

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Parasitologia
Programa de Pós-graduação em Parasitologia

Análises do comportamento de oviposição e avaliações na supressão
por armadilhas de grávidas de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera:
Culicidae)

Laila Heringer Costa

Belo Horizonte

2014

Laila Heringer Costa

Análises do comportamento de oviposição e avaliações na supressão por armadilhas de grávidas de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae)

Qualificação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Entomologia

Orientador: Dr. Álvaro Eduardo Eiras (UFMG)

Coorientadora: Dra. Luciane Gomes Batista-Pereira (UFMG)

Belo Horizonte
Universidade Federal de Minas Gerais
2014

Agradecimentos

À Deus, às “coincidências” da vida e aos momentos de “sorte no azar”.

Ao CNPq e à CAPES pelas concessões das bolsas.

Ao Programa Ciências sem Fronteiras pela possibilidade de estágio no exterior e vivências numa outra cultura.

Ao Prof. Álvaro Eduardo Eiras pela orientação, apoio e ensinamentos. Agradeço também pela compreensão, amizade e pelos excelentes conselhos.

À Lu e à Kelly agradeço infinito pela solicitude e ensinamentos.

Ao Marcelo e à Kelly pelas excelentes contribuições na qualificação.

À Ana da ex biblioteca do ICB-UFMG por encontrar todas as bibliografias do mundo. À Mariza do xerox por imprimir tudo que se possa imaginar nessa vida.

À Sumara e à Sibebe por estarem sempre por perto, ajudarem a solucionar todos os problemas e tirar as infinitas dúvidas.

Ao Sr. Neri, muito obrigada pela prosa, cafezinhos e lanchinhos deliciosos.

À turma do cafezinho, especialmente: Tati, Afonso, Joãozinho e Márcia. Muito obrigada pelas “conversas fiadas” na hora de “esfriar a cabeça”!

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Parasitologia da UFMG que contribuíram para a minha formação.

Aos colegas e amigos que passaram ou permanecem no Labeq, Andrey, Ana Carrusca, Ana Pessoa, Ana “russa”, Bárbara, Bruna, Caio, Caro, Célia, Claudinha, Dani, Débora, Eliseu, Ermelindo, Estefane, Frede, Gigante, Iancor, Isa, Iuri, Jivago, Jordana, Kelly, Luciane, Lucilene, Madson, Mayra, Marcela, Marcelo, Márcia, Marcinha, Maria Cristina, Matheus, Milton, Moreno, Nayara, Renatinha, Robertinha, Rose, Tati, Thais. Um agradecimento especial à Andréa, Karla, Marielle e Pri já que sem a ajuda e parceria de vocês teria sido muito mais difícil.

À minha extensa e maluca família (com agregados, segregados e re-incorporados), agradeço pelos valores e alegrias.

À “fada” Madrinha Fátima que é uma amigona muito presente. Além disso é capaz de adivinhar meus pensamentos, tornando minha vida muito mais fácil.

A minha mãe pela alegria, completa falta de noção e companheirismo.

Ao meu pai, que é o melhor do mundo. Muito obrigada pelo apoio incondicional e pelo exemplo de “quando crescer quero ser igual a você”.

Ao Rô Picolé, um agradecimento especial já que sua disciplina me incentivou absurdamente durante os (muitos) dias que transformamos a sala de casa numa espécie de confraria.

Ao Gu Heringer agradeço por estarmos sempre juntos, ainda que distantes. Com carinho e apoio mútuo vamos juntos, porém separados, mais ou menos no mesmo rumo.

Aos amigos, obrigada pela lealdade e compreensão.

Ao Gu Gori, Léo Dupin e Roberto Starling o eterno agradecimento pela compreensão de que não devemos fugir do padrão, ainda que seja do nosso padrão.

Às queridas Paula e Kelma, que se tornaram meu porto seguro.

À Paula e à Déa um obrigada infinito pela parceria na reta final. Sem vocês teria sido impossível.

Aos colegas e amigos da turma de mestrado 9.8 que fizeram e fazem meus dias mais alegres. Xandoca, Angeliquinha, Emília, Fernando, Lanuze, Letícia, Luiza, Pedro e Rafa, obrigada demais!

À Gina, muito obrigada pela afeição e deliciosas refeições. Além é claro dos conselhos, amizade e parceria.

Ao capitão Doug, muito obrigada pela oportunidade de viver, ainda que esporadicamente, como “pirata”.

Ao Mick que, além de ser um ótimo parceiro de campo, foi um excelente amigo, contador de “causos”, professor de inglês e me ensinou péssimos hábitos alimentares.

Ao Scott, muito obrigada pelo afetuoso acolhimento, confiança, pela orientação e valiosos ensinamentos.

Aos amigos e agregados do laboratório do Scott, muito obrigada pela paciência e por compartilharem o espaço, o conhecimento e as alegrias. Obrigada demais, Penny, Chris, Jess, Leon, Ivana, Dagmar, Tom, Mick, Fred e Gavin (Pronto, acabei!).

Às queridas Yoko, Penny, Dagmar, Michal, Miréia, Jess, Jane, Michelle, Ivana, Ellen, Carol e Ruela. Muito obrigada pelo carinho, amizade e vivência da tal “sororidade” antes mesmo de conhecer tal conceito.

RESUMO

O presente trabalho consistiu na avaliação do comportamento de “oviposição em saltos” de *Aedes aegypti*, avaliação das armadilhas Gravid *Aedes* Trap (GAT) e BG-Sentinel (BGS) na supressão de fêmeas e na distribuição de ovos no ambiente e aprimoramento da GAT. Ao comparar aspectos da biologia e do comportamento de oviposição de indivíduos de uma colônia recém estabelecida (F₁) com uma colônia antiga (F₁₂₅) de *Ae. aegypti*, notou-se que a razão sexual, o número de ovos depositados, o número de criadouros colonizados e o tamanho dos machos foram iguais entre insetos de F₁ e F₁₂₅. Entretanto, a viabilidade dos ovos, a duração da fase larval e o tamanho das fêmeas foram menores na colônia antiga. O efeito da dieta das fêmeas e as dimensões dos criadouros nos comportamentos de “oviposição em saltos” foram avaliados em semicampo através da observação de grávidas individualizadas. Notou-se que ambos os comportamentos não dependeram da dieta a que as fêmeas foram submetidas. Grávidas de *Ae. aegypti* espalharam seus ovos em todos os recipientes disponíveis, independente de suas dimensões (MLG, $p < 0,05$), porém evitaram depositar grande quantidade de ovos em criadouros pequenos. Comparou-se também as recapturas na BG-Sentinel (BGS) e na Gravid *Aedes* Trap (GAT) em simulações de peridomicílio contendo diferentes densidades (0, 4, 8 e 16) de criadouros de distintas dimensões. Nos ambientes com 4, 8 e 16 criadouros verificou-se a tendência de maior colonização de criadouros maiores em relação aos menores (MLG, $p < 0,05$). Não houve redução no número de ovos depositados em decorrência da presença de GAT (MLG, $p < 0,05$), embora a BGS tenha reduzido significativamente o número de ovos em ambientes com 8 e 16 recipientes de oviposição (MLG, $p < 0,05$). A BGS recapturou entre 60 e 80% das fêmeas liberadas, enquanto a GAT recapturou entre 50 e 60 % dos indivíduos avaliados, sendo que as recapturas não foram influenciadas pelo número de criadouros disponíveis. A armadilha GAT foi aprimorada, substituindo spray de superfície (piretróide) por mosquiteiro impregnado com inseticida de alta durabilidade (até 2 anos) e praticidade de uso, para ser utilizada na produção em grande escala da GAT.

ABSTRACT

This research consisted of the evaluation of the "skip oviposition" behavior of *Aedes aegypti*, the evaluation of the BG-Sentinel (BGS) and the Gravid *Aedes* Trap (GAT) suppressing females and influencing egg distribution under semi-field conditions, with improvements of the GAT. We compared biological parameters and the oviposition behavior of *Ae. aegypti* from an old colony (F₁₂₅) and from a newly established colony (F₁). It was observed that the sex ratio, the number of laid eggs, the number of colonized breeding sites, and the size of the males, were equal between insects coming from F₁ and F₁₂₅ colonies. Meanwhile, the hatchability of the eggs, the duration of larval development, and the size of the females were smaller in individuals coming from the old colony. We assessed whether the diet of the females and the size of the breeding sites could influence the "skip oviposition" females individually evaluated under semi-field conditions. We observed that both behaviors did not depend on the diet that females had been submitted. We also noted that gravid *Ae. aegypti* females spread their eggs between all the available containers, regardless of its size (GLM, $p < 0.05$). However, they avoided the depositing of large amounts of eggs in small containers. We also compared the recapture of *Ae. aegypti* females at the BGS and at the GAT in simulations of peridomiciles containing various densities (0, 4, 8 and 16) of different breeding sites. At the environments with 4, 8 and 16 breeding sites we observed a tendency of higher colonizations of bigger breeding sites in relation to the small ones (GLM, $p < 0.05$). There was no reduction in the number of laid eggs due to the GAT (GLM, $p < 0.05$), although the BGS reduced significantly the number of eggs in environments with 8 and 16 breeding sites (GLM, $p < 0.05$). The BGS recaptured between 60 and 80% of the females released, while the GAT recaptured between 50 and 60% of the individuals evaluated. The number of available breeding sites did not influence the recaptures in both traps. We evaluated alternative killing agents within the GAT. Among the items evaluated, insecticide-impregnated bed nets (Bestnet Netprotect[®]) were as efficient as the Mortein[®] surface spray. With high durability (up to 2 years) and practicality, these bed nets presented a high potential to be used in large scale within the GAT.

LISTA DE FIGURAS

Introdução Geral

- Figura 1. Fêmea de *Aedes aegypti* realizando o repasto sanguíneo..... 25

Capítulo I

- Figura 2. Esquema de alimentação artificial utilizada para fêmeas de *Aedes aegypti*. (a) Banho-maria mantido a 38°C, placa de acrílico e potes telados para facilitar a alimentação das fêmeas. (b) Detalhe de como o sangue é colocado no alimentador artificial..... 42

- Figura 3. Gaiola de polipropileno (com a parte superior removida) em que foram realizados os bioensaios contendo nove recipientes para oviposição de *Aedes aegypti*..... 45

- Figura 4. Percentual médio (\pm EP) de ovos viáveis provenientes de colônias de *Aedes aegypti* nas gerações F₁₂₅ e F₁ mantidos em condições de laboratório. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa entre os tratamentos - MLG, $p < 0,05$. (N = 15 grupos contendo cerca de 50 ovos em cada)..... 47

- Figura 5. Percentual médio diário de eclosão de larvas de *Aedes aegypti* procedentes de ovos de colônias nas gerações F₁₂₅ e F₁. (N = 15 grupos contendo cerca de 50 ovos em cada)..... 47

- Figura 6. Percentual médio diário de emergência de machos e fêmeas procedentes colônias de *Aedes aegypti* nas gerações F₁₂₅ e F₁. (N = amostra de 120 insetos/dia/25dias)..... 49

Capítulo II

- Figura 7. Esquema da área experimental (semicampo) mostrando a disposição das gaiolas de teste e as construções de alvenaria (sala do olfatômetro e banheiro) (Adaptado de Roque & Eiras 2008)..... 65

- Figura 8. Representação da disposição dos criadouros, com respectivas numerações, em dois círculos concêntricos dentro da gaiola de teste do semicampo. No centro, indicação do local de liberação da fêmea de *Aedes aegypti* e da localização da solução açucarada..... 66

- Figura 9. Disposição dos criadouros, Ovitampas alternadas com criadouros médios, em dois círculos concêntricos dentro de uma gaiola da área de semicampo. a - Ovitampas localizadas nas posições pares. b - Ovitampas localizadas nas posições ímpares..... 69

Figura 10.	Criadouros:(a) grande; (b) médio, (c) Ovitampa e (d) e pequeno que foram utilizados nos bioensaios, com as paredes internas revestidas com papel <i>craft</i> marrom.....	70
Figura 11.	Distribuição das armadilhas do círculo interno e do círculo externo com anteparo de tecido em “X”.....	71
Figura 12	Disposição dos criadouros do tipo Ovitampa em dois círculos concêntricos dentro da gaiola da área de semicampo. a – presença de anteparo no círculo interno. b – ausência de anteparo no círculo interno...	72
Figura 13.	Frequência (%) do número de criadouros utilizados para deposição dos ovos por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> submetidas a diferentes dietas e avaliadas em condições de semicampo.....	76
Figura 14.	Número médio (\pm EP) de criadouros colonizados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> submetidas a diferentes dietas e avaliadas em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa -MLG, $p < 0.05$	77
Figura 15.	Percentual médio de criadouros colonizados para cada categoria de ovos na avaliação de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> submetidas a diferentes dietas e testadas em condições de semicampo.....	77
Figura 16.	Percentual médio (EP) de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> na água e na palheta dos criadouros, em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa entre o percentual de ovos na água e na palheta em cada tratamento – MLG, $p < 0.05$	83
Figura 17.	Percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em cada uma das posições avaliadas nas gaiolas do semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre o número de ovos depositados nas armadilhas do círculo interno e externo - MLG, $p < 0.05$.	84
Figura 18.	Frequência (%) do número de criadouros utilizados para deposição dos ovos por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> expostas a cada tratamento, em condições de semicampo.....	87
Figura 19.	Número médio (\pm EP) de criadouros colonizados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> expostas a criadouros de diferentes dimensões em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa – MLG, $p < 0.05$	87

Figura 20.	Percentual médio (\pm EP) de criadouros colonizados para cada categoria de ovos na avaliação de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> expostas a criadouros de diferentes dimensões em condições de semicampo.....	88
Figura 21.	Percentual médio (EP) de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> na água e na parede dos criadouros de diferentes dimensões em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa entre percentual de ovos – MLG, $p < 0,05$. Criadouros: PE = pequeno, OV = Ovitampa, ME = médio e GR = grande.....	96
Figura 22.	Percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> nos criadouros de diferentes dimensões localizados no círculo interno ou externo das gaiolas da área de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa (MLG, $p < 0,05$). Criadouros: PE = pequeno, Ov = Ovitampa, ME = médio e GR = grande	97
Figura 23.	Frequência (%) do número de criadouros utilizados para deposição dos ovos por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> avaliadas em condições de semicampo diante de 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno.....	99
Figura 24.	Número médio (\pm EP) de criadouros colonizados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> avaliadas em condições de semicampo diante de 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa – MLG, $p < 0,05$	100
Figura 25.	Percentual médio (\pm EP) de criadouros colonizados para cada categoria de ovos na avaliação de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em condições de semicampo diante de 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno.....	100
Figura 26.	Percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em cada um dos 16 criadouros disponíveis e organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno. Letras diferentes indicam diferença significativa entre o percentual de ovos depositados nas armadilhas do círculo interno e externo – MLG, $p < 0,05$	104
Figura 27.	Percentual médio (EP) de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> na água e na palheta em bioensaios com 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo	

interno. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa entre percentual de ovos na água e na palheta entre os tratamentos - MLG, $p < 0,05$ 105

Capítulo III

- Figura 28. Figura 28. Vista externa das duas gaiolas instaladas no semicampo para a realização de bioensaios. À direita, gaiola denominada de peridomicílio 1, e à esquerda, gaiola denominada de peridomicílio 2..... 119
- Figura 29. Simulação de peridomicílio na gaiola 1 (a;b) e na gaiola 2 (c;d). Fotos superiores mostram o fundo do ambiente peridomiciliar e fotos inferiores expõem a frente do local..... 120
- Figura 30. (a) Armadilha Gravid *Aedes* Trap (GAT) utilizada nos bioensaios para a captura de *Aedes aegypti*. (b) Desenho esquemático das partes da GAT: (1) funil de entrada, (2) câmara transparente, (3) tela, (4) base preta..... 122
- Figura 31. Armadilha BG-Sentinel (BGS). Setas vermelhas indicam o local de saída da corrente de ar e setas amarelas indicam o local da entrada da corrente de ar, favorecendo a sucção de insetos..... 123
- Figura 32. Armadilha BG-Mosquitito®..... 124
- Figura 33. Esquema da disposição dos criadouros e das armadilhas (BGSou GAT) na simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 e 16 criadouros..... 125
- Figura 34. Percentual médio (\pm EP) de fêmeas de *Aedes aegypti* recapturadas na BG-Sentinel em simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros, em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa – MLG; $p < 0,05$ 131
- Figura 35. Percentual médio (\pm EP) de fêmeas de *Aedes aegypti* recapturadas na GAT em simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros, em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$ 131
- Figura 36. Comparação de recapturas ($x \pm$ EP %) de fêmeas de *Aedes aegypti* na BGS e na GAT em simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros, em condições de semicampo. MLG, $p < 0,05$ 132
- Figura 37. Percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* em simulação de peridomicílio contendo 4, 8 ou 16 criadouros de diferentes dimensões, na presença e na ausência de BGS, em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa – MLG, $p < 0,05$ 136

Figura 38.	Percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em simulação de peridomicílio contendo 4, 8 ou 16 criadouros de diferentes dimensões, na presença e na ausência de GAT, em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa – MLG, $p < 0,05$	137
Figura 39.	Comparação entre os percentuais ($x \pm$ EP) de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> na presença e na ausência de BGS em simulações de peridomicílios com diferentes quantidades (4, 8 e 16) de criadouros de diversas dimensões, em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa – MLG, $p < 0,05$	138
Figura 40.	Comparação entre os percentuais ($x \pm$ EP) de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> na presença e na ausência de GAT em simulações de peridomicílios com diferentes quantidades (4, 8 e 16) de criadouros de diversas dimensões, em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa – MLG, $p < 0,05$	139
Figura 41.	Percentual ($x \pm$ EP) de indivíduos vivos nos criadouros, 21 ou 24 dias após o contato dos ovos com a água, sendo os criadouros mantidos em condições de semicampo após os experimentos com a armadilha BGS. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa – MLG, $p < 0,05$	140
Figura 42.	Percentual ($x \pm$ EP) de indivíduos vivos nos criadouros, 21 ou 24 dias após o contato dos ovos com a água, sendo os criadouros mantidos em condições de semicampo após os experimentos com a armadilha GAT. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa – MLG, $p < 0,05$	141

Capítulo IV

Figura 43.	Avaliação de diferentes protótipos contendo tela impregnada com inseticida no funil de entrada. (A) GAT padrão - controle (B) funil padrão circundado com tira curta de tela, (C) funil curto circundado com tira curta de tela, (D) funil curto circundado com tira longa de tela e (E) funil padrão circundado com tira longa de tela.....	158
Figura 44.	Comparação entre o comportamento de escape e tempo de <i>knock down</i> de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em câmaras translúcidas contendo tela impregnada com inseticida de coloração verde ou preta em condições de	

	laboratório. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os percentuais de escape – MLG, $p < 0,05$	162
Figura 45.	Comparação entre o comportamento de escape e tempo de <i>knock down</i> de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em câmaras translúcidas contendo tela impregnada com inseticida verde em diferentes arranjos dentro da câmara translúcida em condições de laboratório. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os percentuais de escape – MLG, $p < 0,05$	163
Figura 46.	Comparação entre o comportamento de escape e tempo de <i>knock down</i> de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em câmaras translúcidas contendo tela impregnada com inseticida em diferentes arranjos no funil de entrada da armadilha, em condições de laboratório. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os percentuais de escape – MLG, $p < 0,05$	164
Figura 47.	Comparação entre o comportamento de escape e tempo de <i>knock down</i> de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em câmaras translúcidas contendo Mortein® ou Metofluthrin, em condições de laboratório. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os percentuais de escape – MLG, $p < 0,05$	165
Figura 48.	Avaliação de diferentes agentes exterminantes associados à GAT na recaptura de fêmeas grávidas de <i>Aedes aegypti</i> em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre tratamentos. MLG, $p < 0,05$	166
Figura 49.	Avaliação de agentes exterminantes alternativos na captura de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em armadilhas GAT instaladas no campo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos - MLG, $p < 0,05$	167
Figura 50.	Número ($x \pm EP$) de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> capturadas na GAT com infusão envelhecida por diferentes semanas em condições de campo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos - MLG, $p < 0,05$	168

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1.	Duração da fase larval de indivíduos provenientes de colônias de <i>Aedes aegypti</i> nas gerações F ₁₂₅ e F ₁ . Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos -MLG, $p < 0.05$. (N \cong 500 larvas/tratamento).....	48
Tabela 2.	Número de machos e fêmeas que emergiram de pupas provenientes de colônias de <i>Aedes aegypti</i> nas gerações F ₁₂₅ e F ₁ , com respectivas razões sexuais. (N = amostra de 120 insetos/dia/25dias).....	48
Tabela 3.	. Tamanho das asas de machos e fêmeas provenientes de colônias de <i>Aedes aegypti</i> nas gerações F ₁₂₅ e F ₁ . Letras diferentes após as médias indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$. (N=25 indivíduos/colônia/sexo).....	50
Tabela 4.	Número médio de ovos (\pm EP) depositados, número médio (\pm EP) de criadouros colonizados e percentuais médios (\pm EP) de ovos depositados na água e na parede do criadouro por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> procedentes de colônias nas gerações F ₁₂₅ e F ₁ . Letras diferentes após as médias indicam diferença significativa - MLG, $p < 0.05$. (N=12-13 fêmeas/tratamento).....	51
Tabela 5.	Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos nove criadouros por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> procedentes de colônia em geração F ₁₂₅ e avaliadas individualmente em condições de laboratório. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. Asterisco (*) ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de <i>outlier</i> , $p < 0,05$	52
Tabela 6.	Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos nove criadouros por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> procedentes de colônia em geração F ₁ e avaliadas individualmente em condições de laboratório. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. Asterisco (*) ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de <i>outlier</i> , $p < 0,05$	52

Tabela 7	Numero de fêmeas (percentual de fêmeas) de <i>Aedes aegypti</i> procedentes de colônias em geração F ₁₂₅ e F ₁ que depositaram seus ovos em criadouro único ou exibiram o comportamento de “oviposição em saltos, apresentando ou não o “criadouro predileto” em condições de laboratório. (N=12-13 fêmeas/tratamento).....	53
----------	---	----

Capítulo II

Quadro 1.	Dimensões, capacidade total, capacidade utilizada e área de superfície dos recipientes avaliados como criadouros nos bioensaios em condições de semicampo.....	70
Tabela 8.	Número total de ovos depositados por tratamento, números máximos e mínimos de ovos depositados por cada fêmea e número médio de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> submetidas a diferentes dietas e avaliadas em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre valores da mesma coluna –MLG, p < 0,05...	74
Tabela 9.	Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> submetidas à dieta de “água + sangue” e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de <i>outlier</i> , p < 0,05.....	79
Tabela 10.	Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> submetidas à dieta de “sacarose a 10% + sangue” e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de <i>outlier</i> , p < 0,05.....	80
Tabela 11.	Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> submetidas à dieta de “jejum + sangue” e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de <i>outlier</i> , p < 0,05.....	81

Tabela 12	Percentual médio de ovos depositados no “criadouro predileto” e percentuais mínimos e máximos de ovos colocados no “criadouro predileto” em cada um dos tratamentos avaliados em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre valores da mesma coluna - MLG, $p < 0.05$	82
Tabela 13.	Localização do “criadouro predileto” escolhido por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> agrupados em círculo interno (posições de 1 a 8) ou externo (posições de 9 a 16). Letras diferentes indicam diferença significativa entre círculo interno e externo em cada tratamento - Qui quadrado, $p < 0.05$	85
Tabela 14.	Número total de ovos depositados, números mínimos e máximos de ovos depositados por cada fêmea e número médio de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em cada um dos tratamentos avaliados em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre valores da mesma coluna -MLG, $p < 0,05$	86
Tabela 15.	Percentual médio ($\pm EP$) de criadouros colonizados e percentual médio ($\pm EP$) de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> expostas a 16 criadouros de diferentes dimensões em condições de semicampo Letras diferentes indicam diferença significativa entre tipos de criadouros em cada tratamento – MLG; $p < 0,05$	89
Tabela 16.	Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> expostas a criadouros do tipo Ovitrapa e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de <i>outlier</i> , $p < 0,05$	90
Tabela 17.	Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> expostas a criadouros pequenos e Ovitrapas e avaliadas individualmente em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de <i>outlier</i> , $p < 0,05$	91
Tabela 18.	Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i>	

	expostas a criadouros médios e Ovitrapas e avaliadas individualmente em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de <i>outlier</i> , $p < 0,05$	92
Tabela 19.	Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> expostas a criadouros grandes e Ovitrapas e avaliadas individualmente em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de <i>outlier</i> , $p < 0,05$	93
Tabela 20.	Número de fêmeas (% de fêmeas) de <i>Aedes aegypti</i> que realizaram o comportamento de escolha do “criadouro predileto do tipo Ovitrapa ou o criadouro diferente (pequeno, médio ou grande) em experimentos de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os criadouros de cada tratamento - Qui quadrado, $p < 0.05$	94
Tabela 21.	Percentual médio (EP) de ovos no “criadouro predileto” de cada tratamento, percentual médio de ovos no “criadouro predileto” de diferentes dimensões e percentuais máximos e mínimos de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> no ‘criadouro predileto’ de cada dimensão em experimentos de semicampo ($23,7 \pm 1,22$ °C, $66,8 \pm 5,66\%$ URA). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ou entre criadouros diferentes de cada tratamento - MLG; $p < 0,05$.# significa que não foi possível realizar um teste estatístico.....	95
Tabela 22.	Localização do “criadouro predileto” escolhido por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> agrupados em círculo interno (criadouros nas posições de 1 a 8) ou externo (criadouros nas posições de 9 a 16).....	98
Tabela 23.	Número total de ovos depositados / tratamento, números máximos e mínimos de ovos depositados e número médio de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> avaliadas em condições de semicampo diante de 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno. Letras diferentes indicam diferença significativa entre valores da mesma coluna – MLG, $p < 0,05$	98

Tabela 24.	Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em cada um dos 16 criadouros na ausência de anteparos no círculo interno e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de <i>outlier</i> , $p < 0,05$	101
Tabela 25.	Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em cada um dos 16 criadouros na presença de anteparos no círculo interno e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de <i>outlier</i> , $p < 0,05$	102
Tabela 26.	Percentual médio (EP) de ovos no “criadouro predileto” de cada tratamento, percentual médio de ovos no “criadouro predileto” localizado no círculo interno ou externo e percentuais máximos e mínimos de ovos depositados no “criadouro predileto” por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> avaliadas em semicampo diante de 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno. Letras diferentes indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$	103
Tabela 27.	Localização do “criadouro predileto” escolhido por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> no círculo interno (criadouros nas posições de 1 a 8) ou externo (criadouros nas posições de 9 a 16). Letras diferentes indicam diferença significativa entre círculo interno e externo em cada tratamento (Qui quadrado, $g1 = 1$, $p < 0.05$).....	105

Capítulo III

Quadro 2.	Dimensões, volume de água total, volume de água utilizado, e dimensões da palheta utilizada em cada criadouro.....	121
Quadro 3.	Número de cada tipo de criadouro (pequeno, Ovitrapa, médio e grande) presente nos peridomicílios com diferentes densidades de criadouros em condições de semicampo.....	126
Quadro 4.	Estrutura fisiológica de uma amostra de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> avaliadas em condições de semicampo (NA= não se aplica porque os dados não foram coletados).....	129

Tabela 28.	Número médio (\pm EP) de fêmeas avaliadas e percentual ($x \pm$ EP) de criadouros colonizados por <i>Aedes aegypti</i> em simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros, diante da presença ou não das armadilhas BGS ou GAT, em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferenças entre valores na mesma coluna - MLG, $p < 0,05$. NA= não se aplica porque os dados não foram coletados.....	130
Tabela 29.	Percentual médio (\pm EP) de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> recapturadas na BGS em cada um dos estados fisiológicos, em simulações de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre valores na mesma linha – MLG; $p < 0,05$	133
Tabela 30.	Percentual médio (\pm EP) de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> recapturadas na GAT em cada um dos estados fisiológicos, em bioensaios conduzidos na simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre valores na mesma linha – MLG; $p < 0,05$	133
Tabela 31.	Total de ovos, número ($x \pm$ EP) de ovos depositados e percentual de redução de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em peridomicílios contendo 4, 8 ou 16 criadouros, diante da presença ou não da BGS, em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre peridomicílios com o mesmo número de criadouros mas com presença ou ausência e BGS – MLG; $p < 0,05$	134
Tabela 32.	Total de ovos, número ($x \pm$ EP) de ovos depositados e percentual de redução de ovos depositados por fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> em peridomicílios contendo 4, 8 ou 16 criadouros, diante da presença ou não da GAT, em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre peridomicílios com o mesmo número de criadouros mas com presença ou ausência e GAT – MLG; $p < 0,05$	135

LISTA DE SIGLAS

BGS	BG-Sentinel
CP	“Criadouro predileto”
CUN	Criadouro único
ECI	Escola de Ciência da Informação
EP	Erro padrão
FALE	Faculdade de letras
FAFICH	Faculdade de Filosofia e Ciências Humanas
GAT	Gravid <i>Aedes</i> Trap
GR	Criadouro grande
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
LabEQ	Laboratório de Ecologia Química de Insetos Vetores
ME	Criadouro médio
MLG	Modelo Linear Generalizado
NA	Não se aplica
OV	Ovitampa
PE	Criadouro pequeno
SCP	Sem “criadouro predileto”
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
X	Média

Sumário

1 INTRODUÇÃO GERAL	25
1.1 Considerações gerais sobre a biologia do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	25
1.2 A importância do <i>Aedes aegypti</i> em saúde pública.....	26
1.3 Controle do <i>Aedes aegypti</i>	27
1.4 Monitoramento do <i>Aedes aegypti</i>	28
1.5 Uso de uma área experimental de semicampo para a realização de bioensaios com o <i>Aedes aegypti</i>	29
1.6 O comportamento de oviposição do <i>Aedes aegypti</i>	31
2 OBJETIVOS	33
2.1 Objetivo geral.....	33
2.2 Objetivos específicos.....	33
CAPÍTULO I - Avaliação de parâmetros biológicos e do comportamento de oviposição de <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> provenientes de uma colônia antiga (F₁₂₅) e de uma colônia recém-estabelecida (F₁) em condições de laboratório..	35
RESUMO	36
I.1 INTRODUÇÃO	37
I.2 OBJETIVOS	39
I.2.1 Objetivo Geral.....	39
I.2.2 Objetivos específicos.....	39
I.3 METODOLOGIA	39
I.3.1 Estabelecimento de colônia de <i>Aedes aegypti</i> em condições de laboratório....	39
I.3.2 Manutenção das colônias de <i>Aedes aegypti</i> em condições de laboratório.....	40
I.3.3 Bioensaios.....	43
I.3.3.1 Avaliação da viabilidade de ovos de <i>Aedes aegypti</i> provenientes de colônias na geração F ₁₂₅ e na geração F ₁	43
I.3.3.2 Avaliação da duração da fase larval de <i>Aedes aegypti</i> provenientes de colônias na geração F ₁₂₅ e na geração F ₁	43
I.3.3.3 Avaliação da razão sexual entre indivíduos provenientes de colônias de <i>Aedes aegypti</i> na geração F ₁₂₅ e na geração F ₁	44
I.3.3.4 Avaliação do tamanho de adultos de <i>Aedes aegypti</i> procedentes de colônias na geração F ₁₂₅ e na geração F ₁	44

I.3.3.5 Avaliação do comportamento de “oviposição em saltos” e local de deposição de ovos de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> procedentes de colônias na geração F ₁₂₅ e na geração F ₁	44
I.3.4 Análises estatísticas.....	45
I.4 RESULTADOS	46
I.4.1 Viabilidade de ovos de <i>Aedes aegypti</i> provenientes de colônias na geração F ₁₂₅ e na geração F ₁	46
I.4.2 Duração da fase larval de <i>Aedes aegypti</i> provenientes de colônias na geração F ₁₂₅ e na geração F ₁	48
I.4.3 Razão sexual entre indivíduos provenientes de colônias na geração F ₁₂₅ e na geração F ₁	48
I.4.4 Tamanho de adultos de <i>Aedes aegypti</i> procedentes de colônias na geração F ₁₂₅ e na geração F ₁	50
I.4.5 Comportamento de “oviposição em saltos” e local de deposição de ovos de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> procedentes de colônias na geração F ₁₂₅ e na geração F ₁ .	50
I.5 DISCUSSÃO	53
I.6 CONCLUSÕES	59

CAPÍTULO II - Avaliação do estado nutricional de fêmeas de <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> e das dimensões dos criadouros no seu comportamento de “oviposição em saltos” e escolha de “criadouro predileto” em condições de semicampo	60
RESUMO	61
II.1 INTRODUÇÃO	62
II.2 OBJETIVOS	64
II.2.1 Objetivo Geral.....	64
II.2.2 Objetivos específicos.....	64
II.3 METODOLOGIA	64
II.3.1 Manutenção das colônias de <i>Aedes aegypti</i> em condições de laboratório.....	64
II.3.2 Área experimental de semicampo.....	65
II.3.3 Bioensaios.....	66

II.3.3.1 Experimento 1: Influência do estado nutricional de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> no seu comportamento de oviposição.....	67
II.3.3.2 Experimento 2: Influência das dimensões dos criadouros no comportamento de oviposição de grávidas de <i>Aedes aegypti</i>	68
II.3.3.3 Experimento 3: Influência da presença de anteparo nas proximidades do criadouro no comportamento de oviposição de <i>Aedes aegypti</i>	71
II.3.4 Análises estatísticas.....	72
II.4 RESULTADOS	74
II.4.1 Experimento 1: Influência do estado nutricional de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> no seu comportamento de oviposição.....	74
II.4.2 Experimento 2: Influência das dimensões dos criadouros no comportamento de oviposição de <i>Aedes aegypti</i>	85
II.4.3 Experimento3: Influência da presença de anteparo nas proximidades do criadouro no comportamento de oviposição de <i>Aedes aegypti</i>	98
II.5 DISCUSSÃO	106
II.6 CONCLUSÕES	113
CAPÍTULO III - Avaliação das armadilhas BG-Sentinel e Gravid <i>Aedes</i> Trap no controle de adultos de <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> em condições de semicampo	114
RESUMO	115
III.1 INTRODUÇÃO	116
III.2 OBJETIVOS	118
III.2.1 Objetivo Geral.....	118
III.2.2 Objetivos específicos.....	118
III.3 METODOLOGIA	119
III.3.1 Manutenção da colônia de <i>Aedes agypti</i> em condições delaboratório.....	119
III.3.2 Área experimental de semicampo.....	119
III.3.3 Os peridomicílios na área experimental de semicampo.....	120
III.3.4 Criadouros presentes nos peridomicílios.....	120
III.3.5 Armadilha Gravid <i>Aedes</i> Trap (GAT)	121
III.3.6 Armadilha BG-Sentinel (BGS)	123
III.3.7 Armadilha BG-Mosquitito.....	124

III.3.8 Avaliação da recaptura de <i>Aedes aegypti</i> em armadilhas (BGS ou GAT) numa simulação de peridomicílio em semicampo.....	124
III.3.9 Avaliação da produtividade de <i>Aedes aegypti</i> em criadouros de diferentes dimensões.....	126
III.3.10 Avaliação do estado fisiológico de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> recapturadas em armadilhas específicas para o vetor.....	127
III.3.11 Análises estatísticas.....	127
III.4 RESULTADOS	128
III.5 DISCUSSÃO	141
III.6 CONCLUSÕES	146
CAPÍTULO IV - Avaliação de agentes exterminantes alternativos para associar à Gravid <i>Aedes</i> Trap (GAT), garantindo a eficiência do dispositivo na captura de <i>Aedes aegypti</i>	148
RESUMO	149
IV.1 INTRODUÇÃO	150
IV.2 OBJETIVOS	151
IV.2.1 Objetivo Geral.....	152
IV.2.2 Objetivos específicos.....	152
IV.3 METODOLOGIA	152
IV.3.1 Manutenção de <i>Ae. aegypti</i> em condições de laboratório.....	152
IV.3.2 Mosquitos utilizados nos experimentos de laboratório e de semicampo.....	153
IV.3.3 Gravid <i>Aedes</i> Trap (GAT).....	153
IV.3.4 Agentes exterminantes alternativos e padrão utilizados na GAT.....	154
IV.3.5 Bioensaios de laboratório (testes de bancada).....	154
IV.3.5.1 Testes de escape da armadilha GAT em condições de laboratório.....	154
IV.3.5.2 Testes de “ <i>knock down</i> ” com a armadilha GAT em condições de laboratório.....	155
IV.3.5.3 Experimento 1: Qual metodologia é melhor para avaliar o escape de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> da GAT?	155
IV.3.5.4 Experimento 2: A cor da tela impregnada com inseticida influencia no comportamento de escape e no tempo de <i>knock down</i> de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> na GAT?	156

IV.3.5.5 Experimento 3: A presença de tela impregnada com inseticida nas laterais da câmara transparente é importante para o rápido <i>knock down</i> e para uma menor taxa de escape da GAT?.....	156
IV.3.5.6 Experimento 4: Como a tela impregnada com inseticida pode ser utilizada no funil de entrada, além do fundo da câmara transparente, para “ <i>knock down</i> ” as fêmeas rapidamente e prevenir o escape da GAT?.....	156
IV.3.5.7 Experimento 5: Qual o melhor tamanho da tela impregnada com Metofluthrin® a ser usada na GAT como agente exterminante para prevenir o escape e garantir o rápido <i>knock down</i> de <i>Ae. aegypti</i> no interior do dispositivo?...	158
IV.3.6 Bioensaios de semicampo.....	158
IV.3.6.1 Área de semicampo.....	158
IV.3.6.2 Experimento 6: Protótipos de GAT contendo telas impregnadas com inseticida são agentes exterminantes eficientes em condições de semicampo?.....	159
IV.3.7 Bioensaios de campo.....	160
IV.3.7.1 Experimento 7: Os agentes exterminantes alternativos são eficientes quando associados à GAT em condições de campo?	160
IV.3.8 Análises estatísticas.....	160
IV.4 RESULTADOS	161
IV.4.1 Experimento 1: Qual metodologia é melhor para avaliar o escape de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> da GAT?	161
IV.4.2 Experimento 2: A cor da tela impregnada com inseticida influencia no comportamento de escape e no tempo de <i>knock down</i> de fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> na GAT?	161
IV.4.3 Experimento 3: A presença de tela impregnada com inseticida nas laterais da câmara transparente é importante para o rápido <i>knock down</i> e para uma menor taxa de escape da GAT?	162
IV.4.4 Experimento 4: Como a tela impregnada com inseticida pode ser utilizada no funil de entrada, além do fundo da câmara transparente, para <i>knock down</i> as fêmeas rapidamente e prevenir o escape da GAT?.....	163
IV.4.5 Experimento 5: Qual o melhor tamanho da tela impregnada com Metofluthrin® a ser usada na GAT como agente exterminante para prevenir o escape e garantir o rápido <i>knock down</i> de <i>Ae. aegypti</i> no interior do dispositivo?...	165

IV.4.6 Experimento 6: Protótipos de GAT contendo telas impregnadas com inseticida são agentes exterminantes eficientes em condições de semicampo?.....	165
IV.4.7 Experimento 7: Os agentes exterminantes alternativos são eficientes quando associados à GAT em condições de campo?.....	166
IV.5 DISCUSSÃO	168
IV.6 CONCLUSÕES	174
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	175
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	177

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Considerações gerais sobre a biologia do mosquito *Aedes aegypti*

O mosquito antropofílico *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus 1762) distribuiu-se amplamente nas regiões tropicais e subtropicais do globo (Forattini 2002, WHO 2012). Os adultos de *Ae. aegypti* (Fig. 1) são escuros e apresentam no tórax escamas claras formando ornamentos branco-prateados típicos. São características morfológicas marcantes da espécie a presença de duas faixas longitudinais curvilíneas, uma em cada lado do tórax, que formam um desenho que se assemelha ao instrumento musical lira, tendo em sua porção mediana, duas faixas longitudinais mais estreitas. No abdômen e nas pernas observam-se ainda manchas branco-prateadas, e no clipeo, dois tufos de escamas também branco-prateadas (Forattini 2002).



