

Resistência a inseticidas em populações de *Simulium* (Diptera, Simuliidae)

Insecticide resistance in *Simulium* populations (Diptera, Simuliidae)

Jairo Campos ¹

Carlos Fernando S. Andrade ²

¹ Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, Universidade Estadual de Campinas. C. P. 6109, Campinas, SP 13084-971, Brasil. jairocag@unicamp.br
² Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. C. P. 6109, Campinas, SP 13084-971, Brasil. cfeandra@unicamp.br

Abstract Populations of *Simulium* (*Chirostilbia*) *pertinax* Kollar, 1832 from Southern and Southeastern States of Brazil were analyzed for temephos susceptibility considering control historical information and possible resistance. In situ bioassays were carried out for populations from the states of Paraná (Tibaji and Rolândia), Rio de Janeiro (Muriqui) and São Paulo (Barra do Una, Ilhabela and Morungaba). The populations were characterized as susceptible (S) or resistant (R) by submitting larvae in the last instars to an operational concentration (0.1ppm a.i./10min) of temephos (Abate 500E) as diagnostic. The possible mechanisms for the organophosphorus resistance development are discussed considering old and new control strategies.

Key words Simuliidae; Temefos; Organophosphate Insecticides; Insecticides; Vector Control

Resumo Populações de *Simulium* (*Chirostilbia*) *pertinax* Kollar, 1832 do Sul e Sudeste do Brasil, foram analisadas quanto à susceptibilidade ao Temephos, considerando-se os históricos de controle e possível resistência. Bioensaios in situ foram realizados para populações dos estados do Paraná (Tibaji e Rolândia), Rio de Janeiro (Muriqui) e São Paulo (Barra do Una, Ilhabela, e Morungaba). As populações foram caracterizadas como susceptíveis (S) ou resistentes (R) submetendo-se larvas nos últimos estádios a uma concentração operacional (0,1ppm i.a./10min) de Temephos (Abate 500E) como diagnóstica. Os possíveis mecanismos para o desenvolvimento de resistência ao organofosforado são discutidos considerando-se antigas e novas estratégias de controle.

Palavras-chave Simuliidae; Temefos; Inseticidas Organofosforados; Inseticidas; Controle de Vetores

Introdução

Das mais de 1.700 espécies registradas na família Simuliidae estima-se que apenas 10% atacam o homem e animais domésticos, e destas, cerca de 40 são de interesse médico e/ou veterinário, como vetoras de doenças ou muito incômodas (Crosskey, 1990). *Simulium (Chirostilbia) pertinax* Kollar, 1832 ocorre na Argentina, Brasil e Paraguai (Coscarón, 1981, 1987, 1991). O hábito hematófago voraz das fêmeas dessa espécie perturba e limita as atividades cotidianas das pessoas, e o desenvolvimento econômico de algumas regiões que vivem quase que exclusivamente do turismo (Souza, 1984). Em relação a outros simulídeos, esta é portanto, a espécie que afeta em maior proporção às populações humanas e às criações de animais (Coscarón, 1989; Strieder & Corseuil, 1992). Uma vez considerada praga em várias regiões do Brasil, essa espécie tem recebido grandes esforços de controle nas últimas décadas (Andrade, 1989a, 1989b; Araújo-Coutinho, 1995; Campos & Andrade, 2001; Cyanamid, 1980; Mardini et al., 2000; Regis et al., 2000).

A falha no controle de uma praga devido à diminuição da susceptibilidade à concentração operacional de um produto químico é a primeira evidência do desenvolvimento de resistência. Assim, tem sido verificada a resistência ao larvicida organofosforado Temephos em *S. (Edwardsellum) damnosum* s.l. na África (Guillet et al., 1980) e em populações de *S. (C.) pertinax* e outros simulídeos do Sul e Sudeste do Brasil (Andrade, 1989a, 1989b; Andrade & Campos, 1995; Andrade & Castello-Branco Jr., 1990, 1991; Ruas Neto, 1984; Ruas Neto et al., 1984). Essa resistência parece ter se desenvolvido por diferentes processos seletivos nessas populações alvo de controle, e o pior, também tem sido verificada em populações nunca expostas diretamente ao controle pelo larvicida. Dessa forma, o uso de um produto químico altamente seletivo contra larvas de simulídeos (Jamnback, 1973), e economicamente vantajoso (Kurtak et al., 1987a; Palmer et al., 1996), encontra-se hoje inviável em vários locais.

O uso do organoclorado DDT contra os simulídeos data pelo menos de 1944, na Guatemala (Davies, 1994) e os primeiros registros de populações resistentes foram no Japão, em 1963 e 1966 (Jamnback, 1973). No litoral do estado de São Paulo, o DDT e o BHC foram usados contra borrachudos oficialmente, de 1957 até 1970 (Araújo-Coutinho, 1995; Cyanamid, 1980) e não existem relatos de testes sobre sua eficiência. Alegando-se a busca por um larvicida mais seletivo, o governo do estado substi-

tuiu em 1971, o DDT pelo Temephos, que foi empregado até pelo menos o começo da década de noventa, em uma área de 900km² entre as localidades de Barra do Una e Picinguaba, São Paulo (Araújo-Coutinho, 1995; Cyanamid, 1980). Para o estado de Santa Catarina, relata-se o uso de DDT como larvicida desde 1964, sendo a resistência registrada poucos anos após. Nessa época, ainda foi usado sem nenhum resultado, o organofosforado Malathion contra os borrachudos adultos (D'Andretta Jr. et al., 1969).

O desenvolvimento de resistência nos borrachudos lamentavelmente pode ser muito rápido. No Programa Africano de Controle da Oncocercose (PCO), o Temephos começou a ser usado em maior escala a partir de 1974, e o primeiro registro de resistência para o complexo de espécies *S. (E.) damnosum* foi feito após apenas 16 meses (Guillet et al., 1980). Nessa mesma área foi registrada resistência a um outro organofosforado (Chlorphoxim) em menos de um ano (Kurtak et al., 1982). E existem ainda relatos de desenvolvimento de resistência em apenas cinco meses em algumas populações de *S. sanctipauli*, espécie do complexo (Davies, 1994). Mesmo assim, os registros são poucos. Até o ano 1985, só se tinha registro oficial de resistência para 11 espécies de *Simulium* no mundo todo (Shidrawi, 1992). Em Camarões, foi registrada resistência à Permethrina em populações de *S. squamosum* (espécie de *S. (E.) damnosum* s.l.), que mantinham-se ainda resistentes a organofosforados mesmo depois de vários anos da suspensão de seu uso (Hougard et al., 1992). Mais recentemente, altos níveis de resistência ao DDT e piretróides foi relatada para populações de simulídeos na Argentina (Montagna et al., 1999).

