agnew P, Berticat C, Bedhomme S, Sidobre C, Michalakis Y. Parasitism increases and decreases the costs of insecticide resistance in mosquitoes. *Evolution*. 2004 Mar; 58(3):579-86.

Agnew P, Hide M, Sidobre C, Michalakis Y. A minimalist approach to the effects of density-dependent competition on insect life-history traits. *Ecol Entomol*. 2002 Aug; 27(4): 396-402.

Ahmed S, Wilkins RM. Effect of insecticide resistance on the biology of *Musca domestica* L. strains. *Pak J Agri Sci*. 2001; 38(1-2):43-47.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *The Molecular Biology of The Cell*. 5th Edition. New York: Garland Science; 2007.

Alto BW, Reiskind MH, Lounibos LP. Size alters susceptibility of vectors to dengue virus infection and dissemination. *Am J Trop Med Hyg*. 2008 Nov; 79(5):688-95.

Anderson JR, Rico-Hesse R. *Aedes aegypti* vectorial capacity is determined by the infecting genotype of dengue virus. *Am J Trop Med Hyg*. 2006 Nov; 75(5):886-92.

Silva Jr JB, Siqueira JB Jr, Coelho GE, Vilarinhos PT, Pimenta FG Jr. Dengue in Brazil: current situation and prevention and control activities. *Epidemiol Bull*. 2002 Mar; 23(1):3-6.

Barrera R, Avila J, González-Téllez S. Unreliable supply of potable water and elevated *Aedes aegypti* larval indices: a causal relationship? *J Am Mosq Control Assoc*. 1993 Jun; 9(2):189-95.

Begon M, Townsend C, Harper J. *Ecologia: de indivíduos a ecossistemas*. Porto Alegre: Artmed, 2007.

Berticat C, Bonnet J, Duchon S, Agnew P, Weill M, Corbel V. Costs and benefits of multiple resistance to insecticides for *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. *BMC Evol Biol*. 2008 Apr; 8:104.

Berticat C, Duron O, Heyse D, Raymond M. Insecticide resistance genes confer a predation cost on mosquitoes, *Culex pipiens*. Genet Res. 2004 Jun; 83(3):189-96.

Berticat C, Rousset F, Raymond M, Berthomieu A, Weill M. High *Wolbachia* density in insecticide-resistant mosquitoes. Proc Biol Sci. 2002 Jul; 269(1498):1413-6.

Blanford S, Chan BH, Jenkins N, Sim D, Turner RJ, Read AF, Thomas MB. Fungal pathogen reduces potential for malaria transmission. Science. 2005 Jun 10; 308(5728):1638-41.

Bourguet D, Guillemaud T, Chevillon C, Raymond M. Fitness costs of insecticide resistance in natural breeding sites of the mosquito *Culex pipiens*. Evolution. 2004 Jan; 58(1):128-35.

Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. Epidemiol. Serv Saúde. 2007a Abr-Jun; 16(2):113-118.

Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. Epidemiol. Serv Saúde 2007b Oct-Dec; 16(4):279-93.

Braks MA, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R, Juliano SA, Lounibos LP. Convergent habitat segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in southeastern Brazil and Florida. J Med Entomol. 2003 Nov; 40(6):785-94.

Briegel H. Fecundity, metabolism, and body size in *Anopheles* (Diptera: Culicidae), vectors of malaria. J Med Entomol. 1990 Sep; 27(5):839-50.

Briegel H. Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity of *Aedes aegypti*. J Insect Physiol. 1990 Oct; 36(3):165-172.

Busvine JR. Mechanism of resistance to insecticide in houseflies. Nature. 1951 Aug; 168(4266):193-5.

Campanhola C, McCutchen BF, Baehrecke EH, Plapp Jr JW. Biological Constraints Associated with Resistance to Pyrethroids in the Tobacco Bud worm (Lepidoptera: Noctuidae). *J Econ Entomol.* 1991 Oct; 84(5): 1404-11.

Carrière Y, Deland JP, Roff DA, Vincent C. Life-History Costs Associated with the Evolution of Insecticide Resistance. *Proc R Soc London B.* 1994 Oct; 258(1351):35-40.

Carvalho MS, Andreozzi VL, Codeço CT, Barbosa MTS, Shimakura SE. *Análise de sobrevida: teoria e aplicações em saúde.* Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2005.

Cavalcanti LP, Pontes RJ, Regazzi AC, de Paula Júnior FJ, Frutuoso RL, Sousa EP, Dantas Filho FF, Lima JW. Efficacy of fish as predators of *Aedes aegypti* larvae, under laboratory conditions. *Rev Saude Publica.* 2007 Aug; 41(4):638-44.

Chevillon C, Bourguet D, Rousset F, Pasteur N, Raymond M. Pleiotropy of adaptive changes in populations: comparisons among insecticide resistance genes in *Culex pipiens*. *Genet Res.* 1997 Dec; 70(3):195-203.

Chevillon C, Raymond M, Guillemaud T, Lenormand T, Pasteur N. Population genetics of insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens*. *Biol J Linn Soc.* 1999 Sep; 68 (1-2):147-157.

Comins HN. The development of insecticide resistance in the presence of migration. *J Theor Biol.* 1977 Jan; 64(1):177-97.

Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R 1994. *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil.* Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 1994.

Costero A, Edman JD, Clark GG, Kittayapong P, Scott TW. Survival of starved *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Puerto Rico and Thailand. *J Med Entomol.* 1999 May; 36(3):272-6.

Coustau C, Chevillon C, ffrench-Constant R. Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? *Trends Ecol Evol.* 2000 Sep; 15(9):378-83.