Figura 1. Fêmea de *Aedes aegypti* realizando o repasto sanguíneo.

Fonte: <https://www.vectorbase.org/organisms/aedes-aegypti/liverpool-lvp>

A espécie apresenta um ciclo biológico holometabólico, envolvendo as fases de ovo, quatro ínstaes larvais, pupa e adulto. Os ovos de formato cilíndrico alongado, possuem cerca de 1 mm de comprimento. São depositados preferencialmente nas paredes do criadouro ou, eventualmente, na água. Uma vez que são fertilizados segundos antes da oviposição, o

desenvolvimento embrionário termina no ambiente externo, dois ou três dias após a deposição dos ovos. Após o completo desenvolvimento embrionário, em contato com a água, as larvas podem eclodir. As larvas se desenvolvem em diferentes tipos de recipientes contendo água doce parada onde se alimentam de detritos orgânicos e bactérias. Passam por quatro instares e seu desenvolvimento pode se estender por cerca de 7 a 14 dias, dependendo das condições ambientais e da disponibilidade de nutrientes. A larva se transforma em pupa e, em 2 ou 3 dias, há a emergência do adulto (Gadelha & Toda 1985, Nelson 1986, Forattini 2002).

Machos e fêmeas realizam o repasto açucarado, nutrindo-se, em condições naturais, de néctar de flores e outros nectários, gotículas secretadas por afídeos e suco de frutos (Forattini 2002, Tsunoda et al. 2010). No entanto, as fêmeas de *Ae. aegypti* se alimentam de sangue, preferencialmente em seres humanos, provocando desconforto no momento da picada e podendo transmitir inúmeros patógenos aos seus hospedeiros. O repasto sanguíneo ocorre durante o dia, sendo mais frequente no início da manhã ou no final da tarde (Forattini 2002). Do sangue, as fêmeas utilizam nutrientes fundamentais para a maturação dos seus oócitos (Clements 1999). Como o ciclo ovariano apresenta discordância gonotrófica, as fêmeas podem se alimentar mais de uma vez entre duas oviposições sucessivas, especialmente quando perturbadas antes de totalmente ingurgitadas. Isso aumenta a probabilidade de o mosquito ingerir e transmitir patógenos (Barata et al. 2001, Forattini 2002).

1.2 A importância do *Aedes aegypti* em saúde pública

O *Ae. aegypti* é o principal vetor da dengue (WHO 2012) e está envolvido no ciclo urbano da febre amarela. Este mosquito também é vetor de outras arboviroses como o vírus do Mayaro, do Chikungunya, da encefalite equina venezuelana entre outros (Figueiredo 2007).

A dengue é a maior preocupação de saúde pública dos países tropicais e subtropicais do mundo. De acordo com a Organização Mundial de Saúde 50 a 100 milhões de novas infecções ocorrem a cada ano e cerca da metade da população mundial vive em países endêmicos para a doença (WHO 2012). O vírus causador da dengue pertence à família Flaviviridae e apresenta quatro sorotipos principais. A dengue é transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo o *Ae. aegypti* o principal vetor em todo o mundo. No entanto, o *Aedes (Stegomyia) albopictus* Skuse é um vetor de importância secundária na Ásia, existindo outras espécies do gênero que se apresentam como potenciais vetores da arbovirose, ainda sem importância epidemiológica (Joshi et al. 2002, Braga & Valle 2007).

A febre amarela é uma zoonose causada por vírus do gênero *Flavivirus* (família Flaviviridae) (Monath 2001). A doença é caracterizada pelos ciclos de transmissão silvestre, mantida entre primatas silvestres por vetores dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*, e urbana, transmitida para os seres humanos pelo *Ae. aegypti* (Vasconcelos 2003). Os riscos de adquirir a doença e evoluir para óbito são 10 vezes menor na América do Sul do que na África, embora os riscos variem de acordo com a localização específica, época do ano e imunização da população local (Monath & Cetron 2002).

Na família Togaviridae, existem outros arbovírus do gênero *Alphavirus* que também podem ser transmitidos pelo *Ae. aegypti* como o vírus do Chikungunya, do Mayaro, da encefalite equina venezuelana, entre outros (Figueiredo 2007). O vírus do Chikungunya, apesar de não ser comum no Brasil, tem sido observado com cautela em alguns locais do mundo. Endêmico em países da África, ilhas dos oceanos Índico e Pacífico, além do Sudeste Asiático (Reiter et al. 2006, Powers & Logue 2007), a arbovirose começou a atingir áreas indenes nos últimos anos (Soumahoro et al. 2009). O surto ocorrido na Itália em 2007, primeiro na Europa, confirmou a possibilidade da doença se tornar global, devido ao transporte aéreo (Pialoux et al. 2007, Tilston et al. 2009).

1.3 Controle do *Aedes aegypti*

Nas últimas décadas, vem sendo enfatizado o uso do controle integrado do *Ae. aegypti*. Este é definido como um processo racional de decisão-ação para otimizar o uso dos recursos, objetivando ações eficazes, custos reduzidos, e sustentabilidade das praticas a partir de considerações sobre a ecologia e o comportamento do vetor (WHO 2012). O controle integrado consiste na combinação dos métodos disponíveis de forma eficiente, econômica e segura (WHO 1997, WHO 2006), sendo recomendadas ações preventivas simples e eficazes de modo que possam ser adotadas pelas comunidades (Donalísio & Glasser 2002). São medidas do controle integrado: controlar a população de mosquitos a partir de fatores limitantes à sua sobrevivência; educação sanitária, visando à mobilização comunitária; saneamento básico para eliminação de potenciais criadouros; controle biológico; barreiras mecânicas e controle químico (PAHO 1995). A estratégia de controle integrado demanda o uso de novos indicadores que sinalizem melhor o risco de transmissão da doença, como exemplo as armadilhas adesivas MosquiTRAP® (WHO 2006) ou armadilhas letais (WHO 2012). Além disso, existem novas tecnologias em desenvolvimento que futuramente poderão ser absorvidas pelas práticas do controle integrado,

como o uso de materiais tratados com inseticidas, liberação de insetos geneticamente modificados ou artificialmente infectados com a bactéria *Wolbachia*, além da dispersão de repelentes espaciais (WHO 2012).

1.4 Monitoramento do *Aedes aegypti*

O monitoramento de insetos vetores consiste em determinar suas mudanças geográficas e realizar medições relativas à população ao longo do tempo, facilitando as intervenções no âmbito de saúde pública. Para o Ministério da Saúde, o monitoramento do *Ae. aegypti* é prioritário para a erradicação da febre amarela urbana e da dengue (FUNASA 2001), sendo baseado na verificação da presença do vetor, frequência de ocorrência, abundância, atividade e alterações no nível de sua densidade (Braga et al. 2000).

As metodologias de pesquisa para a realização do monitoramento podem empregar procedimentos de coleta de ovos, larvas, pupas e mosquitos adultos, sendo mais habitual a pesquisa larvária (FUNASA 2001). Esta consiste na busca por larvas em criadouros. No entanto, a detecção de larvas do vetor pode ser realizada também a partir do uso da armadilha larvitrapa. As larvitrapas são utilizadas para a coleta de larvas e sua finalidade básica é a detecção precoce da introdução do vetor em locais vulneráveis, como portos, aeroportos, terminais rodoviários, ferroviários e outros (Gomes, 1998, FUNASA 2001, FUNASA 2009). Esta armadilha não é usada em programas de monitoramento devido a sua baixa sensibilidade em detectar a presença do vetor.

Existe ainda a possibilidade de detectar a espécie através da coleta de ovos de *Ae. aegypti* com uma armadilha de oviposição (Ovitrapa). Esta armadilha foi desenvolvida na década de 1960 (Fay & Perry 1965, Fay & Eliason 1966) e ainda é ferramenta nos programas de monitoramento do vetor. Consiste num recipiente de plástico preto, com capacidade de 1000 mL, contendo uma palheta de madeira para coletar os ovos de fêmeas de *Ae. aegypti* (FUNASA 2001, FUNASA 2009). Esta metodologia é laboriosa e requer infraestrutura de laboratório para eclosão das larvas e identificações das espécies.

A coleta de adultos pode ser realizada através do uso de armadilhas (Nelson 1994). Existem várias armadilhas que foram utilizadas para a captura de *Ae. aegypti*, como a CDC (Sudia & Chamberlain 1962), Fay Prince (Fay & Prince 1970), CFG (Kline 1999), BG-Sentinel[®] (BGS) (Krockel et al 2006), MosquiTRAP[®] (Eiras 2002, WHO 2006, Eiras & Resende 2009) e a recentemente desenvolvida, Gravid Aedes Trap – GAT (Eiras & Scott 2012).

1.5 Uso de uma área experimental de semicampo para a realização de bioensaios com o *Aedes aegypti*

Existe uma série de limitações às pesquisas realizadas com o *Ae. aegypti* em condições de campo e de laboratório. No campo destaca-se a variação sazonal do tamanho populacional da espécie, limitando a realização dos bioensaios a épocas quentes e úmidas, quando a população é detectada mais facilmente. A interpretação dos resultados de experimentos de campo é difícil e complexa devido às características dos insetos avaliados serem desconhecidas, a idade e o estado fisiológico dos mosquitos serem variáveis e aos riscos de contrair o vírus da dengue durante a realização dos experimentos em área com transmissão da doença. Existem ainda dificuldades operacionais devido à necessidade de mão-de-obra excessiva, ao uso de veículos para deslocamento, à aceitação dos moradores e mobilização da comunidade (Roque 2007).

Por outro lado, a realização de bioensaios em condições artificiais e confinadas de laboratório pode enviesar os dados obtidos. Assim, a realização de testes em áreas experimentais de semicampo é uma alternativa quando se estuda o comportamento de mosquitos, oferecendo uma condição intermediária entre o campo e o laboratório. O semicampo, ao ser construído ao ar livre, apresenta características próximas às encontradas no ambiente natural, e os insetos ficam expostos às pequenas variações de temperatura, velocidade do vento e umidade relativa do ar. O semicampo é um ambiente semelhante ao natural, em que é possível avaliar grupos de insetos ou insetos individualizados com características conhecidas, como a idade e o estado fisiológico (Roque 2007). Além destas vantagens, a avaliação comportamental de insetos no semicampo permite a obtenção de resultados mais rapidamente do que testes de campo (Njiru et al. 2006).

Diante disso vários estudos comportamentais com o *Ae. aegypti* têm sido conduzidos em áreas experimentais de semicampo. Fansiri e colaboradores (2006) avaliaram em laboratório e em semicampo a relação entre concentração-resposta e a eficácia de um briquete sólido de *Bacillus thuringiensis* (Bti) contra espécies de *Aedes*. Em laboratório, observaram que larvas de *Ae. aegypti* toleram maiores concentrações de Bti do que *Ae. albopictus*. O estudo em semicampo mostrou que a formulação (1/4 do briquete em 200L de água) proporciona longa duração na eficiência do controle do *Ae. aegypti*. Esta formulação apresentou taxa de mortalidade das larvas de cerca de 90% que persistiu durante nove semanas. Katsuda e colaboradores (2009) avaliaram em semicampo de 25m³ a susceptibilidade de 11 grupos de *Ae.*

aegypti ao piretróide aletrina, verificando que apenas dois grupos foram susceptíveis. Diante disso, observa-se que os bioensaios em área experimental de semicampo são um método útil para a avaliação de susceptibilidade do inseto a inseticidas.

A metodologia de semicampo também é eficiente para a avaliação do comportamento de oviposição do vetor. Em um experimento de semicampo, onde foi simulada uma típica casa tailandesa, verificou-se que quanto maior o diâmetro e o volume total do criadouro, maior foi o número de ovos ali depositados. Entretanto, a localização dos criadouros (intradomicílio x peridomicílio) e a sua coloração (cinza, preto ou marrom) não alteraram a preferência por sítios de oviposição (Harrington et al. 2008). Wong e colaboradores (2012), por outro lado, simularam em semicampo uma campanha de eliminação de criadouros centrada na remoção dos recipientes mais produtivos. Ao compararem períodos pré-intervenção com períodos pós-intervenção, verificaram que no primeiro período pré-intervenção houve uma maior concentração de ovos no “criadouro predileto” do que no segundo. Além disso, na pos-intervenção, verificou-se que na ausência de criadouros prediletos a probabilidade de qualquer outro criadouro receber ovos aumenta. Abreu (2010), ao observar fêmeas de *Ae. aegypti* individualmente em condições de semicampo identificou que à medida que o número de criadouros disponíveis aumenta (2, 4, 8 e 16), o número de criadouros colonizados também aumenta, alcançando valores médios de 6 criadouros quando são disponibilizados 16.

Roque (2007) avaliou cinco concentrações de seis atraentes sintéticos de oviposição (nonanal, decanal, p-cresol, 3-metil indol, benzotiazol e indol) na armadilha MosquiTRAP[®]. Selecionou a concentração mais atraente de cada substância para fêmeas grávidas de *Ae. aegypti* e realizou novos experimentos em semicampo com formulações binárias e terciárias. Após todas as avaliações, as melhores misturas terciárias foram levadas ao campo, para validar os resultados e verificar a possibilidade de utilização destas misturas associadas a armadilhas em programas de monitoramento do vetor em áreas urbanas. Observou-se que os resultados obtidos no campo corroboraram os de semicampo, sendo as formulações terciárias mais atrativas que o controle também em campo. O emprego da metodologia de semicampo possibilitou agilidade, praticidade e rapidez na obtenção dos resultados, que foram aferidos nos bioensaios finais no campo.

Roque e Eiras (2008) realizaram a calibração de uma área experimental (14 x 7 x 3,5 m) contendo oito gaiolas de teste (2,5 x 2,5 x 2,0 m), para estudos comportamentais com o *Ae. aegypti* visando desenvolver uma nova metodologia para avaliar atraentes e armadilhas de oviposição em semi-campo. Observaram que 90% das fêmeas liberadas foram recapturadas em

armadilha MosquiTRAP[®] após 2h do início dos experimentos, sendo a amostra mínima de fêmeas por experimento limitada a 20 fêmeas/armadilha/gaiola. Uma vez que resultados com MosquiTRAP[®] em área urbana foram semelhantes aos do semi-campo a metodologia se mostrou válida e viável. Desde então vários estudos têm sido realizados no Laboratório de Ecologia Química de Insetos Vetores (LabEQ) - Instituto de Ciências Biológicas (ICB) - Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) utilizando área de semi-campo.

1.6 O comportamento de oviposição do *Aedes aegypti*

A seleção de um sítio de oviposição por fêmeas de culicídeos afeta diretamente a sobrevivência da prole, apresentando consequências na dinâmica populacional das espécies. Assim, fêmeas de *Ae. aegypti* escolhem locais para depositar seus ovos a partir de informações sobre a qualidade do criadouro, indicando que este será capaz de propiciar o desenvolvimento e a sobrevivência de seus descendentes (Bentley & Day 1989, McCall & Cameron 1995). Fatores físicos como coloração escura e a textura do recipiente, a temperatura e a densidade ótica da água (Bentley & Day 1989), além do parcial sombreamento do criadouro (Sunahara et al. 2002) são dicas importantes na escolha de um sítio de oviposição adequado. Inclui-se ainda a preferência da espécie por criadouros maiores (67,5 L) em relação a menores (0,1 L) (Harrington et al. 2008). Além disso, dicas químicas também influenciam na escolha de criadouros por fêmeas de *Ae. aegypti*. Assim, a presença de infusões de gramíneas (Sant'Ana et al. 2006), matéria orgânica (Wong et al. 2012), bactérias e metabólitos bacterianos (Ponnusamy et al. 2008) sugerem a existência de alimento para o desenvolvimento larval, atraindo e/ou estimulando a deposição de ovos naquele local. A preexistência de ovos (Allan & Kline 1998, Ganesan et al. 2006) e larvas (Allan & Kline 1998, Mendki et al. 2000, Wong et al. 2011, Costa 2010) co-específicas também influenciam na escolha do sítio de oviposição adequado.

Apesar de apresentar uma origem silvestre, atualmente, é raro encontrar o mosquito *Ae. aegypti* longe de habitações humanas. Assim, grávidas realizam a oviposição em vários criadouros naturais e artificiais presentes nos ambientes antropomorfizados (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Reiter 2007). Estes podem ser desde cascas de frutos, buracos de árvores, embricamento foliares (criadouros naturais), até pneus usados, piscinas, caixas d'água, calhas, latas, garrafas e outros criadouros artificiais.

Fêmeas de *Ae. aegypti* depositam um número variável de ovos em cada ciclo gonotrófico (Chadee et al. 2002, Abreu 2010), mas em médias as grávidas produzem cerca de 120 ovos (Forattini 2002). A deposição de ovos é realizada principalmente nas paredes internas dos criadouros (Fay & Perry 1965, Gadelha & Toda 1985, Nelson 1986, Chadee & Corbet 1987, Allan & Kline 1998, Clements 1999, Gomes et al. 2006) e, eventualmente, na superfície da água (Madeira et al. 2002, Gomes et al. 2006, Ponnusamy et al. 2008, Abreu 2010). Os ovos deixados na água apresentam rápida capacidade de eclosão, assegurando ao vetor uma rápida colonização do ambiente (Madeira et al. 2002, Gomes et al. 2006). Já os ovos depositados na parede do criadouro podem sobreviver por longos períodos de estiagem. Esta resistência é um dos principais entraves no controle da espécie, pois permite que o ovo seja transportado por grandes distâncias, disseminando o inseto (Gadelha & Toda 1985).

Gomes e colaboradores (2006) observaram a periodicidade de oviposição em laboratório durante o fotoperíodo, demonstrando que fêmeas de *Ae. aegypti* têm maior atividade de oviposição ao entardecer (15 às 19 h) e no início da noite (19 às 21 h). No campo, similarmente, observa-se que durante a fotofase, o período da tarde é o de maior oviposição (13 às 17 h), enquanto na escotofase, a maior atividade de oviposição é observada no período crepuscular do entardecer (17 às 19 h). Chadee (2010) também verificou a periodicidade de oviposição de *Ae. aegypti* em laboratório observando a ausência de deposição de ovos durante a escotofase. Demonstrou que as oviposições ocorrem fundamentalmente à tarde, entre 14 e 18 horas. No dia seguinte, nas duas primeiras horas de fotofase ocorre um pequeno pico de oviposição, sendo que os ovos depositados nesse período são considerados como os resíduos da oviposição do dia anterior.

As fêmeas de *Ae. aegypti* apresentam a estratégia de depositar seus ovos em vários criadouros, ao invés de utilizarem apenas um. Este comportamento é denominado “skip oviposition” ou “oviposição em saltos” (Mogi & Morkey 1980) e já foi observado na espécie em testes de laboratório (Fay & Perry 1965, Chadee et al. 1990, Corbet & Chadee 1993, Chadee 2010, Abreu 2010), de semicampo (Abreu 2010, Wong et al. 2012) e de campo (Chadee & Corbet 1987, Apostol et al. 1994, Reiter et al. 1995, Colton et al. 2003, Chadee 2009). Acredita-se que esta estratégia beneficie a prole, diminuindo a competição entre as formas imaturas e garantindo que pelo menos parte dos descendentes atinja a maturidade (Harrington & Edman 2001, Reiter 2007).

Abreu (2010) avaliou fêmeas de *Ae. aegypti* individualmente em semicampo e demonstrou que entre as fêmeas que realizam a “oviposição em saltos” há a escolha de um

“criadouro predileto” que concentra *a maior quantidade de ovos dentre os criadouros positivos, em cada tratamento e em cada repetição.*

A “oviposição em saltos” está associada com a dispersão do vetor em busca de criadouros adequados e a extensão dessa dispersão é afetada e direcionada pela disponibilidade de criadouros no ambiente (Edman et al 1998). Fêmeas que não encontram criadouros disponíveis numa determinada área podem deslocar grandes distâncias em busca de sítios para a oviposição (Reiter 2007, de Melo et al. 2012), sendo relatados na literatura deslocamentos de até 1.660 m (Honório et al. 2003). Assim, apesar de ser reconhecido que a “oviposição aos saltos” é uma estratégia relevante utilizada pelo *Ae. aegypti* para a disseminação da espécie ainda não foram elucidados os fatores que poderiam modular este comportamento.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o comportamento de “oviposição em saltos” de *Ae. aegypti* em condições de semicampo, verificando a eficiência de armadilhas específicas para o vetor na supressão destes insetos, assim como na distribuição de ovos no ambiente.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar parâmetros biológicos e o comportamento de oviposição de *Ae. aegypti* procedentes de uma colônia antiga (F₁₂₅) e de uma recém-estabelecida (F₁) – **Capítulo I;**
- ✓ Avaliar a influência de alguns fatores (estado nutricional das fêmeas, tamanho dos criadouros e proximidade com anteparos) nos comportamentos de “oviposição em saltos” e escolha de “criadouro predileto” por grávidas de *Ae. aegypti* em condições de semicampo – **Capítulo II;**
- ✓ Avaliar armadilhas (GAT ou BGS) como possíveis ferramentas no controle de fêmeas de *Ae. aegypti* em condições de semicampo, simulando um peridomicílio com diferentes densidades de criadouros – **Capítulo III;**

- ✓ Avaliar a ação de agentes exterminantes alternativos (telas impregnadas com inseticidas e Metofluthrin[®]) associados à GAT em condições de laboratório, campo e semicampo – *Capítulo IV*.

CAPÍTULO I

Avaliação de parâmetros biológicos e do comportamento de oviposição de *Aedes (Stegomyia) aegypti* provenientes de uma colônia antiga (F₁₂₅) e de uma colônia recém-estabelecida (F₁) em condições de laboratório

RESUMO

A manutenção de *Aedes aegypti* em laboratório é fundamental para a realização de bioensaios, no entanto são incertas as alterações decorrentes da sua colonização por longo tempo. Assim, o objetivo do estudo foi comparar a viabilidade dos ovos, a duração da fase larval, a razão sexual, o tamanho dos indivíduos e o comportamento de oviposição entre insetos de uma colônia antiga (F_{125}) e de uma colônia recém-estabelecida (F_1). Foram quantificadas amostras de 50 ovos de cada colônia. Estas foram colocadas para eclodir em água desclorada e observadas por 12 dias ($N=15$). Grupos de 10 larvas (L_1) foram mantidos em recipientes com 150 mL de água e alimento e observadas até o estágio de pupa ($n\cong 500$). Pupas de cada colônia foram individualizadas para avaliar a razão sexual ($n\cong 2000$), enquanto o tamanho da asa de machos e fêmeas foi aferido e utilizado como medida indireta da dimensão corporal dos vetores ($N=25$). A oviposição foi avaliada a partir da observação de uma grávida de *Ae. aegypti* por dois dias ($N=35$). Foram disponibilizados nove recipientes para oviposição, sendo os ovos na água e na parede do criadouro quantificados. Os resultados indicaram que o percentual de ovos viáveis da geração F_1 ($20,0 \pm 3,72$ %) foi significativamente maior que o da geração F_{125} ($7,6 \pm 2,62$ %). Larvas provenientes da F_1 apresentaram um tempo de desenvolvimento ($8,2 \pm 0,07$ dias) significativamente maior em relação a larvas da geração F_{125} ($7,5 \pm 0,06$ dias). A razão sexual foi igual em ambas as colônias, na proporção de 1:1 ($p>0,05$). Machos da geração F_{125} apresentaram asas ($2,07 \pm 0,040$ mm) significativamente menores que machos em F_1 ($2,20 \pm 0,047$ mm). Fêmeas da colônia F_{125} ($2,50 \pm 0,027$ mm) também foram significativamente menores do que fêmeas de F_1 ($2,89 \pm 0,029$ mm). O número de ovos ($x \pm EP$) depositados por fêmeas de F_{125} ($59,1 \pm 11,15$) não diferiu significativamente da geração F_1 ($66,1 \pm 10,05$). O número ($x \pm EP$) de criadouros colonizados por fêmeas de F_{125} ($3,4 \pm 0,67$) também não diferiu significativamente da geração F_1 ($3,3 \pm 0,71$). Notou-se a existência de um “criadouro predileto” entre algumas fêmeas de ambas as colônias. Grávidas de F_{125} depositaram significativamente maior percentual de ovos na água ($63,6 \pm 8,09$ %) do que na parede do criadouro ($36,4 \pm 8,09$ %), enquanto fêmeas de F_1 depositaram semelhante proporção de ovos na água ($54,9 \pm 10,20$ %) e na superfície do criadouro ($45,1 \pm 10,20$ %). Os resultados demonstraram diferenças entre mosquitos de colônias de laboratório em diferentes gerações e comprovaram a importância de renovação periódica das mesmas, para estudos do comportamento de oviposição.

I.1 INTRODUÇÃO

A manutenção de insetos em condições artificiais é um facilitador para a realização de pesquisas científicas. Quando se trata de insetos de importância médica, como o *Aedes aegypti*, há uma garantia de segurança para experimentadores e para a comunidade. Isto porque os testes envolverão insetos livres de arboviroses que o vetor pode transmitir em condições naturais como, a dengue, a febre amarela urbana, o chikungunya, o zika vírus, entre outros (Figueiredo et al. 2007, Duffy et al. 2014). Mantendo os indivíduos em laboratório é possível determinar as características de interesse do vetor que serão avaliadas nos bioensaios, como estado fisiológico, idade cronológica, sexo, entre outros. Ao submeter grupos de insetos com características homogêneas (sexo e idade, por exemplo) a bioensaios, têm-se indícios significativos de que as variações observadas serão decorrentes dos tratamentos avaliados. Há assim uma maior precisão dos dados obtidos com insetos procedentes de laboratório, embora haja menos realismo em relação aos bioensaios com insetos de campo (Mackauer 1980). Além disso, a manutenção de colônias de *Ae. aegypti* possibilita a realização de pesquisas com o vetor durante todo o ano. Se fossem avaliados apenas insetos procedentes de campo seria difícil realizar experimentos nos meses mais frios e secos do ano, uma vez que a presença deste mosquito é detectada principalmente na estação chuvosa e quente, quando há um aumento populacional (Micieli & Campos 2003, Azil et al. 2010, Simões et al. 2013). Diante destes fatores, é relevante a manutenção de colônias e a realização de pesquisas com insetos procedentes de laboratório.

No entanto, a criação de insetos no laboratório induz à seleção de indivíduos que se adaptam melhor às condições oferecidas, além de refletirem peculiaridades do “pool” de insetos utilizados para fundar a colônia (Mackauer 1980, Lorenz et al. 1984, Benedict et al. 2009). A colonização em laboratório requer adaptações comportamentais e biológicas às condições artificiais oferecidas, como a alimentação de larvas, os repastos açucarados e sanguíneos de adultos, os comportamentos de cópula e oviposição, entre outros. Naturalmente, isso induz à seleção de indivíduos que se adaptam melhor e mais rapidamente às condições artificiais, o que pode desencadear o estabelecimento de uma colônia com alterações na sua biologia e no seu comportamento (Mackauer 1980, Clark et al. 2011). Desta forma é importante mensurar estas alterações para um melhor entendimento sobre o vigor da colônia e sobre modificações comportamentais decorrentes da manutenção dos insetos no laboratório.

Foram identificadas algumas adaptações de culicídeos mantidos em colônias de laboratório em relação a seus co-específicos selvagens. Por exemplo, é possível condicionar fêmeas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de uma colônia antiga ao odor do geraniol, mas não é possível fazer o mesmo com fêmeas procedentes do campo (Sanford & Tomberlin 2011). A infecção e a taxa de transmissão de febre do Vale Rift pelo mosquito *Culex pipiens* é alterada significativamente como consequência do processo de colonização (Gargan et al. 1983), assim como observa-se diferentes taxas de infecção com o vírus da dengue entre *Ae. aegypti* de diferentes linhagens de laboratório (Schneider et al. 2007). Ao comparar a suscetibilidade ao sorotipo 2 do vírus da dengue entre uma colônia de *Ae. aegypti* antiga e uma recém-estabelecida, notou-se que a mortalidade da colônia mantida a muito tempo no laboratório não dependeu do número de cópias de RNA viral presente no vetor. Entretanto, a longevidade de insetos da colônia recém-estabelecida decresceu com o aumento de cópias de RNA viral, sugerindo que estes mosquitos foram menos tolerantes à infecção do que os insetos procedentes do laboratório (Maciel-de-Freitas et al. 2011). Recentemente verificou-se que a colonização altera o comportamento de fêmeas de *Ae. aegypti* na busca por hospedeiros. A atratividade do odor humano e de uma mistura de compostos (ácido lático, acetona, dimetil-dissulfido) para fêmeas de uma colônia antiga (manutenção há mais de 50 anos em condições de laboratório) e de uma recém-estabelecida só convergiu em ambas colônias quando os insetos recentemente colonizados alcançaram a quarta ou sexta geração no laboratório (Clark et al. 2011). Além disso, o processo de colonização tende a reduzir o tamanho do macho de *Ae. aegypti*, além de poder alterar seu comportamento de cópula, impactando seu vigor reprodutivo (Richardson & Williams 2013).

Apesar de o *Ae. aegypti* ser muito estudado sob condições de laboratório (Kuno 2010), pouco se conhece sobre a influência da manutenção do vetor em laboratório no seu comportamento de oviposição e no vigor da colônia. Assim, o objetivo deste estudo foi comparar a biologia e o comportamento de oviposição de insetos procedentes de uma colônia recém-estabelecida (F₁), com insetos de uma colônia antiga (F₁₂₅), mantida no laboratório há aproximadamente quatro anos.

I.2 OBJETIVOS

I.2.1 Objetivo Geral

Avaliar parâmetros biológicos e o comportamento de oviposição de *Ae. aegypti* procedentes de uma colônia antiga (F₁₂₅) e de uma recém-estabelecida (F₁) – **Capítulo I**;

I.2.2 Objetivos específicos

- ✓ Comparar a **viabilidade de ovos** provenientes de uma colônia antiga (F₁₂₅) e de uma colônia recém-estabelecida (F₁);
- ✓ Comparar a **duração da fase larval** entre indivíduos provenientes de uma colônia antiga (F₁₂₅) e de uma colônia recém-estabelecida (F₁);
- ✓ Comparar a **razão sexual** entre indivíduos provenientes de uma colônia antiga (F₁₂₅) e de uma colônia recém-estabelecida (F₁);
- ✓ Comparar **o tamanho dos adultos** de *Ae. aegypti* provenientes de uma colônia antiga (F₁₂₅) e de uma colônia recém-estabelecida (F₁);
- ✓ Verificar se **o comportamento de “oviposição em saltos”** é diferente em fêmeas de uma colônia antiga (F₁₂₅) e de uma colônia recém-estabelecida (F₁);
- ✓ Verificar se **o local de deposição de ovos (parede do criadouro x água)** é alterado entre fêmeas de uma colônia antiga (F₁₂₅) e de uma colônia recém-estabelecida (F₁).

I.3 METODOLOGIA

I.3.1 Estabelecimento de colônia de *Aedes aegypti* em condições de laboratório

Para o estabelecimento de nova colônia de *Ae. aegypti* foram instaladas 30 armadilhas de oviposição do tipo Ovitampa no *Campus* - Pampulha da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). As Ovitampas foram colocadas no chão da área externa de três prédios do *Campus* com presença do vetor previamente identificada: 12 armadilhas na Faculdade de Letras (FALE), 11 na Escola de Ciência da Informação (ECI) e sete na Faculdade de Filosofia e Ciências Humanas (FAFICH). Em cada Ovitampa foram acrescentados 400 mL de infusão de *Panicum maximum* (capim-colonião) diluída a 10% no 10º dia após o preparo da infusão bruta,

além de uma palheta de eucatex (10,0 x 3,0 cm) fixada à armadilha por clipe metálico (Sant'Ana et al. 2006). As armadilhas permaneceram em campo entre 13 e 20/06/11 e entre 15 e 22/07/11 para a coleta de ovos do gênero *Aedes*.

Palhetas contendo ovos foram levadas para o laboratório e, acondicionadas em cubas plásticas tampadas com tela, foram mantidas ali por sete dias para embrionamento dos ovos. Em seguida, iniciou-se o estabelecimento de F₀. As palhetas contendo ovos foram submergidas em 1800 mL de água desclorada para a eclosão das larvas. Diariamente a água contendo larvas foi transferida para outra cuba plástica e as palhetas novamente submergidas por 1800 mL de água desclorada. Repetiu-se o procedimento durante sete dias até a eclosão da maioria das larvas.

A identificação específica dos insetos coletados foi realizada na fase de larva (quarto ínstar) e confirmada nos adultos. Larvas de quarto ínstar (F₀) foram observadas ao microscópio estereoscópico (20x), sendo separadas em *Ae. aegypti* ou *Ae. albopictus* (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Forattini 2002). Cada larva de *Ae. aegypti* foi mantida em tubo *ependorf* (2 mL) contendo 1 mL de água desclorada até a emergência dos adultos. Para confirmar a identificação, adultos recém-emergidos também foram identificados (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Forattini 2002) antes de serem liberados na gaiola de criação.

Todos os insetos utilizados para o estabelecimento de F₀ foram quantificados. Uma amostra de 20% destes adultos foi coletada para a realização de PCR em gel de poliacrilamida a fim de verificar a ausência dos quatro sorotipos do dengue na colônia (Roque 2007). Os adultos foram coletados entre o 15º e 21º dia de vida para a avaliação viral. Confirmada a ausência de vírus do dengue nos insetos da F₀, a colônia foi estabelecida e mantida em condições de laboratório.

I.3.2 Manutenção das colônias de *Aedes aegypti* em condições de laboratório

Duas colônias foram mantidas no insetário do Laboratório de Ecologia Química de Insetos Vetores (LabEQ) do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG sob condições ambientais controladas (27 ± 2 °C, 60 a 80% U.R. e 12 horas de fotofase) (Eiras 1991), desde o momento do seu estabelecimento. A colônia antiga foi estabelecida em janeiro de 2007, conforme metodologia descrita anteriormente, a partir de ovos coletados em Ovitampas também instaladas no *Campus* - Pampulha da UFMG (Roque 2007). A colônia recém-estabelecida começou a ser mantida em condições de laboratório em junho e

julho de 2011. Embora mantidas isoladas, os procedimentos utilizados em ambas as colônias foram idênticos.

Papéis cartão brancos contendo ovos de *Ae. aegypti* foram colocados em potes plásticos contendo 400 mL de água desclorada até a eclosão das larvas. Posteriormente, as larvas foram transferidas para bandejas plásticas contendo 1.800 mL de água desclorada (Roque 2002). Para alimentação das larvas foram adicionados péletes triturados de ração para répteis aquáticos (Reptolife, Alcon®) em cubas contendo larvas de primeiro ínstar e péletes inteiros em cubas com larvas de segundo, terceiro e quarto ínstars. As pupas foram retiradas diariamente das bandejas de criação e transferidas para gaiolas de polipropileno teladas (30 x 30 x 30 cm) (Bugdorm-1, Mega View Science Education Services, Taiwan). Os adultos foram mantidos nestas gaiolas e alimentados com solução açucarada (10% sacarose). Para a manutenção da colônia e realização dos experimentos, as fêmeas realizaram o repasto sanguíneo em alimentador artificial (Rutledge et al. 1964, Albuquerque et al. 1999).