Classicamente, têm sido propostos mais métodos para se detectar a resistência em populações de culicídeos do que de simulídeos, como pré-requisito para se empregar produtos ou para monitorar programas de controle. No Brasil, Andrade & Castello-Branco Jr. (1990) propuseram dois métodos de campo para *S. (C.) pertinax*: avaliação dos níveis de esterases em larvas e bioensaios de aplicação tópica em adultos. Com isso, foi possível relacionar a resistência ao Temephos em populações desse borrachudo a uma maior produção de esterases (Andrade & Castello-Branco Jr., 1990), o que de certo deve estar associado a alterações gênicas. Estudos citológicos podem também ser usados para o diagnóstico de resistência em simulídeos e, desta forma, inversões cromossômicas têm caracterizado a resistência em populações de *S. sanctipauli* submetidas à pres-

são de seleção direta e indireta pelo uso de inseticidas (Meredith et al., 1986; Osei-Atweneboana et al., 2001; Post & Kurtak, 1987). Técnicas citológicas e os bioensaios portanto, podem permitir o diagnóstico e monitoramento da resistência em populações de borrachudos de importância à saúde pública, resultando no uso adequado de produtos e do orçamento público.

No Brasil, o primeiro registro de resistência ao Temephos pode ser entendido como o feito em 1984, no Estado do Rio Grande do Sul (Ruas Neto, 1984; Ruas Neto et al., 1984). Foi relatada uma "ineficiência do produto" no controle de *S. (C.) pertinax* e *S. (Thyrsopelma) orbitale*, depois de doze anos de iniciado o programa oficial em 1972 (Cyanamid, 1980). No Estado de São Paulo, e valendo-se de bioensaios de campo, a resistência foi registrada para sete espécies: *S. (Inaequalium) inaequale*, *S. (Psaroniocompsa) incrustatum*, *S. (T.) orbitale*, *S. (C.) pertinax*, *S. (C.) prumirimense*, *S. (T.) scutistriatum* e *S. (C.) spinibranchium* em 1987 (Andrade, 1989b; Andrade & Castello-Branco Jr., 1991), em áreas onde se fazia controle com o organofosforado há 16 anos. As avaliações com adultos de *S. (C.) pertinax* (Andrade & Castello-Branco Jr., 1990) quando comparadas com dados da África (Kurtak, 1986), permitiram verificar que era uma resistência elevada, e que devia estar sendo desenvolvida por muito tempo, devido à falta de monitoramento pela Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) responsável pelo programa de controle. A partir de 1986, a SUCEN começou a trocar o Temephos por produto biológico à base de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) (Regis et al., 2000) em uma área piloto. E a partir de 1990, é que iniciou-se um programa baseado no uso exclusivo de Bti (Araújo-Coutinho, 1995). Nos Estados de Paraná e Santa Catarina, os principais programas de controle optaram pelo uso de Bti devido à instabilidade da eficiência das aplicações de Temephos. No Estado do Rio Grande do Sul, vem sendo feito um programa eficiente de controle com Bti desde o ano 1983, envolvendo pelo menos 170 municípios (Mardini et al., 2000).

O presente trabalho tem o propósito principal de levantar algumas questões sobre o controle e a resistência de simulídeos no Brasil, a partir da análise de várias populações de *S. (C.) pertinax* submetidas ou não ao controle químico, verificando-se a susceptibilidade ao organofosforado Temephos. Baseando-se no histórico de controle, pode-se ainda discutir alguns dos possíveis mecanismos genéticos envolvidos na resistência.

Materiais e métodos

Populações estudadas

Os bioensaios e as coletas foram feitos entre outubro de 1993 e junho de 1996. Foram estudadas sete populações de *S. (Chirostilbia) pertinax*: uma do litoral do Rio de Janeiro (Muriqui); três do Estado de São Paulo (Ilhabela e Barra do Una, no litoral e Morungaba, no Planalto); duas do Paraná (Rolândia, no Planalto e Tibaji, nos Campos Gerais) e uma do Rio Grande do Sul (Nova Petrópolis, na Serra Gaúcha) (Tabela 1). As larvas foram identificadas baseando-se nas descrições de D'Andretta Jr. & D'Andretta (1950) e Coscarón (1987).

As populações apresentam diferentes históricos de pressão de seleção nos últimos vinte anos: a população de Muriqui, não foi submetida a controle nenhum; a de Barra do Una, foi submetida a controle com Temephos durante a década de 80, com Bti nos anos 90 e, atualmente, recebe controle alternado de Bti e Temephos. As populações de Ilhabela e Nova Petrópolis, esta última em uma área com forte atividade agropecuária, foram tratadas com controle químico por décadas (Cyanamid, 1980) e atualmente, são submetidas a controle apenas com Bti (Araújo-Coutinho, 1995; Mardini et al., 2000). As populações de Morungaba, Rolândia e Tibaji, que nunca foram submetidas a controle direto, também estão localizadas em áreas com intensa atividade agropecuária.

Resistência ao Temephos

As populações de *S. pertinax* foram caracterizadas como susceptíveis (S) ou resistentes (R), a partir de bioensaios *in situ* com larvas dos últimos estádios. Os bioensaios em rampas foram realizados segundo método de Andrade & Castello-Branco Jr. (1990, 1991) e Andrade & Campos (1995), com modificações ou diretamente no riacho, depois de se calcular a vazão com fluxômetro (General Oceanic Inc., modelo 2030R) e medir a temperatura da água (Tabela 1). Foram utilizadas entre 100 e 200 larvas para cada rampa, de madeira ou amianto, arranjadas no próprio leito do riacho. A vazão foi calculada na saída, com auxílio de balde graduado e cronômetro. A ocorrência de paralisia irreversível das larvas (indicativa da susceptibilidade ao produto) e mortalidade foi verificada a partir de 3h após o tratamento, mediante estímulo mecânico de toque feito com uma pinça. Larvas com reflexo típico de retração foram consideradas vivas e portanto resistentes. Adotou-se como diagnóstico de resistência uma

Tabela 1

Mortalidade larval e status de susceptibilidade para populações de *Simulium (Chirostilbia) pertinax*, sujeitas a uma concentração operacional de 0,1ppm i.a./10min de Temephos.