Crow JF. Genetics of insect resistance to chemicals. *Annu Rev Entomol.* 1957 Jan; 2:227-46.

Darwin C. *On the Origin of Species*, London: John Murray; 1859.

David MR, Lourenço-de-Oliveira R, Freitas RM. Container productivity, daily survival rates and dispersal of *Aedes aegypti* mosquitoes in a high income dengue epidemic neighbourhood of Rio de Janeiro: presumed influence of differential urban structure on mosquito biology. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009 Sep; 104(6):927-32.

Day JF, Edman JD, Scott TW. Reproductive fitness and survivorship of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) maintained on blood, with field observations from Thailand. *J Med Entomol.* 1994 Jul; 31(4):611-7.

De Paula AR, Brito ES, Pereira CR, Carrera MP, Samuels RI. Susceptibility of adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to infection by *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*: prospects for Dengue vector control. *Biocontrol Sci Technol.* 2008 Jan; 18(10):1017-1025.

Deng L, Dai J, Cao H, Xu M. Effects of an organophosphorous insecticide on survival, fecundity, and development of *Hylyphantes graminicola* (Sundevall) (Araneae: Linyphiidae). *Environ Toxicol Chem.* 2006 Nov; 25(11):3073-7.

Devonshire AL, Moores GD. A carboxylesterase with broad substrate specificity causes organophosphorus, carbamate and pyrethroid resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*). *Pestic Biochem Physiol.* 1982 Oct; 18(2): 235-246.

Djogbénu L, Noel V, Agnew P. Costs of insensitive acetylcholinesterase insecticide resistance for the malaria vector *Anopheles gambiae* homozygous for the G119S mutation. *Malar J.* 2010 Jan; 9:12.

Edman JD, Strickman D, Kittayapong P, Scott TW. Female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand rarely feed on sugar. *J Med Entomol.* 1992 Nov; 29(6):1035-8.

Fay RW, Eliason DA. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. Mosq News. 1966 Dec; 26(4): 531-35.

Ferrari JA. Insecticide resistance. In: The Biology of Disease Vectors. Boulder: University Press of Colorado; 1996.

French-Constant RH, Daborn PJ, Le Goff G. The genetics and genomics of insecticide resistance. Trends Genet. 2004 Mar; 20(3):163-70.

Focks DA. A Review of Entomological Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors. In: UNDP/World Bank/World Health Organization Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Geneva: World Health Organization; 2003.

Foster SP, Denholm I, Devonshire AL. The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the UK. Crop Protection. 2000 Sep; 19(8-10):873-79.

Foster SP, Woodcock CM, Williamson MS, Devonshire AL, Denholm I, Thompson R. Reduced alarm response by peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), with knock-down resistance to insecticides (kdr) may impose a fitness cost through increased vulnerability to natural enemies. Bull of Entomol Res. 1999 Feb; 89(2):133-138.

Fournier D, Bride JM, Mouches C, Raymond M, Magnin M, Berge JB, Pasteur N, Georgioui GP. Biochemical characterization of the esterases A1 and B1 associated with organophosphate resistance in the *Culex pipiens* L. Complex. Pest Biochem Physiol. 1987 Feb; 27(2):211-17.

Frankino WA, Juliano SA. Costs of reproduction and geographic variation in the reproductive tactics of the mosquito *Aedes triseriatus*. Oecologia 1999 ; 120(1):59-68.

García GP, Flores AE, Fernández-Salas I, Saavedra-Rodríguez K, Reyes-Solis G, Lozano-Fuentes S, Guillermo Bond J, Casas-Martínez M, Ramsey JM, García-Rejón J, Domínguez-Galera M, Ranson H, Hemingway J, Eisen L, Black IV WC. Recent rapid rise of a permethrin knock down resistance allele in *Aedes aegypti* in México. PLoS Negl Trop Dis. 2009 Oct; 3(10):e531.

Garret-Jones C. The human blood index of malaria vectors in relation to epidemiological assessment. *Bull World Health Organ.* 1964; 30(2):241-61.

Gazave E, Chevillon C, Lenormand T, Marquine M, Raymond M. Dissecting the cost of insecticide resistance genes during the overwintering period of the mosquito *Culex pipiens*. *Heredity.* 2001 Oct; 87(4):441-8.

Georghiou GP. Principles of insecticide resistance management. *Phytoprotection.* 1994; 75(4): 51-59.

Grech MG, Ludueña-Almeida F, Almirón WR. Bionomics of *Aedes aegypti* subpopulations (Diptera: Culicidae) from Argentina. *J Vector Ecol.* 2010 Dec; 35(2):277-85.

Gubler DJ, Kuno G. Dengue and dengue hemorrhagic fever. London: CAB International; 1997.

Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev.* 1998 Jul; 11(3):480-96.

Guillemaud T, Lenormand T, Bourguet D, Chevillon C, Pasteur N, Raymond M. Evolution of resistance in *Culex pipiens*: allele replacement and changing environment. *Evolution.* 1998 Apr; 52(2):443-53.

Gusmán MG, Kourí G. Dengue and update. *Lancet Infect Dis.* 2002 Jan; 2(1):33-42.

Guzmán MG, Kourí G. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges. *J Clin Virol.* 2003 May; 27(1):1-13.

Halstead SB. Dengue virus-mosquito interactions. *Annu Rev Entomol.* 2008; 53:273-91.

Haubruge E, Arnaud L. Fitness consequences of malathion-specific resistance in red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) and selection for resistance in the absence of malathion. *J Econ Entomol.* 2001 Apr; 94(2):552-7.

Hemingway J, Hawkes NJ, McCarroll L, Ranson H. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochem Mol Biol*. 2004 Jul; 34(7):653-65.

