SITUAÇÃO ATUAL DO CONTROLE BIOLÓGICO NO MANEJO INTEGRADO DE MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE)

LUCIANA MARQUES CUBA

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para a obtenção do Grau de Mestre.

Área de Concentração: Epidemiologia

ORIENTADOR: PROF. DR. DELSIO NATAL

São Paulo

2004

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pela oportunidade que me foi concedida.

Os meus mais sinceros agradecimentos ao Prof. Dr. Delsio Natal pela orientação prestada e pelo incentivo permanente na realização deste trabalho.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa de estudos concedida durante parte deste estudo.

Aos amigos do laboratório de culicídeos e triatômíneos da Faculdade de Saúde Pública – USP, pelo apoio durante este trabalho.

Aos meus pais e amigos, pelo apoio incondicional durante todo esse percurso.

RESUMO

Cuba LM, **Situação do controle biológico no manejo integrado de mosquitos (Diptera:Culicidae)**. São Paulo; 2003. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

O controle de mosquitos à base de inseticidas químicos tem encontrado dificuldades crescentes de utilização, especialmente nos últimos anos. As razões são basicamente, o alto custo de desenvolvimento e comercial desses compostos sintéticos, a agressão ambiental devido a inespecificidade, persistência ambiental, os riscos operacionais e a crescente resistência a esses compostos. Essas razões tem levado a um grande esforço para o desenvolvimento e aperfeiçoamento de alternativas eficazes e seguras, fatores que podem estar relacionados ao controle biológico. O controle biológico consiste na utilização de inimigos naturais diretamente ou através de metabólitos, estratégias encontradas freqüentemente na natureza, que foram deixadas de lado, com o surgimento do “milagroso” controle químico. Este trabalho tem por objetivo atualizar os conhecimentos sobre a importante questão da alternativa biológica no controle integrado de mosquitos (Diptera:Culicidae) de importância epidemiológica. Destacam-se as estratégias de predação, parasitismo e os agentes microbianos patogênicos como as formulações comerciais do gênero *Bacillus*. A potencialidade de uso de agentes diversos e a importância do referido biocontrole nos programas nacionais, bem como a produção e aplicação em massa desses agentes são abordados com detalhes nessa monografia.

Descritores: controle biológico, mosquitos, culicídeos.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Ordem Díptera	1
1.2 Família Culicidae	1
2. OBJETIVOS	7
2.1 Objetivo Geral	7
2.2 Objetivos Específicos	7
3. MÉTODOS	8
4. MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS (MIP)	10
5. O CONTROLE	14
6. CONTROLE BIOLOGICO	16
7. TIPOS DE CONTROLE BIOLOGICO	18
7.1 Fatores Ligados a Interação entre Populações	18
7.1.1 Predação	18
7.1.2 Parasitismo	19
7.2 Fatores ligados a Competição Intra – específica	21
7.3 Fatores Ligados à Toxinas ou Princípios Tóxicos	21

8. PREDACAO	23
8.1 Copépodos	23
8.2 Peixes	27
8.3 Outros Invertebrados	32
9. PARASITISMO	38
9.1 Nematodas	38
9.2 Microposridio	44
9.3 Fungos	45
10. <i>BACILLUS SP</i>	52
11. ESTERELIZAÇÃO E MANIPULAÇÃO GENÉTICA	69
12. O USO DE PLANTAS	70
13. DISCUSSÃO	71
14. CONCLUSÃO	77
15. REFERÊNCIAS	79

1. INTRODUÇÃO

1.1 Ordem Diptera

É muito rica a nomenclatura popular relacionada com os dípteros. Afinal são eles que mais azucrinam a vida de qualquer mortal, sejam no descanso, nos passeios, pescarias, etc. (BUZZI, 1985)

Esta ordem é de grande importância para o homem tanto do ponto de vista médico, veterinário ou agrícola. Tanto o homem como os animais são vítimas do ataque de dípteros. (BUZZI, 1985).

Desempenham, um papel de grande importância na economia humana. Os mosquitos são responsáveis pela transmissão ao homem de agentes causadores de várias doenças (CARRERA, 1963).

Várias espécies de mosquitos transmitem doenças como a malária, febre amarela, filariose, leishmanioses, micróbios causadores do tifo e disenterias. Do ponto de vista agrícola os danos causados por estes insetos são menores. (BUZZI, 1985)

1.2 FAMÍLIA CULICIDAE

Classificados como pertencentes à ordem díptera, família culicidae, esses insetos possuem corpo alongado, asas estreitas, corpo rico em escamas e cerdas e patas longas.

Nesta família encontram-se os mosquitos e pernilongos sugadores de sangue, apenas as fêmeas que possuem probóscide alongada, com componentes filiformes e rígidos próprio para furar a pele do homem e sugar sangue, sendo que as proteínas do

sangue serão utilizadas no desenvolvimento dos ovariolos. Dentre eles devem ser destacadas as espécies dos gêneros *Culex*, *Anopheles* e *Aedes*, destacando –se o *Aedes aegypti* vetor da dengue, o *Culex quinquefasciatus* causador de grande incomodo nas grandes cidades, *Anopheles sp.* vetores da malária.

Entre o grupo de dípteros hematófago, os culicídeos representam o grupo mais abundante e de maior importância medico-epidemiológica e são tão numerosos que se encontram em variadas condições ecológicas (FONSECA e col. 1988).

Os imaturos de culicídeos, ovos, larvas e pupas, necessitam de coleções líquidas paradas ou com pouco movimento para seu desenvolvimento, até atingirem as formas adultas. Essas coleções líquidas são conhecidas como criadouros e classificam-se em naturais ou artificiais, permanentes, semi-permanentes ou transitórias. A importância ecológica de tal classificação está relacionada à capacidade de sobrevivência e de adaptação das formas imaturas desses mosquitos (FORATTINI 1962). O conhecimento da biologia e capacidade de adaptação dos culicídeos nesses criadouros é de extrema importância para eficiência de seu controle; assim como das características climáticas, sócio-econômicas e culturais da região a ser tratada.

Os ovos são colocados isolados ou aglutinados em jangadas. São depositados na água estagnada (*Culex*, *Anopheles*), nas paredes de recipientes (*Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*) e em depressões no solo potencialmente inundáveis (*Aedes* e *Psorophora*).

Quando eclodem as larvas passam por quatro estágios larvais até se tornarem pupas. A fase pupal é relativamente curta. Quando a pupa esta madura, mantém-se na superfície da água. Em certo momento, o exoesqueleto de quitina se rompe e o adulto emerge. O raio de vôo dos adultos varia grandemente de acordo com a espécie.

As formas imaturas de mosquitos, por viverem e se desenvolverem em ecossistemas aquáticos estão submetidas à ação de diversos fatores bióticos e abióticos. Tais fatores interferem na flutuação e/ou regulação destas populações e conseqüentemente seu conhecimento reveste-se de grande importância epidemiológica (FORATTINI, 1962).

O papel dos fatores bióticos na comunidade de formas imaturas de culicídeos foi discutido por HOBBS e MOLINA (1983), LAIRD (1988), ORR e RESH (1989) e SAVAGE e col. (1990), em relação às plantas aquáticas (macrófitas); SAVAGE e col. (1990), em relação ao fitoplâncton; SANTOS e col. (1997) observaram a predação por copépodos; JAROSNKI e AXTELL (1982) estudaram a infectividade por fungos.

Segundo BECKER (1992), as questões relacionadas à saúde e ambiente estão atualmente se tornando uma preocupação constante não só daqueles que se dedicam às ciências ambientais, mas dos mais variados segmentos da sociedade.

Tanto o aparecimento de novas doenças infecciosas quanto o ressurgimento de antigos problemas de Saúde Pública, segundo especialistas, podem estar ligados a vários fatores, destacando-se entre eles: alterações ambientais devido ao processo de industrialização e às novas tecnologias aplicadas à agricultura, irrigação, construção de barragens, uso de terras, uso de recursos hídricos, desmatamento, problemas econômicos; urbanização falta de saneamento básico, mudanças de comportamento humano, mudanças climáticas, etc. (COOSEMANS e MOUCHET 1990; SCHOFIELD 1990; SERVICE 1991; KNUDSEN e SLOOFF 1992; MORSE 1995).

Os problemas epidemiológicos, decorrentes da proliferação intensa de mosquitos, constituem preocupação constante por parte dos serviços sanitários nos grandes centros

urbanos do mundo, principalmente em regiões com condições de saneamento básico precárias (URBINATTI 2000).

No Brasil, nos últimos anos uma das grandes preocupações das autoridades de saúde e da população em geral tem sido as epidemias de dengue, que tem atingindo toda a população não selecionando classe social, faixa etária, raça e sexo. Desafiando a todos, e crescendo cada vez mais.

Culicídeo é um grupo de insetos conhecidos de longa data pelos problemas de saúde que causam ou intermediam ao homem e animais domésticos, quer devido às picadas e reações alérgicas, quer pela transmissão de viroses, protozooses e filarioses. Têm sido combatidos por todas as gerações de inseticidas, dos organo-clorados e fosforados aos piretróides, quase sempre com surgimento dos fatores adversos como a resistência e o impacto ambiental. Em nível de controle biológico, os culicídeos têm sido alvo de pesquisas com predadores e patógenos diversos (Neto, 1985).

No Brasil a resistência dos suscetíveis e o impacto ambiental que eles determinam tem levado a procura de outras alternativas para o controle, como a substituição dos larvicidas químicos (Fleming, 1983). Os programas atuais de controle de espécies vetores ou provocadoras de incômodo dependem quase que exclusivamente de agentes químicos, nas áreas rurais, agrícolas e também urbanas.

Dentro desse contexto, é importante ressaltar que a competição, o parasitismo e principalmente a predação têm sido apontados como os principais fatores bióticos responsáveis pela redução populacional de formas imaturas de mosquitos.

O controle de pragas à base de inseticidas químicos tem encontrado dificuldades crescentes de utilização, especialmente nesta última década. As razões são basicamente,

o alto custo destes compostos sintéticos e a agressão ambiental devido a inespecificidade, persistência no ambiente e riscos operacionais. Isto tem levado a um grande esforço para o desenvolvimento de alternativas eficazes e seguras, relacionadas ao controle biológico de pragas (WHO, 1979).

No século vinte os inseticidas sintéticos vieram substituir o controle natural de pragas de interesse em Saúde Pública, representando uma nova tecnologia de controle, mas também trouxeram uma série de novos prejuízos e riscos que não eram totalmente conhecidos, como a toxicidade e não especificidade. Há algum tempo, novas questões relativas a esses riscos e prejuízos têm surgido, especialmente as que estão ligadas à qualidade do ambiente, como a contaminação de água por produtos químicos ar, solo e alimentos.

Outra desvantagem do controle químico convencional é o aparecimento de cada vez mais espécies resistentes, e diante desse problema o excessivo uso desses produtos em busca de um controle tem resultado a evidente contaminação ambiental. O controle biológico baseia-se no emprego de inimigos naturais, tendo em vista a redução eficaz da população de mosquito, ou seja, neste contexto a atividade de controlar passa a ser vista como um processo artificial induzido ou implantado pelo homem com objetivo bem definido. É dessa maneira que o conceito pode ser contextualizado como sendo: “ a destruição ou supressão de animais ou plantas indesejáveis através da introdução ou da manipulação reforçada de seus inimigos naturais” (SCHRIEBER & JONES, 2000); ou referindo-se mais especificamente aos culicídeos: “o controle biológico se baseia no emprego de inimigos naturais ou toxinas biológicas com vistas a reduzir eficazmente a população de mosquitos” (OMS, 1984).

Em vista dessas dificuldades surgidas em várias partes do mundo nas tentativas de controlar mosquitos apenas com a utilização de métodos químicos, e diante das vantagens de um controle integrado a Organização Mundial de Saúde recomenda o controle biológico dentro de um programa integrado ao controle químico convencional (WHO, 1981). A utilização de predadores naturais é uma dessas alternativas, de controle integrado. Muitos dados sobre a alimentação de organismos predadores baseados fundamentalmente em larvas de mosquitos são de natureza qualitativa, indicando a existência real de muitos inimigos naturais de larvas de mosquito. Isto portanto permite uma estimativa quantitativa dos efeitos da predação sobre a redução e regulação do número de larvas de mosquito (MIJARES, 1985). Por outro lado, a introdução de espécies exóticas, para esse fim, pode ter impacto adverso sobre a ecologia local (WHO, 1982) sendo por isso necessário à investigação de agentes autóctones.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar o controle biológico de mosquitos discutindo a sua importância.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar os tipos de controle biológico com potencial de utilização no controle de culicídeos;
- Levantar informações sobre o uso do controle biológico nas Américas, com enfoque no Brasil;
- Identificar os agentes de controle biológico mais adequados para serem utilizados em programas de controle no Brasil, levando-se em consideração as principais espécies de culicídeos vetores e as condições ambientais;
- Recomendar estratégias de inserção do controle biológico em programas de controle de culicídeos no Brasil.

3. MÉTODO

A pesquisa consiste de um levantamento bibliográfico, abrangendo o período de 1979 a 2001. Foram consultadas as bases relacionadas a seguir:

Medline

Lilacs

Life Science

Cab Health

Biological Abstract

Agriscab

Os descritores foram:

Culicídeos x controle x biológico

Culicídeos x controle x biológico x predação

Culicídeos x controle x biológico x artrópodes

Culicídeos x controle x biológico x vertebrados

Culicídeos x controle x biológico x *Bacillus*

Culicídeos x controle x biológico x patógenos

Culicídeos x controle x biológico x vírus

Culicídeos x controle x biológico x fungos

Culicídeos x controle x biológico x protozoários

Culicídeos x controle x biológico x vermes

Culicídeos x controle x biológico x América

Culicídeos x controle x biológico x Brasil

Optou-se por fazer levantamento a partir de 1979, por esta ser a data do trabalho de Axtell, considerado um marco na consolidação do manejo integrado de pragas aplicado ao controle de mosquitos. Além dos trabalhos indexados nas bases pesquisadas, foram consultados outros citados nos artigos consultados. Sempre que necessário, foram incluídos artigos publicados em data anterior ao ano de 1979.

4. MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS (MIP)

Os fracassos do controle químico e os efeitos tóxicos que estes produtos causam nos ecossistemas, levaram os pesquisadores a estudarem em todos os azimutes outros meios de controle, notadamente a utilização de bactérias, vírus, fungos, nematodes, predadores, no quadro do controle biológico. Entretanto, é evidente que os produtos químicos continuam sendo elementos essenciais na maioria dos programas anti-vetoriais previstos e, em consequência, torna-se mister encontrar métodos para o emprego mais eficaz, econômico e seletivo desses produtos (GEBARA, 1987).

Desde fins do século XIX e começo do século XX, quando ficou comprovado o envolvimento de vetores na transmissão de doenças, as recomendações para a organização e o combate incluíam, a orientação da população, o uso de inseticidas, proteção pessoal e o estudo das possibilidades de controle biológico através de peixes larvófagos (OMS, 1983).

O objetivo do controle integrado é harmonizar os diferentes métodos de controle e em consequência reduzir o número de tratamentos químicos. Assim, o controle químico é usado somente onde e quando necessário e de maneira a ser o menos prejudicial possível ao meio ambiente (GEBARA, 1987).

Utilizaremos a publicação de AXTELL, (1979) como um marco na consolidação do MIP aplicado ao controle de mosquitos. A implementação do MIP em sistemas de produção de alimentos teria surgido bem antes. Aplicado em fazendas e tendo como meta diminuir perdas provocada pelo ataque de pragas, o MIP, segundo definição de

Smith & Reynolds teria por objetivo: "implantar um sistema de manejo de pragas de pragas que se utiliza todas as técnicas adequadas, de maneira compatível para reduzir a sua população e mantê-la em nível abaixo visando à diminuição dos prejuízos econômicos.

Segundo AXTELL,(1979), manejo integrado de pragas (MIP) é uma evolução na sofisticação e conceitualização das estratégias humanas de controle de pragas. Isto reflete em uma evolução de termos como: controle de pragas, para manejo de pragas e finalmente manejo integrado de pragas.

O seletivo e criterioso uso de inseticidas combinados com medidas biológicas e a própria prática do manejo mecânico constituem uma parte integral para o sucesso nos programas de controle de mosquitos (MARAMOROSCH, 1985).

O que se concebe atualmente é que o MIP se fundamenta em princípios ecológicos, dentro de uma abordagem interdisciplinar, utilizando-se estratégias de manejo de ecossistemas, empregando-se medidas práticas, efetivas, econômicas e ao mesmo tempo, protetoras de saúde e do ambiente. MIP não é aplicado apenas ao controle de mosquitos, mas também, para qualquer outro tipo de vetores mecânicos ou biológicos, de interesse em Saúde Pública ou Veterinária. Além dessas áreas, essa maneira moderna de enfrentar problemas entomológicos se estende para agricultura e para silvicultura.

Seguindo esta seguinte direção AXTELL,(1979) desdobra os termos, definindo o sentido de cada palavra para poder explicar melhor esse conceito: **I-manejo** seria o ato, a arte ou a maneira de manipular, controlar, administrar ou conduzir negócios, ou seja, o uso criterioso de meios para se conquistar um fim. Assim o termo manejo não

teria por objetivo erradicar a praga, mas sim, manter sua população em um nível aceitável para o público. Axtell, deixa explícito que o uso do termo manejo é bastante adequado para comunicação com o público, por não gerar falsa expectativa de solução definitiva do problema. **II- integrado** significa compor um todo, unir , incorporar em uma grande unidade. Transmite a idéia de mistura criteriosa de partes na composição do todo. Não se refere meramente ao uso das diferentes partes, pois o todo resultante é maior que a somatória das partes. Quanto ao problema de pragas o termo “integrado” refere-se à criteriosa mistura de habilidades (de diferentes disciplinas) e de diferentes métodos de controle. No manejo de uma população de mosquitos, deve-se incluir não apenas a entomologia, mas também a engenharia, a ecologia, a economia, etc. **III- Praga** – seria um organismo prejudicial ao homem. Nesse conceito, os mosquitos, seriam pragas porque: picam, são causadores de incômodo e transmitem doenças. Uma população excessiva de mosquitos produz efeitos adversos no crescimento econômico de uma área, constituindo assim, um exemplo típico de praga.