População (Data Bioensaio)	Localização	Temperatura (°C)	Vazão (m ³ /min)	Mortalidade – Tempo	Status
Muriqui, Rio de Janeiro (29/julho/1994)	43° 57' W 22° 56' S	20	2,3	100% – 3h após	S
Ilhabela, São Paulo (8/janeiro/1994)	45° 21' W 23° 50' S	20	0,12	0% – 3 e 24h após	R
Barra do Una, São Paulo (16/março/1996)	45° 46' W 23° 44' S	21	168*	100% – 3h após	S
Morungaba, São Paulo (15/abril/1995)	46° 47' W 22° 50' S	22	0,032	0,5 % – 3 e 24h após	R
Rolândia, Paraná (14/junho/1996)	51° 21' W 23° 19' S	19	0,8*	0 % – 3 e 17h após	R
Tibaji, Paraná (8/junho/1996)	50° 22' W 24° 39' S	16	0,024	0 % – 3 e 14h após	R
Nova Petrópolis, Rio Grande do Sul (sem teste)	51° 12' W 29° 25' S	18	4,6*		?S/R

* Vazão total do riacho.

S = susceptível; R = resistente; ?S/R = susceptibilidade indeterminada em maio de 1994.

elevada sobrevivência (> 99%) à concentração operacional proposta pelo fabricante (0,1ppm i.a./10min de Temephos, Abate 500E) (Cyamid, 1980).

Resultados e discussão

As populações

As populações de *S. (Chirostilbia) pertinax* estudadas foram classificadas em três diferentes categorias quanto à resposta ao organofosforado Temephos. Assim, houve susceptibilidade (S) em Muriqui e Barra do Una; resistência (R) nas populações de Ilhabela, Morungaba, Rolândia e Tibaji e a resistência ficou como incerta ou desconhecida (?S/R) em Nova Petrópolis (Tabela 1). As populações de Barra do Una (S), Ilhabela (R) e Muriqui (S) encontravam-se em criadouros de águas transparentes, em ambientes com pouca ou nenhuma intervenção humana, enquanto as populações de Morungaba (R), Nova Petrópolis (?S/R), Rolândia (R) e Tibaji (R) ocorrem em criadouros de ambientes com grande intervenção humana, em fazendas com atividade agropecuária intensiva.

No que diz respeito às populações de Morungaba, Rolândia e Tibaji, esperava-se que fossem completamente susceptíveis por nunca terem sido submetidas a programas de controle químico. Em Morungaba, no entanto, uma avaliação preliminar em julho de 1994, indicou resistência nessa população, o que foi posteriormente confirmado por meio de teste em rampa (Andrade & Campos, 1995). Também em Rolândia, o teste indicou resistência por não haver qualquer mortalidade após 17h. E em Tibaji, que esperava-se ao menos alguma mortalidade em 14h, isso não ocorreu. A resistência não esperada nessas populações, só pode ser explicada como sendo uma resistência cruzada a produtos de uso agrícola e pecuário, usados nas fazendas onde se situam esses riachos. Tal fato já foi bem documentado em outros locais para simulídeos (Davies, 1994; Kurtak et al., 1987b; Lies, 1988; Osei-Atweneboana et al., 2001). Em Tibaji, ainda poder-se-ia suspeitar do teste e que não fosse de fato resistência, pois a temperatura da água era baixa (Tabela 1), e autores como Back et al. (1979) e Rodrigues & Kaushik (1984) têm indicado uma natural redução do efeito desse larvicida para temperaturas abaixo de 18°C. No entanto, consideran-

do-se que já registramos alta mortalidade (93% 4h após, 0,5mg/l) a 17°C e desprendimento de larvas (30% 3h após, 0,1mg/l) a 13,5°C (Andrade 1989a), consideramos aqui a população de Tibaji também como resistente. Corrobora essa consideração o fato de Palmer et al. (1996) registrarem em vários ensaios, mortalidades elevadas (80-100%, 0,1mg/l) sob temperaturas tão baixas quanto 11°C.

A população de Nova Petrópolis (S/R) foi de riacho, localizado em uma área com um histórico de pelo menos cinquenta anos de atividade agrícola e pecuária. Foi submetida a controle com Temephos (0,03ppm i.a., 30min) a partir de 1972 (Cyanamid, 1980), por doze anos e apresentou resistência a este produto (Ruas Neto, 1984). Apesar dessa população estar sendo controlada há 18 anos com Bti (Mardini et al., 2000), há uma boa chance de que continue resistente ao organofosforado devido à constante pressão pelos defensivos agrícolas.

A resistência nas populações

Segundo o fabricante (Cyanamid, 1980), o Temephos foi usado no Brasil em concentrações operacionais de 0,03 a 0,3ppm i.a. por períodos de 10 a 30min. Assim, e baseando-se nos estudos de Andrade (1989a) e de Ruas Neto (1984), considerou-se 0,1mg/l 10min como uma concentração diagnóstico bastante adequada para avaliações em águas limpas e com pouca matéria em suspensão. Por meio de bioensaios de campo Andrade (1989a, 1989b) registrou altos níveis de resistência a concentrações muito elevadas (2,5 e 14,4mg/l, 10min), com fatores de resistência (FR₉₉) de mais de oitenta vezes para larvas de *S. (C.) pertinax* e de 480 vezes para larvas de *S. (I.) inaequale* no litoral norte de São Paulo. Guillet et al. (1980) registraram falha total de controle de *S. sanctipauli* em várias áreas do PCO, para concentrações de 4 a 8 vezes maiores que a concentração operacional que eles adotavam (0,05mg/l 10min), produzindo um fator de resistência de 45 a 100 vezes quando estimado pela CL_{99,9} (0,12mg/l 3h) (Kurtak, 1986).

Para *S. (C.) pertinax* também foi registrada resistência ao Temephos por fatores de até pelo menos oito vezes a CL₅₀ (FR₅₀) em adultos, o que poderia significar um aumento do fator de resistência de mil vezes nas larvas, resistência essa, associada ao aumento na atividade de esterases (Andrade, 1989a; Andrade & Castello-Branco Jr., 1990). Fatores de resistência aos organofosforados têm sido associados a proteínas detoxificantes em *Drosophila melanogaster*; nematódeos e mamíferos (Beall et al., 1992;

Ringo et al., 1995). Enquanto que no mosquito *Culex quinquefasciatus* altos níveis de resistência foram associados à elevada produção de esterases (Mouchès et al., 1987), em simulídeos, é a elevada atividade de esterases que tem sido associada à resistência aos organofosforados (Hemingway & Callaghan, 1989; Magnin et al., 1987; Parker & Callaghan, 1997).