Hoffmann F, Fournier D, Spierer P. Minigene rescues acetylcholinesterase lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. *J Mol Biol*. 1992 Jan 5; 223(1):17-22.

Hollingsworth RG, Tabashnik BE, Bruce E, Johnson BE, Messing RH, Russel H, Ulmann DE. Relationship Between Susceptibility to Insecticides and Fecundity Across Populations of Cotton Aphid (Homoptera: Aphididae). *J Econ Entomol*. 1997 Feb; 90(1):55-8.

Howard AF, Koenraadt CJ, Farenhorst M, Knols BG, Takken W. Pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* leads to increased susceptibility to the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Malar J*. 2010 Jun; 9:168.

Huho BJ, Ng'habi KR, Killeen GF, Nkwengulila G, Knols BG, Ferguson HM. Nature beats nurture: a case study of the physiological fitness of free-living and laboratory-reared male *Anopheles gambiae s.l.* *J Exp Biol*. 2007 Aug;210(Pt 16):2939-47.

Instituto Oswaldo Cruz (IOC). 10 Minutos Contra a Dengue. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz; 2011.

Kirby MJ, Lindsay SW. Effect of temperature and inter-specific competition on the development and survival of *Anopheles gambiae sensu stricto* and *An. arabiensis* larvae. *Acta Trop*. 2009 Feb; 109(2):118-23.

Klempner MS, Unnasch TR, Hu LT. Taking a bite out of vector-transmitted infectious diseases. *N Engl J Med*. 2007 Jun 21; 356 (25):2567-9.

Koella JC, Lynch PA, Thomas MB, Read AF. Towards evolution-proof malaria control with insecticides. *Evolutionary Applications*. 2009 Nov; 2(4):469-480.

Koenraadt CJ, Kormaksson M, Harrington LC. Effects of inbreeding and genetic modification on *Aedes aegypti* larval competition and adult energy reserves. *Parasit Vectors*. 2010 Oct; 3:92.

Kumar S, Thomas A, Samuel T, Sahgal A, Verma A, Pillai MK. Diminished reproductive fitness associated with the deltamethrin resistance in an Indian strain of dengue vector mosquito, *Aedes aegypti* L. Trop Biomed. 2009 Aug; 26(2):155-64.

Kuno G. Early history of laboratory breeding of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) focusing on the origins and use of selected strains. J Med Entomol. 2010 Nov; 47(6):957-71.

Lambrechts L, Knox TB, Wong J, Liebman KA, Albright RG, Stoddard ST. Shifting priorities in vector biology to improve control of vector-borne disease. Trop Med Int Health. 2009 Dec; 14(12):1505-14.

Leisnham PT, Sala LM, Juliano SA. Geographic variation in adult survival and reproductive tactics of the mosquito *Aedes albopictus*. J Med Entomol. 2008 Mar; 45(2):210-21.

Leles RN, Sousa NA, Rocha LF, Santos AH, Silva HH, Luz C. Pathogenicity of some hypocrealean fungi to adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Parasitol Res. 2010 Oct; 107(5):1271-4.

Lenormand T, Bourguet D, Guillemaud T, Raymond M. Tracking the evolution of insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens*. Nature. 1999 Aug 26; 400(6747):861-4.

Li X, Ma L, Sun L, Zhu C. Biotic characteristics in the deltamethrin-susceptible and resistant strains of *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae) in China. Appl Entomol Zool. 2002 May; 37(2):305-8.

Lilly M, Kreber R, Ganetzky B, Carlson JR. Evidence that the *Drosophila* olfactory mutant *smellblind* defines a novel class of sodium channel mutation. Genetics. 1994 Mar; 136(3):1087-96.

Lima JB, Da-Cunha MP, Da Silva RC, Galardo AK, Soares Sda S, Braga IA, Ramos RP, Valle D. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the State of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. Am J Trop Med Hyg. 2003 Mar; 68(3):329-33.

Lounibos LP. Invasion by insect vectors of human diseases. *Annu Rev Entomol.* 2002; 47:233-66.

Lourenço-de-Oliveira R, Vazeille M, de Filippis AM, Failloux AB. *Aedes aegypti* in Brazil: genetically differentiated populations with high susceptibility to dengue and yellow fever viruses. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2004 Jan; 98(1):43-54.

Lourenço-de-Oliveira R. Principais Insetos Vetores e Mecanismos de Transmissão das Doenças Infecciosas e Parasitárias. In: Coura JR, editor. *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. 1ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara; 2005. p. 75-97.

Luz PM, Codeço CT, Massad E, Struchiner CJ. Uncertainties regarding dengue modeling in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003 Oct; 98(7):871-8.

MacDonald WW. *Aedes aegypti* in Malaya. II. Larval and adult biology. *Ann Trop Med Parasitol.* 1956 Dec; 50(4):399-414.

Maciel-De-Freitas R, Codeço CT, Lourenço-De-Oliveira R. Body size-associated survival and dispersal rates of *Aedes aegypti* in Rio de Janeiro. *Med Vet Entomol.* 2007c Sep; 21(3):284-92.

Maciel-de-Freitas R, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R. Daily survival rates and dispersal of *Aedes aegypti* females in Rio de Janeiro, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2007b Apr; 76(4):659-65.

Maciel-de-Freitas R, Lourenço-de-Oliveira R. Does targeting key-containers effectively reduce *Aedes aegypti* population density? *Trop Med Int Health.* 2011 Aug; 16 (8): 965-73.

Maciel-de-Freitas R, Marques WA, Peres RC, Cunha SP, de Oliveira RL. Variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007a Jun; 102(4):489-96.