Baseado em princípios ecológicos e metodologias multidisciplinares integradas, e no desenvolvimento de arranjos do ecossistema, o MIP atua de forma prática, efetiva, econômica, protegendo tanto a saúde pública como o meio- ambiente.

Na visão moderna MIP, entende-se a disponibilidade de uma enorme variedade de alternativas de controle dentre as quais, deve-se selecionar as estratégias mais adequadas, visando cumprir determinado objetivo no combate às pragas. Quando o objetivo é combater mosquitos, pode dividir o grande leque de possibilidade ou alternativas do MIP nos seguintes segmentos: **controle químico-** entende-se por esse tipo de controle aplicação de produtos de natureza química, visando reduzir uma

população de culicídeo, de maneira a impedir a transmissão de doença ou evitar incômodo; **ordenamento do meio e educação** –compreende planejamento, organização, realização e vigilância de atividades para a modificação e/ou alteração de fatores ambientais, ou respectivas interações com o homem, com o propósito de diminuir ao mínimo a propagação de vetores e reduzir o contato entre o homem, o vetor e o agente; e o **controle biológico**, esses métodos se baseiam no emprego de inimigos naturais e de toxinas biológicas, com objetivo de reduzir a proporção de mosquitos (OMS,1977).

5. O CONTROLE

Podemos dizer que a primeira forma de controle de insetos em geral foi à mão, para espantar ou mesmo matar os agentes de incomodo seja ele pela sua picada ou pelo barulho incomodo e em seguida tivemos a fumaça como repelente.

Durante muito tempo o homem buscou métodos naturais que estavam ao seu alcance para se proteger de insetos. Mas com o surgimento dos produtos químicos após a Segunda grande guerra esses métodos foram deixados de lado.

No século vinte os inseticidas sintéticos vieram substituir o controle natural de pragas que afetam a população, representando uma nova tecnologia de controle, mas também trouxeram uma série de novos prejuízos e riscos que não eram totalmente conhecidos, como a toxicidade e não especificidade. O controle químico foi “encantador” no inicio, pois não se dimensionava os danos que ele poderia causar em um futuro próximo. O primeiro grande milagre químico foi o DDT e seu sucesso na primeira metade do século XX, ultrapassou a década de 50 e as seguintes. Assim houve uma sucessão de novos produtos cada vez mais fortes e menos seletivos com a passar dos anos.

O uso abusivo do controle químico teve como resultado o desenvolvimento da resistência. A resistência a inseticidas é definida pela Organização Mundial de Saúde como uma característica herdável, portanto genética, que confere um aumento na tolerância a um pesticida, ou grupo de pesticidas, de modo que os indivíduos resistentes sobrevivem à concentração dos componentes que seriam normalmente letal para as espécies (WHO, 1992). Portanto, um dos grandes desafios que se colocam hoje para os

entomologistas envolvidos com os programas de controle, consiste em prever o desenvolvimento ou ao menos, retardar o estabelecimento da resistência a novos inseticidas (BRACCO, 1998).

O futuro do controle de mosquitos vetores depende do sucesso de três diferentes medidas: tratamento de doenças com drogas e vacinação; prevenção das doenças com vacinação; e implementação de medidas para o controle (MOROSCH, 1985).

6. CONTROLE BIOLÓGICO

Apesar dos mosquitos adultos serem também controlados por outras espécies em condições naturais, é durante o período de vida imatura que se concentra todo o conhecimento da alternativa de MIP. Devido à distribuição dispersa dos adultos, torna-se muito difícil imaginar uma forma de controle que fosse operacionalmente prática ou eficaz no combate às formas aladas. De maneira diferente, os imaturos estando limitados às coleções aquáticas que geralmente são bem definidas oferecendo um leque amplo de possibilidades de controle através de agentes biológicos.(NATAL, 2000)

Pode-se dizer que o controle biológico irá se processar na natureza independentemente da intervenção humana. Nesse caso as populações de mosquito são reguladas por um processo natural. Nessa direção, uma variedade de organismos, incluindo-se competidores, parasitas e predadores controlam as populações de mosquitos. Em ambientes equilibrados e na ausência de distúrbios, esses mecanismos reguladores estabelecidos nos criadouros, podem manter a população adulta de culicídeos abaixo de um limiar crítico, impedindo que vetores competentes possam manter endemias ou gerar epidemias. (NATAL, 2000)

Convém ressaltar que nesse contexto a atividade de controle passa a ser vista como um processo artificial induzido ou implantado pelo homem, com um objetivo bem definido, que é de baixar a densidade dos culicídeos. Dessa maneira podemos conceituar como sendo: “ a destruição ou supressão de animais ou plantas indesejáveis através da introdução ou da manipulação reforçada de seus inimigos naturais”(SCHRIEBER & JONES, 2000). Referindo-se mais especificamente aos culicídeos: “o controle biológico

de baseia no emprego de inimigos naturais ou toxinas biológicas com vistas a reduzir eficazmente a população de mosquitos”(OMS, 1984).

O controle biológico pode apresentar as seguintes vantagens e desvantagens; segundo SCHRIEBER & JONES,(2000): *vantagens* – 1. Atuação, o agente de controle afeta uma espécie ou pelo menos um grupo taxonômico mais amplo e definido, com pouco ou nenhum efeito sobre organismos não alvos; 2. Efeitos sobre o ambiente – seriam menos prejudiciais quando comparados ao controle químico; 3. Reciclagem – quando ocorre representa uma redução permanente da população da praga. *Desvantagens*: 1. Introdução de espécies exóticas – representa risco à fauna local, podendo gerar desequilíbrios; 2. Problemas técnicos- surgem principalmente em relação ao transporte, formulação e aplicação; 3. Produção em massa – geralmente de difícil obtenção; 4. Recursos humanos- a sua aplicação exige conhecimento de dinâmica populacional e requer especialista em ecologia nem sempre disponível em áreas remotas endêmicas ou epidêmicas; 5. Especificidade – embora seja uma vantagem por não atingir outros organismos, gera problema, pois se torna necessário encontrar agentes específicos para os diferentes grupos taxonômicos; 6. Investimento – geralmente maior no início quando comparado ao controle químico; 7. Pesquisa – quando destinada ao estudo de novos agentes com potencial o uso geralmente é demorado para se chegar a algum resultado; 8. Uso – as aplicações são geralmente mais difíceis quando comparados ao emprego de inseticidas.

7. TIPOS DE CONTROLE BIOLÓGICO

Nos últimos anos tem aumentado o interesse pelo desenvolvimento de métodos biológicos na luta contra os mosquitos, graças à preocupação crescente com as questões relacionadas ao meio ambiente e a qualidade de vida. Trabalhos de laboratório tem demonstrado a eficácia de diversas protozoários, bactérias, vírus e nematodos, os ensaios de alguns desses agentes tem dado resultados muito promissores. (OMS, 1977). Alguns desses agentes tem demonstrado eficiência também em condições naturais, em ensaios de campo.

Atualmente já se pode constatar em várias situações que a utilização do controle biológico assemelha-se em termos de resultados imediatos aos inseticidas químicos mais eficazes, superando-os no entanto pela pouca possibilidade de selecionar resistentes e preservação de inimigos naturais, o que conduz a uma necessidade de utilização menos freqüente pela menor alteração do ecossistema (NETO E OLIVEIRA, 1985).

7.1 Fatores Ligados A Interações Entre Populações

A predação e o parasitismo são exemplos familiares de interações entre duas populações que resultam em efeitos negativos no crescimento e sobrevivência de uma população e um efeito positivo ou benéfico na outra (ODUM, 1988).

7.1.1 Predação

- **Artrópodes**

A OMS (1984) destaca algumas espécies de mosquitos predadores. Larvas carnívoras de mosquitos do gênero *Toxorhynchites* alimentam-se principalmente de larvas de outros mosquitos. Algumas espécies desses predador são adequadas para uso em controle biológico. Devido às características ecológicas do gênero, o controle seria viável para mosquitos que habitam criadouros restritos tipo recipiente. A maior dificuldade seria a produção em massa e a liberação dessas larvas nos criadouros (NATAL, 2000).

- **Vertebrados**

São principalmente os peixes larvófagos. O uso de peixes como uma opção no MIP irá depender de estudos prévios fundamentados na ecologia que deverão indicar os procedimentos mais adequados a serem adotados ou se vale à pena investir nesses sentido (NATAL, 2000).

7.1.2 Parasitismo

- **Vírus**

Partindo-se do princípio de que os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios poderiam invadir o corpo dos mosquitos, colonizando suas células e as destruindo, levando o indivíduo à morte. Para alguns vírus específicos de mosquitos esses agentes são tidos como de potencial no controle biológico.

- **Protozoários**

Muitos protozoários que são encontrados parasitando vetores na natureza, teriam potencial para controle. Dentre os grupos mais comuns são os microsporídeos, principalmente aqueles pertencentes aos gêneros *Amblyospora* e *Nosema*. São parasitas intracelulares o que, sem dúvida complica a produção em massa (NATAL, 2000).

- **Fungos**

São representados por fungos aquáticos que invadem larvas de mosquitos. Entre esses, cita-se como que possuindo potencial de uso os gêneros: *Coelomomyces*, *Lagenidium*, *Culicinomyces*, *Tolypocladium* e *Metarhizium* (FREDERIC, 1995).

- **Vermes**

Segundo, FREDERIC, (1995) os organismos que tem produzido resultados práticos são os nemátodes, destacando-se a espécie *Romanomermis culicivorax*. As larvas desses nematóides invadem as larvas de mosquitos através da cutícula; sofrem uma muda no interior da larva do mosquito e saem através da cutícula e a larva do mosquito morre. Apresenta a vantagem de poder reciclar nos criadouros provocando controle nas gerações subsequentes de mosquitos. As principais dificuldades são a produção em massa, armazenamento, transporte e aplicação.

7.2 Fatores Ligados a Competição Intra-Específica

- **Autocidas**

Trata-se de estratégias de controle pela relação intra-específica. Uma determinada espécie pode ser controlada devido a modificações genéticas, levando a algum tipo de limitação da prole, ou seja, a espécie alvo torna-se o agente controlador. Tem como base à liberação de mosquitos alterados geneticamente que deverão cruzar com indivíduos tipo selvagem, produzindo uma geração não compatível com o ambiente. Há basicamente dois tipos de autocidas: liberação em massa de indivíduos estéreis e manipulação genética (NATAL, 2000).

7.3 Fatores Ligados a Toxinas Ou Princípios Tóxicos

- **Plantas**

O uso de produtos de origem vegetal no controle biológico é uma área de grande potencial, porém pouco conhecida; no que diz respeito à biodiversidade botânica e seu potencial na aplicação no controle biológico. Ganha importância a proteção de habitats naturais ricos em espécies que poderão ser testadas no futuro. Piretrum e Rotenona são produtos extraídos de plantas historicamente utilizados no controle de mosquitos.

- **Bactérias**

O controle que pode ser exercido por bactérias foge da modalidade clássica decorrente da competição, parasitismo ou predação. Quando se observa a relação

bactéria- mosquito, constata-se que a bactéria mata a larva, não pela colonização de seu corpo, mas sim, por ação de proteínas tóxicas. Essas bactérias não causam doença infecciosa nas larvas (WHO, 1984).

As bactérias utilizadas são geralmente encontradas na natureza de forma associada a criadouros de mosquitos. Trata-se de organismos que crescem prontamente em grande variedade de substratos (meio de cultura artificial), tornando-se viável sua produção em massa, sendo essa uma grande vantagem para sua utilização. Há basicamente duas espécies de bactérias que têm sido usadas no controle de mosquitos: *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis* e *Bacillus sphaericus*. (NATAL, 2000).

8. PREDACÃO

A predação é o primeiro método de controle conhecido e eficaz, se levarmos em consideração a cadeia alimentar, como um equilíbrio natural entre predador e presa. Vários trabalhos sobre essa prática tem demonstrado de forma qualitativa e quantitativa que existem agentes com grande potencial para o uso de forma integrada com os métodos de controle convencionais ou até mesmo como método exclusivo dependendo da situação.

O uso de predadores não é algo novo no controle de larvas de mosquito, mas foi deixado de lado com o uso de defensivos químicos.

8.1 COPÉPODOS

Copépodos predadores são um método promissor como controle alternativo em populações larvárias, principalmente em condições naturais, pois em laboratório já demonstram bons resultados.

Os copépodos podem ser importantes ao lado de outros métodos de controle no manejo integrado de mosquitos. Tratamentos apenas com copépodos podem a longo prazo controlar algumas espécies de mosquitos, mas o seu uso requer considerações e maior conhecimento de seus efeitos sobre o ambiente. Apenas alguns tipos de criadouros são apropriados para a introdução desse tipo de biocontrole, é necessário o uso de

espécies que adaptem ao criadouro e as suas alterações climáticas entre outros fatores. (MARTEN,1993).

Os copépodos do gênero *Mesocyclops* são os mais estudados, sendo eficientes contra as principais espécies vetoras. Três espécies tem recebido maior atenção: *Macrocyclus albidus*, *Mesocyclops aspericornis* e *Mesocyclops longisetus*, esta última tem sido apontada como a mais efetiva não só pela sua voracidade de predação, como também pela sua capacidade de sobrevivência na ausência de larvas de mosquito.

MARTEN, 1990 avaliaram seis espécies de copépodos no laboratório e em campo. O copépodo *Macrocyclus albidus* teve maior ação predatória eliminando todas as espécies de larvas de *Aedes*, seguido do *Mesocyclops longisetus*, *M. ruttineri*, *M. edax*, *Acanthocyclops vernalis* e *Diacyclops navus*. A julgar pelo desempenho nesse *Macrocyclus albidus* e *Mesocyclops longisetus* podem ser considerados com potencial uso no controle de larvas de mosquitos *Aedes sp.* em pneus.

MARTEN, 1990 introduziu em duas pilhas de pneus o copépodo *Macrocyclus albidus* que eliminou 100% das larvas de *Aedes albopictus* em 2 meses, durante este período os adultos também desapareceram mas este fato pode estar ligado a diapausa dos mosquitos durante o período de inverno, que se realizou o estudo.

ANDREADIS e GERE, 1992 avaliaram a associação entre 3 espécies de copépodos *Mesocyclops venezolanus*, *M. longisetus* e *M.aspericornis* com larvas do mosquito *Anopheles albimanus*. Em laboratório as espécies de copépodos predaram larvas de 1º estágio, concluindo que copépodos do gênero *Mesocyclops* podem ser usados no controle de larvas de mosquitos do gênero *Anopheles*.

ANDREADIS e GERE, 1992 reportaram o efeito predatório de duas espécies de copépodos *Acanthocyclops vernalis* e *Diacyclops bicucpidatus thomasi* contra *Aedes canadensis* e *Aedes stimulans* em laboratório. Seus resultados sugerem que onde há uma abundância de outras fontes de alimentos nenhuma das duas espécies de copépodos desempenha seu papel na redução da população larvária.

SCHREIBER e col, 1993 examinaram a capacidade de duas espécies de copépodos *Acanthocyclops vernalis* e *Mesocyclops longisetus* para redução de larvas de *Aedes albopictus* em pneus. A redução da população larvária foi gradual, sendo que em 12 semanas *A. vernais* desapareceu. Em 18 semanas a redução nos tratamentos com *M. longisetus* foi de 50%, demonstrando ser eficaz até mesmo durante o inverno.

TIETZE e col, 1994 avaliaram os efeitos da integração d *Mesocyclops longisetus*, com três agentes “bioracionais” *Bacillus thurigiensis* var. *israelensis* (B.t.i.), *Bacillus sphaericus* (B.s.) e o methoprene (regulador de crescimento). Este estudo determinou que o copépodo é compatível com B.t.i. e B.s. e methoprene nas concentrações determinadas para o controle do mosquito.

SANTOS, ANDRADE E CARVALHO, 1996 utilizaram copépodo *Mesocyclops longisetus* no controle de larvas de *Aedes albopictus* em armadilhas no campus da UNICAMP e obtiveram resultados de até 99,2% de redução nessa população. Os autores sugerem a aplicação do método para ambientes limitados como: parques, condomínios, escolas, cemitérios, etc.

SCHREIBER e col, 1996, observaram os efeitos do *Mesocyclops longisetus* em mosquitos que habitavam pneus verificando a influência dessa espécie nesse tipo de criadouro. Obtiveram um predomínio de *Aedes albopictus* (88%) em seguida *Culex*

quinquefasciatus, *Culex salinarius* e *Anopheles crucians*. Afirmam que *M. longisetus* introduzidos em pneus reduzem as larvas de mosquitos durante a maior parte do ano.

RAWLINS e col, 1997 avaliaram em laboratório o consumo larval de copépodos e sua integração aos programas de controle que utilizam o controle químico com Temephos. Quanto à capacidade predatória os mais representativos foram os gêneros *Macrocyclus* e *Mesocyclops* contra larvas de mosquitos *Aedes sp* e *Culex sp*, demonstrando que há espécies de copépodos capazes de sozinhos ou associados a inseticidas organofosforados controlar larvas de *Aedes aegypti*, pois são tolerantes a dosagens de inseticidas normalmente tóxicas para os mosquitos.

SCHAPER e col, 1998 em experimentos de laboratório demonstraram que o copépodo *Mesocyclops thermocyclopoides* é capaz de eliminar 7 larvas de *Aedes aegypti* por dia. Nestas condições *M. thermocyclopoides* é uma espécie predadora para larvas de *Ae. Aegypti* podendo ser usado satisfatoriamente como controle biológico.

ESCALANTE e col, 1998 em trabalho de campo determinaram a efetiva redução de *Aedes aegypti* por *Mesocyclops longisetus* em caixas d'água, pneus e vasos de cemitérios. A redução foi de 37,5% em caixas, 67,5% em vasos e 40,9% em pneus, demonstrando dificuldades no uso de copépodos para pneus e caixas por serem locais onde há maior exposição ao clima reduzindo a sobrevivência.

MARTEN e col, 2000 investigaram a interação ecológica de 3 espécies de copépodos *Macrocyclus albidus*, *Acanthocyclops vernalis* e *Megacyclus latipes* contra *Culex quinquefasciatus* em água poluída. Em condições de laboratório as espécies mataram um número substancial de larvas, porém em condições de campo a poluição

não só cria mas também estoca bactérias que alimentam as larvas como também excluem seus predadores naturais, dificultando o controle.

