

CONTROLE QUÍMICO

Suscetibilidade de Larvas de Simulídeos ao Larvicida Temephos em Caarapó, MS

TATIANE Z. TEIXEIRA¹, EDUARDO J. DE ARRUDA¹, CARLOS F. S. ANDRADE², BRUNO A. CRISPIM¹, MAGDA F. FERNANDES¹, EMERSON P. DA SILVA¹, ANDRÉ K. S. NAKAMURA¹

¹UFGD- Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais. Email: tati.zarattini@gmail.com; ²UNICAMP- Universidade Estadual de Campinas.

BioAssay 9:1 (2014)

Susceptibility of blackfly larvae to the larvicide Temephos in Caarapó, MS

ABSTRACT - Blackfly control in Brazil is necessary to avoid nuisance to rural or urban communities and economic losses in agricultural or tourist activity areas. The susceptibility of *Simulium* spp. larvae was performed to the organophosphate temephos (Abate 500 CE) at the Caarapó stream, in the city of Caarapó in the state of Mato Grosso do Sul. The resistance to the larvicide was indicated by the rapid biochemical test of esterase activity carried out with extracts of larvae, and confirmed by the results of the field bioassay with larvae in troughs in the stream bed. For the field bioassay final stage larvae were exposed to a Temephos Operational Concentration of 0.5 ppm ai/10 minutes and a Diagnostic Concentration of 2.5 ppm ai/10 minutes and low mean mortality was obtained (5.7% and 44.6 % respectively), confirming the resistance and indicating the need for using other products for blackfly control in this area.

KEY WORDS - Resistance, Temephos, blackfly, vector control.

RESUMO - O controle de simulídeos no Brasil é necessário para se evitar incômodos às comunidades rurais ou urbanas e prejuízos econômicos em áreas de atividade agropecuária ou turísticas. Foi realizada a avaliação da suscetibilidade ao organofosforado temephos (Abate 500 CE) de larvas de *Simulium* spp. do córrego Caarapó, na cidade de Caarapó no estado de Mato Grosso do Sul. A resistência ao larvicida foi indicada a partir de teste bioquímico rápido da atividade de esterases em extratos de larvas, e confirmada pelos resultados do bioensaio de campo com larvas em calhas no leito do córrego. No bioensaio em campo larvas de último estágio foram expostas à uma Concentração Operacional de 0,5 ppm i.a./10 minutos e à uma Concentração Diagnóstica de 2,5 ppm i.a. de Temephos e obteve-se baixas mortalidades médias (5,7% e 44,6% respectivamente), confirmando a resistência e indicando a necessidade do uso de outros produtos de controle para simulídeos nessa área.

PALAVRAS-CHAVE - Resistência, Temephos, simulídeos, controle de vetores.

Algumas espécies hematófagas de simulídeos geram incômodo e prejuízos econômicos em determinadas regiões devido a intensidade e consequência das picadas, uma vez que interferem na qualidade de vida das pessoas ou bem estar dos animais, produzindo desconforto, estresse, e eventualmente vetorizando doenças. Dentre as espécies de borrachudos descritas no Brasil a que mais causa desconforto ao homem é *Simulium (Chirostilbia) pertinax* Kollar, 1832 encontrada nas regiões Sul e Sudeste, causando problemas do Rio Grande

do Sul ao litoral de São Paulo e Rio de Janeiro (Simom 2000, Campos & Andrade 2002, Strieder *et al.* 2006).

Os prejuízos e danos econômicos dos simulídeos estão relacionados à atividade irritante de sua saliva e a forma de alimentação das fêmeas adultas, que são hematófagas do tipo telmofágicas. Em mamíferos ou aves produzem com suas picadas pequenas lesões na pele, alimentando-se do sangue nas pequenas poças que se formam. As populações humanas e as atividades econômicas localizadas próximas a rios e

riachos, como agricultura, pecuária e turismo costumam ser prejudicadas caso a intensidade de ataque seja alta por parte dos simulídeos (Petry *et al.* 2004, Strieder *et al.* 2006, Beer & Green 2012).