Devido aos elevados níveis de resistência em geral registrados, ao aumento da atividade de esterases e ao histórico de forte pressão de seleção por inseticidas, acreditava-se que a resistência detectada em *S. (C.) pertinax* poderia ser melhor explicada por uma amplificação gênica, como o foi para *C. quinquefasciatus* e *Myzus persicae* (Devonshire & Field, 1991). O gene de esterase B amplificado, responsável pela resistência aos organofosforados no complexo *Culex pipiens*, pode ser detectado pela formação de um "puff" nos cromossomos politénicos das glândulas salivares da linhagem resistente, enquanto que na linhagem sem amplificação e na susceptível, só aparece uma interbanda (Heyse et al., 1996; Tomita et al., 1996). Esse "puff" também foi observado nos cromossomos politénicos dos túbulos de Malpighi em populações do complexo *C. pipiens*, resistentes a organofosforados e piretróides (J. Campos et al., comunicação pessoal; Zambetaki et al., 1998). Mas nenhum "puff" associado à resistência foi evidenciado em *S. (C.) pertinax* (Campos et al., 2001). Por outro lado também, estudos enzimáticos feitos para caracterizar a resistência ao Temephos em citospecies de *S. (E.) damnosum* s.l. mostraram que não existe similaridade, ao menos ao que parece, entre as esterases de *Simulium* e as de *C. quinquefasciatus* (Hemingway & Callaghan, 1989). O aumento dos níveis de atividade esterásica no complexo *S. (E.) damnosum* por exemplo, não está fortemente associado a uma banda eletroforética, como de fato acontece para afídeos e para o mosquito *C. quinquefasciatus* (Hemingway et al., 1991).

Tanto quanto para o caso de *S. (E.) damnosum*, explicações para a origem e difusão da resistência em populações de *S. (C.) pertinax*, submetidas ou não a controle, poderiam também estar baseadas em complexos gênicos coadaptados (Kurtak et al., 1987c). A resistência a inseticidas organofosforados já foi associada a inversões cromossômicas em *S. sanctipauli* (Meredith et al., 1986; Osei-Atweneboana et al., 2001; Post & Kurtak, 1987) e translocações em *Anopheles albimanus* (Kaiser et al., 1979). No entanto, grandes seqüências coadaptadas como polimorfismos de inversão ou de banda, que podem conferir uma vantagem se-

letiva (Proconier, 1989) não foram observadas nas populações estudadas (Campos et al., 2001). É possível que pequenos complexos de genes dentro de uma única banda possam acontecer. Recentemente, foi registrado o uso de hibridização *in situ* em cromossomos politénicos de *Simulium* para detectar genes de relevância à resistência (Boakey et al., 2000) e o uso de microscopia eletrônica de alta resolução para verificar expressão do gene amplificado *esta2¹* em cutícula, glândulas salivares, intestino e túbulos de Malpighian de *C. quinquefasciatus* (Hemingway, 2000), o que seguramente abre novas perspectivas para estudo com borrachudos.

A estabilidade da resistência ao Temephos observada em algumas populações *S. (C.) pertinax* como a de Ilhabela, já foi também registrada em *S. (E.) damnosum* s.l. (Curtis et al., 1993; Kurtak et al., 1987c). Isto só pode ser explicado pelo uso contínuo do produto por anos, mesmo depois que a resistência tenha alcançado altos níveis (Curtis et al., 1993). De outra parte, o rápido desenvolvimento e espalhamento da resistência a organofosforados descrito para algumas populações de simulídeos da África (Davies, 1994; Guillet et al., 1980; Kurtak, 1986) e a “falha no controle” depois de poucos meses de aplicação de Temephos no Estado do Paraná (E. L. G. Guimarães, comunicação pessoal, 1986) poderia ser explicado por um caráter monogênico, pois sabe-se que este se fixa e espalha muito mais rapidamente (Hemingway, 1992; Roush & McKenzie, 1987). Ainda, a predisposição dessas populações devido a influência de inseticidas químicos de uso agrícola e pecuário parece ser bastante lógica, e pode ter acontecido nas populações de Morungaba, Nova Petrópolis, Rolândia e Tibaji. Baseando-se nas questões acima, pode-se sugerir que uma resistência monogênica tenha se desenvolvido em *S. (C.) pertinax* em algumas regiões do Brasil.

O histórico de muitos anos de pressão de seleção direta nas populações de simulídeos de Ilhabela, e indireta nas populações de Morungaba, Rolândia e Tibaji, permite sugerir também o desenvolvimento de mais de um fator associado à resistência (poligênica), em seqüência ou simultânea ao provável desenvolvimento monogênico, que teria ocorrido nos primeiros anos ou mesmo nos primeiros meses. Sabe-se que dentro de uma distribuição fenotípica, é possível encontrar-se indivíduos moderadamente ou muito resistentes, sendo ambos selecionados. Dessa forma, a resistência baseada em caracteres monogênicos e poligênicos pode surgir de uma seleção fraca (Groeters,

1995) o que pode ter acontecido no Rio Grande do Sul (Ruas Neto, 1984) por ocasião de problemas no cálculo da vazão e/ou de tratamentos em baixas temperaturas.

Na expressão da resistência podem estar envolvidos um ou dois genes principais e alguns genes secundários de incidência menor, às vezes de pouco significado (Roush & Daly, 1990). Isso implicaria em vários fatores de resistência distribuídos no genoma (em pequenas bandas e/ou interbandas), sem expressão aparente e podendo não apresentar diferenças cromossômicas evidentes. Dessa forma, pode-se explicar em parte a homossequencialidade cromossômica encontrada entre as populações susceptíveis e resistentes de *S. pertinax* (Campos et al., 2001). Outros estudos populacionais e evidências bioquímicas e moleculares poderiam confirmar tal hipótese.