8.2 PEIXES

Os peixes tem uma pequena, mas importante parcela no programas de controle de mosquitos. Os programas incluem a compreensão da biologia dos peixes adultos e monitoramento de suas larvas, o uso de larvicidas em um programa integrado com métodos químicos e biológicos, como um reforço contra as espécies vetoras (BOKLUND, 1997).

Várias agências de saúde tem reconhecido que os peixes larvívoros são importantes como agentes no biocontrole de mosquitos (NELSON e KEENAN, 1992).

Na Califórnia, alguns estudos demonstraram que os peixes são altamente efetivos no controle no número de larvas de alguns criadouros e moderadamente efetivos ou ineficientes em outros. O uso mais importante de peixes é em criadouros semi-permanentes.

A espécie mais estudada é *Gambusia affinis*, conhecido como “mosquitofish”, nativo das Américas do Norte e Central, a sua eficiência como agente de controle depende de fatores como: abundância de vegetação, relativa abundância de presas, número de predadores e fatores bióticos que afetam sua reprodução como a fecundidade e a sazonalidade dos criadouros (OFFILL e WLATON, 1999). Em lugares com água

com alto teor de resíduos e intensa contaminação que impedem que outras espécies de peixes possam viver e exercer um controle efetivo, a espécie mais promissora é *Poecilia reticulata*.

Um dos problemas relacionados à utilização de peixes é a sua baixa fecundidade, dificultando sua produção em massa em campo.

MULLIGAN e col, 1983 investigaram eficiência predatória e a sobrevivência potencial de *Gambusia affinis*, por 14 semanas durante o verão. Esta espécie foi efetiva reduzindo o numero da população de adultos de *Culex quinquefasciatus*. Na região tratada houve redução de 75,89 e 94% nas áreas com peixe. Esta espécies de peixe sobrevive em condições de “esgoto” e efetivamente suprimiu a produção de mosquitos. Se usada em lugares fechados em áreas de produção continua de água contaminada, pode ser um importante componente nos programas integrados em determinados criadouros.

TODD e GIGLIOLI, 1983 monitoraram por 3 anos o numero de *Gambusia puncticulada* e outro peixe fluvial, assim como a ocorrência de *Aedes taeniorhynchus*. Os peixes fluviais foram incapazes de controlar os mosquitos, devido aos efeitos da inundação: 1) mediata incubação dos ovos; 2) diluição da população de peixes e 3) demorado aumento do numero de *G.puncticulada* e a falta de aumento entre outras espécies peixes.

VARGAS e VARGAS, 1985 avaliaram em laboratório a ação predadora do peixe *Priapichthys annectens* sobre as larvas de culicídeos. Ao examinar o conteúdo intestinal desses peixes observaram uma baixa população de insetos. Seus resultados foram influenciados por fatores externos como volume da água, cor do recipiente, quantidade

de oxigênio e erros de manejo. As larvas mais ativas foram predadas mais rapidamente. Em condições naturais a eficiência do peixe foi maior, sendo assim em seu habitat natural pode servir como um controle adequado de larvas de culicídeos.

MIAN e col, 1986 utilizaram a associação de três agentes de biocontrole o copépodo *Mesocyclops leuckarti pilosa* e duas espécies de peixes *Cyprinodon macularis* e *Poecilia reticulata* e avaliaram seu potencial predatório sobre larvas de mosquitos *Aedes aegypti* em condições de laboratório com água de esgoto. O copépodo não foi afetado pelas condições da água de esgoto, o que não alterou sua ação predatória. No entanto, esses peixes demonstraram um potencial de controle, já que apresentaram boa sobrevivência e crescimento populacional em água de esgoto durante os meses de atividade do mosquito, as alterações climáticas durante os meses de inverno podem alterar a sobrevivência dessas espécies por isso recomendam ser mais bem avaliadas, assim como o aumento da poluição.

CECH, jr e LINDEN, 1987 compararam a habilidade dos peixes *Orthodon microlepidotus* e *Gambusia affinis* contra larvas de mosquitos. Os resultados mostraram que *O.microlepidotus* apresentou menor predação, concluindo que o peixe *G.affinis* é mais eficaz, apesar da densidade larvária poder ter afetado esse resultado. Houve também uma diminuição no número de larvas do grupo controle que pode ser atribuído a predadores invertebrados, alterando assim sua comparação com o grupo tratado com *O.microlepdotus*.

HOLCK e MEEK, 1987 avaliaram a toxicidade e selecionaram inseticidas sobre o peixe *Procambarus clarkii* e três espécies de mosquitos *Anopheles quadrimaculatus*, *Culex salinarius* e *Psorophora columbiae*. Demonstrando que os

inseticidas são tóxicos para o peixe, já os bioagentes de controle *Bacillus sphaericus* e *Bacillus thuringiensis var. israelensis*, não demonstraram ser tóxicos para essa espécie de peixe.

KRAMER e col, 1987 avaliaram o impacto do peixe *Gambusia affinis* sobre a densidade larvaria de *Culex tarsalis*, *Anopheles freeborni* e *Anopheles franciscanus*, não havendo diferença significativa entre o grupo controle e o tratamento essa espécie de peixes.

FONSECA e col, 1988 testaram a efetividade biorreguladora do peixe *Poecilia reticulata* em condições de laboratório, quanto à preferência alimentar entre os estágios larvais II e III dos mosquitos *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. Avaliaram ainda sua capacidade predadora em função do sexo, tamanho, presença e ausência de vegetação. Os autores mostraram um maior consumo de larvas diárias pelos peixes maiores tanto em machos como em fêmeas. Todos os experimentos apresentaram um maior consumo de larvas de *Ae. Aegypti*, e na presenças de vegetação.

LINDEN e CECH jr, 1990 investigaram os efeitos da vegetação e a presença de presas alternativas a ação predatória de *Gambusia affinis* sobre imaturos de *Culex tarsalis*. Mesmo na presença de vegetação, as larvas do mosquito foram consumidas em grande número demonstrando uma seleção no consumo de presas. Os autores demonstraram também que a presenças de outras presas mais acessíveis pode diminuir a predação das larvas de mosquito, mas não elimina-la totalmente.

AVILA e col, 1991 obtiveram resultados satisfatórios quando em condições naturais introduziram o peixe *Poecilia reticulata* em 4 reservatórios de água contaminada, avaliando a capacidade biorreguladora sobre larvas de *Culex*

quinquefasciatus. Essa espécie pode viver com êxito nesses reservatórios, apresentando tanto em laboratório como em campo uma grande voracidade por larvas de todos os estágios e pupas demonstrando que podem constituir uma arma poderosa na luta contra os mosquitos.

LOUNIBOS e col, 1992 descreveram peixes nativos do sul da Flórida predadores de larvas de mosquitos *Mansonia sp.* Em experimentos, em tanques e pequenos reservatórios demonstraram que o peixe *Gambusia holbrooki* reduz as densidades de larvas de mosquitos.

NELSON e KEENAN, 1992 compararam a eficiência de duas espécies de *Fundulus zebrinus* e *Gambusia affinis*, e sua associação em testes de campo, demonstrando que associados controlam as larvas, ressaltando as vantagens de que peixes não geram resistência.

RAWLINS e col, 1993 investigaram o consumo de larvas de *Aedes aegypti* por *Poecilia reticulata* em pequenos containers em laboratório e em tambores no campo. Observando que o consumo médio do adulto é de 100-400 larvas/dia, já o imaturo 90-140 larvas/dia em condições artificiais. Em condições naturais esse consumo foi de 550 larvas/dia para o adulto e 113 larvas/dia para o imaturo. A habilidade desse peixe em sobreviver e prosperar em criadouros expostos diretamente a luz solar, elevadas temperaturas e alterações mecânicas diárias, o fazem um bom agente para o controle de populações larvárias.

OFFIL e WALTON, 1999 compararam os peixes *Gasterosteus aculeatus* e *Gambusia affinis* como agentes de controle. *G. aculeatus* foi menos efetivo que *G. affinis* na redução de populações de mosquitos imaturos. Juntas as duas espécies não

foram eficientes no controle. Em condições naturais não foram representativas, quanto a sua ação de controle, necessitando de maior investigação para obter resultados mais conclusivos.

8.3 OUTROS INVERTEBRADOS

Vários filos de invertebrados tem recebido atenção, quanto a seu papel de inimigos naturais de larvas de diversas espécies de mosquitos.

Artrópodes predadores tem recebido muito interesse em seu papel de inimigos naturais de imaturos de mosquitos, mas raramente tem progresso como agentes de controle biológico (COLLINS e WASHINO, 1985 in TIETEZE e MULLA, 1991).

Em contraste com a maioria dos insetos predadores, o camarão produz ovos resistentes a dissecação, uma adaptação ecológica para corpos temporários de água. (TIETZE e MULLA, 1990). Isso pode facilitar sua aplicação.

Uma promissora ferramenta nos programas manejo integrado é o uso de planárias, por serem eficientes predadores de larvas de mosquitos. Possuem alta produção, fácil manutenção e dispersão em campo. Possuem alta tolerância para pesticidas incluindo reguladores de crescimento e *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (B.t.i) (MELLO e ANDRADE, 2001).

A classe de insetos mais distintos habitantes da superfície da água dos criadouros são os hemípteros. Eles são pequenos e de fácil percepção. O gênero *Microvelia* tem sido conhecido por predação uma variedade de pequenos organismos em seu habitat,

demonstrando que também as larvas de mosquitos podem ser suas presas (MIURA e TAKAHASHI,1988).

Algumas espécies do mosquito *Toxorhynchites* tem suas larvas avaliadas quanto à ação predatória e seu canibalismo. Essa ação canibal é caracterizada por matar a presa, mas não consumi-la.

LACEY e DAME, 1982 determinaram em laboratório o efeito do *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sobre larvas de *Toxorhynchites rutilus*, na presença e ausência de presas. A mortalidade chegou a 98%, dez dias após a exposição na maior concentração do larvicida. Pesquisas adicionais permitirão avaliara melhor os efeitos dessa bactéria sobre esse gênero de mosquito em condições de campo, uma vez que sejam avaliados já que se tratam de candidatos ao controle integrado de mosquitos.

FOCKS e col, 1983 *Toxorhynchites rutilus* uma espécie de mosquitos predador de larvas em habitats naturais e artificiais como pneus descartados e buracos de arvores. Após a liberação em área urbana a oviposição desse predador foi observada em criadouros de *Aedes aegypti*. A preferência desta espécie silvestre por buracos de arvores para oviposição reduz a habilidade para criadouros artificiais e conseqüentemente seu sucesso para controle urbano de criadouros de mosquitos.

GEORGE e col, 1983 realizaram testes de laboratório com planarias avaliando seu potencial de controle em mosquitos, obtiveram resultados significantes com redução de até 81% em larvas de *Culex sp.*, sendo a redução media de 74%. A emergência dos adultos foi reduzida em media 80.89 e 88% de acordo com a quantidade de planarias colocadas em cada tratamento.

ALI e MULLA, 1983 a eficiência predatória da planária *Dugesia dorotocephala*, contra populações de mosquitos foi avaliada durante os verões de 1975, 1976 e 1977. a redução máxima a cada verão foi de 52,3, 58,3 e 73% respectivamente. As planárias introduzidas nos criadouros persistiram em toda a parte em cada período avaliado, e demonstraram fraco aumento populacional, mas este aumento foi inconsistente e não proporcional à densidade inicial da inoculação.

CASTNER e BAILEY, 1984 os níveis de predação foram testados em laboratório para determinar os efeitos imediatos a longo prazo das larvas *Toxorhynchites amboinensis* sobre populações de *Aedes aegypti*, não havendo uma significativa redução na emergência dos adultos em até 2 semanas após a introdução do predador. Os níveis de controle obtidos na 2ª e 3ª semana após a introdução foi proporcional ao número de larvas predadoras originalmente introduzidas. A adição de um predador por semana teve um melhor controle durante a 4ª semana após a introdução do predador. CÔNSOLI e col, 1984 avaliaram a atividade predatória, em laboratório, de *Heobdella triserialis lineata* (Hemiptera: Belostomatidae) sobre ovos, larvas e pupas de *Aedes fluviatilis* e *Culex quinquefasciatus*. Foi observada apenas predação de larvas e pupas. Houve uma menor oviposição das fêmeas de *C. quinquefasciatus* em recipientes que continham os hirudíneos.

MIJARES e BROCHE, 1985 avaliaram tanto em laboratório como em condições naturais coleópteros aquáticos (*Dytiscidae sp*, *hydrophilidae sp*, *D. longimanus*) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* estimaram quantitativamente os efeitos da predação sobre a redução e regulação do número de larvas de mosquito. Tanto no laboratório como em campo observou-se redução na população de larvas como os coleópteros ,

porém esta redução está diretamente ligada a densidade dos predadores, não desconsiderando a possibilidade de utilização no controle.

RUSSO, 1986 comparou a ação predadora de larvas de 5 espécies de *Toxorhynchites* sobre larvas de outras espécies de mosquitos. Observando que a predação está diretamente relacionada com a densidade de presas. A diferença entre a intensidade de larvas mortas entre as espécies testadas pode estar relacionada com a densidade de presas e a competição por comida.

MIURA e TAKAHASHI, 1988 determinaram a ação predatória das ninfas do inseto aquático *Enallagma civile* sobre larvas de *Culex tarsalis*, demonstrando que os últimos estágios de *E. civile* são capazes de predar larvas de 3º estágio da espécie alvo predando 6,06 larvas/dia. Houve uma correlação positiva entre a densidade e o consumo de presas, porém quando houve um grande aumento no numero de predadores essa relação passou a ser inversa entre a densidade do predador e o consumo de presas, ou seja quanto maior a densidade de predador menor será seu consumo, que interferiu diretamente em sua capacidade de controle.

MIURA e TAKAHASHI, 1988 introduziram 2 machos e 2 fêmeas adultos do hemíptera *Microvelia pulchella* em recipientes com 2 litros de água contendo larvas de mosquitos, demonstrando que *M. pulchella* não só é capaz de predar, mas também sobrevive e pode reproduzir em criadouros de mosquitos tendo as larvas de mosquitos como alimento.

SHERRATT e TIKASINGH, 1989 investigaram em laboratório a predação de *Aedes aegypti* por *Toxorhynchites moctezuma* e observaram que as larvas de 2º e 4º

estágio de *T.moctezuma* consomem larvas mais jovens, quando cada estágio foi oferecido isoladamente. Indicando ser um promissor agente de biocontrole.

CONSOLI e col, 1989 avaliaram em laboratório a ação predatória de ninfas de 1º a 5º estágios e adultos do hemiptera aquático *Belostoma micantulum* sobre larvas de 4 estágio e pupas de *Aedes fluviatilis* na presença e ausência de um pequeno molusco *Biomphalaria glabrata*. Observaram que as larvas de 5º estágio demonstraram maior predação sobre larvas e pupas de mosquitos não tendo interferência do molusco citado, indicando que a presença de outra presa não altera sua ação predatória. Em seguida observou-se a predação do adulto na ausência do molusco. Os estágios mais jovens tiveram uma menor predação, recomendam um maior estudo sobre a biologia do hemiptera e testes de campo.

TIETZE e MULLA, 1990 investigaram o efeito do camarão *Triops longicaudatus*, que produziu uma significativa redução na população de imaturos e adultos estocados do mosquito *Culex tarsalis*.

TIETZE e MULLA, 1991 em estudos de laboratório e campo descreveram os efeitos do camarão *Triops longicaudatus* na oviposição e no desenvolvimento de mosquitos imaturos *Culex* sp. Observaram que a agitação da água com o camarão diminui a oviposição das fêmeas de *Culex quinquefasciatus*. Quando comparados ao controle, os testes de campo com camarão tiveram mais que 95% de controle de larvas de quarto estágio e pupas em 10 dias. Naturalmente a alta fecundidade junto à resistência ao calor dos ovos fizeram do camarão um atraente agente de controle em águas quentes. Sugerem uma maior investigação de técnicas de produção em massa, coleta, aplicação para validar esse potencial agente de controle.

LEE e col, 1994 em cinco experimentos de laboratório para determinar se a formiga *Solenopsis invicta* preda ovos do mosquito *Psorophora comlumbiae* e se essa predação é efetiva nos estágios embrionários, e se ocorre alguma alteração na oviposição do mosquito em diferentes tipos de substratos com diferentes temperaturas. Essas formigas comem os ovos dos mosquitos. Eles concluíram que a formiga *S. invicta* é potencialmente um predador de ovos *P. comlumbiae*. A temperatura é provavelmente o fator mais importante na ação predadora da formiga.

MELO e ANDRADE, 2001 observaram a predação da planaria *Dugesia tigrina* sobre larvas de *Aedes albopictus* e *Culex quinquefasciatus*. A planaria mostrou-se eficiente sobre larvas 1^o, 2^o e 3^o a predação foi mais intensa durante 1-4 dias, *Culex quinquefasciatus* foi mais rapidamente predado que *Ae. aegypti* que reagiu a planaria, resultando em maior sucesso em escapar do ataque do predador.

9. PARASITISMO

A ação parasitaria pode ser comparada aos inseticidas reguladores de crescimento, já que impedem que a larva complete seu desenvolvimento.

O controle microbiano não é substituto do controle químico, mas o que se pode afirmar é que ambos podem conviver simultaneamente; nesta tentativa, alguns conceitos do manejo da praga têm sido tentados, mas sua utilização ainda deixa muito a desejar. O que podemos evidenciar é que muitas vezes a habilidade patogênica em condições de laboratório é suplementada pela habilidade de sobrevivência às condições do meio ambiente (MESSIAS, 1989).

Uma das áreas de investigação de agente de controle de mosquitos envolvem a inoculação de micróbios para alcançar extensivos períodos de controle. Existem grupos importantes de organismos para esta finalidade como: nematóides, microsporídia e fungo (BECNEL, 1992).

9.1 NEMATODOS

Os nematodos (Nematoda: Mermithidae) são indicados como promissores agentes de controle biológico de mosquitos, pois são endoparasitos obrigatórios que completam seu desenvolvimento no interior de seus hospedeiros que podem ser larvas de mosquitos (Diptera: Culicidae) (MIJARES e col, 2000). No seu estado infectivo pré-parasita o nematodo deve encontrar um hospedeiro adequado entre 72 a 96 horas após a eclosão dos ovos. O parasita penetra na larva perfurando sua cutícula com seu estilete.