Maciel-de-Freitas R, Neto RB, Gonçalves JM, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R. Movement of dengue vectors between the human modified environment and an urban forest in Rio de Janeiro. *J Med Entomol*. 2006 Nov; 43(6):1112-20.

Mallet J. The evolution of insecticide resistance: Have the insects won? *Trends Ecol Evol*. 1989 Nov; 4(11):336-40.

Marcombe S, Poupardin R, Darriet F, Reynaud S, Bonnet J, Strode C, Brengues C, Yébakima A, Ranson H, Corbel V, David JP. Exploring the molecular basis of insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti*: a case study in Martinique Island (French West Indies). *BMC Genomics*. 2009 Oct; 10:494.

Martinez-Torres D, Chandre F, Williamson MS, Darriet F, Bergé JB, Devonshire AL, Guillet P, Pasteur N, Pauron D. Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (kdr) in the major malaria vector *Anopheles gambiae s.s.* *Insect Mol Biol*. 1998 May; 7(2):179-84.

Martins AJ, Lins RM, Linss JG, Peixoto AA, Valle D. Voltage-gated sodium channel polymorphism and metabolic resistance in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* from Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2009 Jul; 81(1):108-15.

McCarroll L, Paton MG, Karunaratne SH, Jayasuryia HT, Kalpage KS, Hemingway J. Insecticides and mosquito-borne disease. *Nature*. 2000 Oct; 407(6807):961-2.

McCart C, Buckling A, French-Constant RH. DDT resistance in flies carries no cost. *Curr Biol*. 2005 Aug; 15(15):587-9.

McKenzie A, Whitten MJ, Adena MA. The effect of genetic background on the fitness of diazinon resistance genotypes of the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Heredity*. 1982 ; 49 (1):1-9.

McKenzie JA, Clarke GM. Diazinon resistance, fluctuating asymmetry and fitness in the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Genetics*. 1988 Sep; 120(1):213-20.

McKenzie JA, O'Farrell K. Modification of developmental instability and fitness: Malathion-resistance in the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Genetica*. 1993 Feb; 89(1-3):67-76.

Melo-Santos MA, Varjal-Melo JJ, Araújo AP, Gomes TC, Paiva MH, Regis LN, Furtado AF, Magalhaes T, Macoris ML, Andrighetti MT, Ayres CF. Resistance to the organophosphate temephos: mechanisms, evolution and reversion in an *Aedes aegypti* laboratory strain from Brazil. *Acta Trop*. 2010 Feb; 113(2):180-9.

Miyo T, Akai S, Oguma Y. Seasonal fluctuation in susceptibility to insecticides within natural populations of *Drosophila melanogaster*: empirical observations of fitness costs of insecticide resistance. *Genes Genet Syst*. 2000 Apr; 75(2):97-104.

Montella IR, Martins AJ, Viana-Medeiros PF, Lima JB, Braga IA, Valle D. Insecticide resistance mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001 to 2004. *Am J Trop Med Hyg*. 2007 Sep; 77(3):467-77.

Morettin PA, Bussab WO. *Estatística Básica*. 6^a Edição. São Paulo : Saraiva, 2010.

Morrison AC, Zielinski-Gutierrez E, Scott TW, Rosenberg R. Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *PLoS Med*. 2008 Mar; 5(3):e68.

Muir LE, Kay BH. *Aedes aegypti* survival and dispersal estimated by mark-release-recapture in northern Australia. *Am J Trop Med Hyg*. 1998 Mar; 58(3): 277-282.

Nasci RS. The size of emerging and host-seeking *Aedes aegypti* and the relation of size to blood-feeding success in the field. *J Am Mosq Control Assoc*. 1986 Mar; 2(1):61-2.

Newcomb RD, Campbell PM, Ollis DL, Cheah E, Russell RJ, Oakeshott JG. A single amino acid substitution converts a carboxylesterase to an organophosphorus hydrolase and confers insecticide resistance on a blowfly. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Jul;94(14):7464-8.

Oppenoorth FJ, van Asperen. Allelic genes in the housefly producing modified enzymes that cause organophosphate resistance. *Science*. 1960 Jul; 132(3422):298-9.

Palchick S. Chemical control of vectors. In: Beaty BJ, Marquardt WC, editores. *The Biology of Disease Vectors*. Colorado: University Press of Colorado; 1996. p. 502-511.

Peryassú AG. *Os Culicídeos do Brasil*. Rio de Janeiro: Instituto de Manguinhos; 1908.

R 2.13.0. A language and environment for statistical computing. R Development Core Team, 2011. <http://www.R-project.org>.

Rajatileka S, Burhani J, Ranson H. Mosquito age and susceptibility to insecticides. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2011 May; 105(5):247-53.

Rausher MD. Co-evolution and plant resistance to natural enemies. *Nature*. 2001 Jun; 411(6839):857-64.

Raymond M, Berticat C, Weill M, Pasteur N, Chevillon C 2001. Insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens*: what have we learned about adaptation? *Genetica*. 2001; 112-113:287-96.

Read AF, Lynch PA, Thomas MB. How to make evolution-proof insecticides for malaria control. *PLoS Biol*. 2009 Apr; 7(4): e1000058.

Ribeiro CDEM 2008. Avaliação de Aspectos da Capacidade Vetorial de Populações de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) Mantida no Laboratório na Ausência ou na Presença de Piretróide [Dissertação de conclusão de Mestrado em Biologia Parasitária]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz; 2008.

Ridley, M. *Evolução*. 3ª Edição. Porto Alegre: Artmed; 2006.

Rigáu-Peres JG, Clark GG, Gubler DJ, Reiter P, Sanders EJ, Vorndan AV 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Lancet*. 1998 Sep; 352(9132):971-7.