Em *Lucilia cuprina* foi verificado que os mecanismos genéticos da resistência aos inseticidas químicos são poligênicos e/ou monogênicos, dependendo do tipo de seleção que aconteceu na população, podendo acarretar diferentes respostas bioquímicas (McKenzie & Batterham, 1994). Mesmo que em um caso particular o mecanismo esteja determinado por um gene principal dominante, pode-se apresentar plasticidade na resposta, ou seja, pode variar de quase completamente dominante a quase recessiva, dependendo de parâmetros ambientais (Bourguet et al., 1996). A variabilidade das populações (dentro e entre) somada à variabilidade do ambiente, podem incidir nos mecanismos e nas respostas da pressão de seleção, a um ou a vários inseticidas que estejam atingindo a população de forma direta ou indireta. Nas populações de insetos acontece com freqüência uma grande variação para a tolerância aos inseticidas (Tabashnik, 1995). Ambientes espacial ou temporalmente heterogêneos levam à variabilidade fenotípica (plasticidade) e a adaptação a diferentes microambientes (Zhivotovsky et al., 1996). A resistência, além de ter diversos mecanismos, pode ser também de vários tipos e com diferentes graus de resposta, envolvendo não só o número de cópias do gene, mas também o controle da sua expressão (Field et al., 1996a, 1996b) e a interação do genótipo com o ambiente. Assim, o desenvolvimento potencial de resistência em borrachudos sob controle, pode implicar maior complexidade que a simples resposta dominante ou recessiva, que está associada a um ou poucos genes de efeitos maiores e a outros secundários de efeitos menores.

Considerando-se que as populações (R) de *S. (C.) pertinax* estudadas no presente trabalho

têm sido submetidas a diferentes processos de pressão de seleção (diretos e indiretos), e que há evidências para o pressuposto de fluxo gênico com populações vizinhas (Andrade, 1989a; Andrade & Castello-Branco Jr., 1990, 1991), é possível que a resistência ao *Temephos* possa ter envolvido mais de um fator genético e assim apresente respostas diversas. Essa idéia estaria em concordância com o encontrado para *S. (E.) damnosum* na África, de que a resistência provavelmente surgiu por vias diferentes, com seu tipo metabólico dependendo do sistema enzimático envolvido (Procurier, 1989). Assim, o processo bioquímico na resistência de duas populações pode ser o mesmo (e.g. esterases), mas a adaptação biológica para cada população pode ser diferente, quando diferentes tipos de pressão (direta e/ou indireta, constante ou esporádica) acontecem. Se o mesmo gene ou genes são selecionados, podem ainda assim apresentar expressão variável entre as populações. Processos de seleção e adaptação têm relação com a estrutura geográfica das populações, como a estrutura demográfica e a estrutura genética (Roderick, 1996). Linhagens de artrópodes resistentes, estudados em laboratório, freqüentemente apresentam desvantagens no tempo de desenvolvimento, fecundidade e fertilidade.

Considerando que a reversão da resistência ao *Temephos* foi registrada para simulídeos na África (Curtis et al., 1993; Kurtak, 1986; Molyneux, 1995) e que também ocorria no programa feito pela Superintendência dos Recursos Hídricos e Meio Ambiente (SUREHMA) com a interrupção dos tratamentos por poucos meses (E. L. G. Guimarães, comunicação pessoal, 1986), isso pode significar que o fator ou fatores gênicos e/ou bioquímicos implicados na resistência voltariam a sua condição inicial (de susceptibilidade). Essa reversão de resistência costuma acontecer pela imigração de susceptíveis, diluindo nos cruzamentos os genes da resistência e pela seleção contra os indivíduos resistentes na ausência do inseticida. Ainda, a reversão pode ocorrer por mudanças nos genes reguladores dos genes resistentes, por mudanças transcricionais ou pela combinações desses fatores.

No campo, a freqüência de indivíduos resistentes usualmente cai quando se suprime o uso do inseticida. Existe uma tendência em se explicar esse fato pela resistência estar associada a desvantagens significativas na adaptação biológica, mas ao que parece, esta explicação serve apenas a mecanismos particulares de resistência. Em certos casos a resistência é revertida principalmente devido à diluição pela imi-

gração de indivíduos susceptíveis, e não tanto pelas desvantagens na adaptação biológica (Roush & Daly, 1990; Roush & McKenzie, 1987). Além disso, sucessão genética e circunvenção, embora pouco estudadas, não deixam de ser importantes processos e merecem ser melhor analisados (Taylor & Feyereisen, 1996). Atualmente, resta ainda ser elucidado qual é o mais comum (e/ou qual o mais importante) mecanismo reversor da resistência entre insetos, e particularmente entre simulídeos: imigração ou resistência não adaptativa na ausência do inseticida? A resposta deverá ser complexa, dependendo de cada caso, que deverá ser avaliado cuidadosamente em estudos populacionais. Ao menos para *Simulium* e *Drosophila* foi mencionado que a resistência parece persistir na ausência de pressão de seleção (Ffrench-Constant et al., 2000; Meredith et al., 1986).

Os bioensaios realizados ratificaram e revelaram resistência para quatro das populações estudadas: uma submetida a controle direto no passado (Ilhabela) e três com pressão de seleção indireta (Morungaba, além de Rolândia e Tibaji). É provável que a susceptibilidade na população de Barra do Una tenha sido produto da reversão da resistência, depois de ter diminuído a pressão de seleção, com a suspensão ou revezamento no controle químico (Flavio Andrade, comunicação pessoal, 1996). Isso teria permitido que indivíduos susceptíveis e com uma adaptação biológica maior, voltassem a ser mais freqüentes do que os resistentes. Em mosquitos por exemplo, tem sido observado que três genes de resistência, dois para alta produção de esterases e um para acetilcolinesterase insensitiva, apresentam-se em altas freqüências só onde inseticidas organofosforados são usados para controle, sugerindo que eles têm maior adaptação biológica nos ambientes em que os tais inseticidas estão presentes (Pasteur & Raymond, 1996). Mesmo que a migração possa ter exercido um papel importante na dispersão da resistência na área de distribuição de *S. (C.) pertinax*, algumas populações parecem ter ficado isoladas em refúgios, como em Muriqui, distante mais de 50km de uma área de controle em Angra dos Reis, Rio de Janeiro, e a mais de 100km das áreas tratadas no Estado de São Paulo.

Não se conhece ainda a base genética da resistência ao *Temephos* para *S. (C.) pertinax*, mas de qualquer forma, é importante ainda registrar a resistência em outras espécies não alvo, que nos nossos estudos ocorreram sintópicas a essa espécie praga. Assim, registramos em Morungaba, resistência para *S. (Hemicnetha) brachycladum*, *S. (H.) rubrithorax* e *S. (C.) sub-*

pallidum, em 1995; em Rolândia, para *S. (H.) rubrithorax* e finalmente em Tibaji, para *S. (C.) serranum*, *S. (Inaequalium) subnigrum* e *S. (Thyrsopelma) sp.*, em 1996. Andrade (1989a) também encontrou resistência ao Temephos para outras espécies: *S. (Ectemnaspis) perflavum* e *S. (Chirostilbia) sp.*, em Campinas, São Paulo; *S. (Inaequalium) sp.* e *S. (Psaroniocompssa) sp.*, em Guarujá, São Paulo; *S. (C.) distinctum*, em Ilhabela e *S. (Grenieriella) pruinosum*, em Morungaba. Em Campinas, testes de "microplate" para *S. (Chirostilbia) sp.* feitos pelo segundo autor e pela Dra. Janet Hemingway em 1993, mostraram alto nível de esterases.