Depois de 5-6 dias de desenvolvimento emergem as formas posparasitas, que matam as larvas hospedeiras em 4º estágio de desenvolvimento. As formas posparasitas necessitam de um substrato úmido para mudar e reproduzir (MIJARES e BELLINI, 2000). Algumas espécies de nematodas diferem quanto a completar o desenvolvimento em larvas ou estágio adulto de seus hospedeiros (BLACKMORE e col, 1993).

Algumas espécies de nematodas tem demonstrando ser eficazes no controle de larvas de mosquitos em condições de laboratório e campo, demonstrando serem capazes de reduzir as altas densidades de larvas de mosquitos dos gêneros *Anopheles*, *Aedes* e *Culex* em condições de campo (MIJARES e BELLINI, 2000).

As espécies mais estudada são *Romanomermis culicivorax* e *R. iyengari* avaliadas com alternativas para os programas de controle químico, tem incluído estudos de fatores que afetam a estabilidade e eficácia desses agentes em diferentes habitats. Entre esses fatores estão água, temperatura e química, abundância de predadores invertebrados, aplicação de herbicidas e pesticidas (MIJARES e PACHECO, 1997).

Alguns estudos foram feitos para elucidar a biologia dos nematodas, mas relativamente pequenos esforços têm sido feito para examinar a dinâmica das interações entre nematodas e seus hospedeiros em populações naturais (BLACKMORE e NIELSEN, 1990).

NAYAR e col.,1984 testaram a suscetibilidade de mosquitos, ao nematoda *Brugia patee*, descrito comumente no sistema linfático de cães e gatos, demonstrando que esse parasita se desenvolveu em larvas de *Aedes aegypti*, suportando o desenvolvimento de alguns nematodas desse gênero.

WALKER e col., 1985 avaliaram o uso do *Romanomermis culivorax* como componente do Manejo Integrado de *Psorophora columbiae* como espécie alvo. A porcentagem de parasitismo após um período de 22 meses variou ate 54,1%. O parasita não demonstrou poder ser usado como um meio único de controle, nas condições de estudo, pois a infecção maior de 54%, obtida nesse estudo não e aceitável em programas de controle, como única técnica. De qualquer modo o controle integrado dever ser implementado incluindo produtos químicos, agentes de biocontrole e estratégias de manejo da água para aumentar o sucesso do controle.

MIDDAUGH e col., 1985 a eficácia de jovens *Menidia beryllina*, de 20-22 e 31-33 dias de idade para o controle de larvas de mosquitos foi determinado em laboratório com larvas de 1º e 2º estagio de *Aedes taeniorhynchus*. Os tratamentos de campo determinaram a eficácia sobre *Culex quinquefasciatus*. Além de demonstrar ser uma promissora medida de controle para larvas de mosquitos, seu crescimento observado em habitats de água salgada e sua alta capacidade reprodução sugerem *M.beryllina* tem potencial equivalente a de um peixe carnívoro.

WALKER e col., 1987 em laboratório testaram o potencial de regulação de *Ascogregaria barreti* como parasita de *Aedes triseatus*, observaram que apesar de severamente infectadas, as fêmeas de mosquito prolongaram seu tempo de desenvolvimento quando comparado as não infectadas. Em condições de campo a infecção não afetou a emergência, tempo de desenvolvimento ou o tamanho do mosquito, levando a concluírem que este parasita não tem potencial como agente de controle dessa espécie de mosquito.

REARDON e LUNT, 1989 capturaram 1736 mosquitos de 11 espécies, para investigar a possibilidade de parasitismo por nematodas. Observaram a presença de nematodas parasitas em 13 *Aedes vexans*, indicando uma possibilidade para o controle.

BLACKMORE e NIELSEN, 1990 coletaram larvas de *Aedes sp.* infectadas por *Romanomermis sp.* *Aedes nevadensis*, *Ae. impiger*, *Ae. pullatus* e *Ae. Puncator* foram as espécies hospedeiras predominantes. O parasitismo foi de 55 a 93% havendo diferença significativa entre os locais de coleta.

KENNY e RUBER, 1991 examinaram 792 larvas e 12.400 adultos do mosquito *Coquillettidia perturbans* em relação a infecção por nematodas. Não foi verificado nos adultos, nem em larvas essa infecção, apenas em 3 larvas coletadas entre os meses de setembro e outubro, segundo a Segunda ocorrência natural reportada nessa espécie de mosquito.

BLACKMORE e col., 1993 observaram a ocorrência de parasitas em 11 espécies de mosquitos. Os hospedeiros naturais de nematodeos (Nematoda: Mermithidae) incluem *Aedes vexans*, *Ae. canadensis*, *Ae. cinereus*, *Ae. diantaeus*, *Ae. punctator*, *Anopheles punctipennis* e *Coquillettidia perturbans* e larvas de *Ae. abserratus*, *Ae. canadensis*, *Ae. cinereus*, *Ae. communis*, *Ae. diantaeus*, *Ae. provocans*, *Ae. punctator*, *Ae. stimulans* e *Cq. perturbans*.

GARCIA e BECNEL, 1994 infectaram com gregarina *Ascogregaria taiwanensis* oito espécies de larvas de mosquitos testadas em laboratório, havendo uma prevalência natural de 68-100%, durante o experimento. O parasita não completa seu ciclo de vida no *Aedes aegypti*. As diferenças entre o parasitismo podem estar relacionadas a área de

estudo. Houve uma maior infectividade no inverno, pois no verão há uma redução na viabilidade desse parasita com o aumento da temperatura. Baseado nesse estudo concluem que o parasita teve um pequeno impacto na mortalidade nas condições testadas, em outras condições podem diferir em patogenicidade e especificidade em seu hospedeiro.

MIJARES e col., 1996 determinaram a suscetibilidade dos diferentes estágios larvais e o nível de controle de *Aedes taeniorhynchus* pela forma pré-parasita *Romanomermis iyengari*, que se mostrou eficiente, porém a salinidade pode afetar essa ação em condições naturais. A maior taxa de parasitismo ocorreu no 1º e 2º estágios 100-97% e do 3º ao 5º foi maior que 90%. Houve redução até 8 dias após o tratamento.

MIJARES e PACHECO, 1997 estabeleceram a redução da população de larvas de mosquitos em laboratório pelo nematoda *Romanomermis culivovorax* em água de esgoto. Os anofelinos foram os mais suscetíveis ao parasitismo que os culicíneos. Os resultados, bem como a forte propensão para estabilidade natural e reciclagem dessa espécie de nematodo, indicaram ser um promissor agente de controle biológico contra imaturos de mosquitos em seus criadouros.

PACHECO e col., 1998 realizaram um estudo com larvas de *Anopheles pseudopunctipennis*, em condições de laboratório e campo para avaliar os níveis de suscetibilidade ao parasitismo pelo nematodo *Romanomermis iyengari*, os resultados foram similares para os dois testes com elevados níveis de infecção com valores 90-100% em laboratório e 85-95% no campo. Observaram redução das densidades larvárias 7 dias após a aplicação, demonstrando uma elevada suscetibilidade desta espécie de anofelino ao parasitismo por nematodas.

MIJARES e BELLINI, 2000 em laboratório e em campo, aplicaram o nematoda *Romanomermis iyengari*, os resultados nas duas condições foram similares indicando uma maior suscetibilidade ao parasitismo das larvas I a III, que pode ser devido ao menor espessura da cutícula- quitina. As taxas de parasitismo alcançaram 100%. Sua ação foi comparada aos inseticidas químicos como os hormônios inibidores de crescimento ou de síntese de quitina, demonstrou-se inofensivo aos demais habitantes do criadouro.

MIJARES e col., 2000 avaliaram o parasitismo pelo nematoda *Romanomermis culicivorax* em laboratório e em campo, obtendo resultados similares, nas duas condições, havendo um maior parasitismo das larvas mais jovens, e quanto maior a proporção de parasitas maior a infectividade. Observaram também o parasitismo de pupas e que o desenvolvimento desse parasita pode prolongar-se pela vida adulta do mosquito. Apresentaram resultados satisfatórios, chegando em alguns testes a eficácia de 100%, porém maiores estudos devem ser realizados antes que se recomende a aplicação.

9.2 MICROSPORIDIO

Microsporídia são alguns dos mais comuns patógenos de mosquitos, sendo um agente de controle biológico manipulável.

UNDEEEN e DAME, 1987 reportaram o efeito de *Vararia culicis* e *Nosema algarae* sobre *Anopheles quadrimaculatus* e *Culex quinquefasciatus*. A mortalidade das larvas foi maior em reservatórios naturais que em laboratório. Os testes demonstraram que houve mortalidade associada ao método utilizado, de eliminação e estimativa da população, assim os resultados de laboratório podem ter sido influenciados pela metodologia.

ANDREADIS, 1989 utilizou a infecção com *Amblyospora connecticus* e liberados pelo hospedeiro intermediário o copépodo *Acanthocyclops vernalis* em tambores de água, demonstrando uma relação positiva entre em populações de *Aedes cantator*. Concluem que este estudo representa um progresso rumo a efetiva utilização de parasitas microsporídios de ocorrência natural, ajudar a suprimir mosquitos hospedeiros. Copépodos infectados podem ser usados para infectar populações de mosquitos suscetíveis, sendo necessário maiores estudos sobre o emprego específico.

9.3 FUNGOS

A utilização de fungos para o controle de insetos está fundamentada na capacidade que esses têm de infectar os insetos e lhes causar doença e morte, num processo que depende de fatores bióticos e abióticos, descritos pela primeira vez em 1835, por Agostinho Bassi, que teve sua utilização proposta como controladores alternativos de pragas em 1879 por Metchnikoff (MESSIAS, 1989).

Os fungos penetram direto na cutícula da larva, onde uma sequência de eventos de desenvolvimento produz esporângios e matam o hospedeiro completando o ciclo (BECNELL, 1992). A morte da larva ocorre porque o fungo rouba seus nutrientes, esse fungo é capaz de se reciclar (HORBY e col., 1992).

Por possuírem hospedeiros específicos, as larvas, os fungos tem atributos para serem considerados agentes de controle, podem ser produzidos comercialmente, tem bom ciclo vital e pode ser aplicado por métodos e equipamentos usados para larvicidas químicos líquidos (HORBY, e col., 1992).

Para o desenvolvimento dos como biorreguladores são necessários estudos de ordem genética, produção em larga escala, formulações, bioensaios, avaliações de campo como dosagem, épocas de aplicações, que devem ser conduzidas num esforço conjunto de entomologistas, microbiologistas, geneticistas, bioestatísticos, fitopatologistas e outros pesquisadores (MESSIAS, 1989).

Para que os métodos de melhoramento genético possam ser utilizados, há necessidade de um amplo conhecimento da biologia dos fungos a serem melhorados,

essencialmente dos processos de recombinação que ocorrem nesses fungos. Além da utilização da variabilidade natural já existente na espécie, e do isolamento de mutantes espontâneos ou induzidos, o perfeito conhecimento dos sistemas de recombinação existentes é requisito essencial para que o melhoramento genético possa ser aplicado (AZEVEDO, 1989).

Uma das espécies mais estudadas é o *Lagenidium giganteum*, que tem demonstrado eficácia suficiente em alguns estudos que lhe garante consideração como uma alternativa para o controle químico de larvas. O interesse nesses fungos está na habilidade de persistirem a rigorosos invernos com variações no meio ambiente, incluindo variações na densidade de mosquitos hospedeiros (GUZMAN e AXTELL, 1987).

JARONSKI e AXTELL, 1982 determinaram a eficácia de *Lagenidium giganteus* em águas organicamente poluídas usando uma escala piloto, para identificar componentes específicos da poluição orgânica que limitam a transmissão do fungo, para desenvolver um modelo de efeito sobre a população eficiente contra larvas de *Culex quinquefasciatus*. Este fungo é efetivo em criadouros poluídos com matéria orgânica.

JARONSKI e AXTELL, 1983 introduziram isolados do fungo *Lagenidium giganteum* em criadouros naturais, semipermanentes e observaram a persistência do fungo e a infecção da larva durante o período de flutuação. Nos bioensaios houve 93% de infecção larval em água deionizada e 92% em água comum. Demonstraram que o fungo pode reciclar –se sendo bom agente de biocontrole, porém é necessário à promoção de estudos, após a aplicação artificial em condições variadas, para determinar se a persistência em longos períodos promoverá o controle de mosquitos.

KERWIN e WASHINO , 1986 testaram 2 métodos de aplicação em campo de culturas de fermentação nos estágios sexual e assexual de *Lagenidium giganteum* para o controle de mosquitos. A aplicação do estágio assexual resultou em altos níveis de controle imediato das larvas de *Culex tarsalis* e *Anopheles freeborni*. Devido a isso os autores indicam a possibilidade de uma ação conjunta com outros métodos de controle.

GUZMAN e AXTELL, 1987 determinaram experimentalmente os efeitos da inoculação de *Lagenidium giganteum* em água estagnada em populações de mosquitos imaturos *Culex quinquefasciatus*. O número de adultos emergidos durante 138 dias foi de 82% de redução nos criadouros tratados, durante as ultimas semanas de tratamento foi maior que 90%. A qualidade da água pode alterar os resultados. Uma baixa aplicação de *L.giganteum* em condições ambientais apropriadas pode ser uma alternativa quando diminuir a atividade de patógenos, levando a redução da população de larvas e aumentando o nível de patógenos no habitat.

AXTELL e GUZMAN, 1987 em laboratório testaram formulações de encapsulados nas fases sexual e assexual para infectividade do fungo em *Culex quinquefasciatus*. Sua produção é relativamente simples mas o tamanho das capsulas e o número de pré esporângios por cápsulas variou entre as porções. Em campo as larvas foram infectadas, ocorrendo uma gradual diminuição na densidade de larvas 2-7 dias após o tratamento. No tratamento de campo, não houve o efeito dose-mortalidade de larvas, mesmo com alto número de capsulas utilizadas. As variações nas condições naturais alteram o efeito obtido em laboratório. Estes experimentos demonstraram o habilidade do fungo no processo de encapsulação e a viabilidade persistente, em várias

formulações, porém maiores estudos devem ser realizados em relação ao preparo e as técnicas de estocagem para o seu uso.

GOETTEL, 1987 aplicou em criadouros semi-permanentes e temporários, o fungo *Tolypocladium cylindrosporum* avaliando como agente microbiano de controle de mosquitos. Cinco espécies de mosquitos foram infectadas. A razão de infecção foi maior que 33% para os blastoconidia e 55% para conidia. Isto especula que os mosquitos coletados em campo sucumbem ao fungo como resultado para o estress de transferencia para as condições de laboratório. Isto demonstra que não impede seu potencial como agente de controle microbiano.

GOETTEL, 1987 usou larvas de *Aedes aegypti*, *Aedes vexans* e *Culiseta inornata* para estudar a patogenicidade do fungos *Tolypocladium cylindrosporum* em cinco concentrações diferentes. Houve uma correlação entre a dosagem e a patogenicidade, as 3 espécies de mosquitos foram suscetíveis ao fungo em todas as temperaturas testadas, a média de tempo foi entre 3 e 14 dias, tendo sua virulência diminuída requerendo doses maciças, melhorar as para respostas. Concluiu que o método utilizado foi inadequado ao fungo testado necessitando de melhoramentos, para resultados mais conclusivos.

KERWIN e WASHINO, 1987 aplicaram o fungo parasita facultativo *Lagenidium giganteum* em larvas de mosquito em campos de arroz. As aplicações iniciais indicaram que 30 litros de fermentação d cerveja por hectare foi suficiente para o controle de *Culex tarsalis*. A maior aplicação resultou em 40% de infecção confirmada de *Culex tarsalis* e *Anopheles freeborni*, com o aumento da aplicação resultou em 90/5 de mortalidade inicial de *C.tarsalis* e *Afreeborni* e 65 % *Aedes melanimon*. Testes de campo

descreveram a viabilidade do uso de fermentação do estágio assexual desse fungo. A desvantagem do uso desse estágio do ciclo de vida do fungo é a inabilidade de resistir a dissecação ou abrasão e relativamente pequena estabilidade em estocar 2 a 8 semanas dependendo da produção e protocolos de estocagem. Todos os fatores como manutenção, cultura e estoque afetam a capacidade de esporulação do fungo e sua patogenicidade para as larvas. Cuidados e controle desses fatores citados otimizam a rotina de uso desses fungos.

WASHBURN e col., 1988 descobriram que a interação entre o protozoário parasita *Lambornella clarki* (Ciliophora:Tetrahymenidae) e o fungo parasita oportunista *Pythium flevoense* podem reduzir substancialmente o tamanho da população de larvas de *Aedes sierrensis*. Em contraste com outros grupos de patógenos de insetos que usualmente são ingeridos, fungos patogênicos penetram no tegumento do inseto e a cutícula é a maior barreira limitando doenças. As larvas morreram por infecções secundárias, isso possivelmente está correlacionado com a densidade de zoósporos na água. A competição intra específica das infecções secundárias afetam o número ou o tamanho dos mosquitos emergidos dessas interações pode ser a ligação do vetor potencial e seu hospedeiro, porém ressaltam que esta hipótese deve ser examinada em experimentos de laboratório.

KERWIN e WASHINO, 1988 avaliaram em campo *Lagenidium giganteum*, parasita facultativo de larvas de *Aedes melanimon*. As larvas hospedeiras foram mortas rapidamente em comparação com outros fungos entomopatogênicos, porque não é nocivo ao mosquito a menos que haja a emergência do adulto completo, o fungo usualmente tem mais tempo de desenvolvimento do que é necessário para obter controle

adequado do hospedeiro. Em contraste com, gentes biológicos que controlam insetos e plantas freqüentemente tem ação em um período curto para minimizar o perigo a planta. Este fungo permanece como um dos mais promissores agentes para operações de controle de mosquito.

KRAMER, 1990 realizou 6 bioensaios para avaliar a eficácia do fungo *Lagenidium giganteum* contra larvas de mosquitos. Os fungos infectaram larvas de 4 gêneros e produziram mortalidade maior que 90%. Fatores ligados a qualidade da água podem alterar a eficácia do fungo. Os bioensaios demonstraram que essa espécie de fungo tem potencial para o controle de espécies de mosquito com água relativamente limpa, podendo ser efetivos agentes de mortalidade em determinadas condições.