As espécies de simulídeos, tanto as veiculadoras de doenças quanto aquelas incômodas às populações devido à intensidade do ataque, constituem-se um desafio para área de Saúde Pública no que diz respeito ao seu controle (Andrade & Castello Branco 1991). As picadas deste inseto ocasionam intensa coceira com a duração de vários dias e podem progredir em infecções secundárias. Em pessoas sensíveis resultam em reações alérgicas, inflamações, irritação local, dermatites e febres, podendo afetar severamente a saúde (Petry *et al.* 2006, Pereira *et al.* 2012).

Desde a década de 80 o uso contínuo e por vezes indiscriminado do larvicida organofosforado Temephos selecionou a resistência em populações de simulídeos que precisam ser controladas no Brasil (Ruas Neto 1984, Andrade & Castello Branco 1991). A seleção de populações resistentes de borrachudos a esse inseticida passou a exigir a aplicação em concentrações de controle cada vez maiores com resultados questionáveis, onerando o orçamento público, uma vez que envolvia na maioria das vezes programas estaduais ou municipais, como no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e em São Paulo. O Temephos tem sido substituído por larvicidas biológicos à base de *Bacillus thuringiensis israelensis*, mas para se considerar ainda seu uso em programas locais ou governamentais é fundamental verificar a susceptibilidade das populações alvo a este larvicida (Campos & Andrade 2002).

A resistência aos inseticidas é influenciada por vários fatores nas populações de campo, sendo os principais a pressão de seleção, uso de concentrações de forma descontrolada, a falta da rotação do produto químico com outros ingredientes ativos e a frequência da aplicação do inseticida (Braga & Valle 2007). A alta taxa de reprodução e a baixa mobilidade das espécies, somado a fatores climáticos contribuem para evolução da resistência (Montagna *et al.* 2012). Neste cenário, testes e bioensaios de susceptibilidade em campo são fundamentais para nortear programas de manejo integrado na escolha de produtos e estabelecimento de rotinas de aplicação. Aliados às práticas em Educação em Saúde Ambiental, que proporcionam o acesso à informação sobre biologia e formas de controle destes insetos, avaliações de susceptibilidade devem compor bons programas que levem à redução dos simulídeos a níveis aceitáveis (Habib 1989, Campos & Andrade 2002).

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a suscetibilidade de simulídeos ao larvicida químico Temephos (Fersol 500 CE) em área de intenso ataque a humanos, próximas aos córregos Glória e Caarapó no município de Caarapó, Estado do Mato Grosso do Sul.

Material e Métodos

Área de delimitação do estudo. De acordo com os dados do IBGE (2012) o município de Caarapó é o 15º mais populoso do estado do Mato Grosso do Sul com aproximadamente

27.000 habitantes. As atividades econômicas são basicamente a agropecuária, o comércio e a indústria. O município apresenta fragmentos de biomas de Cerrado e Mata Atlântica sendo permeado por diversos córregos urbanos e periurbanos. Apesar dos relatos de ataques de borrachudos serem constantes no município, não há registro de ações de controle preventivo ou corretivo, manejo ou tratamentos para a redução populacional de borrachudos ou para a redução dos ataques às pessoas. O estudo foi realizado nos bairros Campo Dourado, Capitão Vigário, Jardim Aprazível, Santa Maria, Vila Planalto, São Jorge e Vila Setenta, onde ocorrem relatos de incômodo por borrachudos e estão localizados próximos aos córregos que são possíveis criadouros de simulídeos.

Identificação dos Simulídeos imaturos e adultos coletados. Foram realizadas coletas de larvas, pupas e adultos de simulídeos nos córregos Caarapó, Glória e no afluente do Córrego Glória para identificação das espécies. As larvas, pupas e insetos adultos foram acondicionados em álcool 70%. Adultos foram coletados nas margens do córrego Glória com uso de aspiradores durante o ato de hematofagia. O material foi identificado pelo Dr. Mateus Pepinelli (UFSCAR) e por Nayara Karla Zampiva (UFGD).