O sistema para alimentação sanguínea artificial foi constituído por uma placa de acrílico (83,0 x 25,0 cm) e oito cilindros de vidro (alimentadores artificiais), conectados em série por mangueiras de borracha (Fig. 2a). A água aquecida a 38°C foi impulsionada do banhomaria para os tubos de borracha que envolveram os alimentadores de vidro através de uma bomba de aquário (Better 650), garantindo o aquecimento do sangue no interior dos cilindros. A extremidade inferior dos alimentadores artificiais foi revestida por dupla fita de teflon (politetrafluoretileno) do tipo veda rosca (Pulvitec, 18 mm x 50 m). Na extremidade superior, foi acrescentado 1 mL de sangue de galinha contendo heparina (0,1 mL de heparina para cada 250mL de sangue), conforme ilustrado na Figura 2b. Fêmeas de *Ae. aegypti* foram acondicionadas em potes plásticos (250 mL) com tampa telada. Os potes com fêmeas foram fixados em suporte de madeira e sobre eles foi colocada a placa de acrílico contendo os alimentadores artificiais (Fig. 2a). O tempo disponível para a realização do repasto sanguíneo foi de 2 horas.



Figura 2. Esquema de alimentação artificial utilizada para fêmeas de *Aedes aegypti*. (a) Banho-maria mantido a 38°C, placa de acrílico e potes telados para facilitar a alimentação das fêmeas. (b) Detalhe de como o sangue é colocado no alimentador artificial.

No interior de cada gaiola de manutenção foi colocado um recipiente de oviposição (copo de vidro contendo 100 mL de água desclorada) com papel cartão branco (papel de oviposição) para a deposição de ovos. Os papéis contendo ovos foram mantidos em pote plástico tampado contendo solução de KOH 10% que mantém a umidade relativa do ar adequada para a conservação dos ovos (Roque 2002, Gomes et al. 2006).

I.3.3 Bioensaios

Os experimentos foram realizados em condições controladas de laboratório ($26,3 \pm 0,16$ °C, $69,3 \pm 1,06\%$ URA e 12 horas de fotofase). Todos os procedimentos foram realizados de forma simultânea com indivíduos procedentes da colônia recém-estabelecida (F₁) e da colônia antiga (F₁₂₅), garantindo o isolamento das populações.

I.3.3.1 Avaliação da viabilidade de ovos de *Aedes aegypti* provenientes de colônias na geração F₁₂₅ e na geração F₁

Sob estereomicroscópio (20x) foram quantificados 50 ovos de *Ae. aegypti* aderidos ao papel de oviposição (N=15). A área contendo ovos foi delimitada e recortada. Em seguida os ovos presentes na tira de papel foram novamente quantificados e considerados nas análises. Cada tira de papel foi colocada em um recipiente de plástico (250 mL) contendo 150 mL de água desclorada. Diariamente, entre a 3^a e 5^a h de fotofase, os recipientes foram observados a olho nu e sob estereomicroscópio (20x) para a quantificação e remoção das larvas de primeiro ínstar. A observação estendeu-se por 12 dias consecutivos. Foram realizadas 15 repetições para cada tratamento e os papéis de oviposição utilizados continham ovos de 3 a 10 dias de idade.

I.3.3.2 Avaliação da duração da fase larval de *Aedes aegypti* provenientes de colônias na geração F₁₂₅ e na geração F₁

A duração da fase larval de *Ae. aegypti* foi determinada a partir do desenvolvimento de 500 larvas/ tratamento. Larvas de primeiro instar, com 1 dia de idade, foram transferidas para recipientes de plástico (250 mL) contendo 150 mL de água desclorada. Em cada recipiente foram colocadas 10 larvas (0,06 larvas/mL de água) e estas foram alimentadas (1/2 pélete de ração para répteis aquáticos/dia) até atingirem a fase de pupa. A água onde as larvas se desenvolveram foi trocada, quando necessário. O número de dias gastos para que cada indivíduo alcançasse a fase de pupa foi registrado. As observações foram realizadas entre a 3^a e 5^a h da fotofase.

I.3.3.3 Avaliação da razão sexual entre indivíduos provenientes de colônias de *Aedes aegypti* na geração F₁₂₅ e na geração F₁

Ovos de *Ae. aegypti* procedentes de cada colônia foram colocados para eclosão das larvas, mantendo-se o isolamento entre colônias. As larvas foram mantidas em bandejas plásticas contendo 1.800 mL de água desclorada. Como alimento, foi adicionado ração para répteis aquáticos (Reptofile, Alcon[®]). Diariamente as cubas contendo larvas foram observadas e as pupas retiradas com pipeta de Pasteur. Uma amostra de até 120 pupas/colônia foi individualizada em *eppendorfs* por dia. Estes *eppendorfs* foram diariamente observados e o número de machos e fêmeas que emergiram foi registrado. O processo teve continuidade enquanto existiam pupas provenientes dos lotes de ovos avaliados, se estendendo por 25 dias.

I.3.3.4 Avaliação do tamanho de adultos de *Aedes aegypti* procedentes de colônias na geração F₁₂₅ e na geração F₁

Para determinar o tamanho dos adultos de *Ae. aegypti* foram selecionados ao acaso 25 machos e 25 fêmeas de cada colônia. Foi realizada a medição do tamanho das asas como uma medida indireta das dimensões corporais dos adultos do vetor. A medição das asas foi feita a partir da álula até a extremidade da asa, desconsiderando a franja (Gama et al. 2005) com auxílio de uma lente milimetrada para ocular de microscópio estereoscópico.

I.3.3.5 Avaliação do comportamento de “oviposição em saltos” e local de deposição de ovos de fêmeas de *Aedes aegypti* procedentes de colônias na geração F₁₂₅ e na geração F₁

O bioensaio foi conduzido em gaiolas de polipropileno teladas (Bugdorm - 1, 30 x 30 x 30 cm) contendo nove recipientes para oviposição (Chadee et al. 1990; Chadee 2010). Os recipientes de oviposição consistiram de potes circulares de plástico (150 mL), papel cartão branco revestindo internamente as bordas do copo (papel de oviposição, 21,0 x 5,5 cm) e 80 mL de água destilada. Os recipientes de oviposição foram organizados em três fileiras longitudinais e três fileiras transversais, os quais distanciavam 4,0 cm um do outro e foram equidistantes das laterais da gaiola (Fig. 3).



Figura 3. Gaiola de polipropileno (com a parte superior removida) em que foram realizados os bioensaios contendo nove recipientes para oviposição de *Aedes aegypti*.

O experimento foi realizado sob condições controladas de laboratório, ($26,3 \pm 0,16$ °C, $69,3 \pm 1,06\%$ URA e 12 horas de fotofase). Cada repetição foi iniciada na 6^a h de fotofase e encerrada na 4^a h de fotofase, com duração de 46 horas (Allan & Kline 1998, Gomes et al. 2006, Chadee 2010). Em cada teste foi liberada apenas uma grávida de *Ae. aegypti* três a quatro dias após o repasto sanguíneo e com 6 a 16 dias de vida (Roque 2007), sendo realizadas 35 repetições para cada tratamento. O número de ovos depositados no papel e na água dos recipientes foi quantificado após 46 horas (Ponnusamy et al. 2008). Ao final de cada teste, as fêmeas foram anestesiadas em freezer (-20° C) durante 10 min e dissecadas sob um estereomicroscópio. O número de ovos presente no interior dos ovários foi quantificado com auxílio de um contador manual (Detinova 1962, Sucharit & Tumrasvin 1981, Williams et al. 2008).

I.3.4 Análises estatísticas

Na avaliação de parâmetros biológicos e do comportamento de oviposição de *Ae. aegypti*, algumas das variáveis respostas foram: (a) número de ovos viáveis/número de ovos avaliados; (b) número de machos que emergiram/número de fêmeas que emergiram; (c) número de criadouros colonizados/ número de criadouros disponíveis; (d) número de ovos depositados na água / número total de ovos depositados no criadouro e o (e) número de ovos depositados na parede do criadouro/ número total de ovos depositados. A variável explicativa foi o tratamento avaliado (colônia em F₁ ou em F₁₂₅). Estes dados foram analisados através de Modelos Lineares

Generalizados (MLG), com variável resposta com distribuição de erro quasibinomial. Os modelos foram comparados através de análises de contraste ANOVA seguida do teste Qui Quadrado, ambos com 5 % de significância.

Outras variáveis respostas foram: (a) duração da fase larval; (b) tamanho de machos e fêmeas e o (c) número de ovos depositados. A variável explicativa foi o tratamento avaliado (colônia em F₁ ou em F₁₂₅). Estes dados foram analisados através de MLG, com distribuição normal. Os modelos foram comparados através de análises de contraste por ANOVA seguida do teste F, ambos com 5 % de significância.

Algumas fêmeas não depositaram ovos em nenhum dos recipientes de oviposição, sendo assim, dados referentes a estas fêmeas foram omitidos das análises.

A determinação do “criadouro predileto” foi realizada a partir da análise de *outlier*, método de diferenciação de escores (<http://www.graphpad.com/quickcalcs/Grubbs1.cfm>). Foram comparados os percentuais de ovos depositados em cada um dos nove criadouros disponíveis.

O programa R (<http://www.R-project.org>) versão 3.0 foi utilizado para a realização de análises estatísticas. O programa GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Software, San Diego California USA) (5.0) para a produção de gráficos.

I.4 RESULTADOS

I.4.1 Viabilidade de ovos de *Aedes aegypti* provenientes de colônias na geração F₁₂₅ e na geração F₁

Formaram-se grupos contendo cerca de 50 ovos para a comparação entre a colônia antiga e a colônia recém-estabelecida (N=15). Na colônia antiga (F₁₂₅) foram quantificados grupos com o número máximo de 63 e mínimo de 45 ovos, com média (\pm EP) de $54,9 \pm 1,54$ ovos / grupo. Já na colônia recém-estabelecida (F₁) os números máximo e mínimo de ovos presentes em cada grupo foram, respectivamente, 60 e 47. O número médio de ovos / grupo foi $52,4 \pm 1,32$. Os números de ovos presente nos grupos da colônia antiga e da colônia recém-estabelecida não diferiram significativamente (MLG; df = 768,670; F = 1,373; p = 0,252).

Verificou-se que o percentual de ovos viáveis provenientes da geração F₁₂₅ foi significativamente menor que o percentual de ovos viáveis procedentes da geração F₁ (MLG; df = 4,069; $X^2 = -1,054$; p = 0,008), conforme a Figura 4.

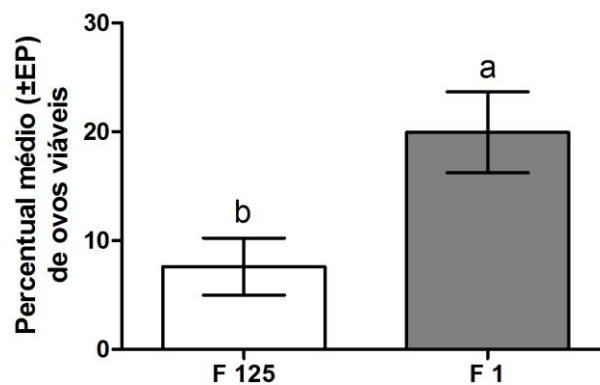


Figura 4. Percentual médio (\pm EP) de ovos viáveis provenientes de colônias de *Aedes aegypti* nas gerações F₁₂₅ e F₁ mantidos em condições de laboratório. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa entre os tratamentos - MLG, $p < 0,05$. (N = 15 grupos contendo cerca de 50 ovos em cada).

Verificou-se, em ambas as colônias, um pico de eclosão de larvas no primeiro dia após a submersão dos ovos em água. Na colônia em geração F₁₂₅, a eclosão de larvas decresceu com o passar dos dias, sendo encerrada no sexto dia após o contato dos ovos com a água. Já os ovos provenientes da geração F₁ apresentaram um percentual de eclosão semelhante entre o segundo e o quinto dia após o contato com a água. Larvas procedentes desta colônia eclodiram até o nono dia após submersão em água (Fig. 5).

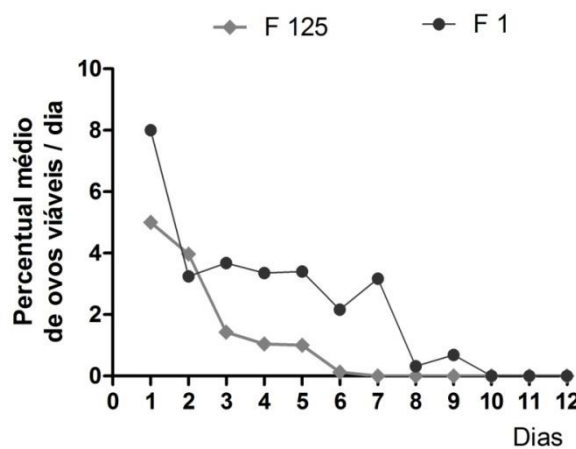


Figura 5. Percentual médio diário de eclosão de larvas de *Aedes aegypti* procedentes de ovos de colônias nas gerações F₁₂₅ e F₁. (N = 15 grupos contendo cerca de 50 ovos em cada).

I.4.2 Duração da fase larval de *Aedes aegypti* provenientes de colônias na geração F₁₂₅ e na geração F₁

Enquanto indivíduos provenientes da geração F₁ demoraram 8,2 (\pm 0,07) dias para transformarem-se em pupas, larvas procedentes da geração F₁₂₅ gastaram 7,5 (\pm 0,06) dias (MLG; df = 2387,300; F=68,160; p <0,001), de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Duração da fase larval de indivíduos provenientes de colônias de *Aedes aegypti* nas gerações F₁₂₅ e F₁. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos -MLG, p < 0.05. (N \cong 500 larvas/tratamento).

<i>Colônia</i>	<i>Duração da fase larval em dias (média \pm EP)</i>	<i>Amplitude da duração da fase larval em dias (Mín – Max)</i>
<i>F₁₂₅</i>	7,5 \pm 0,06 b	5 – 11
<i>F₁</i>	8,2 \pm 0,07 a	5 – 12

I.4.3 Razão sexual entre indivíduos provenientes de colônias na geração F₁₂₅ e na geração F₁

Verificou-se que a razão sexual (número de machos/ número de fêmeas) entre adultos da geração F₁₂₅ (1,07) não diferiu significativamente da razão sexual da geração F₁ (1,05) (MLG; df = 11,902; F = -0,061; p =0,806), de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2. Número de machos e fêmeas que emergiram de pupas provenientes de colônias de *Aedes aegypti* nas gerações F₁₂₅ e F₁, com respectivas razões sexuais. (N = amostra de 120 insetos/dia/25dias).

<i>Colônia</i>	<i>Sexo</i>	<i>Numero de indivíduos</i>	<i>Razão sexual</i>
<i>F₁₂₅</i>	♂	1230	1,07 a
	♀	1153	
<i>F₁</i>	♂	1336	1,05 a
	♀	1304	

O percentual diário de emergência de machos e fêmeas indicou um padrão similar entre ambas as colônias, conforme pode ser observado na Figura 6. Tanto na geração F_{125} quanto na geração F_1 houve uma maior emergência de machos em relação a fêmeas nos primeiros sete dias de observação. Do oitavo ao 22° - 23° dias, ora houve maior emergência de machos, ora maior emergência de fêmeas. No entanto, os percentuais de machos e fêmeas que emergiram foram semelhantes, oscilando em torno de 50% de emergência de insetos de cada sexo. Do 22° - 23° dia em diante verificou-se uma tendência de maior emergência de fêmeas do que machos, em ambas as colônias.

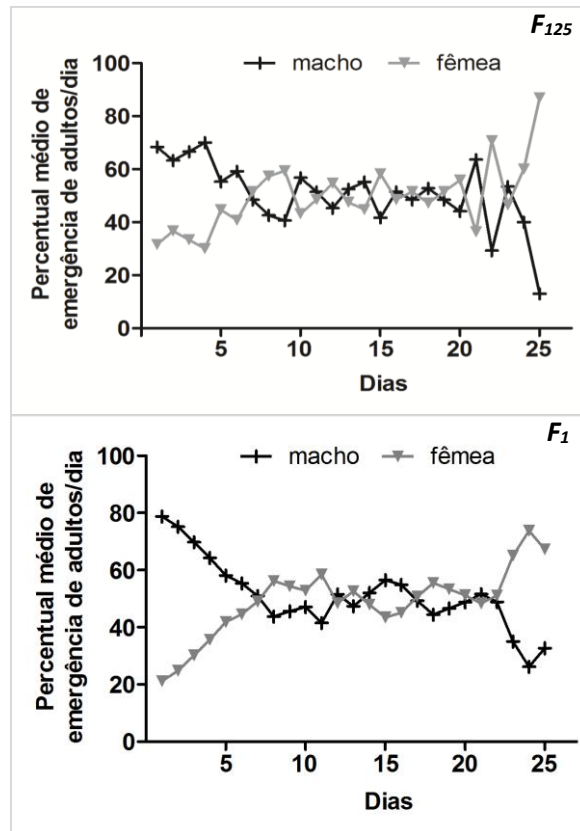


Figura 6. Percentual médio diário de emergência de machos e fêmeas procedentes colônias de *Aedes aegypti* nas gerações F_{125} e F_1 . (N = amostra de 120 insetos/dia/25dias).

I.4.4 Tamanho de adultos de *Aedes aegypti* procedentes de colônias na geração F₁₂₅ e na geração F₁

Os machos da colônia antiga foram significativamente menores que as fêmeas da mesma colônia (MLG; df = 5,611; F = 70,811; p < 0,001). Machos da colônia recém estabelecida também apresentaram asas significativamente menores que as fêmeas desta colônia (MLG; df = 9,158; F = 176,260; p < 0,001). Verificou-se ainda que machos da geração F₁₂₅ apresentaram asas significativamente menores do que os machos da geração F₁ (MLG; df = 3,453; F = 6,665; p = 0,011). As fêmeas da colônia recém-estabelecida apresentaram dimensões alares significativamente maiores do que as fêmeas da colônia antiga (MLG; df = 4,374; F = 34,028; p < 0.001), conforme Tabela 3.

Tabela 3. Tamanho das asas de machos e fêmeas provenientes de colônias de *Aedes aegypti* nas gerações F₁₂₅ e F₁. Letras diferentes após as médias indicam diferença significativa - MLG, p < 0,05. (N=25 indivíduos/colônia/sexo).

<i>Colônia</i>	<i>Sexo</i>	<i>Tamanho da asa (média ± EP mm)</i>
<i>F₁₂₅</i>	♂	2,07 ± 0,040 d
	♀	2,50 ± 0,027 b
<i>F₁</i>	♂	2,20 ± 0,047 c
	♀	2,89 ± 0,029 a

I.4.5 Comportamento de “oviposição em saltos” e local de deposição de ovos de fêmeas de *Aedes aegypti* procedentes de colônias na geração F₁₂₅ e na geração F₁

Entre as 35 fêmeas de *Ae. aegypti* individualmente avaliadas em cada tratamento, apenas 13 fêmeas procedentes da geração F₁₂₅ e 12 fêmeas provenientes da geração F₁ depositaram ovos e foram consideradas nas análises. Verificou-se que o número de ovos depositados por fêmeas da geração F₁₂₅ não diferiu significativamente do número de ovos colocados por fêmeas da geração F₁ (MLG; df = 34124,000; F = 0,208; p = 0,653). Observou-se grande variação entre o número de ovos depositados por cada fêmea, tanto da colônia em F₁₂₅ (21 a 166 ovos/ fêmea), quanto da colônia em F₁ (29 a 138 ovos/ fêmea). O número médio de criadouros colonizados

por fêmeas da geração F_{125} não diferiu significativamente da média de criadouros colonizados por fêmeas da geração F_1 (MLG; $df = 141,760$; $F = -0,003$; $p = 0,959$), conforme Tabela 4. As fêmeas da geração F_{125} depositaram significativamente maior percentual de ovos na água do que na parede do criadouro (MLG; $df = 11,883$; $X^2 = -1,951$; $p = 0,021$). Já as fêmeas da geração F_1 depositaram um percentual de ovos na água que não diferiu significativamente do que foi deixado na parede do criadouro (MLG; $df = 13,898$; $X^2 = -0,2321$; $p = 0,497$) (Tab. 4).

Tabela 4. Número médio de ovos ($\pm EP$) depositados, número médio ($\pm EP$) de criadouros colonizados e percentuais médios ($\pm EP$) de ovos depositados na água e na parede do criadouro por fêmeas de *Aedes aegypti* procedentes de colônias nas gerações F_{125} e F_1 . Letras diferentes após as médias indicam diferença significativa - MLG, $p < 0.05$. (N=12-13 fêmeas/tratamento).

Colônia	Número médio ($\pm EP$) de ovos por fêmea	Número médio ($\pm EP$) de criadouros colonizados	Percentual médio ($\pm EP$) de ovos depositados	
			Água	parede
F_{125}	59,1 \pm 11,15 a	3,4 \pm 0,67 a	63,6 \pm 8,09 a	36,4 \pm 8,09 b
F_1	66,1 \pm 10,05 a	3,3 \pm 0,71 a	54,9 \pm 10,20 a	45,1 \pm 10,20 a

A existência de um “criadouro predileto” foi indicada a partir de um teste de *outlier* ou ponto extremo, que representa um valor discrepante em relação aos demais valores observados (Triola 2005). A determinação deste ponto extremo ocorreu a partir dos percentuais de ovos depositados por cada fêmea individualizada em cada um dos 16 criadouros disponíveis, conforme ilustrado nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5. Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos nove criadouros por fêmeas de *Aedes aegypti* procedentes de colônia em geração F₁₂₅ e avaliadas individualmente em condições de laboratório. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. Asterisco (*) ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de *outlier*, p < 0,05.

<i>Percentual de ovos / criadouro / ♀ avaliada classificado do menor para o maior valor</i>												
♀1	♀2	♀3	♀4	♀5	♀6	♀7	♀8	♀9	♀10	♀11	♀12	♀13
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3,2	1,2	0,0	0,0	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3,2	1,8	0,0	0,0	3,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4,8	3,6	0,0	0,0	3,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
7,3	4,8	0,0	0,0	5,7	0,0	0,0	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
10,5	18,7	0,0	0,0	11,3	3,7	2,1	11,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
26,6	27,7	2,2	22,4	22,6	27,8	17,0	41,5	6,7	2,9	0,0	0,0	42,9
42,7	42,2	<u>97,8*</u>	<u>77,6*</u>	<u>50,9*</u>	<u>68,5*</u>	<u>80,9*</u>	45,3	<u>93,3*</u>	<u>97,1*</u>	<u>100,0</u>	<u>100,0</u>	57,1
SCP	SCP	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CUN</u>	<u>CUN</u>	SCP

Tabela 6. Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos nove criadouros por fêmeas de *Aedes aegypti* procedentes de colônia em geração F₁ e avaliadas individualmente em condições de laboratório. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. Asterisco (*) ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de *outlier*, p < 0,05.

<i>Percentual de ovos / criadouro / ♀ avaliada classificados do menor para o maior valor</i>											
♀1	♀2	♀3	♀4	♀5	♀6	♀7	♀8	♀9	♀10	♀11	♀12
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,0
0,7	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,0
0,7	0,0	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,0
5,1	0,0	3,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0
10,1	0,0	6,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0
13,0	0,0	15,5	0,0	0,0	3,3	4,3	6,5	6,9	0,0	0,0	12,0
26,8	0,0	34,0	0,0	0,0	10,0	42,0	28,3	37,6	38,7	0,0	16,0
43,5	<u>100,0</u>	35,9	<u>100,0</u>	<u>100,0</u>	<u>86,7*</u>	53,6	<u>65,2*</u>	55,4	61,3	<u>100,0</u>	<u>48,0*</u>
SCP	<u>CUN</u>	SCP	<u>CUN</u>	<u>CUN</u>	<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>	SCP	SCP	<u>CUN</u>	<u>CP</u>

Entre as 13 fêmeas provenientes da geração F₁₂₅, duas (15,4 %) apresentaram o comportamento de deposição de ovos em criadouro único (CUN), enquanto 11 (84,6 %) fêmeas apresentaram o comportamento de “oviposição em saltos”. Entre estas 11 grávidas, sete

(63,6%) fêmeas apresentaram a escolha de um “criadouro predileto” (CP), enquanto quatro (36,4%) delas distribuíram seus ovos de forma mais homogênea entre os criadouros, não havendo um recipiente com uma quantidade significativamente maior de ovos (SCP). Por outro lado, entre as 12 fêmeas procedentes da geração F₁, quatro (33,3 %) indivíduos depositaram todos os ovos num criadouro único. Entre as oito grávidas que espalharam seus ovos, verificou-se que três (37,5%) fêmeas apresentaram a escolha de um “criadouro predileto”, enquanto cinco (62,5%) indivíduos depositaram seus ovos de forma mais homogênea entre os criadouros, conforme Tabela 7.

Tabela 7. Numero de fêmeas (percentual de fêmeas) de *Aedes aegypti* procedentes de colônias em geração F₁₂₅ e F₁ que depositaram seus ovos em criadouro único ou exibiram o comportamento de “oviposição em saltos, apresentando ou não o “criadouro predileto” em condições de laboratório. (N=12-13 fêmeas/tratamento).

Colônia	Número de fêmeas (% de fêmeas)			
	Deposição de ovos em criadouro único	Comportamento de “oviposição em saltos”	Presença de “criadouro predileto”	Ausência de “criadouro predileto”
F ₁₂₅	2 (15,4%)	11 (84,6 %)	7 (63,6%)	4 (36,4%)
F ₁	4 (33,3%)	8 (66,7%)	3 (37,5 %)	5 (62,5%)

1.5 DISCUSSÃO

Geralmente, bioensaios em laboratório, semicampo e até mesmo campo, são realizados com *Ae. aegypti* e outros insetos provenientes de colônias muito antigas de laboratório. Embora os vetores sejam mantidos em condições que se assemelham ao natural, quando submetidos à colonização em laboratório, sofrem alterações que podem desencadear mudanças no seu comportamento que foram pouco estudadas e compreendidas (Mackauer 1980, Clark et al. 2011).

Ao comparar parâmetros biológicos de insetos procedentes de colônias mantidas por diferentes períodos em condições de laboratório, verificou-se que o percentual de larvas que eclodiram foi pequeno tanto para ovos procedentes da geração F₁₂₅ quanto da geração F₁. Em estudos anteriores, fêmeas de *Ae. aegypti* que se alimentaram diretamente sobre animais, depositaram ovos cujas viabilidades oscilaram entre 36 e 100% em condições de laboratório

(Silva & Silva 1998, Beserra et al. 2009, Deng et al. 2012, O'Neal & Juliano 2013) e foram maiores do que 88 % em condições de campo (O'Neal & Juliano 2013).

Os recipientes onde os ovos foram mantidos submersos por 12 dias apresentaram matéria orgânica e micro-organismos que são estímulos para a eclosão das larvas. Além disso, com a manipulação diária dos criadouros para a observação de larvas de primeiro instar, provocou-se uma agitação na água que funciona como estímulo para a eclosão imediata de larvas após o embrionamento (Christopher 1960). Mantidos no laboratório, ovos de ambas as colônias foram submetidos a condições ideais de temperatura ($26,3 \pm 0,16$ °C) e umidade ($69,9 \pm 1,06$ % URA), o que favorece o adequado desenvolvimento embrionário de suas larvas e protege os ovos da dessecação.

Mesmo com a baixa eclosão de larvas, verificou-se que a porcentagem de ovos viáveis provenientes da geração F₁ foi maior do que a da geração F₁₂₅, sugerindo alteração da viabilidade dos ovos com o envelhecimento da colônia. Embora Deng e colaboradores (2012) não tenham observado a alteração na viabilidade dos ovos com o envelhecimento das gerações de *Ae. aegypti* de F₁ a F₈, o presente estudo aponta tal redução em ovos procedentes de indivíduos em F₁₂₅.

Trabalhos anteriores associaram alterações de viabilidade dos ovos de *Aedes* sp. a diferenças de temperatura (Beserra et al. 2006, Farnesi et al. 2009) e ao período após a oviposição (Silva & Silva 1999). Entretanto, não foi associado o comprometimento da eclosão de larvas a diferentes estações climáticas - quente úmida ou quente seca - (O'Neal & Juliano 2013), nem ao envelhecimento das gerações (Xue et al. 2009, Deng et al. 2012) ou a indivíduos provenientes de colônias diferentes (Beserra et al. 2006). Os dois fatores em combinação, procedência da colônia e gerações diferentes, podem ser responsáveis pela alteração encontrada.

O tempo de desenvolvimento larval de *Ae. aegypti* procedentes das gerações F₁₂₅ e F₁ foram similares a outros estudos em que a espécie foi mantida em condições ideais no laboratório, ora se estendendo por 7 a 10 dias (Silva & Silva 1999), ora sendo de 6 a 10 dias em amostras procedentes de diferentes locais da Paraíba (Beserra et al. 2006). No presente estudo, larvas em F₁ gastaram um dia a mais até a fase de pupa do que larvas da colônia em F₁₂₅. Este atraso no desenvolvimento larval pode ter contribuído para o maior tamanho dos insetos da geração F₁ em relação aos insetos da geração F₁₂₅. Machos em F₁ apresentaram significativamente maior dimensão alar do que machos da geração F₁₂₅ assim como fêmeas da geração F₁ foram significativamente maiores do que as da geração F₁₂₅. Uma vez que havia

abundância de alimento, indivíduos que permaneceram mais tempo como larvas puderam absorver e armazenar maior quantidade de nutrientes, utilizados para originar adultos maiores e mais vigorosos (Zahiri et al. 1997, Gama et al. 2005). No entanto, considera-se a colonização em laboratório um fator que possa ter contribuído para a redução dos tamanhos de machos e fêmeas de F₁₂₅ em relação aos machos e fêmeas de F₁. Foi identificado previamente que machos selvagens foram maiores em relação machos procedentes de quatro colônias diferentes de *Ae. aegypti* (Richardson & Williams 2013). Sugere-se assim, que a colonização em laboratório associada à duração da fase larval tenha contribuído para a redução dos adultos em F₁₂₅ em relação a F₁. A desvantagem de adultos menores é o comprometimento do *fitness*, com redução de cópula e de número de ovos depositados no ambiente (Colles & Chellapah 1960, Ponlawat & Harrington 2009, Richardson & Williams 2013)

Observou-se que a razão sexual de machos e fêmeas foi de 1:1 em ambas as colônias, corroborando Nelson (1986) e Silva & Silva (1999). É interessante ressaltar que no início do período de emergência de adultos houve um grande número de machos emergindo em ambas as colônias, e ao final, observou-se uma tendência de maior emergência de fêmeas. A emergência de machos com antecedência em relação à emergência de fêmeas garante que os machos possam realizar a rotação de sua genitália externa, estando aptos para a cópula quando as fêmeas começam a aparecer no ambiente (Gadelha e Toda 1985, Nelson 1986). O equilíbrio de emergência de machos e fêmeas ao longo da maior parte do tempo pode ser um mecanismo que o *Ae. aegypti* utiliza para introduzir na natureza de forma contínua, embora flutuante, populações de adultos em diferentes períodos, quando as condições forem favoráveis, ou para se manter quando as condições forem adversas (Silva & Silva 1999).

Com relação ao comportamento de oviposição, foi observada uma grande variação entre o número de ovos depositados por fêmea das gerações F₁₂₅ e F₁. Isso é frequente em experimentos onde é avaliada uma única grávida de *Ae. aegypti* (Chadee et al. 2002, Abreu 2010, Costa 2010). Provavelmente estas variações ocorrem devido à eficiência do repasto sanguíneo (Coles & Chellapah 1960, Xue et al. 2008) e ao tamanho dos adultos que podem interferir na capacidade reprodutiva de machos e fêmeas (Coles & Chellapah 1960, Blackmore & Lord 2000, Ponlawat & Harrington 2009). No entanto, o número médio de ovos depositados por fêmeas de *Ae. aegypti* procedentes da geração F₁ foi igual ao observado para grávidas da geração F₁₂₅. Estes valores estão de acordo com a literatura, uma vez que fêmeas de *Ae. aegypti* depositam entre 60 e 120 ovos em cada ciclo gonotrófico (Christopher 1960, Forattini 2002). Em experimento similar ao deste trabalho, ao avaliar uma única fêmea de *Ae. aegypti*, foram

obtidas médias de 74,9 ($\pm 4,3$) e 76,0 ($\pm 3,9$) ovos/fêmea em duas condições de umidade (80% e 51%, respectivamente) (Madeira et al. 2002). As médias de ovos depositados por fêmeas deste vetor que se alimentam de forma lenta ($83,8 \pm 17,7$) ou rápida ($88,1 \pm 21,6$) também foram similares e constantes em quatro gerações avaliadas (Chadee et al. 2002). A avaliação de uma linhagem de *Ae. aegypti* em F₀ indicou que 63,1 ($\pm 6,86$) foi o número médio de ovos depositados por grávidas (Lee et al. 2009).

No presente bioensaio verificou-se que fêmeas de *Ae. aegypti* procedentes de ambas as colônias apresentaram estratégias de deposição de ovos similares. Harrington & Edman (2001) e Williams et al. (2008) relataram que a minoria das fêmeas de *Ae. aegypti* depositou seus ovos em um criadouro único, enquanto a maioria apresentou o comportamento de “oviposição em saltos” (Mogi & Morky 1980), espalhando seus ovos nos criadouros disponíveis. Na avaliação individual de fêmeas do vetor já foi identificada a existência destes dois comportamentos, sendo que a “oviposição em saltos” é mais frequente do que a deposição de ovos num criadouro único (Chadee 2010, Abreu 2010).

Verificou-se com o presente trabalho que esta dualidade do comportamento de oviposição independe da geração do vetor avaliada. Enquanto a dispersão de ovos em mais de um criadouro garante que pelo menos parte da prole atinja a fase adulta (Fay & Perry 1965, Chadee et al. 1990, Apostol et al. 1994, Reiter 2007), a deposição de ovos num único recipiente evita o desgaste energético das fêmeas, assim como as possibilidades de predação ou morte no processo de busca e seleção de criadouros (Harrington & Edman 2001). Desta forma, sugere-se que fêmeas de *Ae. aegypti* optem pelo comportamento mais adequado em cada situação, tendendo a apresentar de forma mais evidente o comportamento de “oviposição em saltos” em detrimento da escolha do criadouro único.

Abreu (2010), ao avaliar o comportamento de “oviposição em saltos” do *Ae. aegypti* em condições de laboratório e semicampo, verificou a tendência de grávidas espalharem seus ovos entre os criadouros disponíveis, concentrando um grande número de ovos em apenas um dos criadouros. Diante disso, determinou-se a existência do “criadouro predileto” que foi considerado aquele que “recebeu a maior quantidade de ovos entre os criadouros avaliados, em cada tratamento e em cada repetição”. Levando-se em consideração este conceito de “criadouro predileto”, ao iniciar a análise dos resultados da presente pesquisa surgiram situações interessantes. Foram observadas fêmeas que distribuíram seus ovos de forma bem homogênea entre os criadouros, parecendo não optar por um criadouro como “predileto”. Também foram observadas situações em que dois criadouros receberam um número elevado e

similar de ovos. Portanto, de acordo com conceito de Abreu (2010), aquele criadouro que recebeu o maior número de ovos teria que ser considerado como predileto e isso não se aplica como uma regra, devido alguns criadouros receberem números semelhantes de ovos.

Para solucionar este impasse os dados foram analisados e verificou-se, a partir de representações gráficas, que o “criadouro predileto” poderia ser um *outlier*. Foi então realizado um teste de *outlier* para cada fêmea avaliada, onde os percentuais de ovos depositados em cada criadouro foram considerados. Verificou-se que esta metodologia conseguiu elucidar as divergências citadas anteriormente. Diante disso, sugeriu-se um aprimoramento do conceito de “criadouro predileto” que foi considerado nesta tese como “*aquela que recebeu o maior percentual de ovos entre os criadouros avaliados, em cada tratamento e em cada repetição. E, além disso, recebeu um percentual de ovos estatisticamente maior que os demais criadouros, podendo ser considerado um outlier*”. O criadouro *outlier* corresponde àquele que recebeu um percentual extremo do total de ovos depositados por cada fêmea individualizada que realizou a “oviposição em saltos”.

Levando-se em consideração que no presente trabalho o conceito de “criadouro predileto” foi aprimorado em relação ao de Abreu (2010), que superestimava a existência destes, com cautela, é possível comparar os resultados de ambos os trabalhos. Assim como observado por Abreu (2010), parte das fêmeas individualmente avaliadas depositou seus ovos em um único criadouro. Entre as fêmeas que espalharam seus ovos, verificou-se ora a presença de um “criadouro predileto” com grande número de ovos, ora o espalhamento de ovos entre os criadouros disponíveis de forma bem homogênea. Estas pluralidades no comportamento de oviposição do vetor podem refletir a dificuldade de criar um padrão para a espécie, assim como o sucesso da perpetuação da espécie com populações elevadas nos mais variados ambientes. Provavelmente, este comportamento de oviposição é um dos fatores que dificultam o controle do vetor em programas de controle da dengue.

Os resultados demonstraram que a colonização dos criadouros por fêmeas da geração F₁₂₅ e da geração F₁ foram semelhantes. Isto sugere que fêmeas de *Ae. aegypti*, mesmo após a manutenção em condições artificiais de laboratório por um longo período, mantêm o comportamento de “oviposição em saltos”, corroborando avaliações anteriores com insetos procedentes de colônias. Chadee (2010) verificou que grávidas do mosquito utilizaram com maior frequência até quatro dos oito criadouros disponíveis e Abreu (2010) observou que fêmeas colonizaram 4,9 (\pm 1,67) dos oito criadouros disponíveis, ambos em condições de laboratório.