Rivero A, Magaud A, Nicot A, Vézilier J. Energetic cost of insecticide resistance in *Culex pipiens* mosquitoes. *J Med Entomol*. 2011 May; 48(3):694-700.

Rivero A, Vézilier J, Weill M, Read AF, Gandon S. Insecticide control of vector-borne diseases: when is insecticide resistance a problem? PLoS Pathog. 2010 Aug 5; 6(8):e1001000.

Roberts DR. The DDT Story: Environmentalism Over Rights to Health and Life. In: Atkinson PW, editor. Vector Biology, Ecology and Control. 1th Edition. New York: Springer; 2010. p. 15-26.

Rose RI 2001. Pesticides and Public Health: Integrated Methods of Mosquito Management. Emerging Infectious Diseases 7: 17 - 23.

Rose RI. Pesticides and Public Health: Integrated Methods of Mosquito Management. Emerg Infect Dis. 2001 Jan-Feb; 7(1):17-23.

Roush RT, McKenzie JA. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. Annu Rev Entomol. 1987; 32:361-80.

Roush RT, Plapp FW Jr. Effects of insecticide resistance on biotic potential of the house fly (Diptera: Muscidae). J Econ Entomol. 1982 Aug 15; 75(4):708-13.

Rowland M, Hemingway J. Changes in malathion resistance with age in *Anopheles stephensi* from Pakistan. Pesticide Biochem Physiol. 1987 Jun; 28(2):239-47.

Rozendaal JA. Vector control Methods for use by individuals and communities. Geneva: World Health Organization; 1997.

Salazar MI, Richardson JH, Sánchez-Vargas I, Olson KE, Beaty BJ. Dengue virus type 2: replication and tropisms in orally infected *Aedes aegypti* mosquitoes. BMC Microbiol. 2007 Jan; 7:9.

Scholte EJ, Knols BG, Samson RA, Takken W. Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. J Insect Sci. 2004 Jun [Acesso em 10 de fevereiro de 2012]; 4:19. Disponível em <http://insectscience.org/4.19/>.

Scholte EJ, Knols BG, Takken W. Infection of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* reduces blood feeding and fecundity. J Invertebr Pathol. 2006 Jan; 91(1):43-9.

Scholte EJ, Takken W, Knols BG. Infection of adult *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* mosquitoes with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Acta Trop. 2007 Jun; 102(3):151-8.

Secretaria de Vigilância em Saúde. Municípios Infestados por *Aedes aegypti* no Brasil [Acesso em 05 de fevereiro de 2012]; 2006. Disponível em http://www.dengue.org.br/dengue_mapas.html.

Severson DW, Anthony NM, Andreev O, French-Constant RH. Molecular mapping of insecticide resistance genes in the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). J Hered. 1997 Nov-Dec; 88(6):520-4.

Siegel and Castellan. Non parametric statistics for the behavioural sciences. New York: MacGraw Hill Int; 1988.

Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) [Acesso em 14 de fevereiro de 2012]. Disponível em <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/>.

Sistema de Informações Ambientais (SISAM). [Acesso em 14 de fevereiro de 2012]. Disponível em <http://sisam.cptec.inpe.br/msaude/info.formulario.logic>.

Somwang P, Yanola J, Suwan W, Walton C, Lumjuan N, Prapanthadara LA, Somboon P. Enzymes-based resistant mechanism in pyrethroid resistant and susceptible *Aedes aegypti* strains from northern Thailand. Parasitol Res. 2011 Sep; 109(3):531-7.

Stearns SC, Koella J. The evolution of phenotypic plasticity in life-history traits: Predictions for norms of reaction for age- and size-at-maturity. Evolution. 1986 Sep; 40(5): 893-913.

Suman DS, Tikar SN, Mendki MJ, Sukumaran D, Agrawal OP, Parashar BD, Prakash S. Variations in life tables of geographically isolated strains of the mosquito *Culex quinquefasciatus*. Med Vet Entomol. 2011 Sep; 25(3):276-88.

Tabashnik BE, Finson N, Groeters FR, Moar WJ, Johnson MW, Luo K, Adang MJ. Reversal of resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Plutella xylostella*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994 May 10; 91(10):4120-4.

Taylor CE. Genetics and evolution of resistance to insecticides. Bio J Linn Soc. 1986 Feb; 27(2):103-12.

Thomas MB, Read AF. Can fungal biopesticides control malaria? Nature Microbiol Rev. 2007 May; 5: 377-383.

Tun-Lin W, Burkot TR, Kay BH. Effects of temperature and larval diet on development rates and survival of the dengue vector *Aedes aegypti* in north Queensland, Australia. Med Vet Entomol. 2000 Mar; 14(1):31-7.

van Uitregt VO, Hurst TP, Wilson RS. Reduced size and starvation resistance in adult mosquitoes, *Aedes notoscriptus*, exposed to predation cues as larvae. J Anim Ecol. 2011 Jan; 81(1):108-15.

Ware GW, Withacre DM. An introduction to insecticides. 4rd Edition. [Acesso em Jan/2010]. Tucson: University of Arizona; 2000. Disponível em <http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm>.

Whalon ME, Wingerd BA. Bt: mode of action and use. Arch Insect Biochem Physiol. 2003 Dec; 54(4):200-11.

World Health Organization (WHO), Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR). Dengue: Guidelines for Diagnoses, Treatment, Prevention and Control. Geneva: World Health Organization; 2009.

Zhou G, Pennington JE, Wells MA. Utilization of pre-existing energy stores of female *Aedes aegypti* mosquitoes during the first gonotrophic cycle. *Insect Biochem Mol Biol.* 2004 Sep; 34(9):919-25.