Teste bioquímico para atividade de esterases. Foi investigada a atividade de enzimas esterases através de teste bioquímico, cuja alteração é um dos possíveis mecanismos de resistência a organofosforados, em uma amostra de população larval de simulídeos do Córrego Caarapó segundo a metodologia de Pasteur & Georghiou (1981) modificada por Andrade & Castello Branco Jr (1990). Utilizou-se o extrato líquido de cerca de 100 larvas de último estágio (histoblastos desenvolvidos), formando um volume de aproximadamente 0,2mL. As larvas foram esmagadas contra uma pequena peneira metálica de malha fina e o extrato obtido foi diluído em 0,5mL de água destilada. Com auxílio de tubo microcapilar foram formadas gotas da suspensão em papel filtro Whatman nº2. Em seguida, o papel foi submerso por 90 segundos em solução de 10 mL de Alfa-naftil-acetato em 100 mL de tampão fosfato pH 6,5 (solução A). A seguir o papel filtro foi pressionado entre folhas de papel sulfite para retirada do excesso de líquido e transferido para uma solução de 0,3g do corante Fast-Garnett GBC salt em 100 mL de água (solução B) por 60 segundos. A reação de coloração foi então fixada tratando-se o papel filtro em solução de ácido acético a 1% por 15 segundos (solução C) e colocados para secar para a análise visual. Para essa reação enzimática, manchas claras indicam atividade normal das esterases evidenciando uma suscetibilidade das larvas, e manchas escuras indicam alta atividade das esterases, sugerindo resistência aos inseticidas organofosforados. O teste bioquímico foi realizado em abril de 2012 com extrato de larvas obtidas do córrego Caarapó (Localização S 22°35'35,27" / W 54°49'03,54").

Bioensaio de suscetibilidade ao Temephos. A avaliação da atividade larvicida em campo foi realizada em outro trecho do mesmo córrego Caarapó (Localização S 22°37'41,6" / W 54°50'44,7") em agosto de 2012 com a água do córrego à temperatura de 20°C.

Para o bioensaio utilizou-se a metodologia de calhas (rampas) “*in situ*” conforme descrita por Andrade & Castello-Branco Jr. (1991) utilizando-se para isso uma telha ondulada com dimensões 1,22 m x 0,52 m arranjada no leito do córrego de forma a permitir água corrente nas seis calhas. Foram utilizadas três calhas como testemunha e três para a aplicação do larvicida, com uma quantidade entre 100 e 140 larvas cada calha. Na primeira avaliação foi aplicada uma Concentração Operacional alta de 0,5 ppm i.a./10 min e na segunda avaliação, uma Concentração Diagnóstica de 2,5 ppm i.a./10 min (Campos & Andrade, 2002). Com auxílio de um cronômetro e um balde graduado foi calculada a vazão na saída de cada calha. As larvas coletadas nos substratos do leito do córrego foram transferidas manualmente para as calhas, recoberta previamente por um tecido de algodão