De fato, o desenvolvimento de resistência ao Temephos em diferentes espécies, implicando inclusive diversos subgêneros e tendo acontecido em pelo menos três estados (Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo), não poderia ser explicado por um efeito mutagênico tipo amplificação; pois é pouco provável que acontecesse o mesmo processo várias vezes. Da mesma forma, seria pouco provável que a resistência tivesse se desenvolvido em uma espécie e se espalhado às outras por mobilização de elementos transponíveis. Um arranjo induzido em um passo só por um elemento transponível, provavelmente não sobrevive devido a seus efeitos deletérios (Bedo, 1989). A análise de mutações em genes resistentes sugere que elas são comuns e possivelmente eventos únicos, portanto, a difusão dos genes resistentes provavelmente é mesmo governada por seleção e migração (Pasteur & Raymond, 1996). Assim, para

Simulium, é mais sensato pensar que a explicação está nos processos de seleção para genes resistentes e/ou tolerantes, e que a seleção por meio dos inseticidas (Temephos ou aqueles de uso agropecuário) favoreceu a adaptação desses genes. Não seria difícil, pois a maioria dos modelos quantitativos de evolução da resistência, assumem que a frequência inicial de um alelo de resistência é suficientemente alta ($> 10^{-5}$) para que a resistência já esteja presente em populações locais de artrópodes antes do início da seleção pelo produto (Rosenheim, et al., 1996; Tabashnik, 1990).

Na América do Sul, a resistência de simúlideos da Argentina ao DDT e piretróides foi estudada por Montagna et al. (1999), que puderam sugerir um mecanismo do tipo insensibilidade pelo gene *kdr* (knowdown). Nossos estudos quanto ao Temephos no Brasil, permitem por outro lado indicar um mecanismo relacionado ao aumento do nível de esterases (detoxificação). Essas indicações devem acarretar em importantes considerações quando se estabelecem programas de controle ou manejo, caso a opção não seja a de se usar apenas Bti. Afora esse aspecto prático, essas populações de simúlideos representam um excelente material de estudo para se testar e avaliar hipóteses de seleção e evolução da resistência a xenobióticos. Por exemplo, estariam os inseticidas e carapaticidas usados nos rebanhos, selecionando adultos de borrachudos e comprometendo o uso de larvicidas?

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Dr. Sixto Coscarón pela identificação ou confirmação do material biológico. Este trabalho contou com o suporte econômico da Fundação M. Brown, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico & Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

Referências

- ANDRADE, C. F. S., 1989a. *Ecologia da Supressão de Populações de Culicídeos e Simuliídeos*. Dissertação de Doutorado, Campinas: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- ANDRADE, C. F. S., 1989b. Manejo integrado de borrachudos. In: XI Congresso Brasileiro de Entomologia, *Anais*, pp. 141-157. Campinas: Fundação Cargill.
- ANDRADE, C. F. S. & CAMPOS, J., 1995. Efetividade de Bactivec, a base de *Bacillus thuringiensis* H-14 no controle de *Simulium pertinax* (Diptera, Simuliidae). *Revista de Patologia Tropical*, 24:275-281.
- ANDRADE, C. F. S. & CASTELLO-BRANCO Jr., A., 1990. Methods for field detection of resistance to temephos in simuliids. Larvae esterase level and topical application of the insecticide to adults. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 85:291-297.
- ANDRADE, C. F. S. & CASTELLO-BRANCO Jr., A., 1991. Susceptibilidade de populações de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* Kollar, 1832 (Culicomorpha, Simuliidae) ao temephos e a um formulado à base de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Revista de Saúde Pública*, 25:29-32.
- ARAÚJO-COUTINHO, C. J. P. C., 1995. Biological control program against simuliids in the state of São Paulo, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90:131-133.
- BACK, C.; LANOUTTE, J. G. & AUBIN, A., 1979. Preliminary tests on the use of temephos for the control of the black flies (Diptera: Simuliidae) in northern Quebec. *Mosquito News*, 39:762-767.
- BEALL, C.; FYRBERG, C.; SONG, S. & FYRBERG, E., 1992. Isolation of a *Drosophila* gene encoding glutathione S-transferase. *Biochemical Genetics*, 30:515-527.
- BEDO, D. G., 1989. A cytological study of *Simulium ruficorne* (Diptera: Simuliidae) and its relationship to the *S. ornaticipes* species complex. *Genome*, 32:570-579.
- BOAKEY, D. A.; CORNEL, A. J.; MEREDITH, S. E.; BRAKEFIELD, P. M. & COLLINS, F. H., 2000. DNA in situ hybridization on polytene chromosomes of *Simulium sanctipauli* at loci relevant to insecticide resistance. *Medical and Veterinary Entomology*, 14:217-222.
- BOURGUET, D.; PROUT, M. & RAYMOND, M., 1996. Dominance of insecticide resistance presents a plastic response. *Genetics*, 143:407-416.
- CAMPOS, J. & ANDRADE, C. F. S., 2001. Considerações sobre os simuliídeos (Diptera, Nematocera) e o seu controle. *Entomologia y Vectores*, 8:27-50.
- CAMPOS, J.; ANDRADE, C. F. S. & RECCO-PIMENTEL, S. M., 2001. Chromosomal comparison among and within populations of *Simulium (Chirostilbia) pertinax* (Diptera, Simuliidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96:365-369.
- COSCARON, S., 1981. *Fauna de Agua Dulce de la República Argentina (Insecta Diptera)*. Fascículo 1. Buenos Aires: Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura.
- COSCARON, S., 1987. *El Género Simulium Latrielle en la Región Neotropical: Análisis de los Grupos Supraespecíficos, Especies que los Integran y Distribución Geográfica (Simuliidae, Diptera)*. Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi.
- COSCARON, S., 1989. Los Estudios Ecológicos en Simuliídeos Neotropicales (Diptera: Insecta). In: XI Congresso Brasileiro de Entomologia, *Anais*, pp. 69-98. Campinas: Fundação Cargill.
- COSCARON, S., 1991. *Fauna de Agua Dulce de la República Argentina*. Fascículo 2. Buenos Aires: Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura.
- CROSSKEY, R. W., 1990. *The Natural History of Blackflies*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
- CURTIS, C. F.; HILL, N. & KASIM, S. H., 1993. Are there effective resistance management strategies for vectors of human disease? *Biological Journal of the Linnean Society*, 48:3-18.
- CYANAMID, 1980. *Abate Larvicida*. Princeton: Cyanamid Agricultural Research Division, American Cyanamid Co.
- D'ANDRETTA Jr., C. & D'ANDRETTA, M. A. V., 1950. Espécies neotropicales da família Simuliidae Schiner (Diptera Nematocera) VI - Redescricao de *Simulium pertinax* Kollar, 1832. *Papéis Avulsos do Departamento Zoologia*, 9:193-213.
- D'ANDRETTA Jr., C.; LEAL, H.; SOUZA-DIAS, L. C. & HERNANDES, R. J., 1969. Relatório inicial sobre o combate aos simuliídeos no município de Joinville, SC. *Revista Paulista de Medicina*, 74:332.
- DAVIES, J. B., 1994. Sixty years of onchocerciasis vector control: A chronological summary with comments on eradication, reinvasion, and insecticide resistance. *Annual Review of Entomology*, 39:23-45.
- DEVONSHIRE, A. L. & FIELD, L. M., 1991. Gene duplication and insecticide resistance. *Annual Review of Entomology*, 36:1-23.
- FFRENCH-CONSTANT, R. H.; ANTHONY, N.; ARONSTEIN, K.; ROCHELEAU, T. & STILWELL, G., 2000. Cyclodiene insecticide resistance: From molecular to populations genetics. *Annual Review of Entomology*, 48:449-466.
- FIELD, L. M.; CRICK, S. E. & DEVONSHIRE, A. L., 1996a. Polymerase chain reaction-based identification of insecticide resistance genes and DNA methylation in the aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Insect Molecular Biology*, 5:197-202.
- FIELD, L. M.; DEVONSHIRE, A. L. & TYLER-SMITH, C., 1996b. Analysis of amplicons containing the esterase genes responsible for insecticide resistance in the peach-potato aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochemical Journal*, 313:543-547.
- GROETERS, F. R., 1995. Insecticide resistance. *Trends in Ecology & Evolution*, 10:164.
- GUILLET, P.; ESCAFFRE, M.; OUÉDRAOGO, M. & QUILLÉVÉRÉ, D., 1980. Mise en évidence d'une résistance au témephos dans le complexe *Simulium damnosum* (*S. sanctipauli* et *S. soubrense*) en Côte d'Ivoire (Zone du programme de lutte contre l'onchocercose dans la région du bassin de la Volta). *Cahiers ORSTOM, Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 18:291-299.
- HEMINGWAY, J., 1992. Genetics of insecticide resistance in mosquito vectors of disease. *Parasitology Today*, 8:296-298.
- HEMINGWAY, J., 2000. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30:1009-1015.