Apesar de o comportamento de “oviposição em saltos” não ter sido alterado com a manutenção de insetos no laboratório, verificou-se que fêmeas das duas colônias apresentaram um padrão diferente de distribuição de ovos. Enquanto o percentual de ovos depositados na parede do criadouro foi significativamente igual ao percentual de ovos deixado diretamente na água por fêmeas da geração F_1 , verificou-se que o percentual médio de ovos deixado na água foi significativamente maior do que o observado na parede dos criadouros nos bioensaios com fêmeas da geração F_{125} . Esses resultados indicam que o comportamento foi alterado como consequência da manutenção dos insetos em laboratório.

A deposição de ovos diretamente na água pelo *Ae. aegypti* é uma estratégia que favorece o desenvolvimento do inseto mesmo nas épocas secas (Madeira et al. 2002, Gomes et al. 2006). Além disso, possibilita o desenvolvimento do vetor naquele criadouro de forma rápida, favorecendo a colonização do ambiente antes da adição de um volume de água, quando se espera que eclodirão as larvas presentes nos ovos aderidos à parede do criadouro. Durante o período de quiescência, ovos presentes na parede do criadouro apresentam uma redução na sua viabilidade (Christopher 1960, Silva & Silva 1999) e ficam sujeitos à predação (Madeira et al. 2002), comprometendo o futuro da prole. De acordo com a literatura, o *Ae. aegypti* deposita todos ou a maior parte dos seus ovos na parede do criadouro, nunca ou raramente utiliza a água como local de oviposição (Gadelha & Toda 1985, Nelson 1986, Clements 1999). No entanto, tem-se observado com frequência a presença de ovos na água dos criadouros avaliados (Madeira et al. 2002, Abreu 2010, Costa 2010), indicando que os esforços para encontrar ovos na água não foram suficientes ou o mosquito apresentou uma plasticidade no seu comportamento, passando a utilizar também a água para a deposição de ovos. Observou-se que com o aumento do número das gerações o inseto passou a usar mais a água do que a parede do criadouro. Isso pode ser um indício da adaptação comportamental do indivíduo ao longo do tempo à deposição de ovos na água. Uma vez que aconteceu no laboratório pode também ter acontecido em condições de campo, com populações naturais sujeitas a determinadas pressões. Portanto, futuros trabalhos devem ser realizados para compreender estes mecanismos de adaptação.

O presente trabalho indicou a existência de diferenças no comportamento de oviposição e na biologia de mosquitos *Ae. aegypti* procedentes de colônias em diferentes gerações. Com a relação à biologia do vetor, verificou-se que embora a razão sexual tenha sido igual entre insetos de ambas as colônias, (a) a viabilidade dos ovos, (b) a duração da fase larval e (c) o tamanho dos adultos foram significativamente menores na colônia em F_{125} em relação à F_1 .

Por outro lado, foi constatado que parte do comportamento de oviposição do *Ae. aegypti* foi preservado mesmo com a manutenção dos insetos, em condições de laboratório, por um período aproximado de quatro anos. Parâmetros como: (a) o número médio de ovos depositados / fêmea, (b) o número médio de criadouros colonizados, (c) uma maior frequência de grávidas que realizam a “oviposição em saltos” em relação à deposição de ovos em criadouro único e (d) existência de um “criadouro predileto”, foram similares entre insetos avaliados nas diferentes gerações. No entanto, observou-se que fêmeas da geração F₁ depositaram um percentual de ovos igual na água e na parede do criadouro, enquanto fêmeas da geração F₁₂₅ depositaram significativamente maior percentual de ovos na água em relação à parede dos criadouros.

De modo geral, observou-se que o comportamento de oviposição do vetor foi mantido, exceção feita ao local de deposição de ovos, ao longo das gerações e entre indivíduos de colônias distintas. Contudo, parâmetros biológicos foram alterados na geração F₁₂₅ o que, em longo prazo, pode comprometer o vigor dos insetos em relação aos procedentes de campo. Assim, sugere-se renovar periodicamente a colônia do laboratório, com o uso de um grande número de indivíduos para iniciar a nova colônia.

I.6 CONCLUSÕES

Concluiu-se que *a razão sexual, o número médio de ovos depositados e o número médio de criadouros colonizados* não foram significativamente diferentes entre insetos procedentes de colônias em diferentes gerações.

Entretanto, *a viabilidade dos ovos, a duração da fase larval e o tamanho dos adultos* foram significativamente menores em insetos da geração F₁₂₅. Observou-se ainda que fêmeas da geração F₁ depositaram um percentual de ovos na água que não diferiu significativamente do percentual colocado na parede do criadouro. Fêmeas da geração F₁₂₅, por outro lado, depositaram significativamente maior *percentual de ovos na água em relação à parede dos criadouros*.

A partir destas observações comportamentais e biológicas sugere-se a renovação periódica da colônia de *Ae. aegypti* para garantir uma maior aproximação e veracidade dos resultados obtidos no laboratório com aqueles verificados em populações naturais.

CAPÍTULO II

Avaliação do estado nutricional de fêmeas de *Aedes (Stegomyia) aegypti* e das dimensões dos criadouros no seu comportamento de “oviposição em saltos” e escolha de “criadouro predileto” em condições de semicampo

RESUMO

Fêmeas de *Aedes (Stegomyia) aegypti* apresentam o comportamento de “oviposição em saltos” e, ao espalharem seus ovos, escolhem um criadouro como “predileto”, onde depositam a maior parte dos ovos. No entanto, ainda não foram elucidados quais fatores podem interferir nestes comportamentos. Assim, o objetivo do trabalho foi verificar se (a) diferentes dietas não sanguíneas, (b) as dimensões dos criadouros e (c) a presença de anteparo próximo aos criadouros interferem na oviposição de *Ae. aegypti*. Experimentos foram conduzidos em gaiolas teladas (2,0 x 2,5 x 2,5 m) no semicampo contendo 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos. Grávidas de *Ae. aegypti* foram individualmente avaliadas por 4 dias nestas gaiolas. Como resultados, verificou-se que fêmeas alimentadas com “água+sangue”, “solução de sacarose a 10%+sangue” e apenas “sangue” utilizaram, respectivamente, 6,0 ($\pm 0,54$); 6,5 ($\pm 0,57$) e 6,3 ($\pm 0,64$) criadouros (MLG, $p > 0,05$). Mais de 87% delas escolheram um criadouro como predileto, independente da dieta. Fêmeas expostas a criadouros distintos (200mL, 1L, 5L ou 10L) colonizaram o mesmo percentual de criadouros, independente de suas dimensões (MLG, $p < 0,05$). No entanto, grávidas de *Ae. aegypti* colocaram um percentual de ovos menor nos criadouros pequenos ($27,6 \pm 5,62\%$) do que nas Ovitampas ($72,4 \pm 5,62$) (MLG, $p < 0,05$), não escolhendo os recipientes pequenos (200mL) como “prediletos”. Na ausência de anteparo, o percentual ($\pm EP$) de ovos nos criadouros do círculo interno foi significativamente menor do que o percentual de ovos nos criadouros externos. Ao colocar o anteparo, os criadouros do círculo interno receberam o mesmo percentual de ovos que as Ovitampas do círculo externo (MLG, $p > 0,05$). Concluiu-se que o comportamento de “oviposição em saltos” e a escolha do “criadouro predileto” em semicampo não dependeram da dieta a que as fêmeas foram submetidas. No entanto, embora as grávidas de *Ae. aegypti* tenham usado criadouros de todas as dimensões, evitaram depositar grande quantidade de ovos em criadouros pequenos, não escolhendo estes como “prediletos”. Além disso, concluiu-se que fêmeas de *Ae. aegypti* utilizaram os criadouros próximos a anteparos com maior frequência para a deposição de seus ovos, assim como para a escolha do “criadouro predileto”.

II.1 INTRODUÇÃO

A deposição de ovos por fêmeas de *Aedes aegypti*, vetor da dengue, é realizada principalmente nas paredes internas dos criadouros (Fay & Perry 1965, Gadelha & Toda 1985, Nelson 1986, Chadee & Cobert 1987, Clements 1999, Gomes et al. 2006) e, eventualmente, na superfície da água (Madeira et al. 2002, Gomes et al. 2006, Ponnusamy et al. 2008, Abreu 2010). Os ovos deixados na água apresentam rápida capacidade de eclosão, assegurando ao vetor uma rápida colonização do ambiente (Madeira et al. 2002, Gomes et al. 2006). Já os ovos colocados na parede do criadouro podem sobreviver por cerca de um ano (Christopher 1960, Silva & Silva 1999), embora sua viabilidade seja comprometida após o 120º dia após a oviposição (Silva & Silva 1999). Além disso, grávidas de *Ae. aegypti* depositam seus ovos em vários criadouros, ao invés de utilizarem apenas um. Este comportamento é denominado “skip oviposition” ou “oviposição em saltos” (Mogy & Morfy 1980) e já foi observado na espécie em condições de laboratório (Fay & Perry 1965, Chadee et al. 1990, Corbet & Chadee 1993, Chadee 2010, Abreu 2010), de semicampo (Abreu 2010, Wong et al. 2012) e de campo (Chadee & Corbet 1987, Apostol et al. 1994, Reiter et al. 1995, Colton et al. 2003, Chadee 2009). Acredita-se que esta estratégia beneficie a prole, diminuindo a competição entre as formas imaturas e garantindo que pelo menos parte dos descendentes atinja a maturidade (Harrington & Edman 2001, Reiter 2007). As fêmeas que realizam a “oviposição em saltos” depositam a maioria dos ovos em um único recipiente, que foi denominado de “criadouro predileto” por Abreu (2010).

A seleção de criadouros por culicídeos tem sido extensivamente estudada com relação aos efeitos de fatores bióticos preexistentes no sítio de oviposição. Entre estes, destacam-se a presença de matéria orgânica (Sant'Ana et al. 2006, Wong et al. 2012), bactérias e seus metabólitos (Ponnusamy et al. 2008) como sinalizadores de nutrientes para o desenvolvimento larval. Ressalta-se ainda a preexistência de imaturos (ovos, larvas e pupas) co-específicos, ora como estimulantes / atraentes (Allan e Kline 1998, Williams et al. 2008, Wong et al. 2011, Costa 2010), ora como inibidores / repelentes (Chadee et al. 1990, Apostol et al. 1994), além da interferência de predadores (Sunahara et al. 2002) e parasitas (Zahiri et al. 1997) presentes no sítio de oviposição.

Em contrapartida, a influência das dimensões dos criadouros na escolha de sítios para a deposição de ovos por fêmeas de culicídeos ainda é pouco compreendida. Em campo, verificou-se que os padrões de ocorrência de espécies de culicídeos estão associados às dimensões dos

criadouros e ao ambiente em que estes se localizam. Por exemplo, *Aedes (Stegomyia) spp.* e *Tripteroides bambusa* foram encontrados em criadouros pequenos (diâmetro < 0.1 m²), enquanto *Ae. japonicus* e *Culex kyotensis* foram observados em criadouros intermediários (diâmetro: 0.1 a 1 m²). Já imaturos de *Ae. sinensis* e de *Cx. tritaeniorynchus*, foram encontrados em grandes criadouros, com diâmetros maiores que 1 m² (Sunahara et al. 2002). Em condições de semicampo, verificou-se que fêmeas de *Ae. albopictus* tendem a escolher criadouros com menores áreas de superfície e com águas mais profundas (Reiskind & Zarrabi 2012), enquanto as fêmeas de *Ae. aegypti* depositam maior número de ovos em criadouros com volumes, áreas de superfície e diâmetros maiores (Harrington et al. 2008). Assim, apesar de já ter sido identificado que as dimensões dos recipientes interferem na escolha de criadouros por culicídeos, sendo as características escolhidas espécie-específicas (Sunahara et al. 2002), é desconhecida a influência das dimensões dos criadouros no comportamento de “oviposição em saltos” e na escolha do “criadouro predileto” em *Ae. aegypti*.

As dimensões de um criadouro podem estar associadas às suas qualidades. Recipientes grandes possivelmente apresentam maior capacidade de suporte para o desenvolvimento larval, uma vez que são mais perenes, estando expostos a um processo de dessecação mais lento ou improvável. Além disso, possivelmente acumulam maior quantidade de matéria orgânica que serve de alimento para larvas ou bactérias que, assim como seus metabólitos, também podem ser utilizadas como alimentos para larvas de culicídeos. Por outro lado, em recipientes grandes há uma maior probabilidade de serem encontrados maiores quantidades e diversidades de predadores que poderiam limitar o tamanho populacional da espécie (Wong et al. 2012).

A busca por criadouros adequados para o espalhamento dos ovos por *Ae. aegypti* é laboriosa e envolve um gasto energético das fêmeas (Harrington & Edman 2001). Embora tenha sido pouco estudado, Tsunoda e colaboradores (2010) observaram recentemente que grávidas de *Ae. aegypti* maiores e mais bem nutridas apresentaram um melhor desempenho no espalhamento de seus ovos, mas isso ainda não foi mensurado com relação à escolha do “criadouro predileto”.

Desta forma, os objetivos do presente estudo foram avaliar se (a) o espalhamento dos ovos ocorre de forma mais pronunciada entre os criadouros maiores em relação aos menores e (b) se a dieta alimentar não sanguínea interfere na capacidade de dispersão de ovos. Além disso, visou-se entender como o estado nutricional de fêmeas de *Ae. aegypti* e as dimensões do criadouro interferem na escolha do “criadouro predileto”.

II.2 OBJETIVOS

II.2.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência de alguns fatores (estado nutricional das fêmeas, tamanho dos criadouros e proximidade com anteparos) nos comportamentos de “oviposição em saltos” e escolha de “criadouro predileto” por grávidas de *Ae. aegypti* em condições de semicampo.

II.2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar a influência do estado nutricional de fêmeas de *Ae. aegypti* no seu comportamento de “oviposição em saltos” e escolha de “criadouro predileto”;
- ✓ Avaliar a influência das dimensões do criadouro no comportamento de “oviposição em saltos” e escolha de “criadouro predileto” em *Ae. aegypti*;
- ✓ Avaliar a influência da presença de anteparos para pouso/descanso próximo a criadouros no comportamento de “oviposição em saltos” e escolha de “criadouro predileto” de *Ae. aegypti*.

II.3 METODOLOGIA

II.3.1 Manutenção das colônias de *Aedes aegypti* em condições de laboratório

Para a realização dos bioensaios, a colônia de *Ae. aegypti* foi mantida no insetário do LabEQ conforme metodologia descrita no Capítulo I (ver: I.3.2 Manutenção das colônias de *Aedes aegypti* em condições de laboratório). A colônia, isenta dos sorotipos de dengue, foi estabelecida em 2011 e mantida, desde então, sob condições controladas (27 ± 1 °C, 75 a 80% U.R. e 12 horas de fotofase) (Eiras 1991). As fêmeas utilizadas nos testes e na manutenção da colônia receberam alimentação sanguínea em um sistema artificial. Foram avaliadas grávidas de *Ae. aegypti* de 6 a 15 dias de idade cronológica e três dias após o repasto sanguíneo (Gomes et al. 2006, Roque & Eiras 2008).

II.3.2 Área experimental de semicampo

O semicampo consiste em uma construção de 14,0 m de comprimento x 7,0 m de largura x 3,5 m de altura, localizada no espaço externo do ICB-UFMG – *Campus Pampulha* (Roque & Eiras, 2008), numa área ventilada, arborizada e sombreada. As paredes e o teto são constituídos por uma tela fina (malha 72; 1 mm) para evitar a entrada de insetos e outros animais da área externa, além de impedir que os mosquitos utilizados nos testes escapem para o ambiente. O teto é coberto com plástico transparente que possibilita a incidência de luz natural e evita a entrada de água nos dias de chuva. O plástico transparente (1 m de altura) também reveste internamente as paredes da área experimental com o objetivo de diminuir a influência das correntes de ar.

Dentro da área experimental foram instaladas oito gaiolas (2,5 x 2,5 x 2,0 m), com laterais e teto confeccionados com tela anti-afídeo, dispostas de acordo com a Figura 7. Para a entrada e a saída do experimentador há um zíper central na lateral que se localiza no corredor. Durante os testes foram instaladas armadilhas BGS e MosquiTRAP® em diferentes locais da área experimental (fora das gaiolas de teste), com o objetivo de capturar os insetos que eventualmente escapassem das gaiolas de teste.

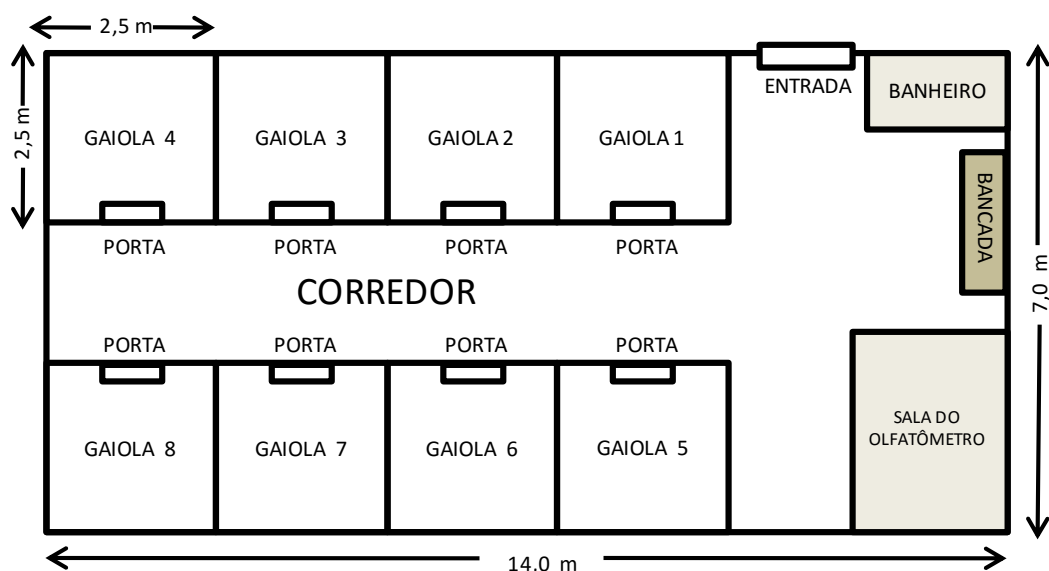


Figura 7. Esquema da área experimental (semicampo) mostrando a disposição das gaiolas de teste e as construções de alvenaria (sala do olfatômetro e banheiro) (Adaptado de Roque & Eiras 2008).

II.3.3 Bioensaios

Foi observado o comportamento de “oviposição em saltos” de *Ae. aegypti* diante de 16 criadouros mantidos em posições fixas nas gaiolas no semicampo. Os criadouros foram organizados em dois círculos concêntricos dentro das gaiolas, sendo oito recipientes localizados no círculo interno (numerados de 1 a 8) e oito localizados no círculo externo (numerados de 9 a 16) (Abreu 2010), conforme Figura 8.

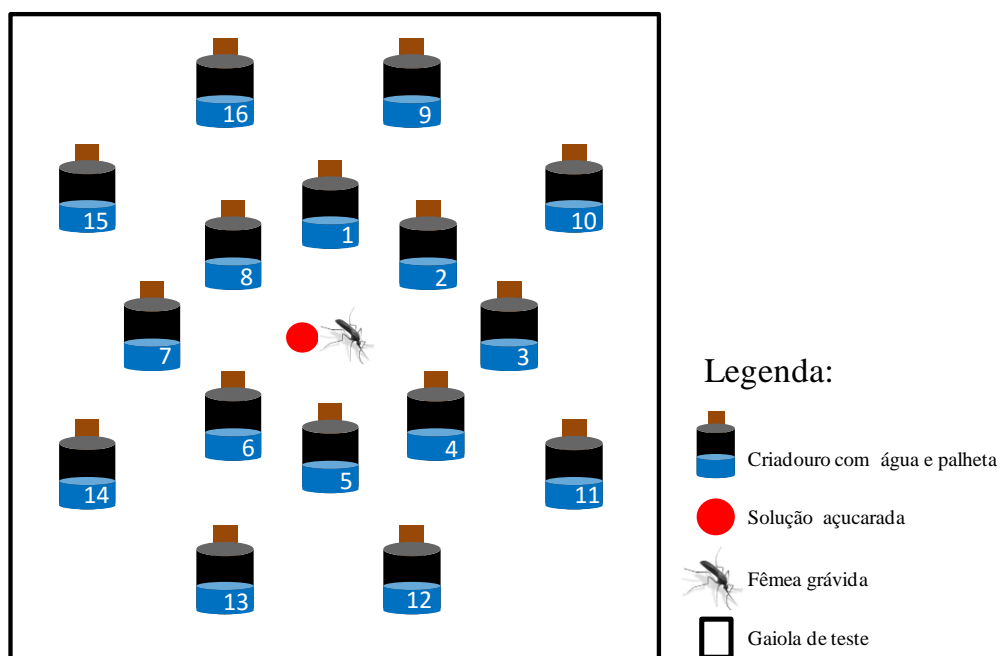


Figura 8. Representação da disposição dos criadouros, com respectivas numerações, em dois círculos concêntricos dentro da gaiola de teste do semicampo. No centro, indicação do local de liberação da fêmea de *Aedes aegypti* e da localização da solução açucarada.

Uma única fêmea de *Ae. aegypti*, três a quatro dias após o repasto sanguíneo e com idade entre 6 e 15 dias, foi liberada no interior de cada gaiola experimental (Gomes et al. 2006, Roque & Eiras 2008). Os testes tiveram duração de 96 horas (4 dias), sendo iniciados e finalizados na parte da manhã. Cada fêmea foi liberada na 3ª hora de fotofase no dia inicial e os testes foram desmontados entre a 2ª e a 6ª hora de fotofase (Abreu 2010). As grávidas avaliadas em cada bioensaio foram liberadas no centro da gaiola de teste (Fig. 9). Um termo-higrômetro foi

mantido no interior do semicampo para monitorar as variações de temperatura e umidade relativa do ar (Roque & Eiras 2008, Abreu 2010).

Cada recipiente de oviposição foi preenchido com um volume de água de torneira correspondente a 40% do seu volume total (modificado de Harrington et al. 2008). Após 96 horas de teste, palhetas (ou papeis) e água de cada criadouro foram cuidadosamente recolhidas e identificadas. Para obter a distribuição dos ovos em cada criadouro realizou-se a contagem dos ovos presentes na água e na palheta com auxílio de um contador manual e um microscópio estereoscópico (20x) (Abreu 2010).

Classificação dos criadouros em função do número de ovos que receberam: Uma vez que ocorrem variações individuais de grávidas de *Ae. aegypti* no número de ovos depositados e no número de criadouros utilizados por cada fêmea avaliada, os criadouros foram divididos em cinco categorias, (Apostol et al. 1994, Chadee 2009, Abreu 2010), conforme a quantidade de ovos depositados por criadouro: (a) 0 (zero); (b) de 1 a 11; (c) de 12 a 30; (d) 31 a 60 e (e) mais de 60.

II.3.3.1 Experimento 1: Influência do estado nutricional de fêmeas de *Aedes aegypti* no seu comportamento de oviposição

A avaliação do estado nutricional de fêmeas de *Ae. aegypti* no comportamento de “oviposição em saltos” foi realizada com indivíduos da geração F₃ e F₄ da colônia recém-estabelecida, entre dezembro de 2011 e março de 2012. As grávidas de *Ae. aegypti* foram submetidas a diferentes dietas durante o tempo em que permaneceram no insetário e durante os bioensaios em condições de semicampo (Tsunoda et al. 2010). Desse modo, para a realização de cada teste foram estabelecidas três gaiolas contendo oito fêmeas e 16 machos. Os machos colocados nestas gaiolas emergiram um dia antes das fêmeas. As fêmeas foram mantidas por seis dias no insetário, recebendo a dieta correspondente ao seu tratamento. Todas as fêmeas realizaram um repasto sanguíneo em alimentador artificial três dias antes do início dos testes. Fêmeas submetidas ao jejum receberam um repasto adicional, no dia seguinte ao primeiro repasto.

Os tratamentos avaliados foram:

1. **Água destilada e sangue:** Após a emergência dos adultos, as fêmeas de *Ae. aegypti* receberam apenas água destilada como alimento. O experimento teve início no terceiro dia após um repasto sanguíneo. A água destilada foi mantida durante os testes (N=15).
2. **Solução de sacarose e sangue:** As fêmeas tiveram a mesma alimentação da anterior, exceto que em vez de água foi oferecido solução de sacarose a 10% (N=15).
3. **Apenas sangue (jejum):** As fêmeas de *Ae. aegypti* foram mantidas em jejum e receberam apenas o repasto sanguíneo no terceiro e no quarto dia após a emergência (N=14).

Os criadouros foram armadilhas Ovitrapas (9,0 cm de diâmetro x 12,5 cm altura) contendo 400 mL de água de torneira e uma palheta de eucatex (10,0 x 3,0 cm). Foi utilizado o delineamento de quadrado latino (3 x 3) com 18 repetições, das quais apenas 14 ou 15 foram utilizadas nas análises.

II.3.3.2 Experimento 2: Influência das dimensões dos criadouros no comportamento de oviposição de grávidas de *Aedes aegypti*

O objetivo do teste foi comparar criadouros de diferentes dimensões (área de superfície e volume) com as Ovitrapas. Assim, os recipientes (pequenos, médios e grandes) avaliados foram de formato circular e constituídos de material plástico (polipropileno) preto. Nos tratamentos em que foram avaliados criadouros de tamanhos diferentes (pequenos, médios e grandes), os recipientes foram posicionados alternadamente com as Ovitrapas, conforme ilustrado na Figura 9. Para evitar uma possível influência das posições dos recipientes dentro da gaiola experimental, ora as Ovitrapas foram colocadas nas posições ímpares, ora nas posições pares (Fig. 9).

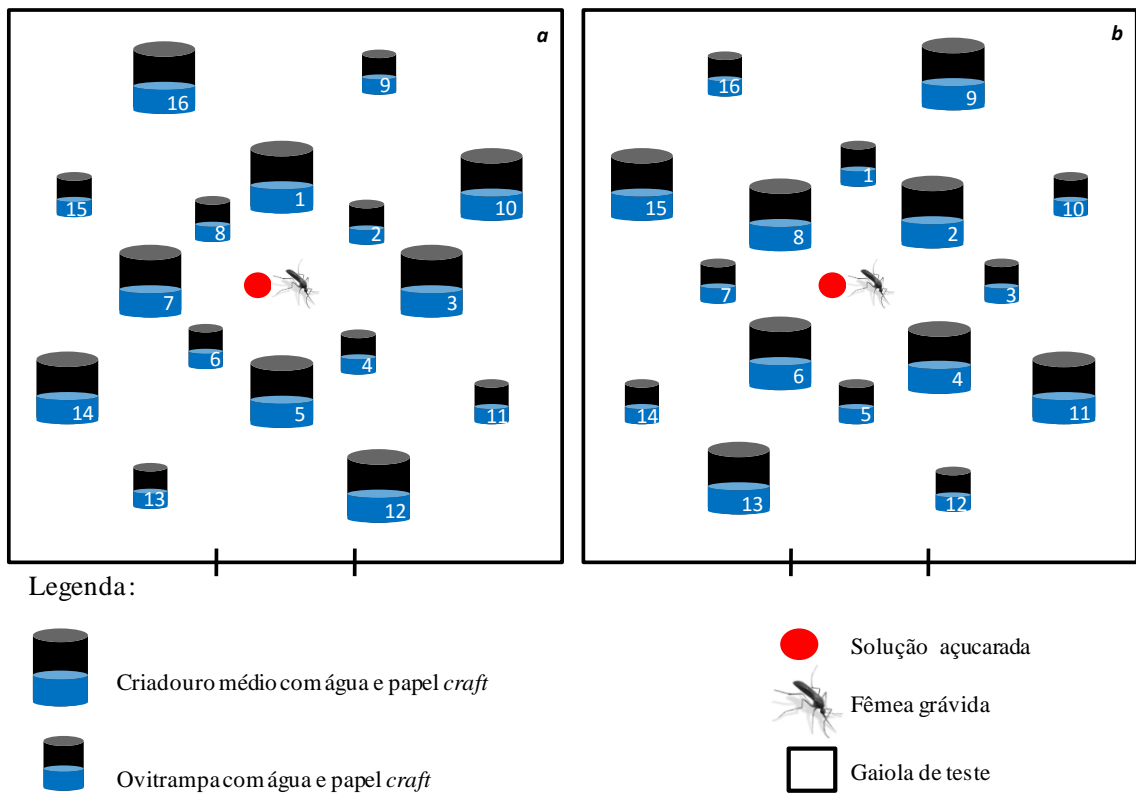


Figura 9. Disposição dos criadouros, Ovitrapas alternadas com criadouros médios, em dois círculos concêntricos dentro de uma gaiola da área de semicampo. a - Ovitrapas localizadas nas posições pares. b - Ovitrapas localizadas nas posições ímpares.

Cada recipiente foi preenchido água de torneira correspondente a 40% do seu volume total (modificado de Harrington et al. 2008), conforme elucidado no Quadro 1. Os criadouros tiveram suas paredes internas revestidas com papel *craft* de coloração marrom, similar à da palheta de madeira (Ellis 2008, Harrington et al. 2008, Reiskind & Zarrabi 2012), conforme Figura 10.

Quadro 1. Dimensões, capacidade total, capacidade utilizada e área de superfície dos recipientes avaliados como criadouros nos bioensaios em condições de semicampo.

<i>Recipiente</i>	<i>Dimensões</i> (diam. x alt. – cm)	<i>Capacidade</i> <i>total (mL)</i>	<i>Capacidade</i> <i>utilizada (mL)</i>	<i>Área de</i> <i>Superfície (cm²)</i>
<i>Pequeno</i>	6,5 x 9,0	200	80	33,17
<i>Ovitampa</i>	9,0 x 12,5	1000	400	63,59
<i>Médio</i>	20,5 x 20,0	5000	2000	329,90
<i>Grande</i>	28,0 x 26,0	14000	5600	615,44



Figura 10. Criadouros: (a) grande; (b) médio, (c) Ovitampa e (d) e pequeno que foram utilizados nos bioensaios, com as paredes internas revestidas com papel *craft* marrom.

A avaliação das dimensões dos criadouros na “oviposição em saltos” do *Ae. aegypti* foi conduzida em oito gaiolas do semicampo durante março à maio de 2012. Foram avaliadas fêmeas da geração F₄ da colônia recém-estabelecida. Utilizou-se o delineamento experimental de quadrado latino (4 x 4) com 20 repetições, das quais apenas 13 ou 14 foram consideradas nas análises. Os tratamentos avaliados foram:

1. 16 criadouros do tipo *Ovitampa* (N=13).
2. 16 criadouros, sendo oito *Ovitampas* e oito recipientes *Pequenos* (N=14).
3. 16 criadouros, sendo oito *Ovitampas* e oito recipientes *Médios* (N=14).
4. 16 criadouros, sendo oito *Ovitampas* e oito recipientes *Grandes* (N=14).

II.3.3.3 Experimento 3: Influência da presença de anteparo nas proximidades do criadouro no comportamento de oviposição de *Aedes aegypti*

Os resultados obtidos nos experimentos anteriores indicaram a tendência de fêmeas de *Ae. aegypti* utilizarem maior quantidade de criadouros do círculo externo para depositarem seus ovos e como “criadouro predileto”. Assim, criou-se a hipótese de que elas depositaram os ovos nestes locais porque estavam mais próximos dos únicos anteparos disponíveis para pouso ou descanso que eram as paredes das gaiolas de teste. Para avaliar a hipótese foram criadas “paredes” de pano próximas às armadilhas do círculo interno. Dois pedaços de tecido (1,20 m de altura e 1,50 m de comprimento) foram organizados formando um “X”, conforme ilustrado nas Figuras 11 e 12. Desta forma, todas as armadilhas do círculo interno ficaram próximas de um anteparo, assim como as armadilhas do círculo externo.



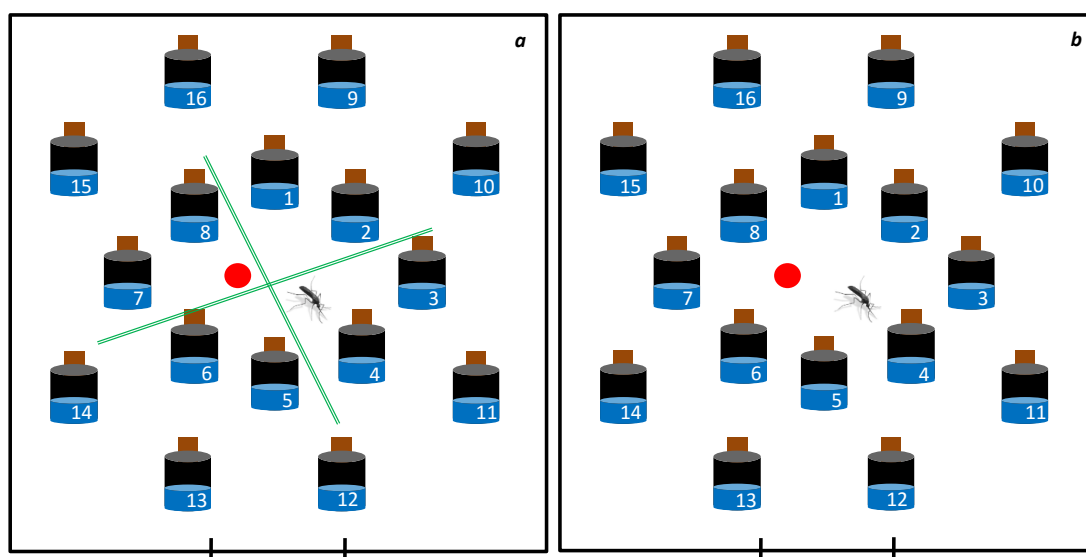
Figura 11. Distribuição das armadilhas do círculo interno e do círculo externo com anteparo de tecido em “X”.

Em cada experimento foi liberada uma única grávida de *Ae. aegypti* (F₆). O pote contendo o inseto foi pendurado no centro da gaiola de maneira que a sua liberação ocorresse no centro da gaiola, como nos testes anteriores. Os bioensaios foram realizados de setembro a

outubro de 2012, com delineamento inteiramente casualizado. Foram realizadas 18 repetições para cada tratamento, das quais 14 ou 17 foram utilizadas nas análises.

Foram comparados dois tratamentos, ilustrados na Figura 12:

1. **Ausência de anteparo no círculo interno:** foram dispostos 16 criadouros do tipo Ovitampa em dois círculos concêntricos sem anteparo no círculo interno (N=17) (Fig. 12b)
2. **Presença do anteparo no círculo interno:** semelhante ao tratamento anterior, porém com a presença de anteparo no círculo interno (N=14) (Fig. 12a e Fig. 11).



Legenda:



Figura 12. Disposição dos criadouros do tipo Ovitampa em dois círculos concêntricos dentro da gaiola da área de semicampo. a - presença de anteparo no círculo interno. b - ausência de anteparo no círculo interno.

II.3.4 Análises estatísticas

Na avaliação de (1) *dietas não sanguíneas* no comportamento de oviposição de *Ae. Aegypti* em condições de semicampo as variáveis respostas (a) número médio de ovos

depositados e (b) número de criadouros colonizados foram avaliadas em função da variável explicativa tratamento (dieta). Estes dados foram analisados através de Modelos Lineares Generalizados (MLG), com distribuição normal. Os modelos foram por ANOVA seguida do teste F, ambos com 5 % de significância. Por outro lado, a variável resposta (c) percentual de ovos no criadouro predileto foi avaliada em função da variável explicativa tratamento (dieta). Já a variável resposta (d) percentual de ovos depositados foi avaliada em função da variável explicativa local de deposição de ovos no criadouro (água x palheta). E a variável resposta (e) percentual de ovos total no criadouro foi avaliada em função da variável explicativa posição do criadouro (círculo interno x círculo externo). Estes dados foram analisados através de MLG, com variável resposta com distribuição de erro quasibinomial. Os modelos foram comparados através de ANOVA seguida do teste Qui Quadrado, ambos com 5 % de significância.

Já na avaliação das (2) **dimensões dos criadouros**, as variáveis respostas (a) número médio de ovos depositados e (b) número de criadouros colonizados foram avaliadas em função da variável explicativa tratamento (4 situações simuladas em semicampo com criadouros diferentes). Estes dados foram analisados através de MLG, com distribuição normal. Os modelos foram comparados por ANOVA seguida do teste F, ambos com 5 % de significância. A variável resposta (c) percentual de ovos no criadouro predileto foi avaliada em função da variável explicativa tratamento (4 situações simuladas em semicampo com criadouros de diferentes dimensões). Já as variáveis resposta (d) percentual de criadouros colonizados, (e) percentual de ovos depositados e (f) percentual de ovos no criadouro predileto foram avaliadas em função do tipo e criadouro disponível (pequeno, Ovitampa, médio ou grande). O (g) percentual de ovos depositados foi avaliado em função da variável explicativa local de deposição de ovos (água x palheta). A variável resposta (h) percentual total de ovos em cada tipo de criadouro foi avaliada em função da variável explicativa posição do criadouro (círculo interno x círculo externo). Estes dados foram analisados através de MLG, com variável resposta com distribuição de erro quasibinomial. Os modelos foram comparados por ANOVA seguida do teste Qui Quadrado, ambos com 5 % de significância.