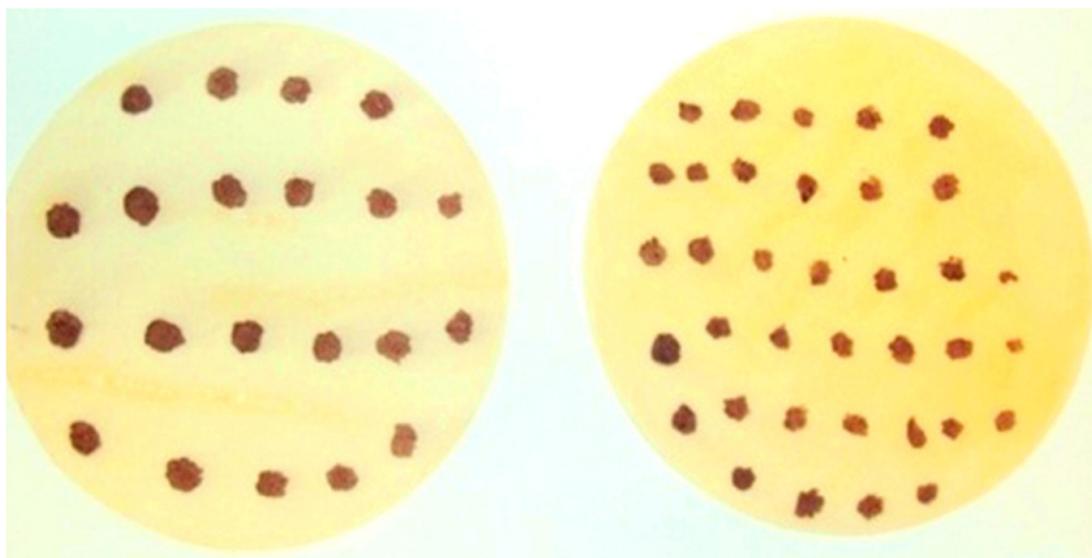
branco, melhorando assim a fixação e a visualização das larvas (Fig. 1). Após a transferência das larvas para as calhas aguardou-se 1 hora antes da aplicação do inseticida para as larvas se ambientarem ao substrato.

O produto utilizado foi o Temephos Fersol 500 CE (Fersol, Piracicaba, Brasil), concentrado emulsionável a 50% de i.a. Verificou-se a eficiência do produto em termos da porcentagem final de mortalidade das larvas após 4 horas da aplicação. As larvas foram estimuladas com a pinça e foram consideradas vivas aquelas que se retraíam para a forma de “U”, como tipicamente fazem quando normais. Redes de tecido voal foram fixadas ao final de cada calha, presas a um suporte de aço, a fim de se quantificar a quantidade de larvas desprendidas após o tratamento com o organofosforado.

Figura 1. Calha, suporte e garrafas plásticas com o larvicida Temephos utilizados nos bioensaios de no córrego Caarapó, Caarapó-MS.



Figura 2. Manchas escuras relativas à alta atividade de esterase no teste do papel filtro indicando a resistência a organofosforado nas larvas de simuliídeos coletadas no Córrego Caarapó, Caarapó-MS.



Resultados e Discussão

De acordo com relatos de moradores e pode-se perceber que durante os trabalhos de coleta um intenso ataque de simulídeos principalmente no início da manhã e final da tarde nos bairros avaliados. Obtiveram-se relatos informais de que em determinados dias, principalmente no verão, não se pode ficar na rua em frente às casas devido às picadas de borrachudos e ao incômodo resultante. Registrou-se ainda a queixa de um morador de que precisou ser internado devido às picadas de simulídeos.

Os imaturos foram identificados como sendo das espécies *S. subpallidum*, *S. perflavum*, *S. subnigrum*, *S. inaequale* e *S. nigrimanum*, sendo que destas, apenas *S. nigrimanum* e *S. inaequale* são tidas como antropofílicas. A espécie *S. nigrimanum* foi a dominante entre as larvas coletadas e a única que se obteve adultos em ato de hematofagia nos pesquisadores. A hipótese inicial foi a de que se encontraria como abundante *Simulium pertinax*, a espécie antropofílica mais comum no sul e sudeste do Brasil. Discute-se que essa espécie não está completamente definida do ponto de vista taxonômico (Gil-Azevedo et al. 2004), tratando-se na verdade de um complexo de várias espécies isomórficas, ou crípticas. De acordo ainda com a proposta de novas sinônimas e correções no gênero *Simulium* de Py-Daniel (1989) a espécie *S. nigrimanum* deve voltar a ocupar posição de espécies *inquirendae*, significando que sua identidade é duvidosa necessitando assim de mais estudos.