- HEMINGWAY, J. & CALLAGHAN, A., 1989. Temephos resistance in *Simulium damnosum* Theobald (Diptera: Simuliidae): A comparative study between larvae and adults of the forest and savana strains of this species complex. *Bulletin of Entomological Research*, 79:659-669.
- HEMINGWAY, J.; CALLAGHAN, A. & KURTAK, D. C., 1991. Biochemical characterization of chlorphoxim resistance in adults and larvae of the *Simulium damnosum* complex (Diptera: Simuliidae). *Bulletin of Entomological Research*, 81:401-406.
- HEYSE, D.; CATALAN, J.; NANCE, E.; BRITTON-DAVIDIAN, J. & PASTEUR, N., 1996. Unconventional organization of amplified esterase B gene in insecticide-resistant mosquitoes of the *Culex pipiens* complex. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 12:199-205.
- HOUQUARD, J. M.; ESCAFFRE, H.; DARRIET, F.; LOCHOUARN, L.; RIVIERE, F. & BACK, C., 1992. An episode of resistance to permethrin in larvae of *Simulium squamosum* (Diptera: Simuliidae) from Cameroon, after 3 1/2 years of control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 8:184-186.
- JAMNBACK, H., 1973. Recent developments in control of blackflies. *Annual Review of Entomology*, 18:281-304.
- KAISER, P. E.; SEAWRIGHT, J. A. & JOSLYN, D. J., 1979. Cytology of genetic sexing in *Anopheles albimanus*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 21:201-211.
- KURTAK, D. C., 1986. Insecticide resistance in the Onchocerciasis Control Programme. *Parasitology Today*, 2:20-21.
- KURTAK, D. C.; OUEDRAOGO, M.; OCRAN, M.; TELE, B. & GUILLET, P., 1982. *Preliminary Note on the Appearance in Ivory Coast of Resistance to Chlorphoxim in the Simulium soubrense/sanctipauli Larvae Already Resistant to Temephos (Abate)*. Geneva: World Health Organization.
- KURTAK, D. C.; GRUNEWALD, J. & BALDRY, D. A. T., 1987a. Control of black fly vectors of onchocerciasis in Africa. In: *Black Flies: Ecology, Population Management, and Annotated World List* (K. C. Kim & R. Merritt, ed.), pp. 341-362, University Park: The Pennsylvania State University Press.
- KURTAK, D.; JAMNBACK, H.; MYER, R.; OCRAN, M. & RENAUD, P., 1987b. Evaluation of larvicides for the control of *Simulium damnosum* (Diptera, Simuliidae) in West Africa. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 3:201-210.
- KURTAK, D.; MEYER, R.; OCHRAN, M.; OUEDRAOGO, M.; RENAUD, P.; SAWADOGO, R. O. & TELE, B., 1987c. Management of insecticide resistance in the control of *Simulium damnosum* complex by the Onchocerciasis Control Programme, West Africa: Potential use of negative correlation between organophosphate resistance and pyrethroid susceptibility. *Medical and Veterinary Entomology*, 1:137-146.
- LIES, J. D., 1988. Do agricultural insecticides select for insecticide resistance in mosquitoes? A look at the evidence. *Parasitology Today*, 4:S17-S20.
- MAGNIN, M.; KURTAK, D. & PASTEUR, N., 1987. Caractérisation des estérases chez des larves du complexe *Simulium damnosum* résistantes aux insecticides organophosphorés. *Cahiers ORSTOM, Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 25: 57-62.
- MARDINI, L. B. L. F.; TORRES, M. A. N.; SILVEIRA, G. L. & ATZ, A. M. V., 2000. *Simulium* spp. control program in Rio Grande do Sul, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95(Sup. 1):211-214.
- McKENZIE, J. A. & BATTERHAM, P., 1994. The genetic, molecular and phenotypic consequences of selection for insecticide resistance. *Trends in Ecology & Evolution*, 9:166-169.
- MEREDITH, S. E. O.; KURTAK, D. & ADIAMAH, J. H., 1986. Following movements of resistance populations of *Simulium soubrense/sanctipauli* (Diptera: Simuliidae) by means of chromosome inversions. *Tropical Medicine and Parasitology*, 37:290-294.
- MOLYNEUX, D. H., 1995. Onchocerciasis control in West Africa: Current status and future of the Onchocerciasis Control Programme. *Parasitology Today*, 11:399-402.
- MONTAGNA, C. M.; ANGUIANO, O. P.; GAUNA, L. E. & PECHEN-DE D'ANGELO, A. M., 1999. Resistance to pyrethroids and DDT in a field-mixed population of Argentinean black flies (Diptera: Simuliidae). *Journal of Economic Entomology*, 92:1243-1245.
- MOUCHÈS, C.; MAGNIN, M.; BERGE, J. B.; DE SILVESTRI, M.; BEYSSAT, V.; PASTEUR, N. & GEOURGHIOU, G. P., 1987. Overproduction of detoxifying esterases in organophosphate-resistant *Culex* mosquitoes and their presence in other insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 84:2113-2116.
- OSEI-ATWENEBOANA, M. Y.; WILSON, M. D.; POST, R. J. & BOAKYE, D. A., 2001. Temephos-resistant larvae of *Simulium sanctipauli* associated with a distinctive new chromosome inversion in untreated rivers of south-western Ghana. *Medical and Veterinary Entomology*, 15:113-116.
- PALMER, R. W.; EDWARDES, M. & NEVILL, E. M., 1996. Downstream carry of larvicides used in the control of pest black flies (Diptera: Simuliidae) in the Orange river, South Africa. *Journal of Vector Ecology*, 21:37-47.
- PARKER, P. J. A. N. & CALLAGHAN, A., 1997. Esterase activity and allele frequency in field populations of *Simulium equinum* (L) (Diptera: Simuliidae) exposed to organophosphate pollution. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16:2550-2555.
- PASTEUR, N. & RAYMOND, M., 1996. Insecticide resistance genes in mosquitoes: Their mutations, migration, and selection in field populations. *Journal of Heredity*, 87:444-449.
- POST, R. J. & KURTAK, D., 1987. Identity of the OP-insecticide resistant species in the *Simulium sanctipauli* subcomplex. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, 67:71-73.
- PROCUNIER, W. S., 1989. Cytological approaches to simuliid biosystematics in relation to the epidemiology and control of human onchocerciasis. *Genome*, 32:559-569.
- REGIS, L.; SILVA, S. B. & MELO-SANTOS, M. A. V., 2000. The use of bacterial larvicides in mosquito and black fly control programmes in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95(Sup. 1):207-210.