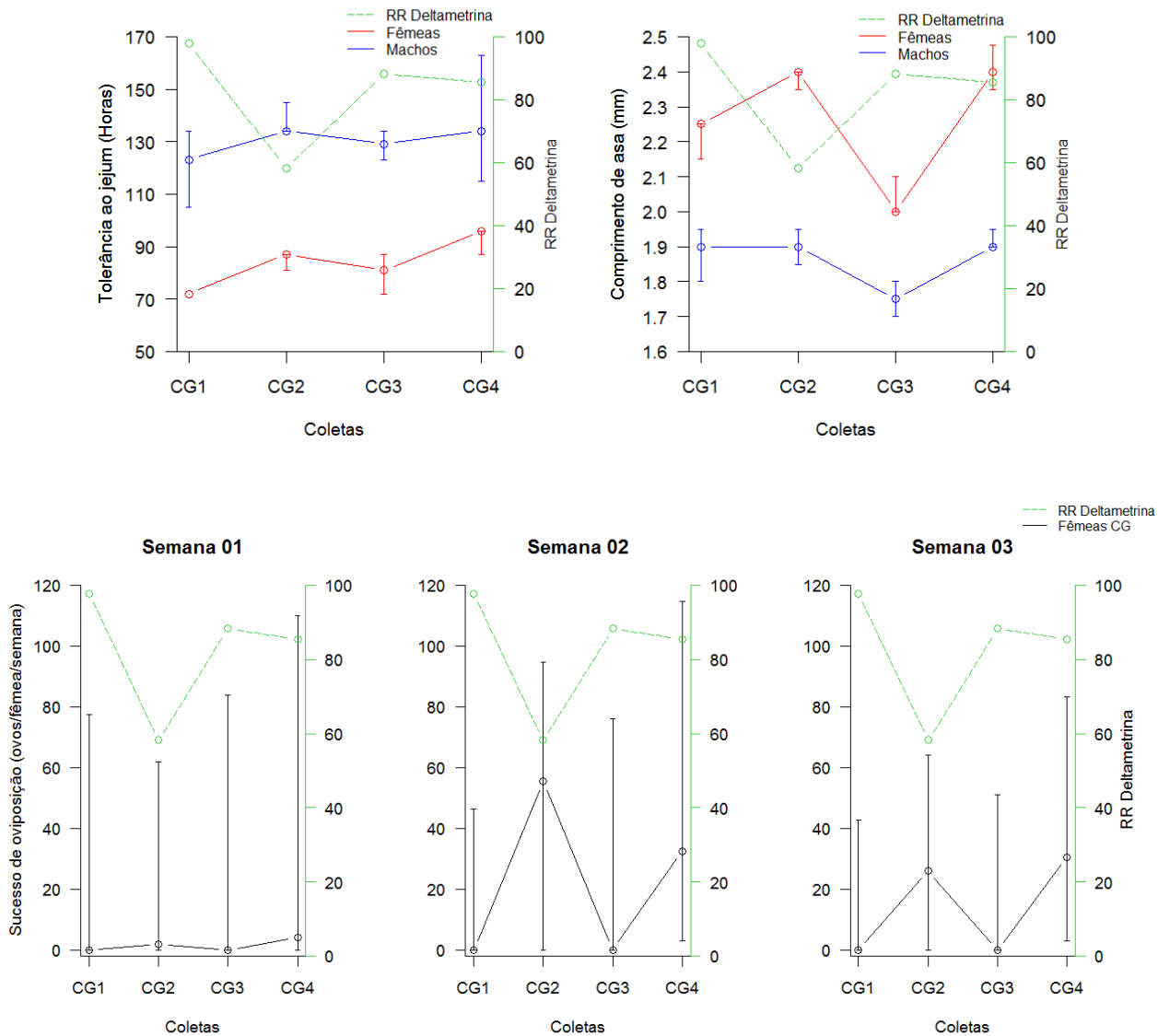


Figura suplementar I. Panorama geral da relação entre os níveis de resistência a inseticidas e os parâmetros biológicos avaliados para a população de Campo Grande (CG). A tolerância ao jejum, tamanho de asas, e sucesso de oviposição de *Ae. aegypti* apresentam reduções nos momentos de maior resistência ao piretróide deltametrina.