Teste bioquímico para atividade de esterases. O padrão das manchas obtido foi comparado a resultados obtidos da mesma forma por Andrade & Castello Branco Jr. (1990) em avaliações feitas no sudeste do Brasil. A coloração escura formada para a reação do extrato de larvas em papel filtro (Fig. 2) permitiu indicar a resistência a inseticidas, a ser avaliada posteriormente nos ensaios com larvas no riacho. Esse teste bioquímico é rápido e de baixo custo. Uma vez as larvas trazidas ao laboratório, pode-se fazer o extrato em cerca de 3 minutos e o resultado do padrão das manchas pode ser verificado após 5 minutos, tempo para a reação enzimática, a coloração, a fixação e secagem.

É bem conhecido que um dos possíveis mecanismos de resistência a inseticidas está correlacionado com a alta atividade de esterases, seja em simulídeos (Andrade & Castello Branco 1990, Montagna 1998) ou em mosquitos

(Guirado & Bicudo 2009, Alves et al. 2011, Strode et al. 2012). Em populações naturais de mosquitos Pasteur & Georghiou (1981) relatam que a atividade desta enzima varia e que a resistência aos organofosforados é codificada por um alelo dominante (R) de um gene específico relacionado à alta atividade de esterases. Montagna (1998) por sua vez, relata 4 espécies de simulídeos resistentes a inseticidas de uma região de produção de frutas na Patagônia, sendo que a atividade de esterases mostrou-se o dobro do normal.

Em recente estudo Gambarra et al. (2013) indicaram a distribuição espacial e padrões de resistência ao Temephos em populações de *Aedes aegypti* (Linneus) no estado da Paraíba em função da região de origem e pela atividade de esterase. O estudo mostrou que *Ae. aegypti* está amplamente disseminado no estado e com elevado grau de resistência ao Temephos em todos os municípios estudados. E ainda, que em todos os casos o aumento na atividade padrão de esterases está envolvido na resistência ao organofosforado Temephos.

Bioensaio de suscetibilidade ao organofosforado Temephos. Os resultados permitiram verificar que a mortalidade média foi baixa nas larvas mantidas como testemunha, próxima a 1% conforme o esperado. No primeiro ensaio aplicou-se a concentração de 0,5 ppm i.a./10 min e a mortalidade média não foi significativamente diferente daquela obtida para as larvas mantidas como testemunha, indicando a resistência ao Temephos (Tabela 1). Poucas larvas (3%) foram desprendidas do substrato e todas estavam mortas e retidas no tecido de voal no final das calhas.

De acordo com Campos & Andrade (2002), o Temephos quando comercializado pelo fabricante Cyanamid para a controle de borrachudos foi usado no Brasil em concentrações operacionais entre 0,03 e 0,3 ppm i.a. por períodos de 10 a 30 minutos. O fabricante do Abate® 500E (BASF S/A) indica concentrações entre 0,05 e 0,15 ppm i.a./30 min. Aqueles autores indicam assim 0,1 ppm i.a./10 min como uma concentração diagnóstica adequada para avaliações da susceptibilidade de larvas quando em águas limpas e com pouca matéria em suspensão. Visto que já se suspeitava da resistência pelo resultado obtido no teste bioquímico, utilizou-se uma concentração cinco vezes superior a essa indicada por Campos & Andrade (2002).

Para esse segundo bioensaio o resultado médio de mortalidade entre as três calhas mantidas como testemunha foi também baixo, e da ordem de 1% (Tabela 1). O resultado

Tabela 1. Número médio de larvas (NML), porcentagem média de mortalidade (% Mort.) e Desvio Padrão (DP) para simulídeos após 4 horas da aplicação das Concentrações Operacionais e Diagnóstica de temephos.

Concentração	Tratamentos	NML	% Mort.	DP
Operacional	Testemunha 0,0	133,3	0,98 ^a	0,33
	Temephos 0,5 ppm i.a./10 min.	111,6	5,67 ^a	3,40
Diagnóstica	Testemunha 0,0	174	1,10 ^a	0,26
	Temephos 2,5 ppm i.a./10 min.	141	44,63 ^b	18,76

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, Tukey a 5% de probabilidade.

médio de mortalidade para o tratamento na concentração de 2,5 ppm i.a./10 min foi significativamente diferente do grupo testemunha, e da ordem de 44%, sendo que 8% de larvas estavam desprendidas e mortas (Tabela 1). Tal resultado confirma definitivamente a resistência.