- RINGO, J.; JONA, G.; ROCKWELL, R.; SEGAL, D. & COHEN, E., 1995. Genetic variation for resistance to chlorpyrifos in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) infesting grapes in Israel. *Journal of Economic Entomology*, 88:1158-1163.
- RODERICK, G. K., 1996. Geographic structure of insect populations: Gene flow, phylogeography, and their uses. *Annual Review of Entomology*, 41:325-352.
- RODRIGUES, C. S. & KAUSHIK, N. K., 1984. The effect of the temperature on the toxicity of Temephos to black fly (Diptera: Simuliidae) larvae. *Canadian Entomology*, 116:451-455.
- ROSENHEIM, J. A.; JOHNSON, M. W.; MAU, R. F. L.; WELTER, S. C. & TABASHNIK, B. E., 1996. Biochemical preadaptations, founder events, and the evolution resistance in arthropods. *Journal of Economic Entomology*, 89:263-273.
- ROUSH, R. T. & DALY, J. C., 1990. The role of population genetics in resistance research and management. In: *Pesticide Resistance in Arthropods* (R. T. Roush & B. E. Tabashnik, ed.), pp. 97-152, New York: Chapman & Hall.
- ROUSH, R. T. & MCKENZIE, J. A., 1987. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annual Review of Entomology*, 32:361-380.
- RUAS NETO, A. L., 1984. Avaliação do uso de temephos para o controle de simuliídeos, no Rio Grande do Sul. *Boletim de Saúde*, 11:27-31.
- RUAS NETO, A. L.; PACHECO, E. & TORRES, M. A., 1984. Projeto de controle de simuliídeos, plano de pesquisa e dados coligidos. *Boletim de Saúde*, 11:17-20.
- SHIDRAWI, G. R., 1992. Programa mundial de la OMS para la vigilancia de vectores resistentes a los plaguicidas. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 113:223-232.
- SOUZA, M. A. T., 1984. Atendimento médico por picadas de simuliídeos. *Boletim de Saúde*, 11:8-11.
- STRIEDER, M. S. & CORSEUIL, E., 1992. Atividades de hematofagia em Simuliidae (Diptera, Nematocera) na Picada Verão, Sapiranga, RS - Brasil. *Acta Biológica Leopoldensia*, 14:75-98.
- TABASHNIK, B. E., 1990. Modeling and evaluation of resistance management tactics. In: *Pesticide Resistance in Arthropods* (R. T. Roush & B. E. Tabashnik, ed.), pp. 153-182, New York: Chapman & Hall.
- TABASHNIK, B. E., 1995. Insecticide resistance. *Trends in Ecology & Evolution*, 10:164-165.
- TAYLOR, M. & FEYEREISEN, R., 1996. Molecular biology and evolution of resistance to toxicants. *Molecular Biology and Evolution*, 13:719-734.
- TOMITA, T.; KONO, Y. & SHIMADA, T., 1996. Chromosomal localization of amplified esterase genes in insecticide resistance *Culex* mosquitoes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 26:853-857.
- ZAMBETAKI, A.; PASTEUR, N. & MAVRAGANI-TSIPIDOU, P., 1998. Cytogenetic analysis of the Malpighian tubule polytene chromosomes of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Genome*, 41:751-755.
- ZHIVOTOVSKY, L. A.; FELDMAN, M. W. & BERGMAN, A., 1996. On the evolution of phenotypic plasticity in a spatially heterogeneous environment. *Evolution*, 50:547-558.

Recebido em 26 de dezembro de 2000

Versão final rerepresentada em 27 de agosto de 2001

Aprovado em 13 de novembro de 2001