PATEL e col., 1990 testaram 6 diferentes tipos e concentrações de formulações e seu nível de infestação sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*, observando que a concentração, viscosidade e a forma de uso dos fungos alteram a infectividade das larvas. Os fungos em formulações encapsulados produziram similar infecção, mesmo em relação ao tempo de estocagem das cápsulas. A infectividade variou entre as formulações chegando até a 100%.

RUEDA e col., 1990 avaliou o fungo *Lagenidium giganteum* contra *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* em recipientes artificiais como pneus, madeira e containers de concreto, em todos os estágios larvários, demonstrando diferenças entre os estágios, entre as *C. quinquefasciatus* e *Ae. aegypti* e entre os tipos de criadouros respectivamente: pneus (55-45%), madeira (67-38%) e em container de concreto foi menor (17-14%), esse resultado pode estar relacionado com a qualidade da água, além

da idade das larvas, indicando a viabilidade do uso de fungos em programas de controle, ressaltando a necessidade de estudos sobre outras espécies de fungos.

CUEBAS-INCLE, 1992 demonstrou a infecção de mosquitos adultos *Aedes aegypti* pelo fungo entomopatogênico *Erynia conica*. Os cadáveres dos mosquitos produziram conidia que foi infectiva para outros adultos, apesar da infecção não ser maior que 12%, os mosquitos morreram com sinais de micoses, demonstrando a suscetibilidade do mosquito ao fungo, indicando que há potencial uso dessa espécie de fungo no controle de mosquitos, requerendo maiores estudos e esforços para implementação.

10. BACILLUS sp.

Com relação ao uso de bactérias do gênero *Bacillus*, conhecidas como produtoras de toxinas entomocidas, houve notável avanço a partir de 1977 com a descoberta e tipificação do *Bacillus thurigiensis var. israelensis*, de alta atividade larvicida para simúlídeos e culicídeos de vários gêneros; constatou-se a ação larvicida na maioria das espécies de interesse médico- veterinário, incluindo os gêneros *Anopheles*, *Culex*, *Aedes*, *Psorophora* e outras espécies silvestres. Também foi o caso do *Bacillus sphaericus*, a partir de 1979, para controle de culicídeos dos gêneros *Culex* e *Anopheles*, com grande atenção para a reciclagem no meio ambiente (NETO e OLIVEIRA, 1985).

Em geral, a alimentação das larvas de culicídeos consiste em microorganismos como bactérias, fungos, protozoários e detritos orgânicos animais ou vegetais. As verificações feitas em anofelinos e outros mosquitos levaram à conclusão de que o conteúdo intestinal representa amostra dos vários tipos de substâncias, partículas e microorganismos encontrados na água em que vivem as larvas. Este fato tem aplicação prática no uso de compostos larvicidas. Estes sob a forma de pó, quando espalhados na superfície da água e em vista da falta de seletividades, são ingeridos e exercem assim sua ação letal (FORATTINI, 1962).

Em relação à persistência ambiental nada se constatou até o presente, não ocorrendo multiplicação e acumulação na cadeia alimentar. Os cristais até provável degradação no meio, são protoxinas inertes, ativando-se apenas nos hospedeiros

específicos. O surgimento de resistência por seleção de *B.t.i* é improvável, segundo vários autores que realizaram experiências laboratoriais (NETO e OLIVEIRA, 1985).

Um fato revelado por HABIB, 1989 é a diferença de susceptibilidade, não apenas entre estádios larvários, mas também entre diferentes fases do mesmo estágio. Tal observação levou a recomendar o início do 4º estágio larval para os bioensaios de padronização.

A ação seletiva do produto biológico preservando os agentes naturais de controle aliada ao menor risco do manuseio, são importantes vantagens adicionais sobre o uso de produtos químicos.

Atualmente já se pode constatar em várias situações que a utilização deste controle biológico assemelha-se em termos de resultados imediatos aos inseticidas químicos mais eficazes, superando-os no entanto pela pouca possibilidade de selecionar resistentes e preservação de inimigos naturais, o que conduz a uma necessidade de utilização menos freqüente pela menor alteração do ecossistema (NETO e OLIVEIRA, 1985).

Atualmente, o mercado internacional conta com a comercialização de produtos em formulações de granulados, líquidos e pó molhável desses agentes, além de perspectivas de pastilhas efervescente. Tal facilidade, além da eficiência, da estabilidade e da segurança para a fauna não-alvo, aumenta consideravelmente o potencial uso desses patógeno e de seu uso em vários países do mundo. No Brasil, inclusive, alguns órgãos públicos de alguns Estados como São Paulo e Rio Grande do Sul já começaram usar tais produtos (HABIB, 1989).

Há necessidade de mais observações comparativas entre larvicidas químicos e biológicos para controle dos culicídeos nas diversas condições dos criadouros. Ainda que as formulações biológicas tenham inegável vantagens devido à segurança de uso e especificidade no meio, é necessário que se elucide a questão da eficiência dos programas. Para tal, temos que investigar excessivamente o possível efeito prolongado das aplicações, bem como a produção local a custos menores do que a atual importação (NETO e SILVEIRA, 1989).

A maior desvantagem econômica dos bacilos é a baixa estabilidade após a aplicação nos criadouros. O desempenho em campo é altamente influenciado pela presença de matéria orgânica sólida na água (MARGALIT e DEAN, 1985).

O futuro desses agentes está ligado ao melhoramento genético. Os esforços combinados de geneticistas, microbiologistas e entomologistas, promoveram o surgimento de uma nova estratégia de controle.

VAN ESSEN e HEMBREE, 1980 determinaram o efeito da idade das larvas de *Aedes aegypti* e *Aedes taeniorhynchus* e sua suscetibilidade ao *B.t.i*, em condições de laboratório. *Aedes aegypti* foi mais suscetível à bactéria que *Ae.taeniorhynchus* em todas as fases larvais. As larvas mais jovens de ambas espécies foram mais suscetíveis que as mais velhas. A comparação da suscetibilidade de varias espécies de mosquitos é dificultada pela diversidade de métodos de estudos, que reportam apenas a mortalidade. Um longo período de estudos seguido de perto é necessários para elucidar alguns fenômenos, como a redução da longevidade do adulto e a fecundidade dos indivíduos que sobreviverem ao tratamento.

MERRISN e AXTELL, 1983 investigaram uma formulação comercial de *B.t.i* no controle de larvas de *Aedes taeniorhynchus*. A aplicação da formulação produziu 100% de controle 1-2 dias após o tratamento. Sendo efetivo nas concentrações testadas, sendo necessário que se conheça uma concentração adequada para os criadouros a serem tratados.

MULLA e col., 1984 4 novas formulações de *B.s.* renderam excelente controle de mosquitos *Psorophora columbiae* e *Aedes nigromaculis*. As larvas de *P.columbiae* foram altamente suscetíveis ao larvicida microbiano, sendo por isso considerado como agente promissor de biocontrole.

McLAUGHLIN e VIDRINE, 1984 a dispersão de 3 formulações de *B.t.H-14* forma comparadas em testes de campo contra larvas de *Psorophora columbiae*, em águas de irrigação. Não houve diferença significativa na dispersão ocorrida ou na porcentagem total da área alagada. Este estudo resultou num novo método de testes para agentes de controle biológico, dependendo efetivamente da área tratada, não foi detectada diferença na dispersão das 3 formulações.

MULLA e col., 1984 duas preparações de *B.s.* 2362 foram avaliadas quanto à eficácia e permanência contra larvas de mosquitos. Todas as preparações avaliadas demonstraram excelente atividade contra larvas de 4º estágio de *Culex quinquefasciatus* em laboratório. O efeito inicial bem como a longevidade dos extratos pode promover o aumento direto de técnicas de formulações. Este trabalho evidencia que alguns extratos a base de *B.s.* demonstram uma boa atividade larvicida, oferecendo um bom potencial de uso em programas de controle.

LACEY e col., 1984 formulações aquosas de *B.t.* H-14 e *B.s.* 2362 foram comparadas quanto à atividade contra criadouros peridomiciliares de *Culex quinquefasciatus*. Todos os tratamentos de *B.s.* dão aproximadamente uma redução inicial completa das larvas. O uso de formulações no formato de pílulas pode ser vantajosas em programas de trabalhos intensos em desenvolvimento para um longo e permanente controle em criadouros.

MULLA e col., 1984 avaliaram em condições de laboratório extratos de *B.s.* contra larvas de 2º e 4º estágio de 5 espécies de mosquitos. Todos os extratos exibiram alto nível de atividade contra larvas do gênero *Culex*. Demonstrando que as larvas de 2º estágio são geralmente mais suscetíveis que as do 4º estágio, sendo a mortalidade máxima atingida 48 horas após o tratamento. Houve 90% de mortalidade em *Cx. quinquefasciatus*. Em condições de campo permitiu excelente controle inicial de *Cx. tarsalis* e *Cx. peus*, este controle persistiu por 14 dias. Indicando que podem promover um controle satisfatório, sendo afetado pela densidade larval e outros fatores como qualidade da água, pH e a temperatura da água, que em programas de controle devem ser bem conhecidos.

MCLAUGHLIN e VIDRINE, 1985 identificaram os fatores hidrológicos que influenciam na distribuição do larvicida, e estabeleceram produtos para o tratamento baseados nesses fatores, permitindo flexibilidade para ajuste individual de cada tipo de criadouro. O principal fator hidrológico e topográfico determinante na dispersão da concentração de formulações de *B.t.* H-14 foi o número de áreas inundadas, a quantidade de níveis de água corrente no início do tratamento e o número de recipientes e área inundada em 24 horas. Essas informações são necessárias para o uso desse método. Esse

procedimento permitiu uma maior flexibilidade no tratamento em determinadas condições. Sendo que requer uma melhor análise.

SANDOSKI e col., 1985 avaliaram um produto comercial de *B.t.i.* spray por aplicação aérea contra populações naturais de *Anopheles quadrimaculatus*, durante o verão. A redução da população esteve entre 21,8 – 97,9% de acordo com a concentração de cada tratamento. Este estudo confirma o potencial dessas formulações como efetivo e econômico meio de tratamento de grandes áreas com *B.t.i.*, além de ser um larvicida ambientalmente compatível. Estudos adicionais são necessários para determinar o efeito do aumento da extensão do campo, teoricamente reduzirá o necessário para o controle da população de mosquitos adultos, já que as larvas podem ser controladas em larga escala.

LYSENKO, e col., 1985 descreveram a atividade larvicida de 5 novos extratos de *Bacillus sphaericus* contra larvas de mosquitos, lepidópteras e gafanhotos. Os 5 extratos descritos neste trabalho foram primeiro altamente letais para larvas de mosquitos e outros insetos aquáticos. Recomendam que *B.s.* isolados encontrados associados com insetos sejam submetidos a determinação da atividade larvicida, para melhor avaliação.

NOVAK e col., 1985 testaram a duração do efeito de controle de larvas de *Aedes aegypti* usando formulações de Temephos e *B.t.i.* Neste estudo foi efetivo no controle, mas a duração do controle não aproximou do observado com formulações de Temephos. Como a eficácia temephos, as formulações granulares de *B.t.i.* em pneus foram afetada pela soma de toxinas usadas. A mortalidade atingiu 100% em 48 horas de exposição. Estes resultados indicam que ambas toxinas podem ser efetivas por longos períodos de controle. Assim seu uso em programas de controle integrado é uma boa alternativa.

JONES e LLOYD, 1985 determinaram a eficácia de formulações de *B.t.* (H-14) em estágios tardios de *Aedes dorsalis*, *Ae.fitchii* e *Ae.melanion*. baixas temperaturas causaram a diminuição na eficácia das formulações testadas em laboratório, e em temperaturas extremas de primavera diminuíram a eficácia nos testes de campo. O controle adequado de larvas de 4º estagio foi obtido em estudos de campo no período de 24 horas quando a temperatura era maior ou igual 12° C em um tratamento de 0,1 mg/L. nas porções da época de desenvolvimento larval, quando as temperaturas noturnas caem ate um determinado ponto, as formulações de *B.t.i.* serão efetivas adicionas ao arsenal de controle.

LACEY e INMAN, 1985 avaliaram a atividade larvicida de 3 produtos comerciais de formulações granulares de *B.t.* (H-14) contra *Anopheles crucians* e *An.quadrimaculatus*. O aumento das concentrações das formulações testado levou ate 100% de mortalidade. A eficácia dessas formulações suprime as populações de mosquitos vetores, que são altamente resistentes ao controle químico convencional.

LACEY e col., 1986 avaliaram experimentalmente formulações de *Bacillus sphaericus* contra mosquitos utilizando um spray comercial. A redução da população larval de *Anopheles quadrimaculatus* 48 h (71 – 82%) e 1 semana após aplicação foi significativa chegando a 98 %.

APPERSON e col., 1986 avaliaram a eficácia de *B.t.i.* em poças de matas contra larvas de *Culex sp.*, sendo a formulação ativa contra varias espécies desse gênero. O resultado desse trabalho indica que essas formulações promovem um sustentável controle desse gênero, sendo formulações altamente apropriados para o uso em vários criadouros artificiais ou naturais.

HARE e NASCI, 1986 investigaram os efeitos de concentrações subletais de *B.t.i.* em larvas de 2º estágio de *Aedes aegypti*. A morte das larvas demonstrou que a disponibilidade de comida afeta significativamente o desenvolvimento larval e a sobrevivência. O tratamento com dose sub-letais de *B.t.i.* desenvolveu sobreviventes tão rapidamente como as larvas não tratadas e produziu um número significativo de adultos.

PERICH e col., 1987 determinaram em bioensaios a eficácia de MSF (molecular surface film) combinado com preparações comerciais de *B.t.i* contra larvas, pupas e ovos de *Anopheles albimanus*. O MSF foi eficiente sozinho contra ovos, larvas de 4º estágio e pupas, 48 horas após o tratamento, mas tem efeito limitado em larvas mais jovens. A eclosão de ovos foi reduzida aproximadamente 25% com todas as formulações contendo MSF. Todas as formulações combinadas produziram mortalidade maior que 90% em todos os estágios larvais e pupas 48 horas após o tratamento. Oferecendo uma alternativa potencial no controle.

ALY e col., 1987 descreveram o desenvolvimento e atração superficial de formulações de *B.t.i* para o controle de larvas de *Anopheles sp.* A combinação de dois atrativos: um sinal da toxina primária na zona de alimentação das larvas e a adição de uma partícula mensageira gustatória, resultaram em substancial aumento da eficiência de *B.t.i* contra larvas de *anopheles sp.* De qualquer modo, o número de problemas técnicos e as dificuldades associados com a proporção de aplicação, devem ser investigados e resolvidos, para uma melhor recomendação.

BERRY e col., 1987 avaliaram 9 formulações comerciais de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e 2 de *Bacillus sphaericus* como larvicidas contra larvas de mosquitos

comuns. Todas as formulações de *B.t.i.* foram efetivas chegando a uma redução de até 100% (90-100%) em *Aedes vexans* e *Culex sp.* em seu habitat natural, as formulações com *B.s.* chegaram a 90% de redução (84 –98%) em populações de *Aedes sp.* e *Culex sp.*

KRAMER e col., 1988 avaliaram o potencial de controle do peixe *Gambusia affinis* e da bactéria *Bacillus thurigiensis* var.*israelensis*, que realizaram significativa redução na densidade da população. A formulação granular do *B.t.i.* reduziu efetivamente a população de mosquitos, na presença do peixe, a população larval não reagiu após o tratamento com *B.t.i.* Portanto o efetivo controle poder se conseguido quando estoque de campo de peixes for de 1.1 Kg/ha, monitorando e tratando com *B.t.i.*, quando a população de larvas estiver acima do nível aceitável.

MULLA e col., 1988 testaram seis formulações de *B.s* no controle de larvas de *Culex sp.* em lagoas. Todas as formulações foram eficazes. Algumas formulações mais ativas que outras, rendendo excelentes controle inicial e persistência maior que 80% por 14 –21 dias com um tratamento. Este estudo explica que este agente tem grande promessa de controle de mosquitos em água poluída. De qualquer modo, para um bom controle inicial e persistência da ação, a taxa de aplicação tem ser aumentada de 5 –10 de acordo com a qualidade da água. Este aumento na aplicação é justificado por um controle durável obtido com apenas um tratamento, reduzindo os custos econômicos de inspeção e repetição de tratamentos com menor persistência de agentes que promovem controle por apenas 3 – 7 dias.

BASSI e col., 1989 determinaram a mortalidade inicial causada pela aplicação de duas formulações comerciais de *B.t.i.* sobre *Psorophora columbiae* e *Anopheles*

quadrifasciatus, atingido uma mortalidade de 75%, havendo diferenças entre as formulações e espécies de mosquitos.

WALLACE e col., 1989 estudaram a eficácia de formulação granular de *Bacillus thuringiensis* (H-14) contra larvas de mosquitos. O primeiro tratamento com 370 larvas de 3º estágio de *Aedes taeniorhynchus* coladas em latas. Os resultados obtidos com amostras retiradas dessas latas foram irrelevantes, pois se recupera uma ou outra larva, ou ocasionalmente um grande número quando as larvas estão agregadas. A densidade de larvas e pupas dificultou a avaliação da emergência dos adultos, que foi usada como média para avaliar a atividade larvicida. A porcentagem de emergência dos adultos esteve entre 18,4 – 86,9% de 1-6 dias e 20- 72% 7-11 dias.

JONES e col., 1990 determinaram a dose efetiva e persistência do *B.sphaericus* contra *Culex quinquefasciatus* em água contaminada. A maior redução larval foi observada após 48 horas com redução maior que 80%. Possivelmente a redução da luz solar e corrente de água, quantidade de chuva, resíduos sólidos em suspensão, poluição, vegetação, pH, e oxigênio dissolvido tem algum efeito na atividade larvicida e persistência do agente microbiano.