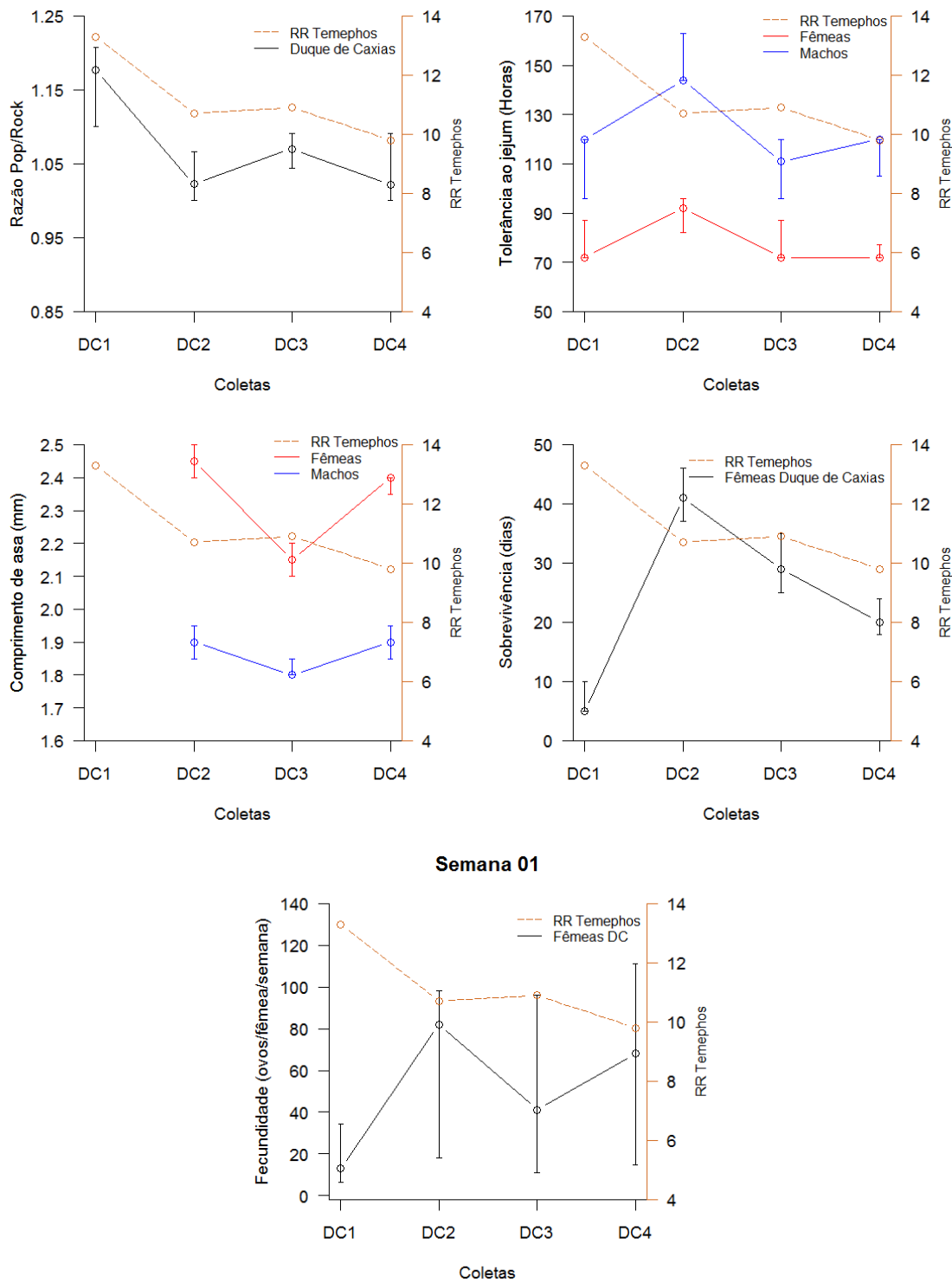


Figura suplementar II. Panorama geral da relação entre os níveis de resistência a inseticidas e os parâmetros biológicos avaliados para a população de Duque de Caxias. A cinética do desenvolvimento, tolerância ao jejum, tamanho de asas, e fecundidade da semana 01 de *Ae. aegypti* apresentam reduções nos momentos de maior resistência ao organofosforado temephos.