Embora não sejam feitas aplicações para controle de borrachudos nos córregos em Caarapó, a resistência de simuliídeos ao temephos não deve ser surpresa, considerando-se relatos semelhantes na literatura. Em áreas onde nunca foi utilizado o inseticida temephos no controle de simuliídeos já se registrou diferentes graus de resistência a esse organofosforado (Campos & Andrade 2002). Os autores discutem que essa resistência deve-se à resistência cruzada com outros organofosforados, devido ao uso intensivo de inseticidas agrícolas empregados próximo aos córregos e pela mobilidade dos insetos, como a migração de populações resistentes de outras localidades para as áreas periurbanas. De fato, o uso inadequado de inseticidas no ambiente, quando ininterrupto, intensivo e indiscriminado gera pressão de seleção favorecendo indivíduos mais adaptados com genes resistentes (Kalinga et al. 2007). No município de Caarapó a agricultura constitui-se em um importante setor da economia, e há no histórico do município relato da utilização intensiva de defensivos em áreas agrícolas próximas, que ao longo dos anos poderiam acarretar em pressão de seleção, conforme discutido por Montagna (1998), Montagna et al. (2012), Adler et al. (2010), Campos & Andrade (2002) e Osey-Atweneboana et al. (2001).

Discute-se finalmente que a detecção de resistência ao larvicida Temephos é pré-requisito fundamental em populações de simuliídeos, antes de se decidir pelo seu emprego como ferramenta para o controle de espécies antropofílicas. E sugere-se que a presente avaliação no córrego Caarapó, deve permitir direcionar as estratégias de manejo nas comunidades do seu entorno, mais provavelmente optando-se pelo uso de produtos à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* como larvicida.

Agradecimentos

Aos especialistas Dr. Mateus Pepinelli (UFSCAR) e mestranda Nayara Karla Zampiva (UFGD) pela identificação do material entomológico coletado, ao Dr. Jairo Campos Gaona pelo hospitaleiro auxílio prestado, ao CNPq, FUNDECT, Projeto PROCAD-NF 2008, Rede Dengue e UFGD.

Literatura Citada

- Adler, P.H.; Cheke, R.A. & Post, R.J. 2010. Evolution, epidemiology, and population genetics of black flies (Diptera: Simuliidae). *Infec. Gen. and Evol.*, 10: 846-865.
- Alves, S.N.; Tibúrcio, J.D.; Melo, A.L. 2011. Suscetibilidade de larvas de *Culex quinquefasciatus* a diferentes inseticidas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44:486-489.
- Andrade, C.F.S. & Castelo Branco Jr, A.C.B. 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*. *Rev. Saúde Pública*, 25:367-70.
- Andrade, C.F.S. & Castelo Branco Jr., A.C.B. 1990. Methods for field detection of resistance to Temephos in simuliids. Larval esterase level and topical application of the insecticide to adults. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 85:291-297.
- Ber, C. & Green, K.K. 2012. Survey of blackfly (Diptera: Simuliidae) annoyance levels and abundance along the Vaal and Orange Rivers, South Africa. *JSAVA: J. of the South Afri. Vet. Association*, 83:47-52.
- Braga, I.A & Valle, D. 2007. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência *Epidem. e Serv. de Saúde*, 16:279-293.
- Campos, J.G. & Andrade, C.F.S. 2002. Resistência a inseticidas em populações de *Simulium* (Diptera, Simuliidae) insecticide resistance in *Simulium* populations (Diptera, Simuliidae). *Cad. de Saúde Pública*, 18:661-671.
- Gambarra, W.P.; Martins, W.F.; de Lucena Filho, M.L.; de Albuquerque, I.M.; Apolinário, O.K.; Beserra, E.B. 2013. Spatial distribution and esterase activity in populations of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) resistant to Temephos. *Rev Soc Bras Med Trop.*, 46:178-84.
- Gil-Azevedo, L.H., Santos-Mallet, J.R., Maia-Herzog, M. 2004. Caracteres diagnósticos de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* (Diptera: Simuliidae). *Neotropical Entomology*. 33: 433-437
- Guirado, M.M. & Bicudo, H.E.M.C. 2009. Alguns aspectos do controle populacional e da resistência a inseticidas em *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Bepa*, 6:5-14.
- Habib, M.E.M. 1989. Uma política para o controle de borrachudos no Brasil. *Seminário sobre Insetos e Ácaros. Anais da Soc. Entomológica do Brasil*, 3:99-102.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2012. Estimativas populacionais para os municípios brasileiros em 01.07.2012. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2012/default.shtm>> <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2012/default.shtm>>. Acesso em 01 dez. 2012.
- Kalinga, A.K.; Mweya, C.N.; Barro, T.; Maegga, B.T. 2007. Susceptibility of *Simulium damnosum* complex larvae to Temephos in the *Tukuyu onchocerciasis* focus, southwest Tanzania. *Tanzan Health Res. Bull.* 9:19-24.
- Montagna, C.M. 1998. Mecanismos de resistencia en simúlidos (Diptera: Simuliidae) del Alto Valle de Río Negro y Neuquén. *Congreso Latinoamericano de Toxicología. La Habana. Cuba -1998. P:225.*
- Montagna, C.M.; Gauna, L.E.; D'angelo, A.P. & Anguiano,