ARREDONDO-JIMÉNEZ e col., 1990 em criadouros experimentais simularam condições naturais para avaliar a eficácia de 2 formulações de *B.s.* contra *Anopheles sp.* e *Culex sp.* Em laboratório testes com formulações granuladas e líquidas demonstraram que 4 mg/l é a dose mínima letal para algumas espécies 48 horas após o tratamento. *Anopheles albimanus* foi 20- 30 vezes mais tolerante ao *B.s.* que *Culex quinquefasciatus*. O aumento da concentração para formulações usadas por 3 – 4 meses contra *Culex sp.* e *An.albimanus* demonstrou que em planejada estratégia de controle efetivo, 4 aplicações

por ano com doses de 2,0 g/m² seriam suficientes para manter os níveis de redução de aproximadamente 70%.

MATANMI e col., 1990 avaliaram o destino e persistência de duas formulações comerciais de *B.s.*, em lagoas de fazendas contra *Culex stigmatosoma*, obtendo redução de 90% por 4 semanas. Seus resultados indicam um extensivo controle obtido após a ingestão de esporos da superfície da água e lama pelas larvas. Além da possibilidade de reciclagem que é um importante fator no controle de mosquitos.

BOWLES e col., 1990 avaliaram formulações de *Bacillus sphaericus* contra larvas de *Psorophora columbiae*. Todas as formulações testadas forneceram um bom controle maior que 84% em todos os estágios 2 dias após o tratamento; em 10 dias o controle foi maior que 70%, indicando que *B.s.* pode ser um efetivo agente de controle desses mosquito. De qualquer modo, os efeitos de baixas dosagens, colocação do esporo, e qualidade da água na eficiência de formulações de *B.s.* permanecem para serem testadas.

LORD e FUKUDA, 1990 testaram formulações de *Bacillus sphaericus* 2362 e *B.thurigiensis* var. *israelensis* contra *Mansonia titillans* e *Ma. dyari*. A suscetibilidade das duas espécies de bactérias individualmente foi similar, com variações nas DL50. a exposição das larvas de *Mansonia*. As concentrações adequadas dessas formulações geram uma dificuldade no controle. Esse controle requer um sistema que penetre na folhagem do criadouro.

PERICH e col., 1990 avaliaram a eficácia e compatibilidade do controle integrado de *B.t.i.* e a planária *Dugesia dorotocephala* contra larvas de *Aedes taeniorhynchus* em condições de laboratório. Os dois tipos de controle demonstraram

serem eficientes isolados ou integrados, quando integrado o *B.t.i.* tem 100% de eficácia e a planária mantém a população em baixos níveis. Podendo concluir que o *B.t.i.* não tem efeito prejudicial sobre a planária predadora, podendo ser utilizado no controle integrado de mosquitos. O tratamento combinado mostra-se como potencial alternativa de estratégia de controle, permitindo novos estudos em condições de campo.

PERICH e col., 1990 foram avaliadas contra larvas capturadas em ambiente natural de *Anopheles albimanus* 4 formulações biológicas combinadas com produtos de eficácia conhecida. Todas as formulações reduziram as populações larvárias 48 horas após o tratamento, continuando por 10 dias. Os resultados desse estudo indicam que essas formulações oferecem um excelente controle como uma alternativa biológica, nas estratégias de controle.

MEISCH, 1990 conduziram por 4 anos um estudo para determinar a eficácia de formulações de *B.t.i.* contra larvas de *Psorophora columbiae*. Promovendo um excelente controle com altas dosagens, geralmente entre 85%. De qualquer modo essas formulações requerem testes adicionais para determinar limites mínimos mais econômicos para o controle. Decisões de tratamentos baseadas em informações específicas resultarão em redução dos custos, materiais e aplicação.

LORD, 1991 testou uma formulação de *Bacillus sphaericus* de pílulas com óleo vegetal parcialmente hidrogenado. Esta formulação aumentou a ação residual contra *Culex spp.* em larga e pequena escala, mesmo em água poluída. Em 5 dias as larvas foram eliminadas. Estas pílulas de *B.s.* oferecem uma liberação gradual de toxinas. A inclusão de uma pequena porção de polímeros superabsorventes permitiu a quebra das pílulas sem a imediata dispersão da bactéria que ocorre com formulações em pó e

líquidas. Um importante fator de limitação da atividade residual é a colocação da bactéria no substrato.

LAGO GM. et al, 1991 comprovaram a efetividade do *Bacillus sphaericus* em formulações líquidas em diferentes criadouros, obtendo resultados de uma alta efetividade entre 24-72 h de aplicação ocasionando 100% de mortalidade sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* e *Anopheles albimanus* em laboratório, sendo as larvas de 1ª e 2ª estágio as mais suscetíveis. Durante os ensaios de campo observaram a inocuidade do larvicida sobre a fauna associada.

ANDRADE e MODOLO, 1991 testaram a suscetibilidade de larvas de 4ª e 3ª estágio de *Aedes aegypti* contra as formulações de *B.t.i.* e ao Temephos. As Larvas 3ª foram mais suscetíveis que as no início ou fim do 4º estágio. Já o Temephos demonstrou uma possível resistência. A mistura de *B.t.i.* e Temephos demonstrou que a DL50 é equivalente ao *B.t.i.* sozinho. Assim o controle intergado apresenta algumas vantagens, como a economia no tratamento e a redução de uma possível resistência, sendo o monitoramento constante necessário.

WILMONT e col., 1993 avaliaram formulações comerciais de *B.t.i.* para o controle de *Aedes sp.* em poças de matas. Não houve diferença significativa entre as duas formulações, ambas forneceram grande controle de 90 e 98%. Em programas de larga escala, a aplicação poderá reduzir a densidade populacional porem outros fatores poderão afetar a eficiência do tratamento. Neste trabalho podemos observar que aplicação foi eficiente proporcionando um bom controle.

ALI e col., 1994 avaliaram a eficácia e atividade residual de 6 formulações a base de *B.t.i.* contra larvas de 3ª e 4ª estágio de *Aedes taeniorhynchus* em bioensaios

usando reservatórios encontrados em lavanderias. Essas formulações forneceram aparentes mortalidades acima de 75% em 9 dias após o tratamento com indicações de terem maior atividade prolongada. O método utilizado nesse trabalho demonstra a eficiência e persistência dessas formulações.

NASCI e col., 1994 investigaram a habilidade de formulações larvicida e regulares de crescimento de *Aedes albopictus* foi investigada em campo, obtendo níveis de controle de até 100% por 150 dias. Esses resultados sugerem que longos períodos de controle podem ser alcançados com uma aplicação. Apesar de econômico, este método de controle não é apto para ser usado em programas de grandes cidades. Pode ser usado, preferencialmente, para obter sucesso se usado moderadamente, em grandes infestações residenciais.

SANTOS e col., 1994 utilizaram para o controle biológico de mosquitos em um cemitério em Campinas um produto comercial a base de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Foram feitas três aplicações, obtendo uma eficácia de 98,47%, em média aproximadamente 99,8% de controle. O produto apresentou baixo efeito residual dos formulados em suspensão aquosa, e ainda as dificuldades operacionais dos tratamentos em ambientes como cemitérios, a eficiência em apenas uma aplicação pode ser baixa, da ordem de 65% tendo uma ação seletiva, com fácil manuseio e aplicação. Em programas de manejo pode-se também somar a esse método, a utilização de areia e conscientização da população freqüentadora dos cemitérios.

RUAS-NETO e col., 1994 utilizando larvas de *Culex quinquefasciatus* foram tratados em laboratório e no campo com formulações de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e *B.sphaericus* e formulações químicas de piretróides e organo-fosforados.

As formulações biológicas apresentaram bons resultados em laboratório e foram consideradas adequadas assim como em condições naturais pois supera influências físicas, problemas de resistência e eliminação e inimigos naturais e ausência de efeito residual.

REGIS e col., 1995 avaliaram o efeito da ação de controle em população de *Culex quinquefasciatus*, enfatizando o controle biológico com *Bacillus sphaericus* que demonstrou boa eficácia promovendo um excelente controle inicial quando usado em águas poluídas. Persistindo por um mês nos mais diversos criadouros. De qualquer modo as características estruturais dos criadouros, a inspeção não foi favorável quanto a persistência do controle por longos períodos, direcionando para a necessidade de aplicações freqüentes.

REGIS L. et al, 1996 executaram um projeto controle integrado de filariose no Recife, que incluía tratamento em massa dos habitantes com uso de remédios; medidas físicas e mecânicas de vedação de fossas e o controle biológico do vetor com *Bacillus sphaericus* que melhor se adapta a altas cargas de poluição orgânica no criadouro. Todas essas medidas resultaram em diminuição da população de mosquitos, que foi verificada após dois anos. O inseticida bacteriano é uma importante arma no controle de mosquitos associada à outras medidas.

GROUVES RL e MEISCH MV, 1996 avaliaram *Bacillus sphaericus* contra 7 espécies de mosquitos *Aedes aegypti*, *Ae.albopictus*, *Ae.vexans* *Anopheles punctipennis*, *Culex quinquefasciatus*, *Cx.restuans* e *Psorophora columbiae*. Em laboratório demonstram atividade contra todas as 7 espécies com diferenças entre os estágios de desenvolvimento; a mortalidade foi observada 24 e 48 h após o tratamento. Em campo a

mortalidade não excedeu 16,7% após 48h de tratamento, em 24h não diferiu estatisticamente do grupo controle. Estes experimentos demonstraram o potencial desses agente como larvicida. A menor concentração requerida para evocar uma mortalidade de 90% contra *Ps.columbiae* é aproximadamente 0,1 ITU/ml. A rápida resposta obtida nessas dosagens mínimas favorecem o aumento da eficácia do *B.s.* como um agente adequado para o biocontrole.

CONSOLI e col., 1997 avaliaram a eficácia de uma nova formulação de *Bacillus sphaericus* produzida em conjunto pela Fundação Oswaldo Cruz e INPAL ind. Química, contra *Culex quinquefasciatus*. Em todos os ensaios houve controle populacional entre 70,6 e 97,9%. Sendo compatível com outras formulações já testadas com o mesmo agente de controle.

RODRIGUES e col., 1998 realizaram bioensaios em condições de laboratório para testar 10 extratos de *Bacillus sphaericus*, isolado no Brasil, contra larvas de 3º. estagio de *Anopheles nuneztovari* e *An.darlingi*, demonstrando relativa atividade em 24 e 48 horas exposto a bactéria. Houve diferenças entre os extratos sendo alguns mais efetivos que outros. Esses extratos brasileiros demonstraram grande atividade larvicida, na região amazônica, em relação as espécies vetoras de malaria.

CASTRO e col., 2000 implementaram e avaliaram o emprego do controle biológico com *B.sphaericus* contra os vetores da malaria. Se determinou a capacidade do mencionado biopraguicida para reduzir as densidades larvárias desses insetos. Obtiveram uma redução de 94,57% total sobre *Anopheles albimanus*, após 4 meses de aplicação. Os resultados obtidos neste trabalho coincidem com os reportados por estudos

similares, desta forma permitiu recomendar a aplicação do biolarvicida, como parte de um programa de controle integrado para espécies de mosquitos.

11. ESTERELIZAÇÃO E ALTERAÇÕES GENÉTICAS

BAILEY, 1979 foi desenvolvida tecnologia para esterilizar e embalar 1 milhão de machos de *Anopheles albimanus* por dia para liberação no campo. A média machos estéreis produzida durante um período de 1-5 anos foi de 98,8%. A mortalidade no transporte especialmente desenvolvido em média nas gaiolas 4,5% por 72 horas de idade dos adultos e 2,5% para 24 horas. Esta técnica de controle requer técnicas mais elaboradas para que se recomende o uso em programas de controle.

FINE e col., 1979 determinaram um modelo que prediz o efeito de várias estratégias de controles genéticos em populações isoladas de mosquitos que sofrem extremas flutuações sazonais. A descrição inclui métodos que simulem as variações sazonais e o tempo de desenvolvimento e reprodução baseadas em populações normais, e associado à suposição de densidade dependente com variado reprodução independente da densidade.

SHAHID e CURTIS, 1987 introduziram no genoma original de *Culex quinquefasciatus* no citoplasma de *Cx. pipiens*. os machos resultantes demonstraram incompatibilidade com as fêmeas. Gerando uma forma de controle que deve ser melhor avaliada.

12.O USO DE PLANTAS

A influencia de plantas aquáticas em criadouros de mosquitos tem sido observada e estudada. Alguns gêneros de mosquitos são limitados em águas contendo vegetação e folhagem (HOBBS e MOLINA, 1983). Em testes de campo para quantificar presença da pteridofita aquática *Salvinia auriculata* observando o prejuízo à população de *Anopheles albimanus* em seu criadouro natural. Testes de laboratório indicaram que esta planta pode ser uma barreira para as fêmeas grávidas, interferindo diretamente na oviposição, conseqüente na sua proliferação. Sugerem que a planta possa ser considerada como um forte meio natural controle em certos tipos de criadouros.

MARTEN, 1987 observou que muitas espécies de algas são bons alimentos para larvas de mosquitos, mas algumas espécies são virtualmente indigestas para as larvas. Essa característica não tem sido reconhecida porque em abundância as algas usualmente se combinam com outras espécies que promovem uma nutrição suficiente. Não pode afirmar que fitoplankton provava na prática que em larga escala controlava mosquitos, mas ele poderá ser melhor explorado.

As plantas ainda podem conter princípios que atuam como inseticidas.

13.DISCUSSAO

É na fase adulta que os mosquitos desempenham seu papel de importância na Saúde Pública. Nesta fase as fêmeas realizam o repasto sanguíneo, necessário para a maturação dos ovos. E também nesta fase que em altas densidades tornam-se agentes de incômodos pela sua hematofagia. As estratégias de controle desta fase estão restritas ao controle químico e as medidas de controle mecânico, evitando-se o contato com repelentes e mosquiteiros.

Apesar de todos os problemas estarem relacionados ao adulto, é na fase imatura que estão baseadas a maioria das estratégias de controle, em virtude de seus criadouros limitados.

Podemos dizer que os culicídeos são “democráticos” pois atingem todas as camadas sócio-econômicas e culturais, independente de sexo, raça, escolaridade, etc. Possuem ampla distribuição espacial incluindo peridomiciliar e intradomiciliar, podendo inclusive adquirir hábitos domiciliares (endofilia). São afetados pelos ciclos nictemeral e sazonal. As espécies alvo deste estudo são antropofílicas, endofágicas e exofágicas.

De maneira geral desde a pré-histórica o homem tem tentado se livrar do incomodo causado pelos mosquitos como seu barulho e picadas. Com o progresso os mosquitos também se tornaram vetores de algumas doenças, assim manter distancia desses insetos passou a ser cada vez mais necessário.

Com o surgimento dos inseticidas químicos, aliado a sua comodidade e praticidade, já que o uso nos livrava do incomodo, as medidas de controle biológico foram deixadas de lado, sendo gradativamente abandonadas.

Porém o crescimento desenfreado da resistência dos mosquitos aos inseticidas e a preocupação com questões ambientais, gerou uma pergunta. Como controlar as populações de mosquitos, diminuindo principalmente a transmissão de algumas doenças. A resposta já era conhecida na natureza, o emprego de inimigos naturais. Assim novas pesquisas foram feitas para avaliar e quantificar a utilização de cada agente potencial para o controle biológico. Isso observando a capacidade de controle de cada agente individualmente ou de forma integrada com outros agentes biológicos, com agentes químicos ou mesmo associados ao manejo mecânico.

No controle biológico a introdução de organismos que afetem a proliferação excessiva de mosquitos, não é uma idéia inovadora. Não podemos esquecer que a natureza sem a interferência humana se encarregava de manter as populações em equilíbrio em seu ecossistema, porem com a evolução humana isso foi se tornando impossível.

Durante este trabalho podemos perceber que as principais categorias de controle são os predadores, os parasitas e principalmente os que tem recebido maior atenção dos pesquisadores das industrias as bactérias do gênero *Bacillus*.

Ainda que as formulações biológicas tenham inegáveis vantagens devido à segurança de uso e especificidade no meio, é necessário que se elucide a questão da eficiência dos programas em situações reais, assim como seu custo de produção em massa e aplicação. No campo em todos os tipos de criadouros, já que falamos em incômodo, a população humana, principalmente nos grandes centros urbanos onde há uma grande quantidade de criadouros potenciais, sem mencionar uma maior concentração de pessoas o que dificulta a implementação de métodos alternativos, haja

visto que a colaboração da população, com a manejo mecânico é fundamental para o sucesso de qualquer que seja a estratégia de controle.

As estratégias de controle de mosquitos vetores, devem ser globais, pois os mosquitos não reconhecem fronteiras, assim o controle dependerá conseqüentemente do entendimento da dinâmica das populações de mosquitos. Levando se em consideração as oscilações climáticas de cada região e a sazonalidade do mosquito.

O conhecimento da biologia do mosquito assim como sua adaptação ou evolução às condições humanas e sua proximidade em relação aos nossos hábitos não podem ser deixadas de lado já que as medidas de controle devem ser tomadas em relação a todos esses fatores. Assim como também o conhecimento da biologia e as principais características do bioagente a ser empregado, levando em consideração principalmente às características do criadouro como: matéria orgânica disponível, poluição, principais produtos dessa poluição, oxigênio dissolvido, quantidade de água e tempo de permanência dessa água, presença ou ausência de amônia, temperatura da água, coloração da água, dentre outros.

O cenário ideal para a proliferação de mosquitos esta relacionado: a pobreza, a continua imigração humana resultante da desordenada urbanização e a fatores ambientais como chuvas, altas temperaturas e umidade ao longo do ano, o que dificulta a manutenção da população de mosquitos em níveis considerados adequados.

Devemos salientar a necessidade de mais observações comparativas entre larvicidas químicos e biológicos para o controle de culicídeos nas mais diversas condições de criadouros.

Quanto aos agentes de biocontrole bacterianos, estamos falando em varias formulações e modos de aplicações pré-estabelecidos, será que neste caso podemos classifica-los como controle químico ou biológico? Levando –se em consideração seus resultados satisfatórios e persistência. Será que haverá uma pressão de seleção de mosquitos levando a resistência?

Como foi observado na grande maioria de trabalhos relacionados aos agentes de controle conhecidos como biolarvicidas, as bactérias do gênero *Bacillus*. tem chamado a atenção das industrias químicas e dos laboratórios de pesquisas, quanto ao desenvolvimento de formulações, com diferentes concentrações e apresentações de uso adaptando –se as mais variadas condições. Desta forma foge uma pouco do que é concebido como controle biológico. Porém suas vantagens conhecidas como: especificidade não afetando os demais organismos, e sua atuação os coloca de volta a condição de bioagente. Esta é uma das questões a serem discutidas e melhor avaliadas, já que se tratando de formulações manipuladas e até mesmo artificiais podem gerar a resistência; uma vez que a resistência é resultante de uma pressão de seleção.