Na avaliação da (3) **presença de anteparos na proximidade dos criadouros** no comportamento de oviposição de *Ae. Aegypti*, as variáveis respostas (a) número de ovos depositados e (b) número de criadouros colonizados foram avaliadas em função da variável explicativa tratamento (presença ou não de anteparo). Estes dados foram analisados através de MLG, com distribuição normal. Os modelos foram comparados por ANOVA seguida do teste F, ambos com 5 % de significância. Por outro lado, a variável resposta (c) percentual de ovos

no criadouro predileto foi avaliada em função da variável explicativa tratamento (presença ou não de anteparo). Já a variável resposta (d) percentual de ovos depositados foi avaliada em função da variável explicativa local de deposição de ovos no criadouro (água x palheta). E a a variável resposta (e) percentual de ovos total no criadouro foi avaliada em função da variável explicativa posição do criadouro (círculo interno x círculo externo). Estes dados foram analisados através de MLG, com variável resposta com distribuição de erro quasibinomial. Os modelos foram comparados através de análises de contraste ANOVA seguida do teste Qui quadrado, ambos com 5 % de significância.

A determinação do criadouro predileto foi realizada a partir da análise de *outlier*, método de diferenciação de escores (<http://www.graphpad.com/quickcalcs/Grubbs1.cfm>). Foram comparados os percentuais de ovos depositados em cada um dos 16 criadouros disponíveis. Esta análise foi realizada para os resultados obtidos em todos os experimentos (dieta, dimensões do criadouro e presença de anteparo).

Os percentuais de criadouros prediletos localizados nos círculos internos ou externos foram comparados pelo teste Qui Quadrado com 5% de significância para todos os experimentos deste capítulo (dieta, dimensões do criadouro e presença de anteparo).

Dados referentes às fêmeas que não depositaram ovos foram retirados das análises. Fêmeas que depositaram ovos num criadouro único foram desconsideradas apenas das análises envolvendo o comportamento de “oviposição em saltos”.

O programa R (<http://www.R-project.org>) versão 3.0 foi utilizado para a realização de análises estatísticas. O programa GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Software, San Diego California, EUA) (5.0) para a produção de gráficos.

II.4 RESULTADOS

II.4.1 Experimento 1: Influência do estado nutricional de fêmeas de *Aedes aegypti* no seu comportamento de oviposição

Para avaliar o efeito de diferentes dietas no comportamento de oviposição de *Ae. aegypti* foram avaliadas individualmente 54 fêmeas. Entre elas apenas 44 depositaram ovos e foram consideradas nas análises. Foi depositado o total de 3.677 ovos, sendo o número médio (\pm EP) de ovos / fêmea igual a 83,6 (\pm 6,07). O total de ovos depositados pelas 15 fêmeas submetidas à dieta de “água + sangue” e à dieta de “solução de sacarose + sangue” foi de 1.181 ovos,

enquanto as 14 fêmeas que receberam a dieta de “jejum + sangue” depositaram o total de 1.315 ovos. O número de ovos depositados não diferiu significativamente entre fêmeas de *Ae. aegypti* submetidas às diferentes dietas (MLG; df = 69791,000; F = 0,669; p = 0,518), conforme Tabela 8.

Tabela 8. Número total de ovos depositados por tratamento, números máximos e mínimos de ovos depositados por cada fêmea e número médio de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* submetidas a diferentes dietas e avaliadas em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre valores da mesma coluna – MLG, p < 0,05.

<i>Tratamento (N)</i>	<i>Total de Ovos</i>	<i>Número de ovos depositados/♀</i>		<i>Numero médio de ovos / ♀ (±EP) a</i>
		<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	
<i>Água + sangue (15)</i>	1.181	37	140	78,7 (± 7,97) a
<i>Solução de sacarose + sangue (15)</i>	1.181	24	149	78,7 (± 9,90) a
<i>Jejum + sangue (14)</i>	1.315	26	179	93,3 (± 13,60) a

Com relação ao comportamento de “oviposição em saltos”, todas as fêmeas submetidas à dieta de “água + sangue” e “jejum + sangue” utilizaram pelo menos dois dos 16 criadouros disponíveis. Entre as fêmeas expostas à dieta de “solução de sacarose + sangue”, verificou-se que duas grávidas (13,3 %) apresentaram o comportamento de escolha de um criadouro único (CUN) para a deposição de ovos, enquanto as demais (87,7 %) apresentaram a “oviposição em saltos”. Verificou-se a tendência de as fêmeas espalharem os ovos entre os criadouros disponíveis em todos os tratamentos e, mesmo com a disponibilidade de 16 criadouros, o maior número de criadouros colonizados por grávidas de *Ae. aegypti* foi 10, conforme a Figura 13.

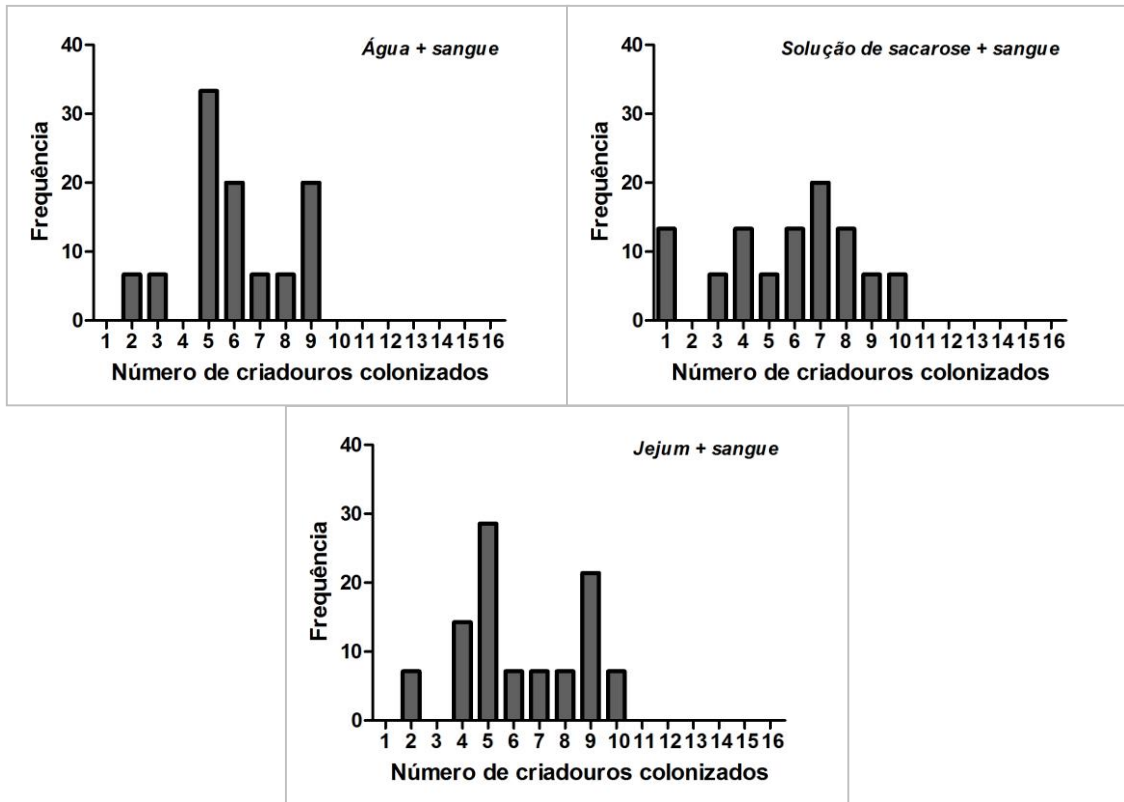


Figura 13. Frequência (%) do número de criadouros utilizados para deposição dos ovos por fêmeas de *Aedes aegypti* submetidas a diferentes dietas e avaliadas em condições de semicampo.

O número de criadouros colonizados não diferiu significativamente entre fêmeas de *Ae. aegypti* que receberam as diferentes dietas (MLG; $df = 189,620$; $F = 0,159$; $p = 0,854$). As grávidas expostas às dietas “água + sangue”, “solução de sacarose + sangue” e “jejum + sangue” utilizaram, respectivamente, $6,4 \pm 0,54$; $6,5 \pm 0,57$ e $6,3 \pm 0,64$ criadouros para a deposição de ovos, conforme Figura 14.

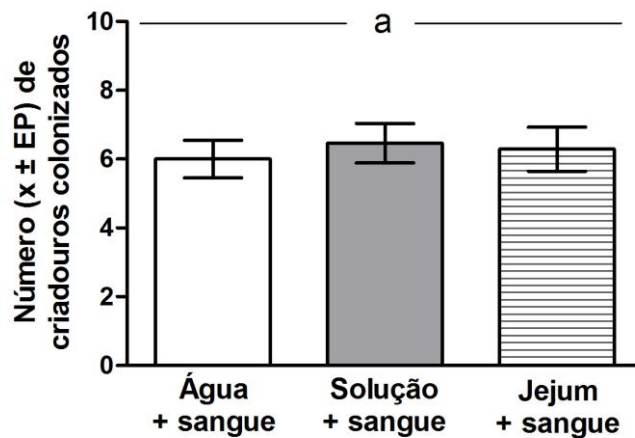


Figura 14. Número médio (\pm EP) de criadouros colonizados por fêmeas de *Aedes aegypti* submetidas a diferentes dietas e avaliadas em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa - MLG, $p < 0.05$.

Observou-se que as fêmeas apresentaram um padrão semelhante de distribuição de ovos entre os criadouros avaliados, independente da dieta a que foram submetidas. A maioria dos recipientes disponíveis (cerca de 60%) não foi utilizada para a oviposição. Entre os criadouros que receberam ovos, cerca de 30% receberam entre um e 11 ovos, enquanto cerca de 10% deles continham entre 12 e 30 ovos. Menos de 5% dos criadouros receberam acima de 30 ovos (Fig. 15).

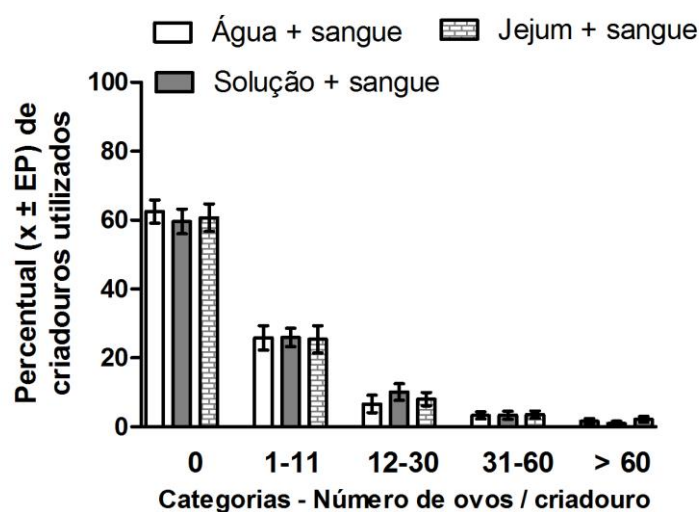


Figura 15. Percentual médio de criadouros colonizados para cada categoria de ovos na avaliação de fêmeas de *Aedes aegypti* submetidas a diferentes dietas e testadas em condições de semicampo.

Apesar de a maioria dos criadouros positivos ter recebido entre um e onze ovos, observou-se que, em cada repetição, um dos criadouros recebeu a maior parte dos ovos depositados por cada fêmea, ou seja, foi preferido em relação aos demais criadouros. Abreu (2010) determinou a existência do “criadouro predileto” devido a este padrão não homogêneo de distribuição de ovos. O conceito de “criadouro predileto” foi aprimorado no presente trabalho, sendo considerado como: *“aquele que recebeu o maior percentual de ovos entre os criadouros avaliados, em cada tratamento e em cada repetição. E, além disso, recebeu um percentual de ovos significativamente maior que os demais, sendo considerado um outlier”*. O *outlier* também é conhecido como ponto extremo, sendo uma observação numericamente distante do resto dos dados (Triola 2006).

O conceito de “criadouro predileto” só se aplica a fêmeas que realizaram a “oviposição em saltos”. Assim, grávidas que apresentaram o comportamento de deposição de ovos em criadouro único (CUN) foram desconsideradas destas análises. Os resultados da verificação de existência de um “criadouro predileto” a partir da observação de *outlier* foram expostos nas tabelas 9, 10 e 11.

Tabela 9. Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de *Aedes aegypti* submetidas à dieta de “água + sangue” e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de *outlier*, $p < 0,05$.

<i>Percentual de ovos / criadouro / ♀ avaliada classificado do menor para o maior valor</i>														
♀1	♀2	♀3	♀4	♀5	♀6	♀7	♀8	♀9	♀10	♀11	♀12	♀13	♀14	♀15
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	2,7	0,0
1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,4	0,0	0,0	0,0	1,5	2,7	0,0
2,0	5,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,1	0,0	0,0	0,0	3,1	5,4	0,0
3,0	7,7	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,9	0,0	1,3	2,5	4,6	10,8	0,0
6,9	10,3	4,5	1,2	1,3	4,3	2,2	0,0	10,5	0,0	1,3	5,0	6,2	10,8	0,9
13,9	12,8	6,0	2,4	1,3	6,4	5,6	0,0	14,5	0,0	2,6	5,0	10,8	13,5	2,8
21,8	15,4	6,0	4,7	2,6	10,7	7,9	2,0	16,1	0,0	2,6	17,5	12,3	13,5	9,3
21,8	17,9	10,4	42,4	27,3	12,1	11,2	2,0	17,7	34,1	5,3	32,5	15,4	18,9	29,0
28,7	30,8*	70,1*	49,4*	67,5*	66,4*	73,0*	95,9*	20,2	65,9*	86,8*	37,5	46,2*	21,6	57,9*
SCP	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>

Tabela 10. Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de *Aedes aegypti* submetidas à dieta de “sacarose a 10% + sangue” e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de *outlier*, $p < 0,05$.

<i>Percentual de ovos / criadouro / ♀ avaliada classificado do menor para o maior valor</i>														
♀1	♀2	♀3	♀4	♀5	♀6	♀7	♀8	♀9	♀10	♀11	♀12	♀13	♀14	♀15
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	2,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	1,9	0,0	0,0	0,0	1,8	2,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	0,0
0,0	0,0	2,9	0,0	1,0	1,6	3,7	3,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	1,3
0,0	0,0	2,9	4,1	2,0	7,2	4,6	5,1	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	4,3	2,7
0,0	0,0	4,9	4,1	3,0	13,6	8,3	5,1	0,0	0,0	0,0	9,2	4,1	4,3	2,7
0,0	2,0	8,7	4,1	3,0	14,4	11,0	5,9	0,0	20,5	0,0	12,3	5,4	5,4	3,4
0,0	2,0	13,6	6,1	21,8	20,0	12,8	5,9	8,3	23,1	0,0	15,4	8,1	18,5	10,1
0,0	15,7	26,2	10,2	30,7	20,0	21,1	13,6	8,3	23,1	0,0	15,4	17,6	31,5	12,8
<u>100,0</u>	<u>80,4*</u>	<u>38,8*</u>	<u>71,4*</u>	<u>38,6</u>	23,2	<u>33,0*</u>	<u>55,9*</u>	<u>83,3*</u>	33,3	<u>100,0</u>	<u>46,2*</u>	<u>64,9*</u>	32,6	<u>67,1*</u>
<u>CUN</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	<u>CUN</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>

Tabela 11. Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de *Aedes aegypti* submetidas à dieta de “jejum + sangue” e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de *outlier*, $p < 0,05$.

<i>Percentual de ovos / criadouro / ♀ avaliada classificado do menor para o maior valor</i>													
♀1	♀2	♀3	♀4	♀5	♀6	♀7	♀8	♀9	♀10	♀11	♀12	♀13	♀14
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	1,7	1,1	0,0	1,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	2,5	1,1	0,0	2,0	1,1	0,0	0,0	2,2	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	2,5	1,7	0,0	3,0	2,8	0,0	1,3	4,3	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	1,3	3,3	2,8	0,0	7,1	3,4	0,0	1,3	13,0	0,0	0,0	0,0
4,3	0,0	2,5	4,2	6,1	0,0	10,1	9,1	0,0	2,5	13,0	1,7	1,4	1,8
6,4	0,0	2,5	8,3	8,9	1,9	11,1	10,2	1,2	3,8	15,2	8,5	1,4	1,8
12,8	0,0	13,9	9,2	11,7	11,7	14,1	13,1	13,3	11,4	15,2	18,6	12,3	8,9
23,4	11,5	19,0	12,5	27,9	22,3	23,2	19,3	29,5	12,7	17,4	35,6	42,5	14,3
<u>53,2*</u>	<u>88,5*</u>	<u>60,8*</u>	<u>55,8*</u>	<u>38,0*</u>	<u>64,1*</u>	28,3	<u>40,3*</u>	<u>56,1*</u>	<u>67,1*</u>	19,6	35,6	42,5	<u>73,2*</u>
<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	SCP	SCP	<u>CP</u>

Nos testes, todas as 15 fêmeas que se alimentaram com “água + sangue” realizaram a “oviposição em saltos”. Destas, 11 (73,3 %) grávidas apresentaram a escolha do “criadouro predileto”, enquanto quatro (26,7 %) depositaram seus ovos de forma homogênea entre os criadouros disponíveis (sem o “criadouro predileto” - SCP), conforme a Tabela 9. Entre as 15 fêmeas que se alimentaram com “solução de sacarose + sangue”, verificou-se que duas grávidas (13,3 %) apresentaram o comportamento de escolha de um criadouro único (CUN) para a deposição de ovos. Entre as 13 fêmeas que apresentaram a “oviposição em saltos”, três (23,1 %) depositaram seus ovos de forma homogênea entre os criadouros disponíveis, enquanto dez (76,9 %) apresentaram a escolha de um criadouro como “predileto” (Tab. 10). Todas as 14 fêmeas submetidas a jejum e posteriormente ao repasto sanguíneo realizaram a “oviposição em saltos”. Dez (71,4 %) delas escolheram um criadouro como “predileto”, enquanto quatro (28,6 %) espalharam seus ovos de forma homogênea entre os criadouros disponíveis (Tab. 11).

Entre as fêmeas que apresentaram “criadouro predileto”, notou-se que o percentual de ovos depositados no “criadouro predileto” não diferiu significativamente entre os tratamentos avaliados (MLG; df = 0,856; $X^2 = 0,025$; p = 0,660). Além disso, os percentuais mínimos e máximos de ovos depositados no “criadouro predileto” por fêmeas submetidas às diferentes dietas foram semelhantes entre os tratamentos (Tab. 12).

Tabela 12. Percentual médio de ovos depositados no “criadouro predileto” e percentuais mínimos e máximos de ovos colocados no “criadouro predileto” em cada um dos tratamentos avaliados em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre valores da mesma coluna - MLG, p < 0.05.

<i>Tratamento (N)</i>	<i>% de ovos no criadouro predileto (x ± EP)</i>	<i>% de ovos depositados/♀</i>	
		<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
<i>Água + sangue (15)</i>	64,6 (± 5,52) a	30,8	95,9
<i>Sacarose + sangue (15)</i>	58,0 (± 5,74) a	33,0	83,3
<i>Jejum + sangue (14)</i>	59,7 (± 4,72) a	38,0	88,5

Com relação ao local de deposição dos ovos, verificou-se que os percentuais de ovos depositados diretamente na água foram maiores do que na palheta. No entanto, quando as fêmeas foram expostas à dieta de “água + sangue” (MLG; df = 19,776; $X^2 = -0,671$; p = 0,266) e “solução + sangue” (MLG; df = 19,301; $X^2 = -1,228$; p = 0,151), esta observação não foi significativamente diferente. Por outro lado, fêmeas expostas à “jejum + sangue” depositaram significativamente maior percentual de ovos na água do que na palheta (MLG; df = 14,923; $X^2 = -4,393$; p < 0,001), conforme a Figura 16.

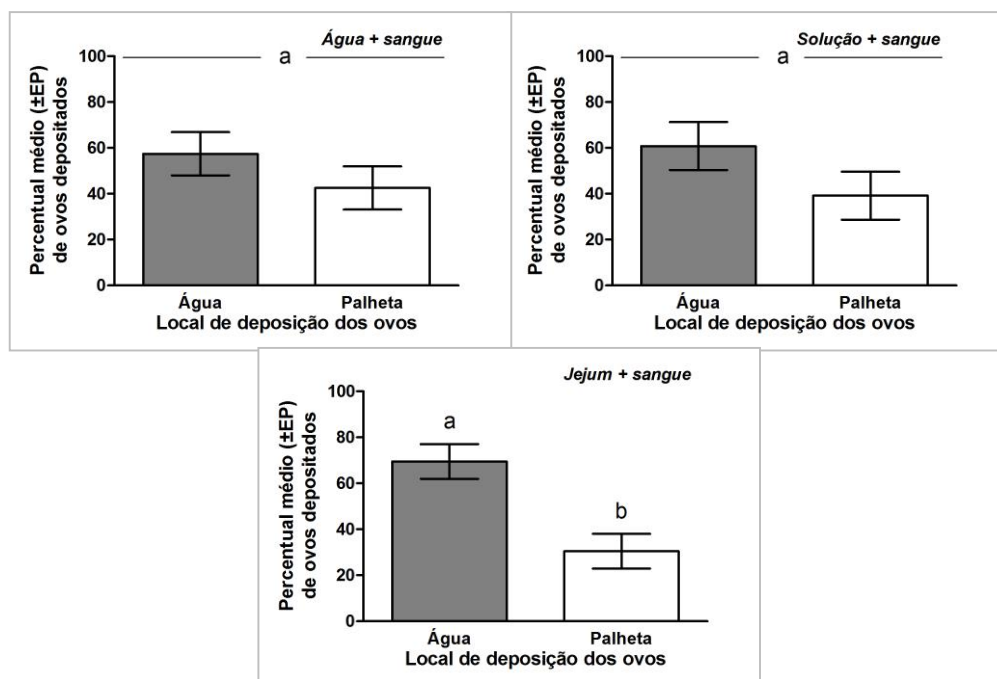


Figura 16. Percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* na água e na palheta dos criadouros, em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa entre o percentual de ovos na água e na palheta em cada tratamento - MLG, $p < 0.05$.

Verificou-se, em todos os tratamentos, uma tendência de as armadilhas localizadas nos círculos externos receberem um maior número de ovos do que as armadilhas localizadas nos círculos internos. Assim, os dados (percentual de ovos) referentes às armadilhas localizadas nos círculos internos foram agrupados e comparados com os percentuais de ovos depositados nas armadilhas dos círculos externos, para uma análise de local de preferência de oviposição. Notou-se que em todos os tratamentos houve uma maior deposição de ovos no círculo externo em relação ao círculo interno (MLG, $p < 0,05$, Fig. 17).

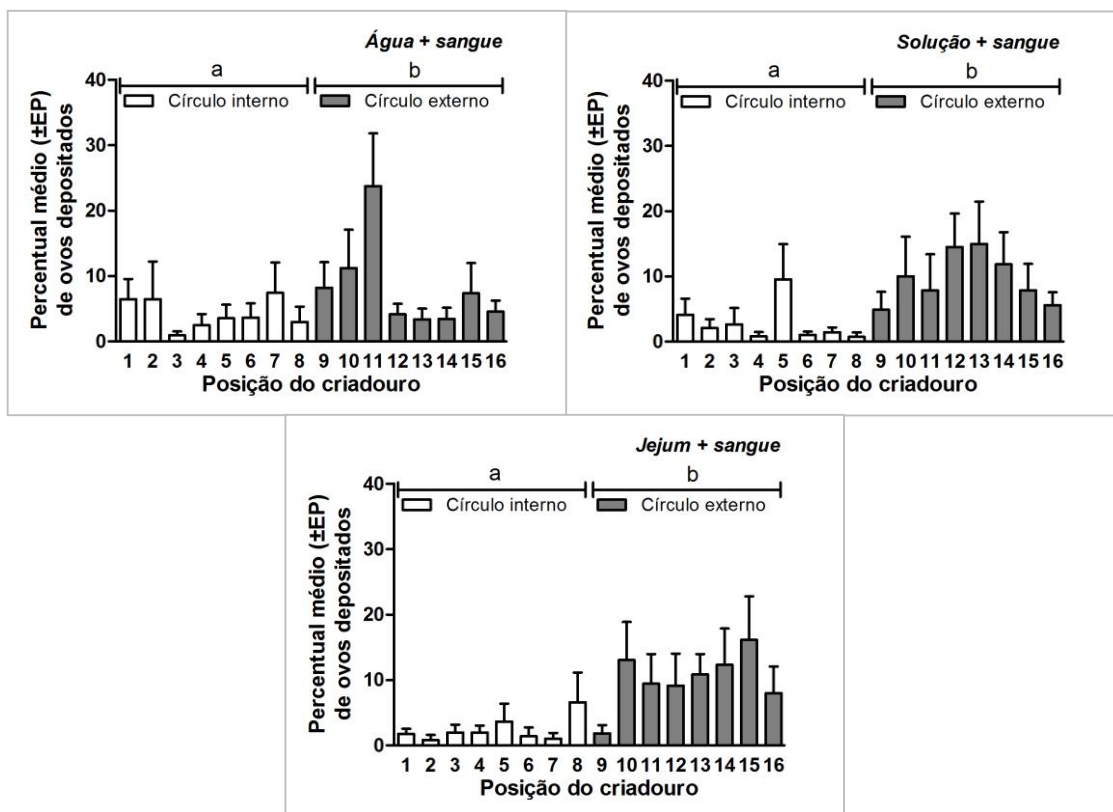


Figura 17. Percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* em cada uma das posições avaliadas nas gaiolas do semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre o número de ovos depositados nas armadilhas do círculo interno e externo - MLG, $p < 0.05$.

No tratamento “água + sangue” o percentual de ovos depositado no círculo interno foi significativamente menor do que no externo (MLG; $df = 55,334$; $X^2 = -1,683$; $p = 0.036$). Enquanto o percentual médio de ovos nas oito armadilhas do círculo interno foi de $4,2 \pm 1,12$ %, a média de ovos nas armadilhas do círculo externo foi de $8,3 \pm 1,58$ %. No tratamento “água + solução de sacarose” o percentual de ovos depositados no círculo interno também foi significativamente menor do que no círculo externo (MLG; $df = 58,395$; $X^2 = -3,810$; $p = 0.003$). As armadilhas do círculo interno receberam uma média percentual de $2,8 \pm 0,86$ % ovos e as do círculo externo $9,7 \pm 1,70$ % ovos. No tratamento em que as fêmeas foram alimentadas apenas com sangue observou-se que as armadilhas localizadas no círculo interno receberam $2,4 \pm 0,73$ % de ovos enquanto as do círculo externo receberam $10,1 \pm 1,67$ % de ovos. Estes resultados foram significativamente diferentes (MLG; $df = 48,132$; $X^2 = -6,077$; $p < 0,005$).

Ainda considerando a localização dos criadouros em círculos internos ou externos verificou-se que a maioria dos criadouros escolhidos como “prediletos” estava localizada no

círculo externo, independente da dieta a que as fêmeas de *Ae. aegypti* foram submetidas (Qui Quadrado; $p < 0,05$), conforme a Tabela 13.

Tabela 13. Localização do “criadouro predileto” escolhido por fêmeas de *Aedes aegypti* agrupados em círculo interno (posições de 1 a 8) ou externo (posições de 9 a 16). Letras diferentes indicam diferença significativa entre círculo interno e externo em cada tratamento - Qui quadrado, $p < 0.05$.

Localização do “criadouro predileto”	Número de fêmeas (frequência observada)		
	Água + sangue (N=15)	Solução + sangue (N=15)	Jejum + sangue (N=14)
Círculo interno	3 (27,3 %) a	1 (10,0 %) a	2 (20,0%) a
Círculo externo	8 (72,2 %) b	9 (90,0 %) b	8 (80,0%) b
Total de “criadouros prediletos”	11	10	10

II.4.2 Experimento 2: Influência das dimensões dos criadouros no comportamento de oviposição de *Aedes aegypti*

Entre as 80 fêmeas de *Ae. aegypti* individualmente avaliadas, apenas 55 depositaram ovos e foram consideradas nas análises. Estas depositaram o total de 4.497 ovos, sendo a média de $81,8 \pm 0,58$ ovos / fêmea. Notou-se uma variação entre os números máximos e mínimos de ovos depositados por cada fêmea, independente do tratamento. Apesar desta variação, o número médio de ovos depositados por fêmea não diferiu significativamente entre os tratamentos avaliados (MLG; $df = 55782,000$; $F = 0,995$; $p = 0,403$), conforme a Tabela 14.

Tabela 14. Número total de ovos depositados, números mínimos e máximos de ovos depositados por cada fêmea e número médio de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* em cada um dos tratamentos avaliados em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre valores da mesma coluna - MLG, $p < 0,05$.

<i>Tratamento (N)</i>	<i>Total de Ovos</i>	<i>Número de ovos depositados/♀</i>		<i>Numero médio de ovos / ♀(±EP)</i>
		<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	
<i>Ovitrapas (13)</i>	888	45	107	68,3 (± 5,23) a
<i>Recipiente pequeno + Ovitrapa (14)</i>	1.198	27	136	85,6 (± 8,63) a
<i>Recipiente médio + Ovitrapa (14)</i>	1.205	32	201	86,1 (± 11,27) a
<i>Recipiente grande + Ovitrapa (14)</i>	1.206	24	126	86,1 (± 8,04) a

Verificou-se uma tendência de as fêmeas espalharem seus ovos entre os criadouros disponíveis, indicando a existência da “oviposição em saltos”. Todas as fêmeas (100 %) expostas aos tratamentos “Ovitrapa”, “Recipiente pequeno x Ovitrapa” e “Recipiente médio x Ovitrapa” depositaram ovos em dois ou mais criadouros, caracterizando a “oviposição em saltos”. Apenas uma fêmea (7.1%) exposta ao tratamento “Recipiente grande x Ovitrapa” depositou seus ovos num único criadouro (CUN), enquanto as outras 13 grávidas (92.9%) realizaram a “oviposição em saltos”. Embora tenham sido disponibilizados 16 locais para a oviposição, verificou-se que o maior número de criadouros colonizados foi 11, nos tratamentos “Ovitrapa” e “Recipiente grande x Ovitrapa”, ou 12, nos tratamentos “Recipiente pequeno x Ovitrapa” e “Recipiente médio x Ovitrapa”, conforme a Figura 18.

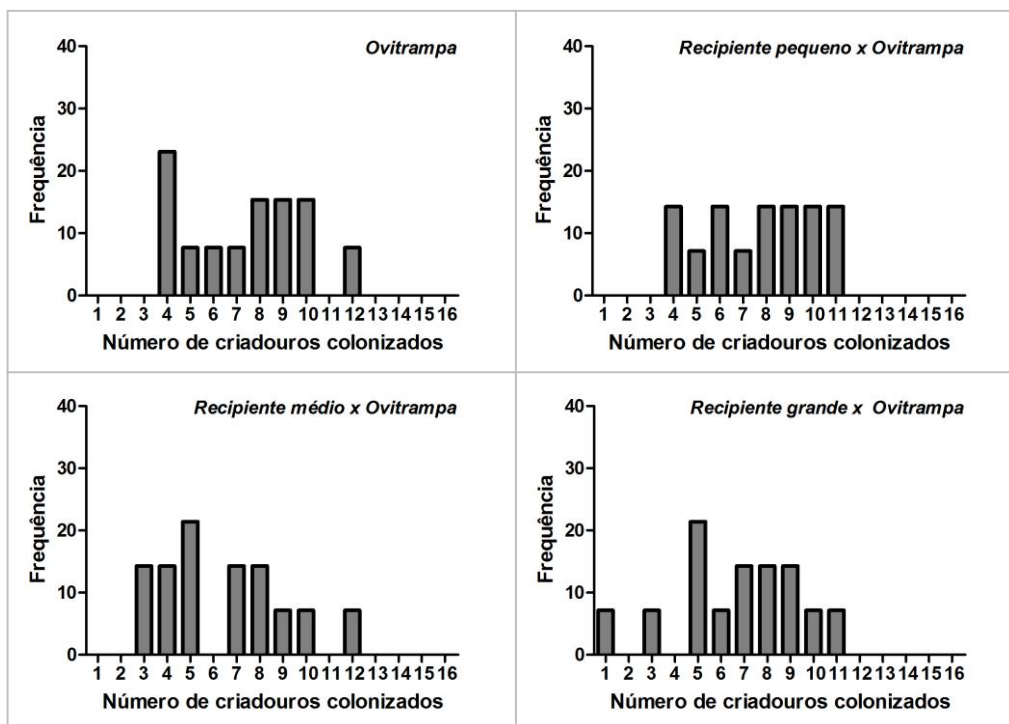


Figura 18. Frequência (%) do número de criadouros utilizados para deposição dos ovos por fêmeas de *Aedes aegypti* expostas a cada tratamento, em condições de semicampo.

O número médio de criadouros colonizados por fêmeas de *Ae. aegypti* expostas a criadouros de diferentes dimensões não diferiu significativamente entre as grávidas avaliadas (MLG; $df = 367,350$; $F = 0,626$; $p = 0,601$), conforme Figura 19.

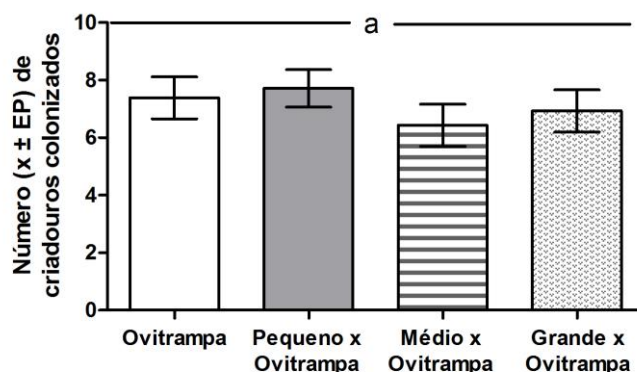


Figura 19: Número médio (\pm EP) de criadouros colonizados por fêmeas de *Aedes aegypti* expostas a criadouros de diferentes dimensões em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$.

Quando os criadouros foram categorizados em função do número de ovos que receberam, notou-se novamente que a maioria dos criadouros disponíveis (cerca de 55 %) não recebeu ovos, independente do tratamento avaliado. Entre os criadouros que receberam ovos, a maioria recebeu entre um e onze ovos. Observou-se que o percentual de criadouros colonizados nas categorias “0 ovos”, “1-11 ovos”, “12-30 ovos”, “31-60 ovos” e “mais do que 60 ovos” foi semelhante entre os tratamentos, conforme a Figura 20.

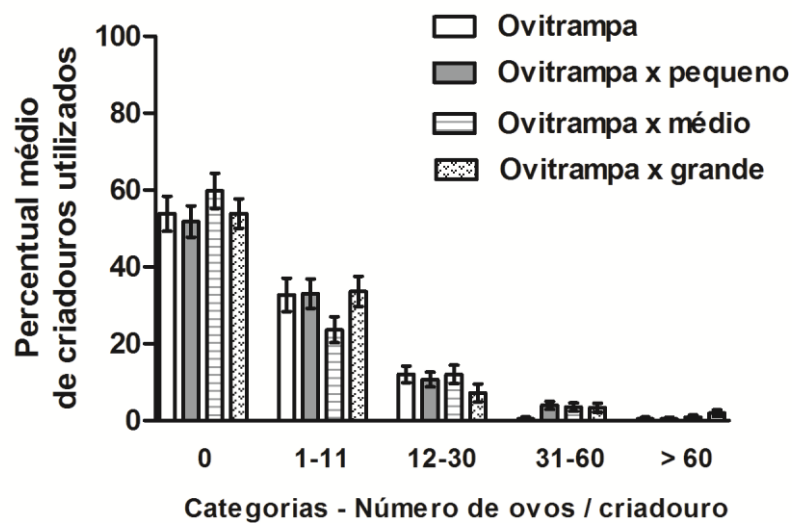


Figura 20. Percentual médio (\pm EP) de criadouros colonizados para cada categoria de ovos na avaliação de fêmeas de *Aedes aegypti* expostas a criadouros de diferentes dimensões em condições de semicampo.

Como foram comparados criadouros de diferentes dimensões (pequeno, médio e grande) em relação à Ovitampa, tentou-se entender como ocorreu distribuição de ovos entre estes criadouros de diferentes tamanhos e as Ovitampas. Uma vez que a maioria dos criadouros não foi utilizada (Fig. 21), buscou-se compreender se houve uma preferência das fêmeas pelos criadouros maiores em detrimento dos menores para a deposição dos seus ovos. Ao avaliar o percentual de criadouros colonizados do tipo Ovitampa ou do tipo diferente (pequeno, médio ou grande), notou-se que, independente de suas dimensões, ambos foram utilizados com frequências significativamente iguais em cada tratamento (MLG; $p < 0,05$). Assim, apesar de muitos criadouros não serem colonizados (Fig. 21), não houve uma preferência de uso de um maior percentual de criadouros de maiores dimensões em detrimento dos menores (Tab. 15).

No entanto, o percentual de ovos depositados nos criadouros de diferentes dimensões foi diferente. Observou-se que o percentual de ovos colocados por fêmeas de *Ae. aegypti* nos criadouros pequenos ($27,6 \pm 5,62\%$) foi significativamente menor do que nas Ovitampas ($72,4 \pm 5,62$) (MLG; $df = 12,005$; $X^2 = -5,848$; $p < 0,001$). Em contrapartida, as fêmeas depositaram um percentual de ovos que não diferiu significativamente entre a Ovitampa e o recipiente médio (MLG; $df = 7,262$; $X^2 = -0,146$; $p = 0,431$) e entre a Ovitampa e o recipiente grande (MLG; $df = 9,019$; $X^2 = -0,391$; $p = 0,263$), conforme Tabela 15.

Tabela 15: Percentual médio (\pm EP) de criadouros colonizados e percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* expostas a 16 criadouros de diferentes dimensões em condições de semicampo Letras diferentes indicam diferença significativa entre tipos de criadouros em cada tratamento - MLG; $p < 0,05$.