- O.L. 2012. Evolution of insecticide resistance in non-target blackflies (Diptera: Simuliidae) from Argentina. *Memórias do Inst. Oswaldo Cruz*, 107:458-465.
- Osey-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. *Med. and Vet. Entomology*, 15:113-116.
- Pasteur, N. & Georghiou, G.P. 1981. Filter paper test for rapid determination of phenotypes with high esterase activity in organophosphate resistant mosquitoes. *Mosquito News*, 41:181-183.
- Pereira, D.S.; Nogueira, N.O.; Candido, A.O.; Alves, P. & Lemes, E.Q. 2012. Infestações de *Simulium pertinax* e suas relações com o desequilíbrio ambiental. *Rev. Trop. Ciênc. Agrárias e Biol.*, 6:49-61.
- Petry, F.; Lozovei, A.L. & Chahad-Ehlers, S. 2006. Eggs fertility and biological aspects of the life cycle in natural populations of *Simulium* (Diptera, Simuliidae). *Braz. Arch. of Biol. and Tech.*, 49:799-805.
- Petry, F.; Lozovei, A.L.; Ferraz, M.E & Neto, L.G.S. 2004. Controle integrado de espécies de *Simulium* (Diptera, Simuliidae) por *Bacillus thuringiensis* e manejos mecânicos no riacho e nos vertedouros de tanques de piscicultura, Almirante Tamandaré, Paraná, Brasil. *Rev. Bras. de Entomologia*, 48:127-132.
- Py-Daniel, V. 1989. Novas sinonímias e correções em *Simulium* com a revalidação de *S. pruinosum* Lutz, 1904 (Culicomorpha: Simuliidae). *Rev. de Saúde Pública*, 23:254-257.
- 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.
- Simom, Y.G. 2000. Controle de simuliídeos: uma visão de gerenciamento. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). Santa Catarina, 58p.
- Strieder, M.N., Santos, J.E. & Vieira, E.M. 2006. Distribuição, abundância e diversidade de Simuliidae (Diptera) em uma bacia hidrográfica impactada no Sul do Brasil. *Rev. Bras. de Entomologia*, 50:119-124.
- Strode, C.; Melo-Santos, M.; Magalhães, T.; Araújo, A. & Ayres, C. 2012. Expression profile of genes during resistance reversal in a Temephos selected strain of the dengue vector, *Aedes aegypti*. *PLoS ONE*, 7:1-8.

Available online: www.bioassay.org.br/ojs/index.php/bioassay/article/view/123