O controle biológico não é substituto do controle químico, mas o que se pode afirmar é que ambos podem conviver simultaneamente.

Antes que se recomende qualquer alternativa de controle biológico todas as variáveis que possam alterar sua eficiência individual ou integrada devem ser bem conhecidas, para que se possa obter sucesso e persistência desse controle.

No Brasil como temos um clima tropical; os agentes recomendados para o controle devem suportar grandes variações de temperatura; uma das alternativas seria o uso de agentes autóctones.

Identificando a região e a climatologia da área a ser tratada, os principais tipos de criadouro, desta forma podendo realizar um trabalho bem direcionado.

Em criadouros permanentes poderíamos usar agentes como predadores e parasitas, peixes, nematodas, copépodos, crustáceos, dentre outros que realizam os seu ciclo de vida no próprio criadouro, realizando assim um espécie de reciclagem. Em criadouros artificiais semi permanente como ocos de arvores, latas e recipientes que possam acumular água, além do manejo mecânico, que é essencial, poderíamos utilizar agentes como as formulações de *Bacillus*, fungos que destroem as larvas, agindo como um 'regulador de crescimento; além dos extratos vegetais. Em caixas d'água e piscinas abandonadas que segundo a SUCEN (Superintendência de Controle de Endemias) são os criadouros mais importantes na Grande São Paulo. Devemos reavaliar essas praticas, já que essa água deve estar próprio para o consumo humano.

As estratégias que envolvem esterilização e manipulação genética esbarram em um problema que é custo. Esta tecnologia envolve grande investimento financeiro esta é uma desvantagem, já que para ser considerado um bom agente de biocontrole uma de suas características deve ser o baixo custo.

14. CONCLUSAO

- Identificamos com potencial de utilização no controle biológico de culicídeos.
 1. predadores como: copépodos, peixes, larvas de *Toxorhynchites sp.*, camarão, planarias;
 2. parasitas como: nematodas, fungos;
 3. as formulações de *Bacillus sphaericus* e *Bacillus thuringiensis var. israelensis*.
- O uso de controle biológico nas Américas é mais estudado nos Estados Unidos em áreas de arroz e águas poluídas, em Cuba enfatizando bioagentes de predação como peixes e *Bacillus sp.* No Brasil temos trabalhos nas áreas de predação e formulações de *Bacillus sp.*
- Em relação ao Brasil para que se recomende o uso de controle biológico devemos avaliara primeiro a área de aplicação e suas condições ambientais e então recomendar um agente adequado. Levando em consideração todas os aspectos bioecologicos dos agentes de controle biológico, e se adaptam as condições ambientais da área a ser tratada.
- No Brasil podemos recomendar algumas estratégias como: em criadouros permanentes podemos recomendar agentes que completem seu ciclo de vida, podendo reproduzir, no criadouro, havendo assim uma reciclagem desse agente como: peixes, copépodos, crustáceos, planarias, nematodas e alguns fungos. Para criadouro semi permanentes e artificiais e recipientes como latas, pneus, garrafas,

vasos e etc o tipos de tipo de controle mais eficiente seriam as formulações a base de *Bacillus sp.*

- Cada tratamento e potencial larvicida de cada agente depende diretamente das condições do criadouro e da espécie considerada alvo.
- Para obtermos sucesso na aplicação do controle biológico, deve se levar em conta fatores ecológicos e socioeconômicos. Não basta ser um agente eficaz, esta eficácia deve ser comprovada em campo, assim como a viabilidade de sua produção em massa e aplicabilidade.

15. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALI A, MULLA MS. Evaluation of the palanarian, *Dugesia dorotocephala*, as a predator of chironomid midges and mosquitoes in experiment ponds. **Mosquito News** 1983; 43 (1): 46-49.

ALI A, XUE R, LOBINSKE R, CARANDANG N. Evaluation of granular corn cob formalations of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* against mosquito larvae using a semi-field bioassay method. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1994; 10 (4): 492-495.

ALY C, MULLA MS, SCHNETTER W, XU BZ. Floating bait formulations increase effectiveness of *Bacillus Thuringiensis* var. *israelensis* against *anopheles* larvae. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1987; 3 (4): 583-588.

ANDRADE CFS, MODOLO M. Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to temephos and *Bacillus Thuringiensis* var. *israelensis* in integrated control. **Rev. Saúde públ.** 1991; 25 (3): 184-187.

ANDREADIS TG, GERE MA. Laboratory evaluation of *Acanthocyclops vernalis* and *Diacyclops bicuspidatus thomasi* (Copepoda: Cyclopidae) as predators of *Aedes canadensis* and *Ae. Stimulans* (Diptera: Culicidae). **J. Med. Entomol.** 1992; 29 (6): 974-979.

ANDREADIS TG. Infection of a field population of *Aedes cantator* with a polymorphic microsporidium, *Amblyospora connecticus* via release of the intermediate copepod host, *Acanthocyclops vernalis*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1989; 5 (1): 81-85.

APPERSON CS, POWELL EE, ESSEN FV. Evaluation of a sustained release formulations of *Bacillus thuringiensis* (H-14) for control of Woodland *Culex* mosquitoes. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1986; 2 (3): 376-378.

ARREDONDO - JIMÉNEZ JIA, LÓPEZ T, RODRIGUEZ MH, BOWN DN. Small scale field trials of *Bacillus sphaericus* (strain 2362) against Anopheline and Culicine mosquito larvae in Southern Mexico. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (2): 300-305.

AVILA GI, KOLDENKOVA L, MIJARES AS, BROCHE RG. Introducción del pez larvívoro *Poecillia reticulata* (Peters, 1895) (Cyprinodontiformes: Poeciliidae), agente biorregulador de culícidos en lagunas de oxidación y zanjas contaminadas en la Isla de la Juventud. **Rev. Cub. Med. Trop.** 1991; 43 (1): 45-59.

AXTELL RC, GUZMAN DR. Encapsulation of the mosquito fungal pathogen *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales) in calcium alginate. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1987; 3 (3): 450-459.

AXTELL RC. Principles of integrated pest management (IPM) in relation to mosquito control. **Mosquito News** 39(4): 709-18, 1979.

AZEVEDO JL. Melhoramento genético de fungos utilizados no controle biológico de insetos: utilização do processo paramiótico. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 1989; 84 (Supl. III): 27-29.

BAILEY DL, LOWE RE, FOWLER JEF, DAME DA. Sterilizing and packaging males of *Anopheles albimanus* wiedemann for field release. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 1979; 28 (5): 902-908.

BASSI DG, WEATHERSBEE AA, MEISCH MV, INMAN A. Efficacy of Duplex and Vetobac against *Anopheles quadrimaculatus* larvae in Arkansas ricefields. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1989; 5 (20): 264-266.

BECKER BK. Repensando a questão ambiental no Brasil a partir da geografia política. In: Leal MC et al. **Saúde, ambiente e desenvolvimento**. São Paulo: Hucitec/ Rio de Janeiro: Abrasco; V1, p 127-79, 1992.

BECNEL JJ. Prospects of microsporidia and fungi for the control of container-inhibiting mosquitoes. **Symposium: Microsporidia, Fungal and Microbial Control Agents**, 1992.

BERRY WJ, NOVAK GM, KHOUNLO S, ROWLEY WA, MELCHIOR GL. Efficacy of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for control of *Culex pipiens* and floodwater *Aedes* larvae in Iowa. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1987; 3 (4): 579-582.

BLACKMORE MS, BERRY RL, FOSTER WA, WALKER ED, WILMONT TR, CRAIG, JR GB. Records of mosquito- parasitic mermithid nematodes in the Northcentral United States. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1993; 9 (3): 338-343.

BLACKMORE MS, NIELSEN LT. Observations on the biology of *Romanomermis* sp. (Nematoda: Mermithidae) parasites of *Aedes* in Western Wyoming. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (2): 229-234.

BOKLUND RJ. Mosquitofish in control programs [Letter to the editor] **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1997; 13 (1): 99-100.

BOWLES DE, MEISCH MV, WEATHERSBEE AA, JONES JW, EFIRD P, BASSI D. Efficacy of *Bacillus sphaericus* formulations against *Psorophora columbiae* larvae in small rice plots. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (4): 631- 634.

BUZZI ZJ. **Entomologia Didática**. Ed. Universidade Federal do Paraná; 1985.

CARRERA M. **Entomologia para Você**. Ed. Chácaras e Quintas; 1956.

CASTER JL, BAILEY DL. Effects of *Toxorhynchites amboinensis* on laboratory-reared *Aedes aegypti* populations (Diptera: Culicidae). **J. Med. Entomol.** 1984; 21 (2): 132-136.

CASTRO SDB, ARIAS AM, TELASQUEZ RC, GRANADOS R. Introducción del *Bacillus sphaericus* cepa – 2362 (GRISELESF) para el control biológico de vectores maláricos en Guatemala. **Rev. Cubana Med. Trop.** 2000; 52 (1): 37-43.

CECH JJ, LINDEN AL. Comparative larvivorous performances of mosquitofish, *Gambusia affinis*, and juvenile sacramento blackfish, *Orthodon microlepidotus*, in experimental paddies. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1987; 3 (1): 35-41.

CONSOLI RA, GUIMARÃES CT, SOUZA CP, SANTOS BS. Atividade predatória de *Triserialis lineata* (Hirudinea: Glossiphodinae) sobre formas imaturas de *Aedes fluviatilis* e *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) em laboratório. **Rev. Saúde públ** 1984; 18: 359-366.

CONSOLI RAGB, PEREIRA MH, MELO AL, PEREIRA LH. *Belostoma micantulum* Stal, 1858 (Hemiptera: Belostomatidae) as a predator of larvae and pupae of *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae) in laboratory conditions. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 1989; 84 (4) 577-578.

CONSOLI RAGB, SANTOS BS, LAMOUNIER MA, SECUNDINO NFC, RABINOVITCH L, SILVA CMB et al. Efficacy of a new formulation of *Bacillus sphaericus* 2362 against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Montes Claros, Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 1997; 92 (4): 571-573.

COOSEMANS M, MOUCHET J. Consequences of rural development on vectors and their control. **Ann Soc Belg Med Trop**, 70: 5-23, 1990.

CUEBAS- INCLE EL, Infection of adult mosquitoes by the entomopathogenic fungus *Erynia conica* (Entomophthorales: Entomophthoraceae). **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1992; 8 (4): 367-371.

ESCALANTE NG, SALAS IF, DANTES HG. Field evaluation of *Mesocyclops longisetus* (Copepoda: Cyclopoidea) for the control of larval *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Northeastern Mexico. **J. Med. Entomol.** 1998; 35 (5): 699-703.

FEDERICI BA. The future of microbial insecticides as vector control agents. **J. Am. Control Assoc.** 1995; 11(2): 260-268.

FLEMING GA. Controle de vetores de malária: um desafio estimulante. **Rev. brasil. Malariol. D. trop.** 1983; 35: 79-83.

FOCKS DA, SACKETT SR, DAME DA, BAILEY DL. *Toxorhynchites rutilus rutilus* (Diptera: Culicidae): field studies on dispersal and oviposition in the context of the biocontrol of urban container-breeding mosquitoes. **J. Med. Entomol.** 1983 20 (4): 383-390.

FONSECA JFG, BROCHE RG, KOLDENKOVA YL. Capacidade depredadora de *Poecilia* (Lebistes) *reticulata* Peters, 1895 (Cyprinodontiformes: Poecillidae) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 y *Aedes aegypti* Linneo, 1762 (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio en Cuba. **Rev. Cub. Med. Trop.** 1988; 40 (1): 54-60.

FORATTINI OP. **Entomologia Médica**. São Paulo: Ed. USP; 1962. V- 1 p. 193.

FORATTINI OP. **Entomologia Médica**. São Paulo: Ed. USP; 2002.

GARCIA JJ, FUKUDA T, BECNELL JJ. Seasonality, prevalence and pathogenicity of the gregari *Ascogregarine taiwanensis* (Apicomplexa: Lecudinidae) in mosquitoes from Florida. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1994; 10 (3): 413-418.

GEBARA AB. Controle integrado de mosquitos – Alguns conceitos. **Rev. Bras. Entomol.** 1987; 31 (3): 435-437.

GEORGE JÁ, NAGY BAL, STEWART JW. Efficacy of *Dugesia tigrina* (Tricladida: Turbellaria) in reducing *Culex* numbers in both field and laboratory. **Mosquito News** 1983; 43 (3): 281-284.

GOETTEL MS. Preliminary field trials with the entomopathogenic hyphomycete *Tolypocladium cylindrosporum* in Central Alberta. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1987; 3 (2): 239-245.

GOETTEL MS. Studies on bioassay of the entomopathogenic hypomycetes fungus *Tolypocladium cylindrosporum* in mosquitoes. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1987; 3 (4): 561-567.

GROVES RL, MEISCH MV. Laboratory and field plot bioassay of *Bacillus sphaericus* against Arkansas mosquito species. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1996; 12 (2): 220-224.

GUZMAN DR, AXTELL RC. Population dynamics of *Culex quinquefasciatus* and the fungal pathogen *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales) in stagnant water pools. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1987; 3 (3): 442-449.

HABIB MEM. Utilização de bactérias no controle de dípteros de importância médica. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 1989; 84 (Supl. III): 31-34.

HARE SGF, NASCI RS. Effects of sublethal exposure to *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on larval development and adult size in *Aedes aegypti*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1986; 2 (3): 325- 328.

HOBBS JH, MOLINA PA. The influence of the aquatic fern *Salvinia auriculata* on the breeding of *Anopheles albimanus* in coastal Guatemala. **Mosquito News** 1983; 43 (4): 456-459.

HOLCK AR, MEEK CL. Dose-mortality responses of crawfish and mosquitoes to selected pesticides. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1987; 3 (3): 407-411.

HORNY JÁ, COTTERILL B, MILLER JR. TW. Larval mosquito control by *Lagenidium giganteum*. **Journal of the Florida Mosquito Control Association** 1992; 63 (2): 82-86.

JARONSKI S, AXTELL RC. Persistence of the mosquito fungal pathogen *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales) after introduction into natural habitats. **Mosquito News** 1983; 43 (3): 332-337.

JARONSKI ST, AXTELL RC. Effects of organic water pollution on the infectivity of fungus *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales) for larvae of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae): field and laboratory evaluation. **J. Med. Entomol.** 1982; 19 (3): 255-262.

JONES CJ e LLOYD JE. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (H-14) for larval *Aedes* mosquito control in intermountain meadows in Wyoming. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1985; 1 (1): 51-55.

JONES JW, WEATHERSBEE AA, EFIRD P, MEISCH MV. Evaluation of *Bacillus sphaericus* 2362 against *Culex quinquefasciatus* in septic ditches. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (3): 496- 499.

KENNY EA, RUBER E. Mermithid nematode parasites of *Coquillettidia perturbans* in Massachusetts. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1991; 7 (4): 663-664.

KERWIN JL, WASHINO RK. Field evaluation of *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales) and description of a natural epizootic involving a new isolate of the fungus. **J. Med. Entomol.** 1988; 25 (6): 452-460.

KERWIN JL, WASHINO RK. Ground and aerial application of the asexual satage of *Lagenidium giganteum* for control of mosquitoes associated with rice culture in the Central Valley of California. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1987; 3 (1): 59-64.

KERWIN JL, WASHINO RK. Ground and aerial application of the sexual and asexual stages of *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales) for mosquito control. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1986; 2 (2): 182-189.

KNUDSEN AB, SLOOFF R. Vector-borne disease problems in rapid urbanization: new approaches to vector control. *Bull World Health Organ* 70:1-6, 1992.

KRAMER VI. Laboratory evaluation of *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales) in water from Contra Costa County, California, mosquito sources. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1990; 6 (1): 79-83.

KRAMER VL, GARCIA R, COLWELL AE. An evaluation of the mosquitofish *Gambusia affinis*, and the inland silverside *Menidia beryllina*, as mosquito control agents in California wild rice fields. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1987; 3 (4): 626-632.

KRAMER VL, GARCIA R, COLWELL AE. An evaluation of *Gambusia affinis* and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* as mosquito control agents in California wild rice fields. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1988; 4 (4): 470-478.

LACEY LA, DAME DA. The effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Toxorhynchites rutilus rutilus* (Diptera: Culicidae) in the presence and absence of prey. *J. Med. Entomol.* 1982; 19 (5): 593-596.

LACEY LA, HEITZMAN CM, BILLODEAUX J. Beecomist- applied *Bacillus sphaericus* for the control of riceland mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1986; 2 (4): 548-551.

LACEY LA, INMAN A. Efficacy of granular formulations of *Bacillus thuringiensis* (H-14) for the control of *Anopheles* larvae in rice field. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1985; 1 (1): 38-42.

LACEY LA, URBINA MJ, HEITZMAN CM. Sustained release formulations of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* (H-14) for control of container-breeding *Culex quinquefasciatus*. *Mosquito News* 1984 44 (1): 26-32.

LAGO GM, PEREZ MD, FIGUEROA AM, GONZALEZ FAC. Resultados de las aplicaciones en pilotaje del biolarvicida *Bacillus sphaericus* 2362 en criaderos de mosquitos del municipio Santa Cruz del Norte (provincia La Habana). *Rev. Cub. Med. Trop.* 1991; 43 (1): 39-44.

LAIRD M. *The nature history of larval mosquito habitats*. London: Academic Press; 1988.

LEE DK, BHATKAR AP, VINSON SB, OLSON JK. Impact of foraging red imported fire ants (*Solenopsis invicta*) (Hymenoptera: Formicidae) on *Psorophora columbiae* eggs. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1994; 10 (2): 163-173.

LINDEN AL, CECHE JR JJ. Prey selection by mosquitofish (*Gambusia affinis*) in California Rice Field: effect of vegetation and prey species. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (1): 115-120.

LORD JC, FUKUDA T. Relative potency of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* 2362 for *Mansonia titillans* and *Mansonia dyari*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (2): 325-327.

LORD JC. Sustained release pellets for control of *Culex* larvae with *Bacillus sphaericus*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1991; 7 (4): 560-564.