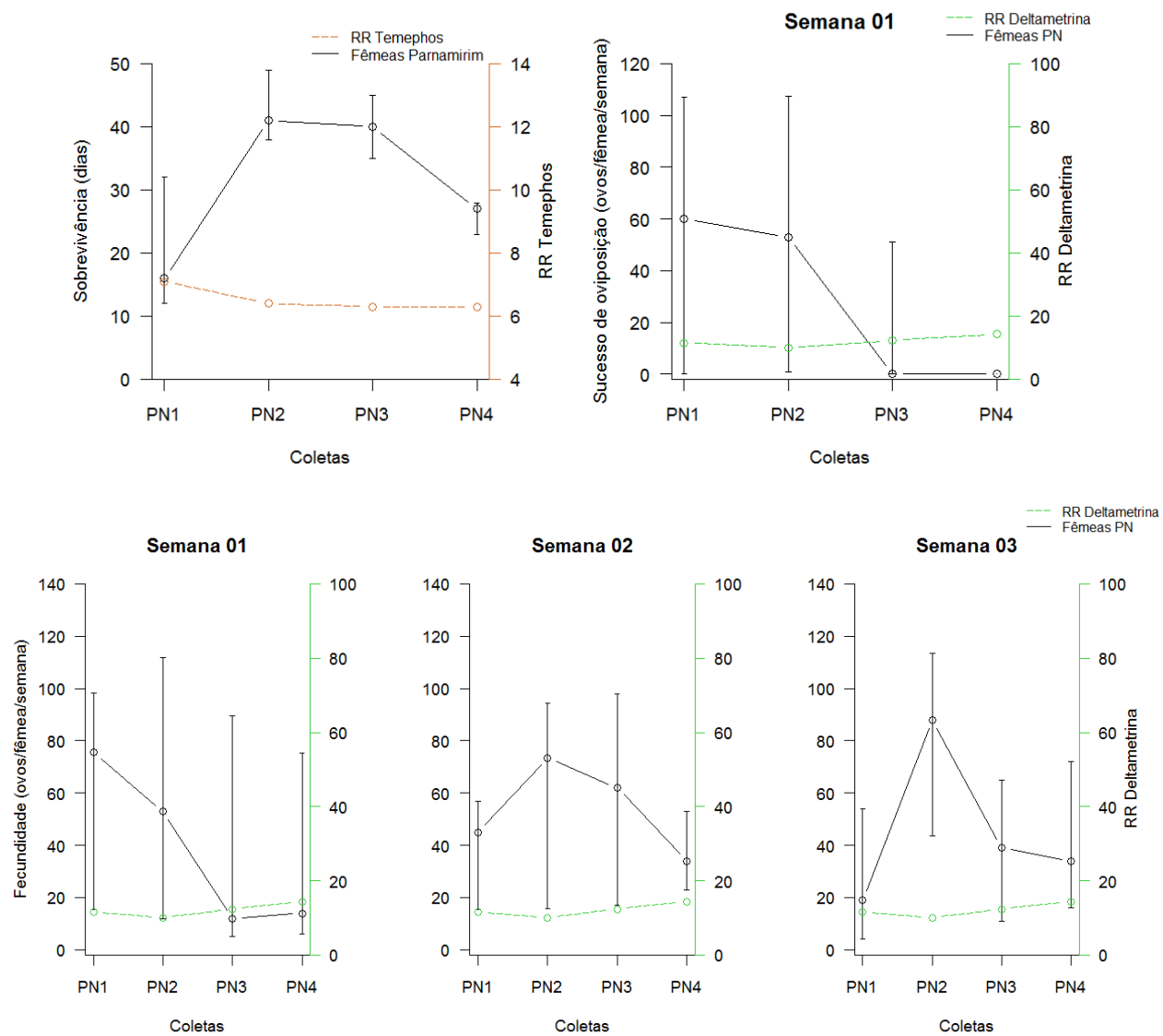


Figura suplementar III. Panorama geral da relação entre os níveis de resistência a inseticidas e os parâmetros biológicos avaliados para a população de Parnamirim. A sobrevivência de fêmeas adultas, sucesso de oviposição (Semana 01) e fecundidade de *Ae. aegypti* apresentam reduções nos momentos de maior resistência ao temephos (sobrevivência) e deltametrina (aspectos reprodutivos).

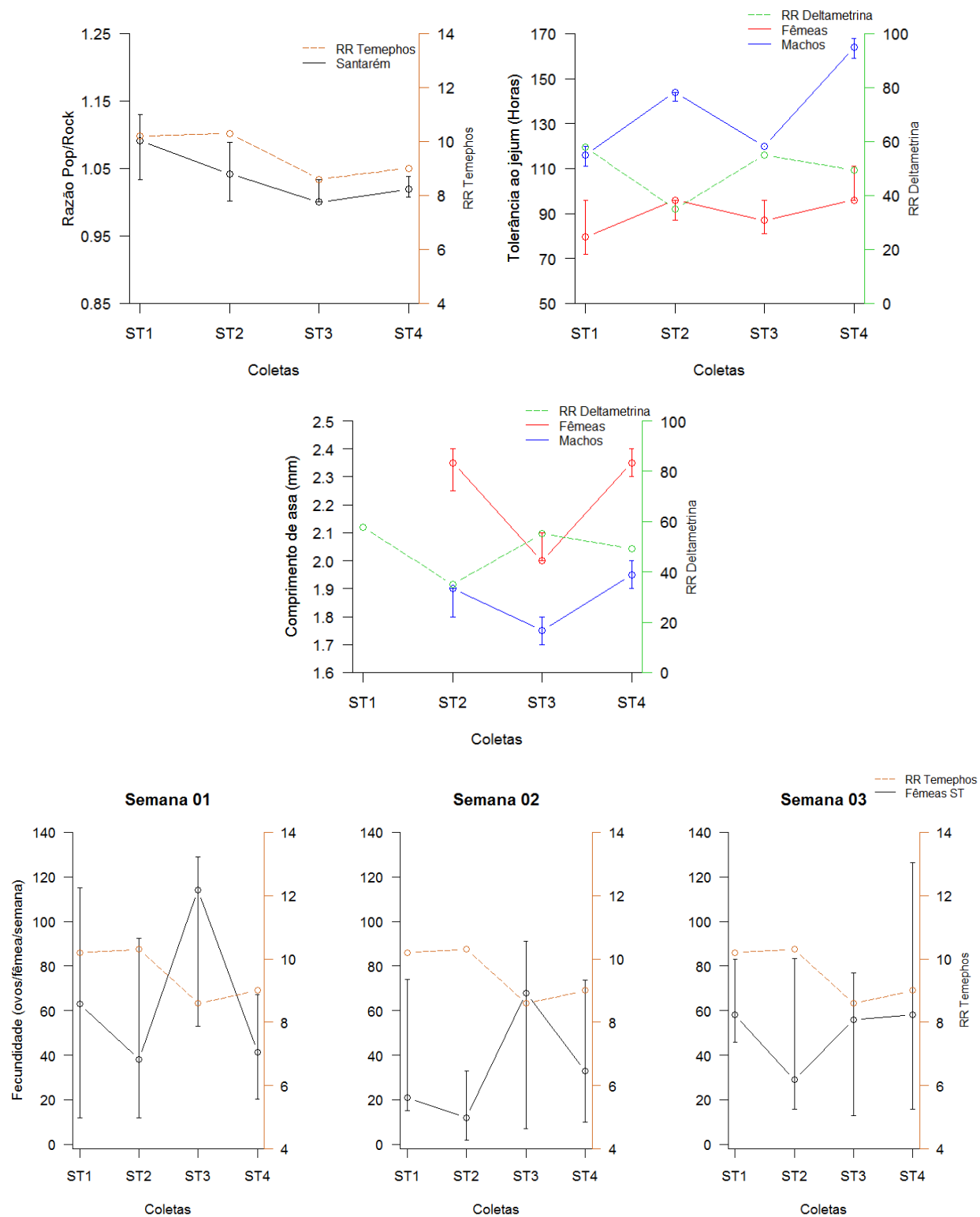


Figura suplementar IV. Panorama geral da relação entre a resistência e os parâmetros biológicos avaliados para Santarém. O desenvolvimento larvar, tolerância ao jejum, comprimento de asas e fecundidade de *Ae. aegypti* aparentemente relacionam-se à resistência.