<i>Tipo de criadouro / tratamento</i>	<i>% médio (\pm EP) de criadouros colonizados</i>	<i>% médio (\pm EP) de ovos depositados</i>
<i>Ovitampa</i>	$46,2 \pm 4,56$	100
<i>Ovitampa</i>	$53,6 \pm 5,47$ a	$72,4 \pm 5,62$ a
<i>Pequeno</i>	$42,9 \pm 5,52$ a	$27,6 \pm 5,62$ b
<i>Ovitampa</i>	$45,5 \pm 5,95$ a	$53,6 \pm 6,47$ a
<i>Médio</i>	$34,8 \pm 4,93$ a	$46,4 \pm 6,47$ a
<i>Ovitampa</i>	$50,0 \pm 5,84$ a	$43,9 \pm 7,40$ a
<i>Grande</i>	$42,3 \pm 4,37$ a	$56,1 \pm 7,40$ a

A determinação do “criadouro predileto” foi realizada a partir na análise de *outlier* e os resultados foram apresentados nas tabelas 16, 17, 18 e 19.

Tabela 16. Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de *Aedes aegypti* expostas a criadouros do tipo Ovitampa e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de *outlier*, $p < 0,05$.

<i>Percentual de ovos / criadouro / ♀ avaliada classificado do menor para o maior valor</i>												
♀1	♀2	♀3	♀4	♀5	♀6	♀7	♀8	♀9	♀10	♀11	♀12	♀13
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3
0,0	0,0	0,0	1,6	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3
0,0	0,0	0,0	4,8	0,9	0,0	1,6	0,0	0,0	2,8	0,0	0,0	1,3
0,0	0,0	3,4	4,8	1,9	0,0	3,2	0,0	0,0	2,8	1,0	0,0	3,9
6,2	0,0	3,4	4,8	4,7	0,0	3,2	0,0	0,0	4,2	3,1	0,0	3,9
6,2	2,1	5,2	6,3	4,7	0,0	6,3	0,0	0,0	5,6	7,2	0,0	6,6
7,7	4,3	10,3	9,5	10,3	0,0	7,9	0,0	2,2	6,9	11,3	0,0	6,6
12,3	6,4	12,1	11,1	14,0	11,6	9,5	13,3	8,9	8,3	13,4	1,2	6,6
15,4	12,8	13,8	15,9	19,6	27,5	11,1	17,8	15,6	16,7	15,5	1,2	6,6
16,9	25,5	24,1	17,5	21,5	29,0	20,6	20,0	22,2	22,2	18,6	1,2	15,8
<u>35,4*</u>	<u>48,9*</u>	27,6	23,8	21,5	31,9	<u>36,5*</u>	<u>48,9*</u>	<u>51,1*</u>	<u>30,6*</u>	<u>29,9*</u>	<u>96,3*</u>	<u>44,7*</u>
<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	SCP	SCP	SCP	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>

Tabela 17. Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de *Aedes aegypti* expostas a criadouros pequenos e Ovitampas e avaliadas individualmente em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de *outlier*, $p < 0,05$.

<i>Percentual de ovos / criadouro / ♀ avaliada classificado do menor para o maior valor</i>													
♀1	♀2	♀3	♀4	♀5	♀6	♀7	♀8	♀9	♀10	♀11	♀12	♀13	♀14
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	0,0	1,0
0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	4,4	0,7	0,0	0,0	0,0	1,1	3,2	0,0	1,0
1,7	0,0	0,9	0,0	0,0	6,6	1,5	2,0	0,0	0,0	3,4	3,2	0,0	2,1
3,4	0,0	2,8	0,0	2,0	8,8	4,4	3,0	0,0	0,0	3,4	4,3	0,0	3,1
5,1	0,9	3,7	0,0	2,0	8,8	6,6	5,0	0,0	0,0	4,6	5,4	1,0	5,2
5,1	7,5	4,6	0,0	4,0	8,8	8,1	5,9	9,8	0,0	4,6	6,5	1,0	8,3
6,8	17,8	4,6	2,3	4,0	8,8	14,0	14,9	12,2	3,7	11,5	6,5	6,1	11,5
12,0	19,6	5,5	6,8	16,0	12,1	17,6	14,9	14,6	3,7	17,2	7,5	12,1	12,5
17,9	22,4	36,7	9,1	34,0	18,7	21,3	14,9	19,5	37,0	24,1	10,8	15,2	13,5
<u>46,2*</u>	31,8	<u>41,3*</u>	<u>81,8*</u>	38,0	18,7	25,7	<u>39,6*</u>	<u>43,9</u>	<u>55,6*</u>	29,9	<u>51,6*</u>	<u>64,6*</u>	<u>40,6*</u>
<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	SCP	SCP	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>

Tabela 18. Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de *Aedes aegypti* expostas a criadouros médios e Ovitrapas e avaliadas individualmente em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de *outlier*, $p < 0,05$.

<i>Percentual de ovos / criadouro / ♀ avaliada classificado do menor para o maior valor</i>													
♀1	♀2	♀3	♀4	♀5	♀6	♀7	♀8	♀9	♀10	♀11	♀12	♀13	♀14
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	2,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,1	0,0	0,0
0,0	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,1	1,8	0,0
0,0	5,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	0,0	0,0	1,0	3,1	2,7	0,0
0,0	6,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	3,5	0,0	2,9	4,2	2,7	1,1
0,0	7,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	4,4	0,0	4,9	6,3	3,6	2,2
3,7	7,0	0,0	0,0	0,0	5,8	2,6	2,2	5,3	0,0	4,9	7,3	3,6	2,2
8,5	13,4	0,0	0,0	3,6	15,4	3,9	3,3	13,2	5,6	9,7	8,3	6,3	3,4
14,6	13,4	9,2	6,3	16,1	17,3	5,2	15,6	14,9	13,9	16,5	13,5	9,8	11,2
35,4	14,4	18,5	6,3	26,8	25,0	19,5	36,7	15,8	33,3	28,2	20,8	12,5	11,2
37,8	22,4	72,3*	87,5*	53,6*	36,5*	68,8*	38,9	43,0*	47,2*	32,0	30,2*	57,1*	68,5*
SCP	SCP	CP	CP	CP	CP	CP	SCP	CP	CP	SCP	CP	CP	CP

Tabela 19. Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados em cada um dos 16 criadouros por fêmeas de *Aedes aegypti* expostas a criadouros grandes e Ovitrapas e avaliadas individualmente em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de *outlier* $p < 0,05$.

<i>Percentual de ovos / criadouro / ♀ avaliada classificado do menor para o maior valor</i>													
♀1	♀2	♀3	♀4	♀5	♀6	♀7	♀8	♀9	♀10	♀11	♀12	♀13	♀14
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1,1	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2,2	0,0	0,0	2,6	1,6	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4,4	1,3	0,0	3,9	2,4	0,0	0,0	0,0	1,7	0,0	2,4	0,0	0,0	4,2
5,6	3,8	0,0	3,9	3,2	7,1	0,0	0,0	1,7	0,0	2,4	0,0	0,8	4,2
6,7	3,8	0,0	5,2	5,6	7,1	1,0	0,0	8,3	0,0	2,4	0,0	1,7	4,2
8,9	5,1	0,0	6,5	5,6	7,1	1,0	1,0	13,3	8,0	4,7	0,0	1,7	4,2
10,0	6,4	0,0	9,1	6,3	11,9	1,0	1,0	14,2	10,0	12,9	0,0	2,5	12,4
12,2	15,4	0,0	9,1	11,9	11,9	4,1	3,1	15,0	10,0	16,5	1,0	6,7	16,7
14,4	16,7	0,0	14,3	11,9	23,8	9,3	43,8	19,2	28,0	23,5	7,0	35,3	25,0
<u>34,4</u>	<u>47,4</u>	<u>100,0</u>	<u>42,9</u>	<u>51,6</u>	<u>31,0</u>	<u>83,5</u>	<u>51,0</u>	25,8	<u>44,0</u>	<u>35,3</u>	<u>92,0</u>	<u>51,3</u>	29,2
<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CUN</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP

Nos testes em que as fêmeas de *Ae. aegypti* realizaram a oviposição em “Ovitrapas” foram considerados 13 indivíduos nas análises. Entre elas 100% apresentaram a “oviposição em saltos”, sendo que nove (69,2%) fêmeas apresentaram a escolha de um “criadouro predileto” (CP) enquanto quatro (30,8%) fêmeas distribuíram seus ovos de maneira uniforme entre os criadouros colonizados (sem “criadouro predileto” - SCP), conforme a Tabela 16. Quando submetidas ao tratamento “Recipientes pequeno x Ovitrapas”, 14 fêmeas foram avaliadas e todas realizaram a “oviposição em saltos”. Entre elas, nove (64,3%) apresentaram a escolha de um “criadouro predileto”, enquanto cinco (35,7%) não evidenciaram essa escolha (Tab. 17). Nos bioensaios com “Recipientes médios x Ovitrapas” todas as 14 fêmeas avaliadas apresentaram a “oviposição em saltos”. Entre elas, quatro (28,6 %) fêmeas espalharam seus ovos de forma homogênea entre os criadouros disponíveis, enquanto 10 (71,4%) apresentaram a escolha de um “criadouro predileto” (Tab. 18). Já no tratamento “Recipientes grandes x

Ovitrampas” foram avaliadas 14 fêmeas, das quais 13 (92,9 %) apresentaram a “oviposição em saltos” e uma (7,1 %) fêmea apresentou a escolha de um “criadouro único”. Entre as 13 fêmeas que fizeram a “oviposição em saltos”, 11 (84,6 %) escolheram um dos criadouros como “predileto” enquanto as outras duas (15,4 %) não (Tab. 19).

Observou-se que entre as fêmeas que apresentaram o comportamento de escolha de “criadouro predileto”, houve uma tendência de as grávidas utilizarem os maiores criadouros disponíveis como o “criadouro predileto”. As fêmeas de *Ae. aegypti* optaram por utilizar Ovitrampas como “criadouro predileto”, quando estas foram comparadas com recipientes pequenos, ao mesmo tempo em que escolheram maior número de criadouros grandes como “predileto” em detrimento de Ovitrampas (Qui quadrado, $gl = 1$, $p < 0,05$). No entanto, não foi evidenciada a escolha de um dos tipos de criadouros disponíveis como “predileto” quando foram comparados recipientes médios e Ovitrampas (Tab. 20).

Tabela 20. Número de fêmeas (% de fêmeas) de *Aedes aegypti* que realizaram o comportamento de escolha do “criadouro predileto do tipo Ovitrapa ou o criadouro diferente (pequeno, médio ou grande) em experimentos de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os criadouros de cada tratamento - Qui Quadrado, $p < 0.05$.

<i>Tratamentos (N)</i>	<i>Tipo de criadouro</i>	<i>Número de fêmeas (% de fêmeas) que escolheram o “criadouro predileto”</i>
Ovitrapa x Pequeno (9)	Ovitrapa	8 (88,9 %) a
	Pequeno	1 (11,1 %) b
Ovitrapa x Médio (10)	Ovitrapa	5 (50,0 %) a
	Médio	5 (50,0 %) a
Ovitrapa x Grande (11)	Ovitrapa	3 (27,3 %) a
	Grande	8 (72,7 %) b

O percentual médio de ovos depositados no “criadouro predileto” (independente de suas dimensões) não diferiu significativamente entre os tratamentos (MLG; $df = 5, 115$; $X^2 = -0,175$; $p = 0,723$), conforme a Tabela 21.

No tratamento, “Recipiente pequeno x Ovitrapa” apenas um criadouro pequeno foi escolhido como “predileto”, assim não foi possível realizar uma comparação estatística entre

os percentuais de ovos em cada tipo de “criadouro predileto”. No entanto, quando foram oferecidos “Recipientes médios x Ovitrampas” o percentual médio de ovos no criadouro predileto do tipo Ovitampa ($61,2 \pm 10,06\%$) não diferiu significativamente do criadouro médio ($51,5 \pm 5,62\%$) (MLG; $df = 1,223$; $X^2 = -0,214$; $p = 0,184$). No tratamento onde havia “Recipientes grandes x Ovitrampas”, novamente o percentual de ovos no “criadouro predileto” do tipo Ovitampa ($43,6 \pm 4,71\%$) não diferiu significativamente do percentual de ovos depositados no criadouro grande ($54,2 \pm 7,80\%$) (MLG; $df = 1,687$; $X^2 = -0,098$; $p = 0,433$), conforme a Tabela 21.

Tabela 21: Percentual médio (EP) de ovos no “criadouro predileto” de cada tratamento, percentual médio de ovos no “criadouro predileto” de diferentes dimensões e percentuais máximos e mínimos de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* no ‘criadouro predileto’ de cada dimensão em experimentos de semicampo ($23,7 \pm 1,22\text{ }^\circ\text{C}$, $66,8 \pm 5,66\%$ URA). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ou entre criadouros diferentes de cada tratamento - MLG; $p < 0,05$. # significa que não foi possível realizar um teste estatístico.

Tipo de criadouro / tratamento	Percentual médio (EP) de ovos no “criadouro predileto” / tratamento	Percentual médio (EP) de ovos no “criadouro predileto” / criadouro	Percentual de ovos depositados / ♀ no “criadouro predileto”	
			Mínimo	máximo
Ovitampa	46,9 ($\pm 6,74$) a	46,9 $\pm 6,79$	29,9	96,3
Ovitampa Pequeno	51,7 ($\pm 6,74$) a	52,4 $\pm 5,22$ # 46,2 $\pm 5,52$ #	39,6 —	81,8 —
Ovitampa Médio	56,5 ($\pm 5,65$) a	61,2 $\pm 10,06$ a 51,5 $\pm 5,62$ a	30,2 36,5	87,5 68,5
Ovitampa Grande	51,3 ($\pm 5,62$) a	43,6 $\pm 4,71$ a 54,2 $\pm 7,80$ a	35,3 31,3	51,6 92,0

Verificou-se que o percentual de ovos depositados na água foi significativamente menor do que o percentual de ovos depositados na parede dos criadouros em todos os tratamentos avaliados (MLG, $p < 0,05$), conforme a Figura 21.

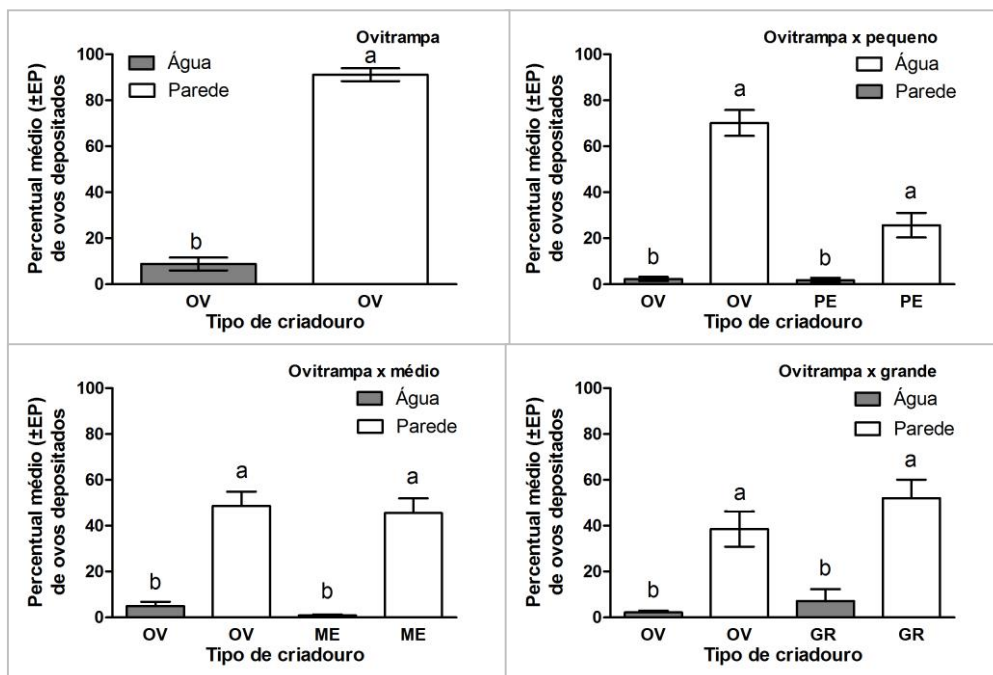


Figura 21. Percentual médio (EP) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* na água e na parede dos criadouros de diferentes dimensões em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa entre percentual de ovos - MLG, $p < 0,05$. Criadouros: PE = pequeno, OV = Ovitampa, ME = médio e GR = grande.

Notou-se que o percentual de ovos depositados nos criadouros do círculo interno foi menor do que o percentual de ovos colocado nas armadilhas do círculo externo. Assim, exceção feita ao tratamento “Ovitrapas”, formou-se quatro grupos levando-se em consideração as dimensões dos criadouros e a sua localização: (1) criadouros Ovitrapas localizados no círculo interno, (2) criadouros diferentes (pequenos, médios ou grandes) localizados no círculo interno, (3) criadouros Ovitrapas localizados no círculo externo e (4) criadouros diferentes (pequenos, médios ou grandes) localizados no círculo externo. No tratamento “Ovitrapas” verificou-se que os criadouros localizados no círculo interno receberam um percentual ($1,6 \pm 0,35$ %) de ovos significativamente menor do que as localizadas no círculo externo ($10,9 \pm 1,48$ %) (MLG; $df = 37,260$; $X^2 = -8,820$; $p < 0,001$). Nos demais tratamentos, não houve diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados nas Ovitrapas e nos criadouros diferentes (pequeno, médio ou grande) quando ambos estavam posicionados no círculo interno (MLG, $p > 0,05$). No círculo externo, o percentual de ovos depositados na Ovitampa também não diferiu significativamente do percentual de ovos colocados nos criadouros médios e grandes (MLG, p

> 0,05). Por outro lado, apenas no círculo externo, o percentual de ovos na Ovitampa foi significativamente maior do que no criadouro pequeno (MLG, $p < 0,05$), conforme a Figura 22.

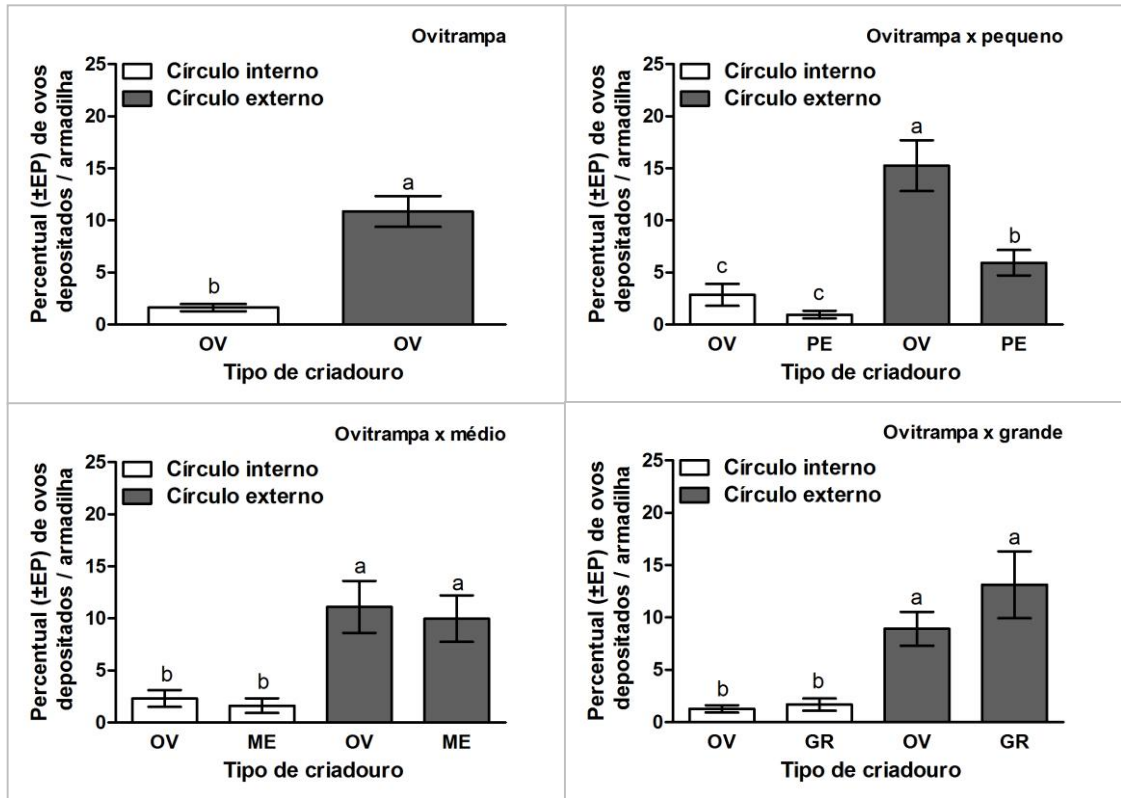


Figura 22. Percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* nos criadouros de diferentes dimensões localizados no círculo interno ou externo das gaiolas da área de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa (MLG, $p < 0,05$). Criadouros: PE = pequeno, Ov = Ovitampa, ME = médio e GR = grande.

Verificou-se ainda que a localização do criadouro (círculo interno ou externo) influenciou na escolha do “criadouro predileto”. Assim, a maioria dos criadouros escolhidos como “prediletos” estava localizada no círculo externo, conforme a Tabela 22.

Tabela 22. Localização do “criadouro predileto” escolhido por fêmeas de *Aedes aegypti* agrupados em círculo interno (criadouros nas posições de 1 a 8) ou externo (criadouros nas posições de 9 a 16).

Localização do “criadouro predileto”	Número de fêmeas (frequência observada - %)			
	Ovitampa (N=13)	Ovitampa x Pequeno (N=14)	Ovitampa x Médio (N = 14)	Ovitampa x Grande (N = 14)
Círculo interno	0 (0,0)	1 (11,1)	1 (10,0)	0 (0,0)
Círculo externo	9 (100,0)	8 (88,9)	9 (90,0)	11 (100,0)
Total de “criadouros prediletos”	9	9	10	11

II.4.3 Experimento3: Influência da presença de anteparo nas proximidades do criadouro no comportamento de oviposição de *Aedes aegypti*

Foram avaliadas 36 fêmeas das quais apenas 25 depositaram ovos e foram consideradas nas análises. As 25 fêmeas depositaram o total de 1.862 ovos, sendo que o número médio de ovos por fêmea foi de $74,5 \pm 6,43$. O número médio de ovos depositados por grávidas de *Ae. aegypti* não diferiu significativamente entre os tratamentos avaliados (MLG; $df = 24770,000$; $F = 0,274$; $p = 0,606$). Fêmeas expostas a “criadouros organizados em dois círculos concêntricos sem anteparo no círculo interno” depositaram a média de $70,3 \pm 10,89$ ovos, variando entre o mínimo de 19 e o máximo de 128 ovos / fêmea. Quando submetidas a “criadouros organizados em dois círculos concêntricos com anteparo no círculo interno”, a média de ovos depositados foi de $77,3 \pm 8,11$ por fêmea, variando entre 30 e 135 (Tabela 23).

Tabela 23. Número total de ovos depositados / tratamento, números máximos e mínimos de ovos depositados e número médio de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* avaliadas em condições de semicampo diante de 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno. Letras diferentes indicam diferença significativa entre valores da mesma coluna - MLG, $p < 0,05$.

Tratamento	Total de ovos	Número de ovos depositados /♀		Número médio de ovos / ♀ ($\pm EP$)
		Mínimo	Máximo	
Sem anteparo (N=10)	703	19	128	70,3 ($\pm 10,89$) a
Com anteparo (N=15)	1.159	30	135	77,3 ($\pm 8,11$) a

Nos bioensaios, uma (10,0 %) das fêmeas que realizaram a oviposição em “criadouros organizados em dois círculos concêntricos sem anteparo no círculo interno” utilizou um “criadouro único”. As outras nove (90,0 %) fêmeas deste tratamento utilizaram pelo menos dois dos criadouros disponíveis, caracterizando o comportamento de “oviposição em saltos”. Já entre as 15 fêmeas que realizaram a oviposição em “criadouros organizados em dois círculos concêntricos com anteparo no círculo interno”, três (20,0 %) grávidas utilizaram um “criadouro único” para a deposição de ovos e 12 (80,0 %) apresentaram o comportamento de “oviposição em saltos”. Verificou-se a tendência de as fêmeas espalharem seus ovos entre os recipientes disponíveis, independente do tratamento. O número máximo de criadouros colonizados na ausência de anteparos foi 11 na presença de anteparo foi nove, conforme a Figura 23.

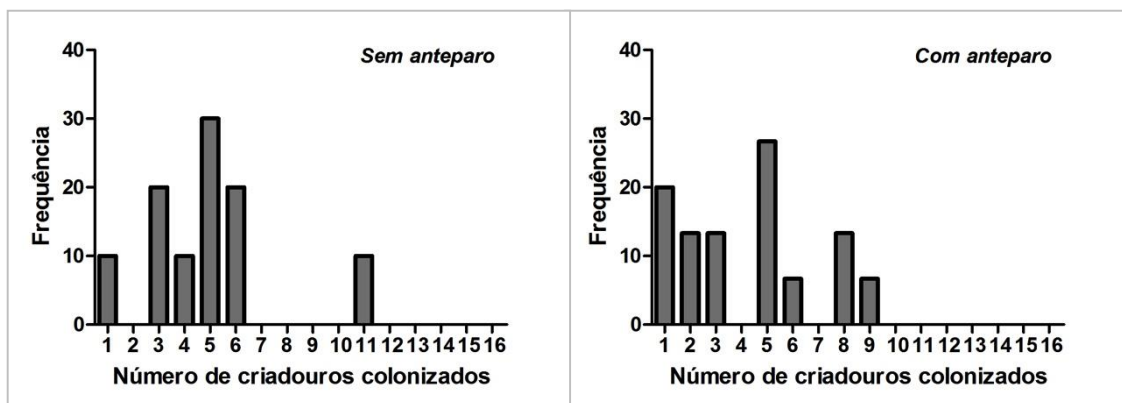


Figura 23. Frequência (%) do número de criadouros utilizados para deposição dos ovos por fêmeas de *Aedes aegypti* avaliadas em condições de semicampo diante de 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno.

Fêmeas expostas a “criadouros sem anteparos” utilizaram a média (\pm EP) de $4,9 \pm 0,84$ criadouros para a distribuição de ovos, enquanto grávidas de *Ae. aegypti* expostas a “criadouros com anteparos” utilizaram $4,2 \pm 0,69$ recipientes, conforme Figura 24. Não houve diferença significativa entre estes tratamentos (MLG; $df = 166,240$; $F = 0,338$; $p = 0,567$).

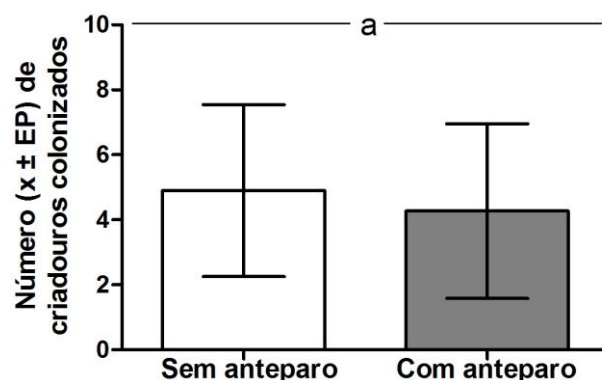


Figura 24. Número médio (\pm EP) de criadouros colonizados por fêmeas de *Aedes aegypti* avaliadas em condições de semicampo diante de 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$.

Quando os criadouros foram categorizados em função do número de ovos que receberam, observou-se que a maioria (mais de 60 %) dos criadouros disponíveis não foi utilizada para a deposição de ovos, independente do tratamento avaliado. Entre os criadouros que receberam ovos, a maioria recebeu entre um e onze ovos. Observou-se que o percentual de criadouros colonizados nas categorias foi semelhante entre os tratamentos, conforme Figura 25.

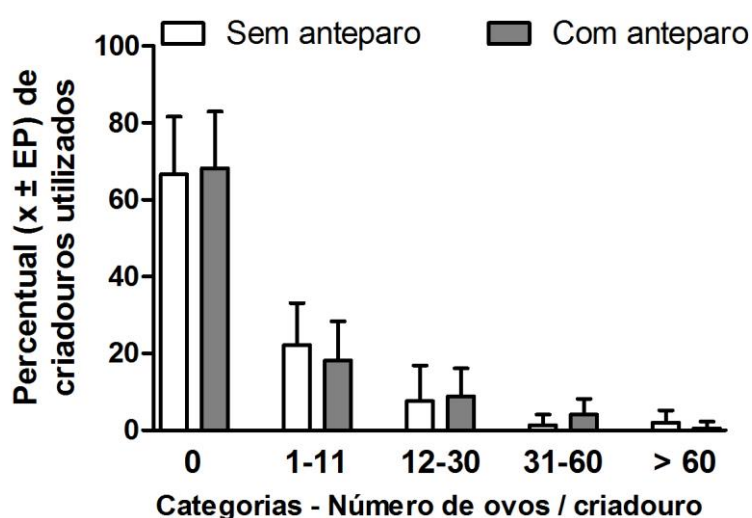


Figura 25. Percentual médio (\pm EP) de criadouros colonizados para cada categoria de ovos na avaliação de fêmeas de *Aedes aegypti* em condições de semicampo diante de 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno.

Verificou-se, pela análise de *outlier*, a existência de criadouros prediletos entre fêmeas que realizaram a “oviposição em saltos”, assim como a deposição de ovos num criadouro único em ambos os tratamentos (Tabelas 24 e 25).

Tabela 24. Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* em cada um dos 16 criadouros na ausência de anteparos no círculo interno e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de *outlier*, $p < 0,05$.

<i>Percentual de ovos / criadouro / ♀ avaliada classificado do menor para o maior valor</i>									
♀1	♀2	♀3	♀4	♀5	♀6	♀7	♀8	♀9	♀10
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	3,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	4,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	5,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	7,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	1,1	7,8	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0
0,8	2,2	8,6	0,0	0,0	0,0	0,0	6,1	5,9	1,6
2,5	2,2	10,2	0,0	0,0	0,0	3,2	8,2	5,9	3,2
4,2	3,2	13,3	5,3	10,3	0,0	8,1	8,2	15,7	19,4
16,0	4,3	18,0	42,1	10,3	0,0	35,5	10,2	27,5	29,0
76,5*	87,1*	19,5	52,6	79,5*	100,0	53,2*	65,3*	45,1*	46,8*
<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	SCP	<u>CP</u>	<u>CUN</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>

Tabela 25. Percentual de ovos, classificados do menor para o maior valor, depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* em cada um dos 16 criadouros na presença de anteparos no círculo interno e individualmente avaliadas em condições de semicampo. CP = “criadouro predileto”, SCP = sem “criadouro predileto” e CUN = criadouro único. *Ao lado do número indica diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados em cada coluna - Teste de *outlier*, $p < 0,05$.

<i>Percentual de ovos / criadouro / ♀ avaliada classificado do menor para o maior valor</i>														
♀1	♀2	♀3	♀4	♀5	♀6	♀7	♀8	♀9	♀10	♀11	♀12	♀13	♀14	♀15
0,0	0,0	0,0	0,0	51,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	2,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	5,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	0,0	0,0	0,0
0,0	0,0	7,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,5	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0
0,0	2,5	10,0	9,6	0,0	0,0	0,0	8,6	0,0	7,6	3,0	3,0	0,0	1,1	0,0
0,0	2,5	12,0	10,6	0,0	0,0	0,0	8,6	0,0	7,6	4,5	9,6	0,0	3,3	0,0
5,0	7,6	17,0	13,8	4,9	0,0	0,0	11,4	0,0	16,7	17,9	14,1	0,0	8,7	0,0
33,3	34,7	22,0	14,9	43,9	0,0	1,7	28,6	3,3	22,7	28,4	26,7	0,0	10,9	0,0
<u>61,7*</u>	<u>52,5*</u>	23,0	<u>47,9*</u>	51,2	<u>100,0</u>	<u>98,3*</u>	<u>42,9*</u>	<u>96,7*</u>	<u>40,9*</u>	<u>46,3*</u>	<u>40,7*</u>	<u>100,0</u>	<u>76,1*</u>	<u>100,0</u>
<u>CP</u>	<u>CP</u>	SCP	<u>CP</u>	SCP	<u>CUN</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CP</u>	<u>CUN</u>	<u>CP</u>	<u>CUN</u>

Entre as 10 fêmeas avaliadas diante de “criadouros sem anteparos no círculo interno”, verificou-se que nove (90,0 %) grávidas de *Ae. aegypti* apresentaram o comportamento de “oviposição em saltos”, enquanto que uma (10,0 %) depositou seus ovos num “criadouro único”. Entre as fêmeas que espalharam seus ovos entre dois ou mais dos criadouros disponíveis, sete (77,8 %) apresentaram a escolha de um “criadouro predileto” enquanto duas (22,2 %) não o fizeram (Tab. 24). Já no tratamento onde as fêmeas depositaram seus ovos em “criadouros com anteparo no círculo interno” verificou-se que 12 (80,0 %) fêmeas apresentaram o comportamento de “oviposição em saltos” e três (20 %) não realizaram este comportamento. Entre as fêmeas que apresentaram a “oviposição em saltos”, dez (83,3 %) escolheram um criadouro como “predileto” e duas (16,7 %) não apresentaram tal comportamento (Tab 25).

O percentual de ovos no “criadouro predileto” não diferiu significativamente entre os tratamentos avaliados (MLG, $df = 2,962$, $X^2 = -0,010$, $p = 0,813$), conforme a Tabela 26. Além

disso, não houve diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados nos criadouros prediletos ora localizados no círculo interno, ora no círculo externo de ambos os tratamentos (MLG; $df = 2,962$; $X^2 = -0,271$; $p = 0,708$) (Tab. 26).

Tabela 26. Percentual médio (EP) de ovos no “criadouro predileto” de cada tratamento, percentual médio de ovos no “criadouro predileto” localizado no círculo interno ou externo e percentuais máximos e mínimos de ovos depositados no “criadouro predileto” por fêmeas de *Aedes aegypti* avaliadas em semicampo diante de 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno. Letras diferentes indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$.

Tratamento	Localização do “criadouro predileto”	Percentual médio \pm EP de ovos no “criadouro predileto” / tratamento	Percentual médio \pm EP de ovos no “criadouro predileto” / local do criadouro	Percentual de ovos /♀ no “criadouro predileto”	
				mínimo	máximo
<i>Criadouros sem anteparos</i>	Círculo interno	$64,8 \pm 6,36$ a	$59,3 \pm 6,05$ a	53,2	65,3
	Círculo externo		$67,0 \pm 8,77$ a	45,1	87,1
<i>Criadouros com anteparos</i>	Círculo interno	$62,3 \pm 7,60$ a	$57,0 \pm 8,86$ a	40,7	98,3
	Círculo externo		$73,0 \pm 14,6$ a	46,3	96,7

Ao acrescentar o anteparo próximo às armadilhas do círculo interno, a distribuição dos ovos tornou-se mais homogênea entre os criadouros dos círculos internos e externos. Verificou-se que, na “ausência de anteparo no círculo interno”, o percentual médio de ovos depositados nos criadouros do círculo interno ($3,5 \pm 1,15$ %) foi significativamente menor do que o percentual médio de ovos nos criadouros do círculo externo ($9,0 \pm 2,32$ %) (MLG; $df = 42,813$; $X^2 = -2,166$; $p = 0,028$). Ao colocar os anteparos próximos às armadilhas do círculo interno, verificou-se que não houve diferença significativa entre o percentual de ovos no círculo interno ($5,3 \pm 1,53$ %) e nos criadouros localizados no círculo externo ($7,2 \pm 1,71$ %) (MLG; $df = 70,105$; $X^2 = -0,392$; $p = 0,395$) (Fig. 26).

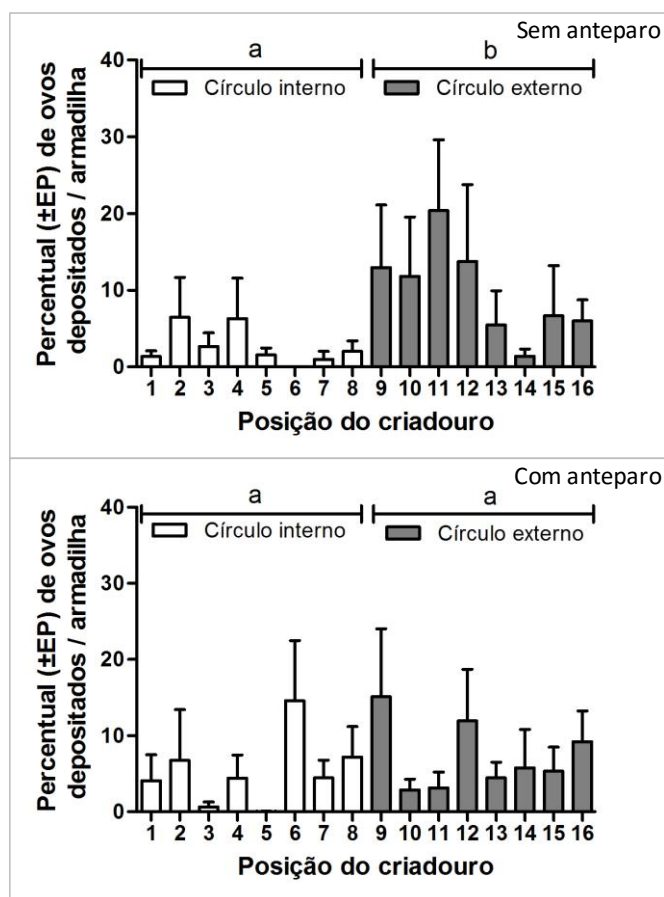


Figura 26. Percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* em cada um dos 16 criadouros disponíveis e organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno. Letras diferentes indicam diferença significativa entre o percentual de ovos depositados nas armadilhas do círculo interno e externo - MLG, $p < 0,05$.