LOUNIBOS LP, NISHIMURA N, DEWALD LB. Predation of *Mansonia* (Diptera: Culicidae) by native mosquitofish in Southern Florida. **J. Med. Entomol.** 1992; 29 (2): 236-241.

LYSEWINKO OL, DAVIDSON EW, LACEY LA, YOSTEN AA. Five new mosquito larvicides of *Bacillus sphaericus* from non-mosquito origins. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1985; 1 (3): 369-371.

MARAMOROSCH K. The future of mosquito-borne diseases in the world. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1985; 1 (4): 419-422.

MARGALIT J, DEAN D. The story of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (B.t.i.) [Articles]. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1985; 1 (1): 1-7.

MARTEN GG, BORDES ES, NGUYEN M. A review of operational use of Cyclopoid Copepods at the New Orleans Mosquito Control Board. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1993; 64 (2): 129-131.

MARTEN GG, NGUYEN M, MASON BJ, NGO G. Natural control of *Culex quinquefasciatus* larvae in residential ditches by copepod *Macrocyclus albidus*. **Journal of Vector Ecology** 2000; 25 (1): 7-15.

MARTEN GG. Elimination of *Aedes albopictus* from tire piles by introducing *Macrocyclus albidus* (Copepoda: Cyclopidae). **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (4): 689-693.

MARTEN GG. Evaluation of cyclopoid copepods for *Aedes albopictus* control in tires. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (4): 681- 688.

MATANMI BA, FEDERICI BA, MULLA MS. Fate and persistence of *Bacillus sphaericus* used as a mosquito larvicide in dairy wastewater lagoons. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (3): 384- 389.

McLAUGHLIN RE, VIDRINE MF. Comparison of three *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 formulations against *Psorophora columbiae*. **Mosquito News** 1984; 44(3): 351-356.

McLAUGHLIN RE, VIDRINE MF. Factors affecting distribution of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 during flooding of rice fields. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1985; 1 (3): 381-384.

MEISCH MV, FINCH MF, WEATHERSBEE AA, JONES JW, BASSI DG, BOWLES DE. Efficacy of various *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* formulations against *Psorophora columbiae* larvae as assessed in small rice plots, 1984-88. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (1): 93-95.

MELLO AS, ANDRADE CF. Differential predation of the palnarian *Dugesia tigrina* on two mosquito species under laboratory conditions. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 2001; 17 (1): 81-83.

MERRISN TL, AXTELL RC. Field evaluation of *Baccilus thuringiensis* var. *israelensis* for control of *Aedes taeniorhynchus* in salt marsh pools. **Mosquito News** 1983; 43 (1): 84-86.

MESSIAS CL. Fungos, sua utilização para controle de insetos de importância médica e agrícola. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 1989; 84 (Supl. III): 57-59.

MIAN LS, MULLA MS, WILSON BA. Studies on potential biological control agents of immature mosquitoes in sewage wastewater in Southern California. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1986; 2 (3): 329-335.

MIDDAUGH DP, HESTER PG, MEISCH MV, STARK PM. Preliminary data on use of the inland silverside, *Menidia beryllina* to control mosquito larvae. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1985; 1 (4): 435-441.

MIJARES AS, AVILA IG, ROSALES JR, MONTERO AS. Release of *Romanomermis iyengari* (Nematoda: Mermithidae) to control *Aedes taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) in Punta del Este, Isla de la Juventud, Cuba. **J. Med. Entomol.** 1996; 33 (4): 680-682.

MIJARES AS, BELLINI AC. Producción masiva de *Romanomermis iyengari* (Nematoda: Mermithidae) y su aplicación en criaderos de anofelinos en Boa Vista (Roraima), Brasil. **Rev. Panam. Salud Publica** 2000; 7 (3) 155-161

MIJARES AS, BROCHE RG. Control biológico de larvas de mosquito mediante coleópteros acuáticos en condiciones de laboratorio. **Rev. Cub. Med. Trop.** 1985; 37: 354-358.

MIJARES AS, PACHECO RP, MARTÍNEZ SH. Susceptibilidad de las larvas de *Aedes aegypti* al parasitismo por *Romanomermis culicivorax* en condiciones de laboratorio y de campo en Oaxaca, México. **Rev. Panam. Salud Publica** 2000; 8 (5): 299-304.

MIJARES AS, PACHECO RP. Reduction of mosquito larval densities in natural sites after introduction of *Romanomermis culicivorax* (Nematoda: Mermithidae) in Cuba. **J. Med. Entomol.** 1997; 34 (1): 1-4.

MIKOJI GM, BOYCE TG, MUNGAI BN, COPELAND RS, HOFKIN BV, LOKER ES. Predation of aquatic satages os *Anopheles gambiae* by the Louisiana red swamp crawfish (*Procambarus clarkii*). **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1999; 15 (1): 69-71.

MIURA T, TAKAHASHI R. Predation of *Microvelia pulchella* (Hemiptera: Veliidae) on mosquito larvae. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1988; 4 (1): 91-93.

MIURA T, TAKAHASHI RM. A labiratory study of predation by damselfly nymphs, *Enallagma cicile*, upon mosquito larvae, *Culex tarsalis*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1988; 4 (2): 129- 131.

MORSE SS. Factors in the emergence of infectious diseases. **Emerg Infect Dis** 1:7-15, 1995.

MULLA MS, DARWAZEH HÁ, DAVIDSON EW, DULMAGE HT, SINGER S. Larvicidal activity and field strains against mosquito larvae and their safety to nontarget organisms. **Mosquito News** 1984; 44 (3): 336-342.

MULLA MS, DARWAZEH HÁ, DAVIDSON EW, DULMAGE HT. Efficacy and persistence of the microbial agent *Bacillus sohaericus* against mosquito larvae in organically enriched habitats. **Mosquito News** 1984; 44 (2): 166-173.

MULLA MS, DARWAZEH HÁ, TIETZE NS. Efficacy of *Bacillus sphaericus* 2362 formulations against floowater mosquitoes. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1988; 4 (2): 172-174.

MULLIGAN III FS, FARLEY DG, CATON JR, SCHAEFER CH. Survival and predatory efficiency of *Gambusia affinis* for control of mosquitoes in underground drains. **Mosquito News** 1983; 43 (3): 318- 321.

NASCI RS, WRIGHT GB, WILLIS FS. Control of *Aedes labopictus* larvae using time-release larvicide formulations in Louisiana. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1994; 10 (1): 1-6.

NATAL D. **Controle integrado de mosquitos**. São Paulo; 2000. [Apostila da disciplina Controle Integrado de Mosquitos].

NAYAR JK, DJAM JC, KNIGHT JW. Susceptibility of *Anopheles quadrimaculatus* and other mosquitoes to *Brugia patei* (Nematoda: Filarioidea). **Mosquito News** 1984; 44 (3): 417-419.

NELSON SM, KEENAN LC. Use of an indigenous fish species, *Fundulus zebrinus*, in a mosquito abatement program: a field comparison with the mosquitofish, *Gambusia affinis*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1992; 8 (3): 301-304.

NETO ALR, OLIVEIRA CM. Controle biológico de culicídeos e simúledeos: inseticidas bacterianos. **Rev. brasil. Malariol. D. trop.** 1985; 37: 61-75.

NETO AR, SILVEIRA SM. Uso de inseticidas bacterianas para o controle de culicídeos e simúledeos no Rio Grande do Sul. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 1989, 84 (Supl. III): 39-45.

NOVAK RJ, GUBLER DJ, UNDERWOOD D. Evaluation of slow-release formulations of temephos (ABATE) and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for the control of *Aedes aegypti* in Puerto Rico. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1985; 1 (4): 449-453.

ODUM EP. **Ecologia**. Editora Guanabara Koogans S.A., 1988.

OFFILL YA, WALTON WE. Comparative efficacy of the threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) and the mosquitofish (*Gambusia affinis*) for mosquito control. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1999; 15 (3): 380-390.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Problemas técnicos de las operaciones de lucha antivectorial. Primer informe del Comité de expertos de la OMS en biología de vectores e lucha antivectorial. Serie de Informes Técnicos 603, OMS, Ginebra, 1977.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Manual de ordenamiento del medio para la lucha contra los mosquitos**. Publicación en offset 66, 1984.

ORR BK, RESH VH. Experimental Test of influence of aquatic macrophyte cover on the survival of *Anopheles* larvae. **J Am Mosq Control Assoc** 5: 579-85, 1989.

PACHECO RP, MIJARES AS, MARTÍNEZ SH, AMBROSIO GF. Susceptibilidad de las larvas de *Anopheles pseudopunctipennis* al parasitismo del nematodo *Romanomermis iyengari* (Nematoda: Mermithidae), no estado de Oaxaca, México. **Rev. Cub. Med. Trop.** 1998; 50 (3): 199-202.

PATEL KJ, RUEDA LM, AXTELL RC. Comparisons of different types and concentrations of alginates for encapsulation of *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales), a fungal pathogen of mosquito larvae. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (1): 101-104.

PERICH MJ, BOOBAR LR, STIVERS JC, RIVERA LA. Field evaluation of four bioration larvicide formulations against *Anopheles albimanus* in Honduras. **Medical and Veterinary Entomology** 1990; 4: 393-396.

PERICH MJ, CLAIR PM, BOOBAR LR. Integrated use of planaria (*Dugesia dorotocephala*) and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against *Aedes taeniorhynchus*: a laboratory bioassay. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (4): 667-671.

PERICH MJ, ROGERS JT, BOOBAR LR. Efficacy of arosurf msf and formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against *Anopheles albimanus*: laboratory bioassay. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1987; 3 (3): 485-488.

RAWLINS SC, MARTINEZ R, NIMBLETT A. Consumption of *Aedes aegypti* larvae by *Poecilia reticulata* (Guppies) and factors which affect the productivity of the larvivorous fish in drum environments. **Journal of the Florida Mosquito Control Association** 1993; 64 (2): 125-128.

RAWLINS SC, MARTINEZ E, WILTSHIRE S, CLARKE D, PRABHAKAR P, SPINKS M. Evaluation of caribbean strains of *Macrocyclus* and *Mesocyclops* (Cyclopoida: Cyclopidae) as biological control tools for the dengue vector *Aedes aegypti*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1997; 13 (1): 18-23.

REARDON TP, LUNT SR. Parasitism of adult *Aedes vexans* by a mermithid (Nematoda: Mermithidae) in Iowa. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1989; 5 (3): 446-447.

REGIS L, FURTADO AF, OLIVEIRA CMF, BEZERRA CB, SILVA LRF, ARAÚJO J, MACIEL A, SILVA-FILHA MH, SILVA S. Controle integrado do vetor da filariose com participação comunitária, em uma área urbana do Recife, Brasil. **Cad. Saúde Públ.** 1996; 12 (4): 473-482.

REGIS L, SILVA-FILHA MHN, OLIVEIRA CMF, RIOS EM, SILVA SB, FURTADO AF. Integrated control measures against *Culex quinquefasciatus*, the vector of filariasis in Recife. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 1995; 90 (1): 115-119.

RODRIGUES IB, TADEI WP, DIAS JMCS. Studies on the *Bacillus sphaericus* larvicidal activity against malarial vector species in Amazonia. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 1998; 93 (4): 441-444.

RUAS-NETO AL, SILVEIRA SM, COLARES ERC. Mosquito control based on larvicides in the state of Rio Grande do Sul, Brazil: choice of the control agent. *Cad. Saúde Públ.* 1994; 10 (2): 222-230.

RUEDA LM, PATEL KJ, AXTELL RC. Efficacy of encaosulated *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales) against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* larvae in artificial containers. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1990; 6 (4): 694-699.

RUSSO R. Comparison of predatory behavior in fivespecies of *Toxorhynchites* (Diptera: Culicidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1986; 79: 715-722.

SANDOSKI CA, YATES MM, OLSON JK, MEISCH MV. Evaluation of beecomist – applied *Bacillus thurigiensis* (H-14) against *Anopheles quadrimaculatus* larvae in rice fields. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1985; 1 (3): 316-319.

SANTOS LU, Andrade CFS. Survey of cyclopds (Crustacea, Copepoda) in Brazil and preliminary screening of their potencial as dengue vector predators. *Rev Saúde Pública* 31: 221-6, 1997.

SANTOS LU, ANDRADE FS, CARVALHO GA. Biological control of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) larvae in trap tyres by *Mesocyclops longisetus* (Copepoda: Cyclopidae) in two field trials. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1996; 91 (2): 161-162.

SANTOS LU, SOUZA AB, ANDRADE CFS, SOUZA CEP. Uso de *Bacillus thuringiensis* (H-14) como agente de controle de mosquitos em um cemitério. *Rev. Pat. Trop.* 1994; 23 (2): 151-158.

SAVAGE HM, REJMANKOVA E, ARREDONDO-JIMENEZ JL, ROBERTS DR, RODRIGUEZ MH. Limnological and botanical characterization of larval habitats for two primary malarial vectors, *Anopheles albimanus* and *Anopheles pseudopunctipennis*, in coastal areas of Chiapas State, México. *J Am Mosq Control Assoc* 6: 612-20, 1990.

SCHAPER S, HERNANDEZ F, SOTO L. La lucha contra el dengue: control biológico de larvas de *Aedes aegypti* empleando *Mesocyclops thermocyclopoides* (Crustacea). *Rev. Cost. de Ciencias Médicas* 1998; 19 (1,2): 119-125.

SCHOFIELD CJ. Environmental change: descripton or prediction ?. *Ann Soc Belge Med Trop* 70: 1-3, 1990.

SCHREIBER ET, HALLMON CF, ESKRIDGE KM, MARTEN GG. Effects of *Mesocyclops longisetus* (Copepoda: Cyclopidae) on mosquitoes that inhabit tires: influence of litter type, quality and quantity. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1996; 12 (4): 688-694.

SCHREIBER ET, TURNER WL, LOPEZ AM, HALLMON CF, MARTEN GG. Evaluation of two cyclopoid for *Aedes albopictus* control in tires the Panhandle alt low introduction rates. **Journal of the Florida Mosquito Control Association** 1993; 64 (2): 73-77.

SCHRIEBER ET E JONES C. Na overview of biological control. University of Florida, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, http://edis.ifas.ufl.edu/BODY_IN061.

SERVICE MW. Agricultura development and arthropod-borne disease: a review. **Rev Saúde Pública** 25:165-78, 1991.

SHERRAT TN, TIKASINGH ES. A laboratory investigation of mosquito larval predation by *Toxorhynchites moctezuma* on *Aedes aegypti*. **Medical and Veterinary Entomology** 1989; 3: 239-246.

TIETZE NS, HESTER PG, SHAFFER KR, PRESCOTT SJ, SCHREIBER ET. Integrated management of waste tire mosquitoes utilizing *Mesocyclops longisetus* (Copepoda: Cyclopidae), *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, *Bacillus sphaericus*, and, methoprene. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1994; 10 (3): 363-373.

TIETZE NS, MULLA MS. Biological control of *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) by the tadpole shrimp, *Triops longicaudatus* (Notostraca: Triopsidae). **J. Med. Entomol.** 1991; 28 (1): 24-31.

TIETZE NS, MULLA MS. Influence of tadpole shrimp, *Triops longicaudatus* (Notostraca: Triopsidae), stocking rate on *Culex tarsalis* development in experimental field microcosms. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1990; 6 (2): 265-269.

TODD RG, GIGLIOLI MEC. The failure of *Gambusia puncticulata* and other minnows to control *Aedes taeniorhynchus* in mangrove swamp on Grand Cayman, W. I.. **Mosquito News** 1983; 43 (4): 419-425.

UNDEEN AH, DAME DA. Measurement of the effect of microsporidium pathogens on mosquito larval mortality under artificial field conditions. [Operation and scientific notes]. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1987; 3 (1): 91-93.

URBINATTI PR, **Imaturos de mosquitos (Diptera, Culicidae): caracterização de criadouros – Parque Ecológico do Tietê, Guarulhos, São Paulo.** [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP], 2000.

VAN ESSEN FW, HEMBREE SC. Laboratory bioassay of *Bacillus thuringiensis israelensis* against all instar of *Aedes aegypti* and *Aedes taeniorhynchus* larvae. **Mosquito News** 1980; 40 (3): 424-431.

VARGAS LG, VARGAS MV. Acción depredadora en el laboratorio de *Priapichthys annectens* (Regan) (Pisces: Poeciliidae) sobre larvas de *Culex spp.* **Rev. Biol. Trop.** 1985; 33 (2): 133-136.

WALKER DE, POIRIER SJ VELDMAN WT. Effects of *Ascogregarina barretti* (Eugregarinida: Lecudinidae) infection on emergence success, development time, and size of *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) in Microcosms and tires. **J. Med. Entomol.** 1987; 24: 303-309.

WALKER TW, MEEK CL, WRIGHT VL. Establish and recycling of *Romanomermis culivorax* (Nematoda: Mermithidae) in Louisiana ricelands. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1985; 1 (4): 468-473.

WALLACE FL, WILLIAMS DC, GWINN TA. A new method of testing *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-14) formulations on *Aedes taeniorhynchus* in a abandoned rice impoundment in South Carolina. [Operational and scientific notes]. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1989; 5 (4): 593-595.

WASHUBURN JO, EGERTER DE, ANDERSON JR, GARY AS. Density reduction in larval mosquito (Diptera: Culicidae) populations by interactions between a parasitic ciliate (Ciliophora: Tetrahymenidae) and opportunistic fungal (Oomycetes: Pythiaceae) parasite. **J. Med. Entomol.** 1988; 25 (5): 307-314.

WILMOT TR, ALLEN DW, HARKANSON BA. Field trial of two *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* formulations for control of *Aedes* species mosquitoes in Michigan Woodlands. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** 1993; 9 (3): 344-345.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Fifth meeting on the scientific working group on biological control of vector.** Geneva, 1981; P. 81-3.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Report of a meeting on standardization and industrial development of microbiol control agents.** Geneva, 1979 p.tdr/bcv/79.01 (mimeografiado).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The role of biological agents in integrated vector control and the formulation of protocols for field testing of biological agents.** Geneva, 1982; p. 82-3

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Report of the seventh meeting of scientific working group on biological control of vectors.** World Health Organization, UNDP/ World Bank/ WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, Geneva, 5-9 March, 1984.