Além de influenciar na forma de distribuição de ovos entre os criadouros localizados nos círculos e internos e externos, observou-se que a localização do “criadouro predileto” também foi alterada em decorrência da presença de anteparos. Diante de “criadouros sem anteparos no círculo interno” a maioria dos criadouros prediletos foi localizada no círculo externo (71,4 %) em detrimento do círculo interno (28,6 %) (Qui Quadrado; $gl = 1$; $p < 0,05$). No entanto, ao acrescentar anteparos próximos aos criadouros do círculo interno, inverteram-se os resultados. Assim, no tratamento “criadouros com anteparos no círculo interno” a maioria dos criadouros prediletos estava localizada no círculo interno (66,7 %) e uma menor quantidade de criadouros foi escolhida no círculo externo (33,3 %), conforme a Tabela 27.

Tabela 27. Localização do “criadouro predileto” escolhido por fêmeas de *Aedes aegypti* no círculo interno (criadouros nas posições de 1 a 8) ou externo (criadouros nas posições de 9 a 16). Letras diferentes indicam diferença significativa entre círculo interno e externo em cada tratamento (Qui Quadrado, gl = 1, p < 0.05).

<i>Localização do criadouro</i> <i>Predileto</i>	<i>Número de fêmeas (frequência observada)</i>	
	<i>Sem anteparo (N=10)</i>	<i>Com anteparo (N=15)</i>
<i>Círculo interno</i> <i>(criadouros de 1 a 8)</i>	2 (28,6 %) a	6 (60,0 %) b
<i>Círculo externo</i> <i>(criadouros de 9 a 16)</i>	5 (71,4 %) b	4 (40,0 %) a
<i>Total de criadouros prediletos</i>	7	10

Quando as fêmeas foram expostas ao tratamento “criadouros sem anteparo no círculo interno” verificou-se que o percentual médio (EP) de ovos na água ($24,2 \pm 5,19$) foi significativamente menor do que na palheta ($75,8 \pm 5,19$) (MLG; df = 8,394; $X^2 = -5,593$; p < 0,001). No tratamento em que as fêmeas realizaram a oviposição em “criadouros sem anteparo no círculo interno” novamente o percentual de ovos depositado na água ($27,6 \pm 8,97$ %) foi significativamente menor do que na palheta ($72,4 \pm 8,97$ %) (MLG; df = 25,598; $X^2 = -6,240$; p = 0,001), conforme Figura 27.

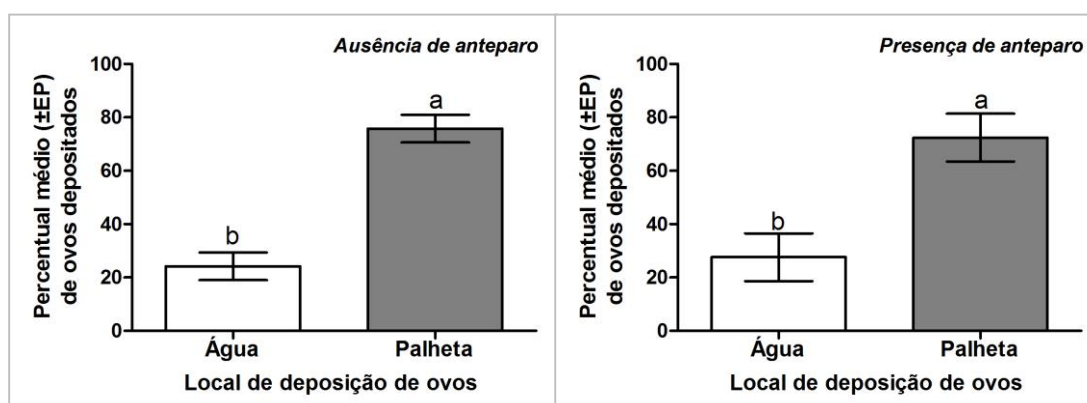


Figura 27. Percentual médio (± EP) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* na água e na palheta em bioensaios com 16 criadouros organizados em dois círculos concêntricos, apresentando ou não anteparos no círculo interno. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa entre percentual de ovos na água e na palheta entre os tratamentos - MLG, p < 0,05.

II.5 DISCUSSÃO

Apesar de o comportamento de “oviposição em saltos” do *Ae. aegypti* ter sido caracterizado em condições de laboratório (Fay & Perry 1965, Chadee et al. 1990, Corbet & Chadee 1993, Chadee 2010, Abreu 2010), de semicampo (Abreu 2010, Wong et al. 2012) e de campo (Chadee & Corbet 1987, Apostol et al. 1994, Reiter et al. 1995, Colton et al. 2003, Chadee 2009) ainda não foram determinados os fatores que podem interferir na distribuição de ovos, assim como na escolha do “criadouro predileto” (Abreu 2010). Portanto, optamos por avaliar a influência do estado nutricional de fêmeas de *Ae. aegypti*, das dimensões dos criadouros e da presença de anteparos próximos aos criadouros no comportamento de oviposição de grávidas do vetor.

Os experimentos foram realizados com fêmeas individualizadas e, em todos os tratamentos, notou-se uma grande variação entre o número de ovos depositados por cada grávida de *Ae. aegypti*. Os números máximos e mínimos de ovos depositados oscilaram, entre 24 e 179 (fêmeas expostas a diferentes dietas), 24 e 201 (fêmeas expostas a criadouros de diferentes dimensões), 19 e 135 (fêmeas expostas a criadouros próximos ou não de anteparos). Variações individuais com relação ao número de ovos depositados por cada fêmea já foram observados em outras pesquisas realizadas em laboratório (Abreu 2010, Costa 2010, Chadee et al. 2002). Possivelmente estas diferenças foram observadas como consequência da capacidade reprodutiva dos indivíduos envolvidos (Ponlawat & Harrington 2007, Ponlawat & Harrington 2009) e da quantidade de sangue ingerido durante o repasto sanguíneo (Colless & Chellapah 1960, Xue et al. 2008). No entanto, mesmo com estas variações individuais, verificou-se que o número médio de ovos depositados em cada tratamento de cada bioensaio oscilou entre $68,3 \pm 5,23$ e $93,3 \pm 13,6$. Estas médias corroboram Abreu (2010) que, ao avaliar fêmeas de *Ae. aegypti* individualmente em semicampo, observou que a deposição média de ovos por fêmeas variou entre 68 e 76 ovos

Verificou-se a existência de dois padrões característicos na oviposição deste vetor: (1) a “oviposição em saltos” e (2) a deposição de ovos num único criadouro. Além disso, foi evidenciado que estes comportamentos ocorrem com frequências diferentes, uma vez que enquanto a minoria das fêmeas (0,0-20,0 %) depositou seus ovos num único criadouro, a maioria (80,0-100,0 %) apresentou o comportamento de “oviposição em saltos”, espalhando seus ovos entre alguns dos criadouros disponíveis.

A “oviposição em saltos” é uma estratégia eficiente para garantir a perpetuação da prole daquela fêmea. Ao espalhar seus ovos em vários criadouros, a grávida de *Ae. aegypti* garante que pelo menos parte de seus descendentes se desenvolva até a fase adulta caso ocorra algum imprevisto em um dos criadouros (Fay & Perry 1965, Apostol et al. 1994, Reiter 2007). Além disso, evita-se a competição por recursos (Chadee et al. 1990). Acredita-se que por estes motivos a “oviposição em saltos” seja o comportamento mais frequente para a espécie em campo (Chadee & Corbet 1987, Apostol et al. 1994, Reiter et al. 1995, Colton et al. 2003, Chadee 2009). No entanto, é relevante considerar que no presente estudo algumas fêmeas depositaram seus ovos num único criadouro. Já foi demonstrado em laboratório que, na ausência de outros criadouros (Williams et al. 2008, Abreu 2010) ou quando as fêmeas são obrigadas a reter óocitos em seus ovários após a maturação (Chadee 1997, Chadee 2010), o uso de um único criadouro é frequente. No entanto, nos bioensaios do presente trabalho, as grávidas avaliadas não foram expostas aos fatores citados e ainda assim apresentaram este comportamento, independente das dimensões dos criadouros, do estado nutricional ou da proximidade com anteparos. Desta forma, infere-se que a oviposição em criadouro único também seja adotada por *Ae. Aegypti* em condições naturais, ainda que de forma menos frequente. Uma vantagem de depositar todos os ovos num único criadouro, é a menor exposição da fêmea às intempéries ambientais e aos predadores, garantindo a sua sobrevivência e oviposições subsequentes (Harrington & Edman 2011).

Observou-se que a distribuição de ovos por fêmeas de *Ae. aegypti* entre os criadouros disponíveis não ocorreu de forma homogênea. Assim, os criadouros foram divididos em cinco categorias, de acordo com o número de ovos que receberam (Apostol et al. 1994, Chadee 2009, Abreu 2010). Observou-se que as fêmeas apresentaram um padrão semelhante de distribuição de ovos entre os criadouros avaliados, independente dos tratamentos testados (dieta, dimensão do criadouro e presença de anteparo). A maioria dos recipientes disponíveis (54,0 % a 73,3%) não foi colonizada conforme observado previamente em laboratório, semicampo (Abreu 2010) e em campo (Apostol et al. 1994, Chadee 2009, Wong et al. 2011). Entre os criadouros que receberam ovos, a maioria recebeu entre 1 e 11 ovos, conforme demonstrado por outros estudos que avaliaram o número de ovos em Ovitampas em campo (Apostol et al. 1994, Reiter et al. 1995). Estes resultados corroboram os observados por Abreu (2010), que avaliou a oviposição de *Ae. aegypti* diante de 16 criadouros. Wong e colaboradores (2011) observaram por três meses criadouros naturalmente presentes em 448 residências de Iquitos no Peru e verificaram que 52% dos recipientes não foram colonizados. Entre os criadouros colonizados, a maioria recebeu

poucos ovos (1-150) e uma pequena quantidade de criadouros recebeu centenas de ovos. Portanto, o presente trabalho também corrobora o estudo de campo de Wong e colaboradores (2011).

Diante desta distribuição não homogêneas de ovos, Abreu (2010) identificou a existência de um criadouro que “*continha a maior quantidade de ovos dentre os criadouros positivos, em cada tratamento e em cada repetição*”, o qual denominou de “criadouro predileto”. Na presente pesquisa, sugeriu-se um aperfeiçoamento do conceito e o “criadouro predileto” foi considerado como “*aquele que recebeu o maior percentual de ovos entre os criadouros avaliados, em cada tratamento e em cada repetição. E, além disso, recebeu um percentual de ovos estatisticamente diferente dos demais, sendo considerado um outlier*”.

Utilizando este novo conceito, tentou-se entender como os tratamentos avaliados (dieta da fêmea, dimensão do criadouro e presença de anteparo) interferiram na escolha do “criadouro predileto”. Demonstramos que tanto as fêmeas mal nutridas (alimentadas com água), quanto as bem nutridas (alimentadas com solução de sacarose ou com dois repastos sanguíneos) apresentaram a escolha de um “criadouro predileto”, depositando ali entre 58 e 65 % do total de seus ovos. Não existem dados na literatura para comparar com os obtidos no presente trabalho. Entretanto, em condições de laboratório, fêmeas bem nutridas desempenharam uma melhor distribuição de ovos do que fêmeas mal nutridas, formando um “banco de ovos” acima da superfície da água. Estes ovos poderiam ficar armazenados ali por mais tempo, atuando como uma estratégia de manutenção dos genes no ambiente e evitando eclosão das larvas desta prole simultaneamente com outros imaturos co-específicos (Tsunoda et al. 2010). Apesar de ter sido demonstrado que o estado nutricional de fêmeas de *Ae. aegypti* não interferiu no comportamento de escolha do “criadouro predileto”, foi apresentado pela primeira vez que existe uma tendência de os maiores criadouros disponíveis serem utilizados como “prediletos” (capacidade total de 1,0L a 10,0L) e que os criadouros com maior percentual de ovos encontravam-se perto de um anteparo.

Os resultados indicaram que a fecundidade das fêmeas de *Ae. aegypti* não foi alterada em função do de dieta a que foram submetidas. Assim, fêmeas que se alimentaram com água, solução de sacarose a 10 % ou foram mantidas em jejum depositaram um número médio de ovos / fêmea igual. Estes resultados corroboraram Tsunoda e colaboradores (2010) que verificaram que a fecundidade total de fêmeas de *Ae. aegypti* foi semelhante entre aquelas alimentadas com água ou solução de sacarose a 3 %, durante oito dias após o repasto sanguíneo.

Uma vez que fêmeas de *Ae. aegypti* dispõem energia ao buscar criadouros para o espalhamento de seus ovos (Harrington & Edman 2001), esperava-se que a alimentação com açúcares (Tsunoda et al. 2010) ou o duplo repasto sanguíneo (Edman et al. 1992, Scott et al. 1993) pudessem fornecer mais energia para a dispersão dos ovos e, conseqüentemente, colonização de maior número de recipientes. No entanto, observou-se que grávidas de *Ae. aegypti* colonizaram em média seis dos 16 criadouros disponíveis, independente da dieta a que foram expostas. Estes resultados foram diferentes dos obtidos em laboratório por Tsunoda e colaboradores (2010), em que fêmeas alimentadas com solução açucarada utilizaram um maior número de criadouros para a deposição dos ovos do que fêmeas alimentadas com água. Na presente pesquisa, mesmo as fêmeas que foram mantidas em jejum e então puderam realizar dois repastos sanguíneos utilizaram o mesmo número de criadouros que as submetidas às outras dietas. Assim, é possível que a energia obtida através do repasto sanguíneo (Scott et al. 1997) antes do início dos testes tenha sido suficiente para o deslocamento e o espalhamento dos ovos nas condições de semicampo.

Fêmeas de *Ae. aegypti* frequentemente realizam múltiplos repastos sanguíneos em humanos durante um mesmo ciclo gonotrófico (Harrington et al. 2001), estando aptas a obterem nutrientes do sangue para suas funções vitais (Edman et al. 1992, Scott et al. 1993). Assim, inferiu-se que em condições de semicampo, as fêmeas avaliadas tenham utilizado a energia obtida do repasto sanguíneo para a disseminação dos seus ovos. A dieta “não-sanguínea”, quando disponível foi oferecida por pouco tempo, uma vez que foi avaliado o comportamento de fêmeas jovens (seis a dez dias de idade), possivelmente a dieta teve uma função secundária neste comportamento. Em condições de campo a situação provavelmente é diferente, uma vez que as fêmeas podem se deslocar grandes distâncias em busca de criadouros adequados podendo apresentar um gasto energético muito maior (Edman et al. 1998).

A avaliação da influência do tamanho de criadouros no comportamento de oviposição de *Ae. aegypti* utilizou a informação de Abreu (2010) que identificou que uma única fêmea coloniza em média 5,5 (\pm 2,7) criadouros quando existem 16 disponíveis em condições de semicampo. Assim, na presente pesquisa foram oferecidos oito criadouros diferentes (pequenos, médios ou grandes) e oito Ovitampas em cada tratamento. Como as fêmeas de *Ae. aegypti* colonizam em média seis criadouros (Abreu 2010), havendo oito criadouros de cada tipo seria possível identificar, por exemplo, se criadouros grandes são mais utilizados do que Ovitampas para a dispersão de ovos, assim como se um deles seria o escolhido como “predileto”.

Os resultados presentes indicaram que o número médio de recipientes colonizados foi independente das dimensões dos criadouros disponíveis. Fêmeas de *Ae. aegypti* expostas a ambientes com criadouros de diferentes dimensões utilizaram entre 6,4 ($\pm 0,73$) e 7,7 ($\pm 0,65$) criadouros. Observou-se que no espalhamento dos seus ovos, fêmeas de *Ae. aegypti* não fizeram distinção entre as dimensões dos criadouros, utilizando o mesmo percentual de criadouros grandes ($42,3 \pm 4,37$ %) e Ovitampas ($50,0 \pm 5,84$ %), médios ($34,8 \pm 4,93$ %) e Ovitampas ($45,5 \pm 5,95$ %), pequenos ($42,9 \pm 5,55$ %) e Ovitampas ($53,6 \pm 5,47$ %). Esses resultados indicaram que independente de o criadouro ser pequeno, médio, grande (diferente) ou Ovitampa, a fêmea de *Ae. aegypti* utilizou o mesmo percentual de criadouros diferentes e Ovitampas para depositar seus ovos. Apesar de as fêmeas não terem escolhido a dimensão do criadouro no momento de espalharem seus ovos, pois colocaram seus ovos aleatoriamente nos diferentes criadouros, verificou-se que o percentual de ovos depositados no recipiente pequeno foi significativamente menor do que na Ovitampa. Os outros criadouros diferentes (médios e grandes) receberam o mesmo percentual de ovos que as Ovitampas, ou seja, as fêmeas de *Ae. aegypti* não fizeram distinção entre o número de ovos depositados em criadouros do tipo Ovitampa, médio ou grande, mas evitaram depositar uma grande quantidade de ovos no recipiente pequeno. Foi observado que apesar de as fêmeas de *Ae. aegypti* espalharem seus ovos de uma forma aparentemente aleatória entre criadouros de diferentes dimensões, elas evitaram depositar um grande percentual de ovos em recipientes pequenos. Estes resultados estão de acordo Wong et al. (2012), que observou que na presença de criadouros grandes e pequenos, fêmeas de *Ae. aegypti* tendem a depositar a maior parte dos seus ovos no criadouro de maior dimensão, distribuindo de forma menos frequente seus ovos nos criadouros menores. Em condições de semicampo, verificou-se que fêmeas de *Ae. aegypti* depositaram um maior número de ovos em recipientes com maiores volumes do que nos menores, ao comparar criadouros de diferentes tipos de materiais e com capacidades totais que variavam de 0,1 L a 62,5 L (Harrington et al. 2008).

A escolha de um criadouro como “predileto” parece ser uma característica do comportamento de oviposição da espécie, já tendo sido observada em outros trabalhos onde foram oferecidos criadouros idênticos para a oviposição (Chadee & Corbet 1987, Abreu 2010). Contudo, é possível que existam características do criadouro como disponibilidade de matéria orgânica e ausência de predadores, que possam influenciar nesta escolha (Wong et al. 2012). No presente trabalho, verificamos que entre as fêmeas que realizaram a oviposição em saltos, a maioria (64,3 % a 84,6 %) escolheu um dos criadouros como “predileto” e que houve uma

tendência de os maiores criadouros disponíveis serem escolhidos como “prediletos”. Diante destas evidências, inferiu-se que a escolha do “criadouro predileto” ocorre na espécie mesmo quando os criadouros são iguais. Entretanto, quando existem criadouros diferentes, recipientes que apresentam características que garantirão o maior desenvolvimento da prole, como o tamanho, podem influenciar nesta escolha. Isso corrobora estudos anteriores onde foi identificado que criadouros maiores, mais ricos em matéria orgânica (Wong et al. 2012) e previamente habitados por imaturos co-específicos (Wong et al. 2011) tendem a concentrar maior número de imaturos em condições de campo. É relevante enfatizar que embora os criadouros do tipo Ovitampa, médio e grande possam ter sido escolhidos de forma aleatória para serem os prediletos, foi verificado que o recipiente pequeno foi preterido como “predileto”.

Tanto nos bioensaios sobre a influência da dieta das fêmeas de *Ae. aegypti* quanto nos bioensaios relacionados às dimensões dos criadouros no comportamento de oviposição do inseto, foram verificados que as fêmeas utilizaram com maior frequência os criadouros do círculo externo em detrimento do círculo interno. Esse fenômeno foi tão expressivo que até mesmo o “criadouro predileto” foi escolhido no círculo externo. Os resultados obtidos foram diferentes dos observados por Abreu (2010), uma vez que não foi detectada influência das posições (as mesmas usadas na pesquisa atual) no comportamento de oviposição de *Ae. aegypti* em condições de semicampo. No entanto, já foi verificado que as fêmeas de *Ae. aegypti* repousam perto do recipiente antes de depositarem seus ovos (Chadee & Corbet 1987). Diante disso, inferimos que possivelmente, a fêmea avaliada, enquanto não realizava a oviposição, ficava repousando nas paredes da gaiola de teste. Como a parede estava localizada mais próxima dos criadouros do círculo externo, depositaram seus ovos nos criadouros mais próximos do local de repouso.

Para certificar esta hipótese, foram instalados os anteparos de tecido em forma de “x” (paredes artificiais) próximos aos criadouros do círculo interno. Estas paredes não atingiram o teto, para permitir uma livre circulação dos insetos dentro da gaiola de teste. Ao colocar o anteparo verificou-se que houve uma maior homogeneidade do uso de criadouros, com as fêmeas passando a utilizar percentuais iguais de criadouros no círculo interno e externo. Além disso, o “criadouro predileto” passou a ser escolhido com maior frequência no círculo interno.

O ambiente urbano onde o *Ae. aegypti* se mantém atualmente é bem heterogêneo, havendo muitos locais para repouso do mosquito. Contudo, quando são instaladas armadilhas, por exemplo, opta-se por colocá-las em locais protegidos de sol e chuva, de fluxo de pessoas e animais, normalmente escolhendo cantos das residências ou peridomicílios (Eiras

& Resende 2009). Isso pode indiretamente contribuir para a eficiência destas armadilhas, uma vez que contemplará a captura de insetos que estão repousando nas proximidades.

No presente estudo verificou-se uma variação no local de deposição de ovos uma vez que nos bioensaios onde avaliou-se a influência da dieta, as fêmeas submetidas aos três tratamentos depositaram maior número de ovos na água do que na palheta. Nos demais bioensaios, onde avaliou-se a influência das dimensões dos criadouros e da presença de anteparos, verificou-se que um maior percentual de ovos foi depositado na palheta (parede) do que na água. Variações entre diferentes coletas já foram identificadas em pesquisa anterior onde foi avaliado o comportamento de oviposição de *Ae. aegypti*. Acredita-se que estes resultados múltiplos reflitam as estratégias de deposição de ovos por grávidas de *Ae. aegypti* apresenta plasticidade e é contexto-dependente, podendo ser resultantes de variações comportamentais entre os indivíduos avaliados (Wong et al. 2012)

Para o *Ae. aegypti* sempre foi relatada a preferência da parede do criadouro para oviposição, sendo os ovos depositados um pouco acima do limite da água (Gadelha & Toda 1985, Nelson 1986, Clements 1999, Forattini). Gomes e colaboradores (2006) verificaram em laboratório que fêmeas de *Ae. aegypti* depositaram ovos tanto nas bordas dos recipientes de oviposição quanto diretamente na superfície da água, sendo o maior número de ovos depositados diretamente no papel de oviposição. Abreu (2010) verificou um grande percentual de ovos sendo depositados diretamente na água e verificou que quanto maior o número de criadouros disponíveis, maior era o percentual de ovos na água. Ovos depositados diretamente na água apresentam rápida capacidade de eclosão (30 horas no máximo). No meio ambiente, esta característica pode assegurar rápida colonização dos criadouros disponíveis, principalmente em épocas de chuvas. Além disso, os ovos depositados diretamente na água possivelmente apresentam um efeito de predação menor no ambiente em relação àqueles que aguardam as épocas de chuva e menor comprometimento da viabilidade. Dados como estes se tornam relevantes nos programas de monitoramento e controle de *Ae. aegypti*, quanto à remoção de criadouros remanescentes presentes no ambiente (Gomes et al. 2006, Madeira et al. 2002).

A escolha de criadouros por fêmeas de *Ae. aegypti* é um processo flexível e reflete várias estratégias de oviposição, sendo observadas variações desde o local de deposição de ovos no recipiente (água ou parede) até a forma de dispersão dos ovos entre os criadouros disponíveis. Foi verificada também no presente trabalho que existem variações individuais entre as fêmeas avaliadas com relação ao número de ovos depositados, número de criadouros colonizados e local de deposição de ovos nos criadouros (palheta ou água). Entretanto, mesmo com estas

diferenças, existiram padrões constantes em todos os tratamentos, em todos os bioensaios, como a tendência de as fêmeas espalharem seus ovos entre os criadouros disponíveis em detrimento da deposição de ovos num criadouro único, a existência de um “criadouro predileto” e o uso mais frequente de criadouros localizados próximos a anteparos.

Verificou-se que a dieta não sanguínea a que as fêmeas foram submetidas não interferiu com comportamento de oviposição e escolha de “criadouro predileto” por grávidas de *Ae. aegypti* em condições de semicampo. Por outro lado, embora criadouros de todas as dimensões avaliadas (200 mL a 10L) tenham sido colonizados, verificou-se que as fêmeas não depositaram proporcionalmente muitos ovos no menor criadouro avaliado (200mL). Além disso, verificou-se a tendência de os criadouros maiores serem mais utilizados como “criadouro predileto”.

II.6 CONCLUSÕES

Concluiu-se que o comportamento de “oviposição em saltos” e a escolha do “criadouro predileto” em semicampo não dependeram da dieta a que as fêmeas foram submetidas.

As fêmeas de *A. aegypti* espalharam seus ovos entre todos os criadouros de diferentes dimensões disponíveis, depositando ovos em quantidades iguais nas Ovitampas e nos criadouros de tamanhos diferentes (pequeno, médio ou grande) em cada tratamento. Entretanto, embora tenham usado criadouros de todas as dimensões, fêmeas do vetor evitaram depositar grande quantidade de ovos em criadouros pequenos.

A escolha do “criadouro predileto” foi relacionada ao tamanho do criadouro. Grávidas de *Ae. aegypti* não utilizaram o criadouro pequeno como “predileto” e apresentaram uma tendência de utilizar o maior criadouro disponível em cada tratamento como “predileto”.

Observou-se ainda que fêmeas de *Ae. aegypti* utilizaram com maior frequência para a deposição de seus ovos, assim como o “criadouro predileto”, os criadouros localizados próximos a anteparos (paredes), os quais eram utilizados como locais de repouso.

CAPÍTULO III

Avaliação das armadilhas BG-Sentinel e Gravid *Aedes* Trap no controle de adultos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* em condições de semicampo

RESUMO

O mosquito *Aedes aegypti* é o principal vetor de dengue no mundo. Uma vez que não existem drogas ou vacinas específicas, o combate à arbovirose depende do controle do vetor. Uma das ferramentas do monitoramento e controle alternativo do *Ae. aegypti* é o uso de armadilhas específicas para a captura de adultos. Assim, o presente estudo teve como objetivo comparar as recapturas na BG-Sentinel[®] (BGS) e na Gravid *Aedes* Trap (GAT) em semicampo. Dois ambientes semelhantes a um peridomicílio (ex: plantas, mobiliários e criadouros) foram construídos. Em um deles foi instalada uma armadilha (GAT ou BGS) e o outro foi mantido sem o dispositivo (controle experimental). Em cada ambiente foram disponibilizados zero, quatro, oito ou 16 criadouros de quatro capacidades distintas (200mL, 1L, 5L e 10L). Cem fêmeas de *Ae. aegypti* foram liberadas em cada ambiente e mantidas ali por 48h. Após os testes, os ovos depositados foram mantidos por 24 dias nos criadouros para avaliação da produtividade. Fêmeas recapturadas nas armadilhas foram avaliadas quanto ao estado fisiológico. Verificou-se que em todos os tratamentos, a tendência de maior deposição de ovos em criadouros maiores em relação aos menores (MLG, $p < 0,05$), sendo que isso não interferiu na produtividade dos criadouros de diferentes dimensões (MLG, $p < 0,05$). A armadilha BGS reduziu significativamente o número de ovos em ambientes contendo oito e 16 recipientes de oviposição (MLG, $p < 0,05$), enquanto que para a GAT não houve redução (MLG, $p < 0,05$). A BGS recapturou entre 60 e 80 % das fêmeas liberadas, enquanto a GAT recapturou entre 50 e 60 % dos indivíduos avaliados. As recapturas em ambas as armadilhas não dependeram do número de criadouros disponíveis. Estudos de paridade demonstraram que a BGS recapturou maiores percentuais de grávidas do que páridas (8 e 16 criadouros), enquanto que a GAT recapturou mais grávidas do que páridas apenas no ambiente com 4 criadouros, confirmando a especificidade da última armadilha. Concluímos que ambas armadilhas foram eficazes na recaptura de fêmeas de *Ae. aegypti* em condições de semi-campo, mesmo competindo com outros criadouros.

III.1 INTRODUÇÃO

Atualmente o *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus 1762) distribui-se amplamente nas regiões tropicais e subtropicais (Forattini 2002), sendo considerado o principal vetor da dengue e da febre amarela urbana no mundo. Esta espécie pode transmitir ainda outras arboviroses, como o vírus do Mayaro, do Chikungunya, da encefalite equina venezuelana, entre outras (Gubler 2008, WHO 2009). Como há vacina apenas para prevenir a febre amarela e não existem tratamentos específicos para os outros arbovírus veiculados pelo vetor (Jonker et al. 2013), a prevenção ou redução da transmissão destas enfermidades depende do controle do mosquito (FUNASA 2009, WHO 2012).

Atualmente, para combater o *Ae. aegypti* é relevante considerar sua estratégia de oviposição uma vez que as medidas mais adotadas concentram-se na conscientização da população e na destruição dos criadouros de imaturos. O uso de adulticidas com efeitos residuais, tanto a aplicação espacial quanto com equipamentos costais, é recomendado apenas para o bloqueio de transmissão ou no controle de surtos e epidemias (FUNASA 2009, WHO 2012). A inviabilização de criadouros pela remoção de recipientes, destinação adequada dos resíduos, aplicação de larvicidas ou o uso de tampas e telas estão entre as mais disseminadas recomendações dos programas de controle mundiais (WHO 2009). No entanto, na ausência de criadouros, grávidas de *Ae. aegypti* tendem a se deslocar para outras áreas onde ainda existam recipientes adequados para a deposição dos seus ovos (Edman et al. 1998, Reiter et al. 2007).

Assim, a Organização Mundial de Saúde tem enfatizado o uso do controle integrado do *Ae. aegypti*, que consiste na combinação dos métodos de controle disponíveis de forma eficiente, econômica e segura (Donalísio & Glasser 2002, WHO 2012). Além disso, recomenda-se a incorporação de novas tecnologias (WHO 2012) como o uso de materiais impregnados com inseticidas (Kroeger et al. 2006, Lenhart et al. 2008, Vanlerberghe et al. 2011, Tsunoda et al. 2013), a liberação de insetos geneticamente modificados (Lacroix et al. 2012) ou artificialmente impregnados com a bactéria *Wolbachia* (Hoffmann et al. 2011, Walker et al. 2011) e o uso de repelentes espaciais (Lloyd et al. 2013, Salazar et al. 2013). Além disso, existe uma demanda pelo desenvolvimento e uso de novos indicadores que sinalizem melhor o risco de transmissão da doença a partir da diagnose de presença do vetor. Isso se dá através do uso de armadilhas para a coleta de adultos, como a MosquiTRAP, BG-Sentinel[®] (BGS), Gravid *Aedes* Trap (GAT), entre outros (WHO 2006, Eiras & Resende 2009, Ritchie et al. 2014).

Armadilhas para a captura de vetores, além de serem indicadores do risco de transmissão de dengue e da densidade vetorial atual (Gomes 1998, WHO 2006, Eiras & Resende 2009), podem ser eficazes no processo de coleta massal de insetos (Degener et al. 2014). Associadas a outros métodos no monitoramento integrado, são capazes de realizar a supressão ou redução de populações de vetores (Kline 2006, Ritchie et al. 2009). Além disso, análises moleculares dos indivíduos coletados podem sinalizar a circulação viral nas regiões de coleta (Ritchie et al. 2014)

A BGS (BG-Sentinel[®]) é uma das armadilhas disponíveis para a captura do *Ae. aegypti*, sendo normalmente utilizada como referência de comparação com outros métodos de coleta e ou captura do vetor (Kröckel et al. 2006, Maciel-de-Freitas et al. 2006, Degener et al. 2014, Ritchie et al. 2014). O formato do dispositivo em associação com um exaustor produz uma corrente de ar semelhante à de um hospedeiro humano (Kröckel et al. 2006). A esta armadilha pode ser adicionado um atraente sintético do odor humano, o BG-Lure, que consiste de uma mistura de ácido lático, ácido capróico e amônia (Geier et al. 1999, Bosch et al. 2000). Kröckel e colaboradores (2006) verificaram em experimentos de campo que a BGS foi tão eficiente quanto a isca humana na coleta de fêmeas de *Ae. aegypti*, sendo considerada uma ferramenta sensível para aferir a densidade do vetor. Maciel-de-Freitas e colaboradores (2006) verificaram que a BGS foi mais eficiente que o aspirador costal tanto na captura de machos quanto de fêmeas de *Ae. aegypti*. A coleta de *Ae. aegypti* na BGS apresenta-se como uma alternativa pouco laboriosa para avaliar o risco de transmissão de dengue e o sucesso dos programas de controle do vetor (Williams et al 2007), demonstrando ainda potencial uso na redução de populações do mosquito em campo (Ázara 2009). Apesar de a armadilha ter sido desenvolvida para a captura de grávidas, em condições de campo (Maciel-de-Freitas et al. 2006, Williams et al. 2006) e semicampo (Ball & Ritchie 2010), a BGS captura fêmeas nos mais diferentes estados fisiológicos e até mesmo machos.

Recentemente foi desenvolvida uma armadilha letal, capaz de detectar, monitorar e possivelmente controlar populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (Eiras et al. 2014, Ritchie et al. 2014). Esta armadilha, denominada de GAT (Gravid *Aedes* Trap) não necessita de energia elétrica para seu funcionamento. É constituída de duas partes, a inferior preenchida com infusão (atraente de oviposição) e a superior, translúcida, apresenta um funil para a entrada dos mosquitos na câmara transparente. A parede interior desta câmara translúcida e uma tela que separa ambos os compartimentos são impregnadas com um inseticida. Os mosquitos que se encontram no interior da câmara, ao voarem em direção à luz ou se deslocarem para o fundo do

dispositivo para depositar seus ovos, entram em contato com o inseticida, morrem em poucos minutos (Eiras et al. 2014).

Avaliada em condições de campo (Cairns, Queensland, Austrália), a GAT capturou entre 10 e 50 % menos fêmeas do que a BGS. No entanto, quando considerada apenas as fêmeas grávidas, a GAT capturou cerca de 30 % mais indivíduos do que a BGS. Portanto, são necessários maiores estudos para compreender o desempenho destas armadilhas para o possível uso como método alternativo de controle/ monitoramento de *Ae. aegypti*. O objetivo do presente estudo foi de avaliar e comparar o desempenho da nova armadilha de oviposição (GAT) em relação à BGS em condições de semicampo.

III.2 OBJETIVOS

III.2.1 Objetivo Geral

Avaliar armadilhas (GAT ou BGS) como possíveis ferramentas no controle de fêmeas de *Ae. aegypti* em condições de semicampo, simulando um peridomicílio com diferentes densidades de criadouros.

III.2.2 Objetivos específicos

- ✓ Comparar o comportamento de oviposição de *Ae. aegypti* em uma simulação de peridomicílio contendo ou não armadilha (GAT ou BGS);
- ✓ Verificar se, com o aumento do número de criadouros, há alteração no número de fêmeas recapturadas nas armadilhas (GAT ou BGS);
- ✓ Verificar qual armadilha (GAT ou BGS) apresenta melhor desempenho na recaptura de grávidas de *Ae. aegypti* em simulações de peridomicílio contendo diferentes números de criadouros;
- ✓ Avaliar a produtividade dos criadouros que receberam ovos de fêmeas de *Ae. aegypti* em condições de semicampo;
- ✓ Verificar o estado fisiológico de fêmeas de *Ae. aegypti* recapturadas nas armadilhas (GAT ou BGS) em simulação de peridomicílio depende do número de criadouros disponíveis.

III.3 METODOLOGIA

III.3.1 Manutenção da colônia de *Aedes aegypti* em condições de laboratório

A criação de *Ae. aegypti* foi realizada no insetário do Laboratório de Ecologia Química de Insetos Vetores (LabEQ) conforme metodologia descrita no Capítulo I deste trabalho (ver: I.3.2 “Manutenção das colônias de *Aedes aegypti* em condições de laboratório”). As fêmeas utilizadas nos bioensaios foram avaliadas com 8 a 20 dias de idade cronológica e três dias após o repasto sanguíneo (Gomes et al. 2006, Roque & Eiras 2008).

III.3.2 Área experimental de semicampo

A área experimental de semicampo (14,0 m de comprimento x 7,0 m de largura x 3,5 m de altura) foi construída numa área externa do prédio do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). A descrição detalhada desta área experimental encontra-se no Capítulo 2 (ver: “II.3.2 Área experimental de semicampo”).

Dentro do semicampo foram instaladas duas gaiolas (6,0 m de comprimento x 3,0 m de largura e 2,5 m de altura) para a execução dos testes. As gaiolas foram constituídas de tecido voal de malha fina e foram sustentadas por armação de alumínio (Fig. 28). Para possibilitar a entrada do experimentador, cada gaiola apresentava um zíper no centro de uma das laterais mais estreitas, visualizada na Figura 28.



Figura 28. Vista externa das duas gaiolas instaladas no semicampo para a realização de bioensaios. À direita, gaiola denominada de peridomicílio 1, e à esquerda, gaiola denominada de peridomicílio 2.

III.3.3 Os peridomicílios na área experimental de semicampo.

Os experimentos foram conduzidos em duas gaiolas no semicampo, onde foram simulados dois peridomicílios idênticos (Fig. 29). Para isso foram utilizados mesa e cadeiras de plástico, cadeiras de madeira, plantas ornamentais, estante metálica, tijolos e tábua de madeira. Alguns móveis foram confeccionados com caixas de papelão e revestidos com papel *craft* marrom visando obter estímulo visual idêntico em ambas as gaiolas (Fig. 29).

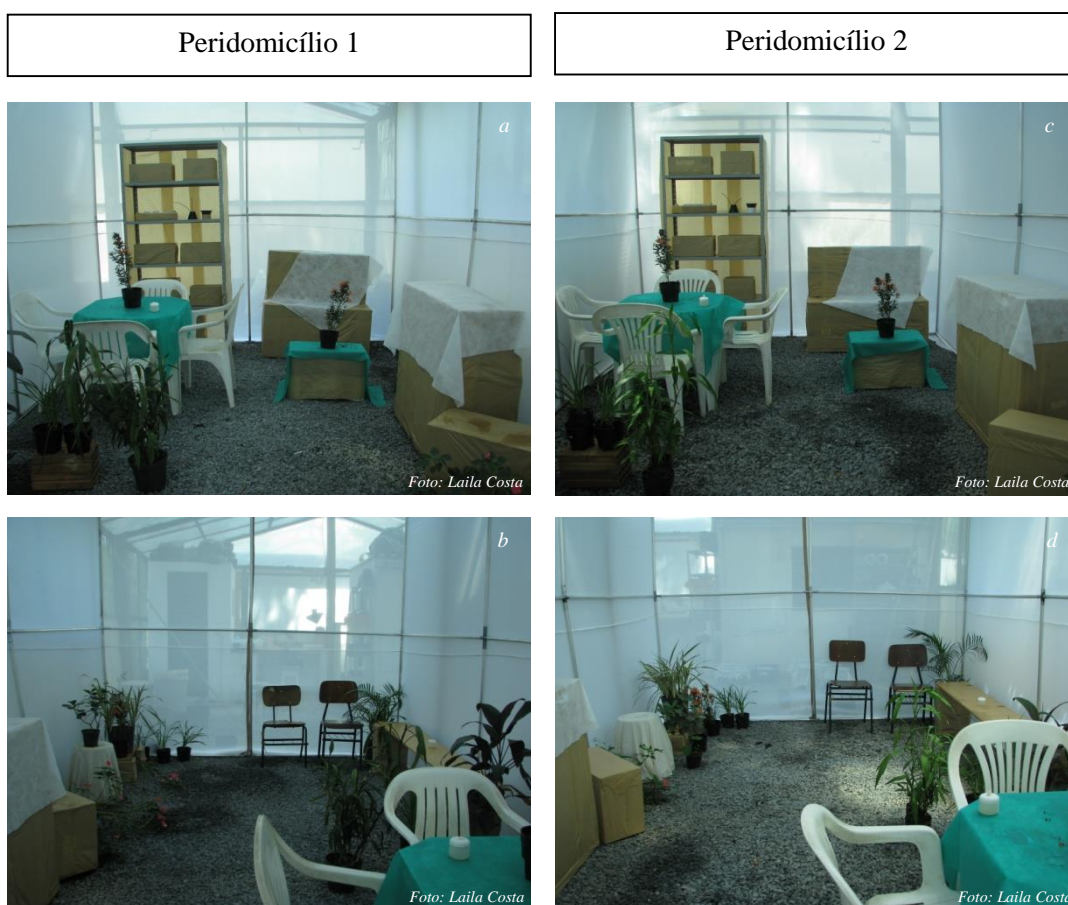


Figura 29. Simulação de peridomicílio na gaiola 1 (a;b) e na gaiola 2 (c;d). Fotos superiores mostram o fundo do ambiente peridomiciliário e fotos inferiores expõem a frente do local.

III.3.4 Criadouros presentes nos peridomicílios

Quatro tipos de criadouros (Quadro 2) foram colocados nos peridomicílios. Todos os criadouros apresentavam a cor preto fosco. Similarmente ao que é adotado para a Ovitrapa,

uma palheta de madeira foi fixada com um clipe metálico em cada um dos criadouros. Como foram utilizados criadouros de diferentes dimensões, calculou-se a dimensão da palheta (largura e comprimento) dos criadouros diferentes levando-se em consideração as dimensões do criadouro (altura e diâmetro) em relação às dimensões da Ovitampa e da palheta utilizada nesta armadilha. Como exceção, no criadouro pequeno foi utilizada palheta com as mesmas medidas da palheta da Ovitampa, tendo ambas 3,0 cm de largura e 10,0 cm de comprimento. Cada criadouro teve 40 % de seu volume total preenchido com água de torneira (modificado de Harrington et al. 2008).

Quadro 2. Dimensões, volume de água total, volume de água utilizado, e dimensões da palheta utilizada em cada criadouro.

<i>Criadouro</i> (<i>abreviação</i>)	<i>Dimensões</i> (<i>larg. x alt. - cm</i>)	<i>Volume de água</i> <i>total (mL)</i>	<i>Volume de água</i> <i>utilizado (mL)</i>	<i>Palheta</i> (<i>diam. x alt. - cm</i>)
<i>Pequeno (PE)</i>	6,5 x 9,0	200	80	3,0 x 10,0
<i>Ovitampa (OV)</i>	9,0 x 12,5	1.000	400	3,0 x 10,0
<i>Médio (ME)</i>	20,5 x 20,0	5.000	2.000	7,0 x 16,0
<i>Grande (GR)</i>	28,0 x 26,0	14.000	5.600	9,0 x 21,0

III.3.5 Armadilha Gravid *Aedes* Trap (GAT)

A Gravid *Aedes* Trap (GAT) é um dispositivo passivo para a captura de grávidas de *Ae. aegypti*. Consiste de (1) um funil de entrada preto inserido no topo da câmara translúcida, (2) uma câmara translúcida encaixada sobre a base, (3) uma tela de nylon (1 mm) entre a câmara translúcida e a base e (4) uma base preta (Eiras et al. 2014), conforme a Figura 30.

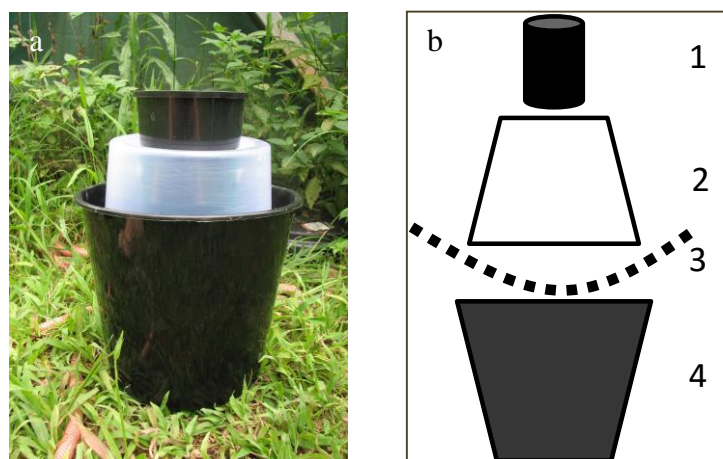


Figura 30. (a) Armadilha Gravid *Aedes* Trap (GAT) utilizada nos bioensaios para a captura de *Aedes aegypti*. (b) Desenho esquemático das partes da GAT: (1) funil de entrada, (2) câmara transparente, (3) tela, (4) base preta.

A base da armadilha foi constituída por um balde de 10 L (20.0 cm de diâmetro inferior, 25.0 cm de diâmetro superior e 24.0 cm de altura). Nesta base foi colocada infusão contendo 3.0 L de água e 2,5 g de alfafa (*Medicago sativa*) em forma de pélete. As infusões utilizadas foram envelhecidas entre 7 e 20 dias. Entre a base e a câmara translúcida havia uma tela de nylon impregnada com inseticida para impedir o contato das fêmeas com a infusão, garantir a dispersão dos voláteis e auxiliar a exterminar os insetos. A armadilha apresentava ainda uma câmara transparente que favorece a retenção de mosquitos no dispositivo através do conceito do “vôo em direção à luz”. As laterais da câmara transparente também foram impregnadas com inseticidas e, ao “voarem em direção à luz” os mosquitos entravam em contato com o agente exterminante. A câmara transparente consistia de um balde de 5,1 L (18 cm de diâmetro inferior, 22 cm de diâmetro superior e 18 cm de altura). No topo desta câmara havia uma abertura de 11.5 cm de diâmetro onde foi encaixado o funil preto de entrada (11.5 cm de diâmetro inferior, 13 cm de diâmetro superior e 14 cm de altura). O funil foi inserido com 7 cm de sua altura exposta acima do topo da câmara transparente. A armadilha apresentava uma altura total de 37.0 cm. Tanto a água contendo infusão, quanto a coloração do dispositivo atuam como estímulos atrativos para grávidas de *Ae. aegypti* em busca de um sítio de oviposição que, ao entrarem ali, ficam retidas e morrem (Eiras & Ritchie 2012, Eiras et al. 2014, Ritchie et al. 2014). A câmara transparente da GAT e a tela de nylon foram impregnadas com inseticida SBP (formulação química: imiprotrina (0,02 %), permetrina (0,05 %), esbiotrina 0,1 %), seguindo a recomendação do fabricante. O inseticida foi reaplicado a cada quatro semanas.

III.3.6 Armadilha BG-Sentinel® (BGS)

A armadilha BG-Sentinel® (BGS) é constituída por um cilindro de lona branca (60 cm de altura por 35 cm de diâmetro) tampado por tecido voal branco contendo um funil de entrada preto no seu topo (Fig. 31). Apresenta um tubo central de lona que aloja no seu fundo um exaustor. O movimento de ar produzido por este exaustor permite que os insetos que se aproximem do dispositivo sejam sugados para seu interior, sendo armazenados em um saco coletor fixado no funil de entrada da armadilha. O saco coletor é posicionado acima do exaustor evitando que os espécimes coletados sejam danificados. O ar sugado pelo exaustor entra pelo tubo central e sai através do voal branco que tampa a armadilha, gerando correntes de convecção ascendentes similares às formadas por um hospedeiro humano, quanto à direção e estrutura geométrica (Kröckel et al. 2006). À armadilha pode ser acrescentado o atraente sintético BG-Lure (Geier et al. 1999, Bosch et al. 2000) que libera uma combinação de ácido lático, ácido capróico e amônia. Estes odores são dispersos no ambiente de acordo com as correntes da armadilha (Kröckel et al. 2006), mas não foram utilizados na presente pesquisa da. A armadilha apresenta 60 cm de altura e 35 cm de diâmetro e o funcionamento do exaustor depende de uma fonte de energia elétrica (12 volts) (Kröckel et al. 2006).



Fig. 31. Armadilha BG-Sentinel® (BGS). Setas vermelhas indicam o local de saída corrente de ar e setas amarelas indicam o local da entrada da corrente de ar, favorecendo a sucção de insetos.

Fonte: <http://www.bg-sentinel.com/>

III.3.7 Armadilha BG-Mosquitito®

A BG-Mosquitito apresenta o mesmo princípio de funcionamento da BGS num design mais compacto e leve. Ela é constituída de um tecido azul e deve ser pendurada a cerca de 30 cm do chão. Apresenta no seu interior um saco coletor e um exaustor que, além de criar correntes de convecções semelhantes às da BGS, succiona os insetos que se aproximam do artefato (Fig. 32). Diferentemente da BGS, na armadilha BG-Mosquitito os insetos passam pelo exaustor antes de alcançarem o saco coletor (Haipairai et al. 2013, Degener 2014).



Figura 32. Armadilha BG-Mosquitito. Fonte: <http://www.mosquitotraps.eu/Mosquitito-Tiger-Mosquito-Trap>.

III.3.8 Avaliação da recaptura de *Aedes aegypti* em armadilhas (BGS ou GAT) numa simulação de peridomicílio em semicampo

O comportamento de “oviposição em saltos” do *Ae. aegypti* e o desempenho das armadilhas (BGS ou GAT) na recaptura do vetor foram avaliados em ambientes que simularam um peridomicílio (Fig. 30) contendo diferentes densidades de criadouros (0, 4, 8 e 16) (Fig. 33). Os criadouros, quando presentes, foram distribuídos homogeneamente dentro das gaiolas e colocados em posições idênticas em cada peridomicílio. A Figura 34 apresenta a disposição dos criadouros de cada tratamento e o local de instalação das armadilhas (BGS ou GAT).

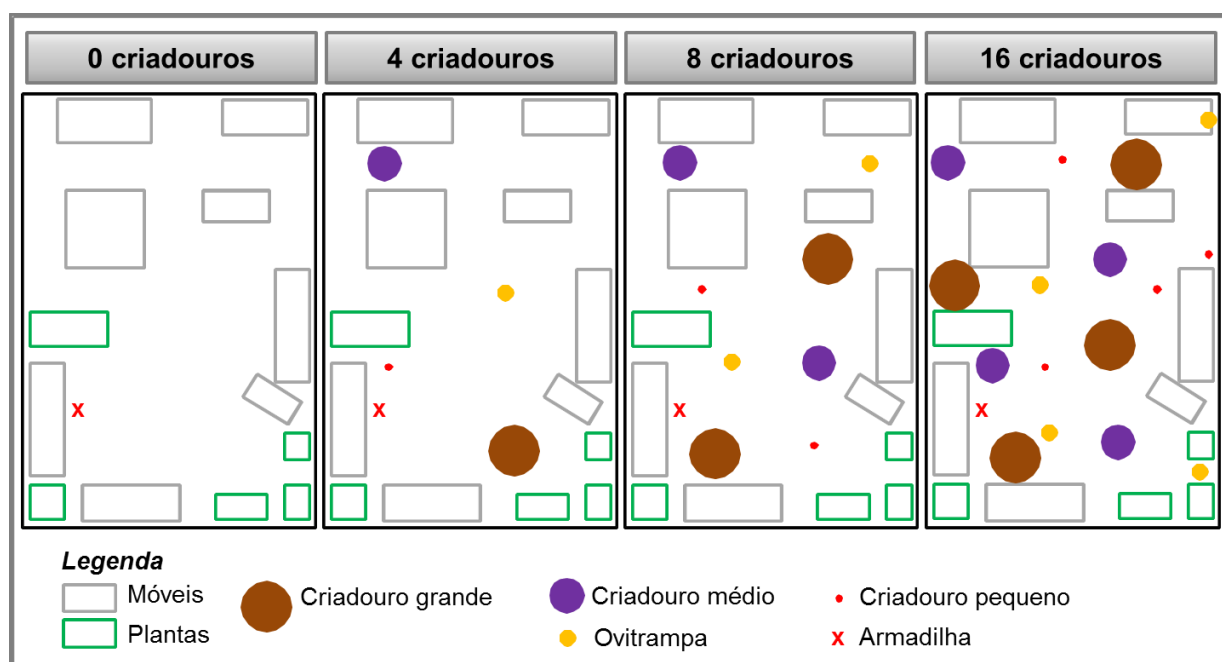


Figura 33. Esquema da disposição dos criadouros e das armadilhas (BGS ou GAT) na simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 e 16 criadouros.

Cada uma das diferentes densidades de criadouros (0, 4, 8 e 16) foi considerada como um tratamento. Para cada tratamento (exceto em 0 criadouros) foram comparados simultaneamente dois peridomicílios idênticos, contendo o mesmo número de criadouros dispostos na mesma posição. Porém em um dos peridomicílios foi colocada uma armadilha (BGS ou GAT) para a recaptura do vetor, e o outro peridomicílio foi mantido sem armadilha. A armadilha (BGS ou GAT) foi colocada ora no peridomicílio 1, ora no peridomicílio 2, para evitar tendenciosidade nos resultados. Foram realizadas quatro repetições para cada um dos tratamentos. Os números de criadouros de cada dimensão disponibilizados nos quatro tratamentos, assim como as posições em que foram colocados, encontram-se, respectivamente, no Quadro 3 e na Figura 33.

Quadro 3. Número de cada tipo de criadouro (pequeno, Ovitampa, médio e grande) presente nos peridomicílios com diferentes densidades de criadouros em condições de semicampo.

<i>Tratamentos</i>	<i>Quantidades de cada criadouro / tratamento avaliado</i>			
	<i>Pequeno</i>	<i>Ovitampa</i>	<i>Médio</i>	<i>Grande</i>
<i>0 criadouros</i>	0	0	0	0
<i>4 criadouros</i>	1	1	1	1
<i>8 criadouros</i>	2	2	2	2
<i>16 criadouros</i>	4	4	4	4

Os bioensaios foram iniciados e finalizados entre a 3^a e a 6^a hora de fotofase, tendo 48 horas de duração. Cerca de 100 fêmeas com oito a 18 dias de idade cronológica e 3 dias após o repasto sanguíneo foram liberadas em cada peridomicílio (Roque & Eiras 2008). Para a nutrição dos insetos, durante os testes foram colocados dois recipientes contendo solução açucarada a 10% embebida em algodão em cada gaiola. Criadouros e palhetas foram devidamente identificados e, ao final dos testes, ambos foram recolhidos. Os ovos presentes na água e na palheta foram quantificados sobre um estereomicroscópio (20x) com auxílio de um contador manual.

Com a finalidade de evitar que os insetos de uma repetição interferissem nas repetições seguintes, após a conclusão de cada experimento, foram instaladas, por 24 horas, três BG-Mosquitito em cada um dos peridomicílios. Antes de iniciar novos experimentos, cada gaiola foi minuciosamente inspecionada e os insetos restantes foram mortos com raquete elétrica ou manualmente, sendo então quantificados.

Um termohigrômetro foi mantido dentro do semicampo para registrar a temperatura e a umidade relativa do ar.

III.3.9 Avaliação da produtividade de *Aedes aegypti* em criadouros de diferentes dimensões

Após a realização dos bioensaios, água e palhetas contendo os ovos depositados foram armazenados para avaliar a produtividade de cada criadouro. A quantificação dos ovos presente na água foi realizada com a transferência do líquido para recipientes plásticos transparentes com capacidade de 500 mL. Em seguida, o volume total de água procedente do criadouro teste foi transferido para um recipiente idêntico ao utilizado nos bioensaios e foi denominado de

criadouro produtividade. Criadouros produtividade foram tampados com um pedaço de tecido branco preso ao recipiente por um elástico para evitar a oviposição de possíveis mosquitos dentro do semicampo.

As palhetas, após serem observadas sobre estereomicroscópio (20x), foram mantidas em condições de laboratório por três dias. Após o embrionamento dos ovos, cada palheta foi colocada no seu respectivo criadouro. Assim, os indivíduos provenientes da palheta e da água do criadouro permaneceram por 21 e 24 dias, respectivamente, no criadouro para conhecer a produtividade de cada criadouro. A fonte alimentar das larvas foi a matéria orgânica proveniente da madeira da palheta. Após o período determinado, os criadouros foram abertos e o número de exúvias de pupas, pupas e larvas de primeiro a quarto ínstar, foram quantificados a olho nu. A presença de exúvia de pupa foi utilizada como medida indireta do número de adultos produzidos. Os criadouros-produtividade foram mantidos dentro da área de semicampo e um termo-higrômetro foi utilizado para monitorar a temperatura e a umidade relativa do ar.

III.3.10 Avaliação do estado fisiológico de fêmeas de *Aedes aegypti* recapturadas em armadilhas específicas para o vetor

As fêmeas recapturadas nas armadilhas BG-Mosquitito, BGS e GAT foram avaliadas com relação a seu estado fisiológico. As fêmeas do vetor foram dissecadas sobre estereomicroscópio (20x) e observadas ao microscópio óptico (40x). Foram consideradas nulíparas as fêmeas cujas extremidades das traquéolas estavam enoveladas e fêmeas páridas, aquelas que possuíam as extremidades distendidas (Detinova 1962, Reiter & Nathan 2001). Como nem todos os ovos desenvolvidos são depositados, havendo retenção de menos de cinco ovos, esta fêmea foi considerada párida (Reiter & Nathan 2001). Fêmeas com maior número de ovos retidos nos ovários foram consideradas grávidas. Fêmeas com abdomens contendo sangue foram qualificadas como “com sangue” e, nas situações em que não for possível determinar o estado fisiológico das fêmeas, estas foram consideradas “indeterminadas” (Detinova 1962, Reiter & Nathan 2001).

III.3.11 Análises estatísticas

Na avaliação das armadilhas GAT e BGS em simulação de peridomicílio algumas das variáveis respostas foram: (a) número de fêmeas recapturadas / número de fêmeas liberadas;

(b) número de fêmeas recapturadas em cada estado fisiológico / número de fêmeas totais recapturadas. A variável explicativa foi o tratamento avaliado (número de criadouros disponíveis no peridomicílio). Outras variáveis resposta foram (c) número de ovos depositado em cada criadouro / número total de ovos depositados; (d) número de indivíduos vivos no criadouro produtividade/ total de ovos depositados no criadouro teste. Para estas últimas variáveis, a variável explicativa foi o tipo de criadouro utilizado. Esses dados foram analisados através de Modelos Lineares Generalizados (MLG), com variável resposta com distribuição de erro quasibinomial. Os modelos foram comparados através de análises de contraste ANOVA seguida do teste Qui Quadrado, ambos com 5 % de significância.

O (a) número de fêmeas liberadas em cada repetição e (b) o número total de ovos depositados em cada criadouro na presença ou ausência de armadilha foram outras variáveis resposta consideradas nas análises. Para estas, a variável explicativa foi o tratamento avaliado (número de criadouros disponíveis no peridomicílio). Estes dados foram analisados através de MLG, com distribuição normal. Os modelos foram comparados através de análises de contraste por ANOVA seguida do teste F, ambos com 5 % de significância.

O programa R (<http://www.R-project.org>) versão 3.0 foi utilizado para a realização de análises estatísticas. O programa GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Software, San Diego California USA) (5.0) para a produção de gráficos.

III.4 RESULTADOS

Nos testes conduzidos na simulação de peridomicílio foram liberadas fêmeas de *Ae. aegypti* presumivelmente grávidas. Ao recapturar uma amostra destes indivíduos nas armadilhas (BGS, GAT e BG-Mosquitito) foi possível estimar o estado fisiológico dos grupos avaliados. Verificou-se que muitas fêmeas estavam ou estiveram grávidas durante a realização dos testes. Em experimentos com a BGS o percentual estimado de grávidas e párias oscilou entre 43,4 % e 75,5 %, enquanto nos testes com a GAT, variou entre 33,7 % e 66,0 %. Nos testes com a BGS, entre 8,6 % a 29,5 % do grupo avaliado correspondia a fêmeas nulíparas, enquanto que nos bioensaios de avaliação da GAT de 12,9 % a 32,1 % das fêmeas estavam nulíparas. Notou-se que algumas fêmeas ainda continham sangue em processo de digestão no canal alimentar. Não foi possível identificar o estado fisiológico de todas as fêmeas, sendo estas consideradas indetermindada (Quadro 4).

Quadro 4. Estrutura fisiológica de uma amostra de fêmeas de *Aedes aegypti* avaliadas em condições de semicampo (NA= não se aplica porque os dados não foram coletados).

Tratamentos		N ♀ avaliadas	% de ♀ nos estados fisiológicos			
			Grávida/Párida	Nulípara	Com sangue	Indeterminada
0 criadouros	<i>sem BGS</i>	NA	NA	NA	NA	NA
	<i>com BGS</i>	251	64.9	29.5	2.8	2.8
4 criadouros	<i>sem BGS</i>	136	43.4	13.2	0.7	42.6
	<i>com BGS</i>	333	56.2	14.1	1.5	28.2
8 criadouros	<i>sem BGS</i>	176	53.4	11.4	1.1	34.1
	<i>com BGS</i>	316	73.4	9.2	1.9	15.5
16 criadouros	<i>sem BGS</i>	139	54.0	8.6	2.9	34.5
	<i>com BGS</i>	281	71.5	7.5	0.7	20.3
0 criadouros	<i>sem GAT</i>	NA	NA	NA	NA	NA
	<i>com GAT</i>	214	66.0	21.7	3.3	9.0
4 criadouros	<i>sem GAT</i>	243	33.7	32.1	1.2	32.9
	<i>com GAT</i>	334	62.9	12.9	2.4	21.9
8 criadouros	<i>sem GAT</i>	147	45.6	27.9	2.0	24.5
	<i>com GAT</i>	335	48.7	23.9	1.5	26.0
16 criadouros	<i>sem GAT</i>	141	50.4	27.3	0.7	21.6
	<i>com GAT</i>	285	52.0	24.5	1.6	21.9

Nestes bioensaios foram avaliados grupos de cerca de 100 fêmeas de *Ae. aegypti* em cada repetição. Verificou-se que o número médio (\pm EP) de fêmeas avaliadas não diferiu significativamente entre os tratamentos avaliados (MLG; $df = 1922,900$; $F = 0,181$; $p = 0,999$), conforme Tabela 28. Notou-se ainda que nos peridomicílios com quatro e oito criadouros, todos foram colonizados na presença e na ausência de armadilhas. Nas simulações com 16 criadouros, 100 % dos criadouros foram colonizados na ausência de armadilhas enquanto 98,4% deles foram colonizados na presença das armadilhas (Tab. 28).

Tabela 28. Número médio (\pm EP) de fêmeas avaliadas e percentual ($x \pm$ EP) de criadouros colonizados por *Aedes aegypti* em simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros, diante da presença ou não das armadilhas BGS ou GAT, em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferenças entre valores na mesma coluna - MLG, $p < 0,05$. NA= não se aplica porque os dados não foram coletados.

<i>Tratamentos</i>		<i>Número médio (\pmEP) de fêmeas avaliadas</i>	<i>Percentual de criadouros colonizados</i>
0 Criadouros	<i>sem BGS</i>	NA	NA
	<i>com BGS</i>	100.0 \pm 0.82 a	NA
4 Criadouros	<i>sem BGS</i>	98.5 \pm 2.72 a	100
	<i>com BGS</i>	97.3 \pm 2.29 a	100
8 Criadouros	<i>sem BGS</i>	98.5 \pm 1.19 a	100
	<i>com BGS</i>	96.5 \pm 1.71 a	100
16 Criadouros	<i>sem BGS</i>	100.0 \pm 6.04 a	100
	<i>com BGS</i>	100.3 \pm 5.79 a	98.4
<hr/>			
0 criadouros	<i>sem GAT</i>	NA	NA
	<i>com GAT</i>	100.0 \pm 1.04 a	NA
4 Criadouros	<i>sem GAT</i>	100,8 \pm 1,88 a	100
	<i>com GAT</i>	100,0 \pm 4,45 a	100
8 Criadouros	<i>sem GAT</i>	98,8 \pm 2,50 a	100
	<i>com GAT</i>	101,5 \pm 1,66 a	100
16 Criadouros	<i>sem GAT</i>	100,0 \pm 4,81 a	100
	<i>com GAT</i>	98,5 \pm 2, 72 a	98,4

Nas simulações de peridomicílio, durante os dois dias de teste, a armadilha BGS recapturou cerca de 60 % ou mais das fêmeas liberadas. Os percentuais de recaptura nos peridomicílios contendo quatro (82,9 \pm 3,16 %) e oito (80,6 \pm 6,20 %) criadouros foram maiores do que nos ambientes sem criadouros (59,6 \pm 10,77 %) ou com 16 locais para a deposição de ovos (65,8 \pm 12,4 %). No entanto esta diferença não foi significativa (MLG; $df = 2,787$; $X^2 < 0,001$; $p=0,949$), conforme Figura 34.

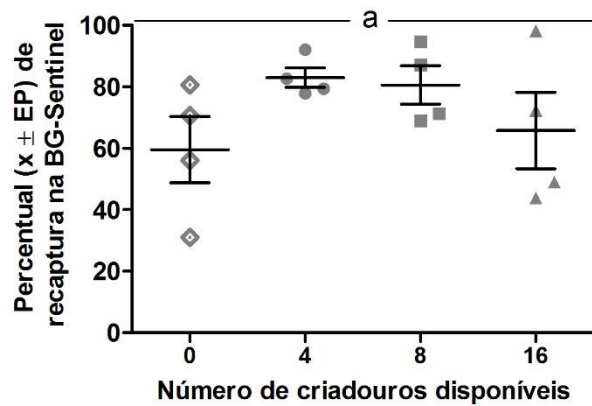


Figura 34. Percentual médio (\pm EP) de fêmeas de *Aedes aegypti* recapturadas na BG-Sentinel em simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros, em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa - MLG; $p < 0,05$.

A armadilha GAT recapturou entre 50 e 60 % das fêmeas avaliadas, independente do número de criadouros disponíveis (MLG, $df = 0,717$; $X^2 < 0,001$; $p = 0,968$), conforme Figura35.

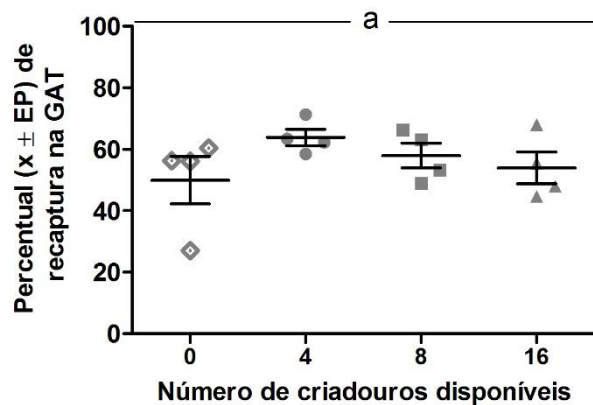


Figura 35. Percentual médio (\pm EP) de fêmeas de *Aedes aegypti* recapturadas na GAT em simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros, em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$.

A armadilha BGS recapturou mais fêmeas do que a GAT em todas as simulações de peridomicílios avaliadas. No peridomicílios contendo quatro (MLG; $df = 0,502$; $X^2 = -0,393$; $p < 0,001$) e oito (MLG; $df = 0,892$; $X^2 = -0,488$; $p = 0,005$) criadouros, a BGS recapturou

significativamente maior percentual de fêmeas do que a GAT. No entanto esta diferença não foi significativa na ausência de criadouros (MLG; $df = 1,027$; $X^2 = -0,104$; $p = 0,406$) e na simulação com 16 locais para a oviposição (MLG; $df = 1,260$; $X^2 = -0,117$; $p = 0,391$), conforme Figura 36.

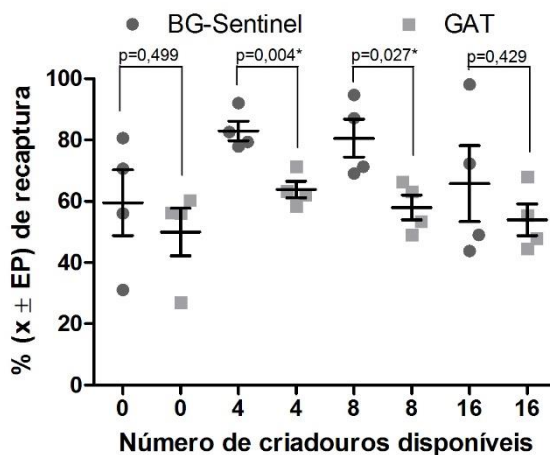


Figura 36. Comparação de recapturas ($x \pm EP$ %) de fêmeas de *Aedes aegypti* na BGS e na GAT em simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros, em condições de semicampo. MLG, $p < 0,05$.

Ao comparar apenas a recaptura de grávidas de *Ae. aegypti* na BGS nos ambientes com criadouros, verificou-se que não houve diferença significativa entre os ambientes contendo oito e 16 recipientes (MLG; $df = 0,516$; $X^2 = -0,032$; $p = 0,366$). No entanto, significativamente menor percentual de grávidas foi recapturado no peridomicílio com quatro criadouros em relação aos demais (MLG; $df = 0,922$; $X^2 = 0,406$; $p = 0,001$). O percentual de párias recapturadas na BGS não diferiu significativamente entre os tratamentos contendo 4, 8 e 16 criadouros (MLG; $df = 0,432$; $X^2 = -0,028$; $p = 0,328$), conforme tabela 29.

Tabela 29. Percentual médio (\pm EP) de fêmeas de *Aedes aegypti* recapturadas na BGS em cada um dos estados fisiológicos, em simulações de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre valores na mesma linha - MLG; $p < 0,05$.

Estado Fisiológico	Percentual ($x \pm SE$) de fêmeas em cada estado fisiológico			
	0 criadouros	4 criadouros	8 criadouros	16 criadouros
Nulípara	28,3 \pm 7,00 a	14,1 \pm 5,67 b	9,3 \pm 0,87 b	7,2 \pm 1,93 b
Com sangue	2,6 \pm 1,67 a	1,5 \pm 0,58 a	1,7 \pm 1,74 a	0,8 \pm 0,83 a
Grávida	65,1 \pm 6,09 a	28,6 \pm 4,53 c	44,4 \pm 3,86 b	50,7 \pm 4,05 b
Párida	1,0 \pm 0,61 b	28,4 \pm 3,20 a	28,7 \pm 4,60 a	24,0 \pm 4,75 a
Indeterminada	3,1 \pm 2,29 b	27,4 \pm 8,17 a	15,9 \pm 1,23 a	17,2 \pm 4,90 a

A recaptura de grávidas na GAT não diferiu significativamente entre os peridomicílios contendo oito e 16 criadouros (MLG; $df = 0,690$; $X^2 = -0,002$; $p = 0,869$). No entanto, a recaptura nestes peridomicílios foi significativamente menor do que no ambiente com quatro criadouros (MLG; $df = 1,293$; $X^2 = 0,602$; $p < 0,001$). Não houve diferença significativa na recaptura de páridas na GAT nos peridomicílios contendo 4, 8 ou 16 criadouros (MLG; $df = 0,766$; $X^2 = 0,024$; $p = 0,502$), conforme Tabela 30.

Tabela 30. Percentual médio (\pm EP) de fêmeas de *Aedes aegypti* recapturadas na GAT em cada um dos estados fisiológicos, em bioensaios conduzidos na simulação de peridomicílio contendo 0, 4, 8 ou 16 criadouros. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre valores na mesma linha - MLG; $p < 0,05$.

Estado Fisiológico	Percentual ($x \pm SE$) de fêmeas em cada estado fisiológico			
	0 criadouros	4 criadouros	8 criadouros	16 criadouros
Nulípara	20,5 \pm 3,61 a	9,8 \pm 2,50 b	20,7 \pm 2,75 a	24,7 \pm 3,01 a
Com sangue	2,9 \pm 1,72 a	0,4 \pm 0,39 a	1,4 \pm 1,42 a	2,5 \pm 1,85 a
Grávida	65,4 \pm 3,33 a	39,8 \pm 5,77 b	18,1 \pm 4,49 c	19,2 \pm 6,39 c
Párida	2,1 \pm 1,26 b	28,2 \pm 4,78 a	33,1 \pm 3,33 a	32,0 \pm 8,63 a
Indeterminada	9,0 \pm 4,38 b	21,8 \pm 1,77 a	26,7 \pm 3,38 a	21,6 \pm 4,03 a

A BGS reduziu em 44,3%, 46,8% e 57,1% a deposição de ovos nas simulações de peridomicílios com quatro, oito e 16 criadouros, respectivamente. Esta redução no número médio de ovos depositados no ambiente contendo armadilha em relação ao mesmo ambiente sem armadilha foi significativa nas simulações com 8 (GLM; $df = 2898102,000$; $F = 6,353$; $p = 0,045$) e 16 (GLM; $df = 9862292,000$; $F = 14,819$; $p = 0,161$) criadouros. Já na simulação

contendo 4 criadouros, apesar de a BGS também ter reduzido a quantidade de ovos depositados, esta redução não foi significativa (GLM; $df = 2747289,000$; $F = 2,564$; $p = 0,161$), conforme a Tabela 31

Tabela 31. Total de ovos, número ($x \pm EP$) de ovos depositados e percentual de redução de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* em peridomicílios contendo 4, 8 ou 16 criadouros, diante da presença ou não da BGS, em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre peridomicílios com o mesmo número de criadouros mas com presença ou ausência e BGS - MLG; $p < 0,05$.

<i>Tratamentos</i>	<i>Total de ovos depositados</i>	<i>Número ($x \pm EP$) de ovos Depositados</i>	<i>% de redução de ovos depositados</i>
4 criadouros <i>sem BGS</i>	5.786	1.446,5 \pm 341,13 a	44,3
<i>com BGS</i>	3.221	805,5 \pm 209,85 a	
8 criadouros <i>sem BGS</i>	7.376	1.844,0 \pm 206,29 a	46,8
<i>com BGS</i>	3.923	980,8 \pm 273,41 b	
16 criadouros <i>sem BGS</i>	26.242	3.290,0 \pm 466,87 a	57,1
<i>com BGS</i>	11.268	1.416,5 \pm 137,45 b	

Por outro lado, a presença de GAT praticamente não interferiu na oviposição de *Ae. Aegypti* nos peridomicílios contendo quatro (GLM; $df = 15386589,000$; $F = 0,011$; $p = 0,922$), oito (GLM; $df = 3151698,000$; $F = 0,420$; $p = 0,541$) e 16 (GLM; $df = 4449544,000$; $F < 0,001$; $p = 0,979$) criadouros. Notou-se que com a presença da armadilha, houve uma redução de 3,6%, 11,9% e 0,7% na deposição de ovos nas simulações de peridomicílios com quatro, oito e 16 criadouros, respectivamente (Tab.32).

Tabela 32. Total de ovos, número ($x \pm EP$) de ovos depositados e percentual de redução de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* em peridomicílios contendo 4, 8 ou 16 criadouros, diante da presença ou não da GAT, em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre peridomicílios com o mesmo número de criadouros mas com presença ou ausência de GAT – MLG; $p < 0,05$.

<i>Tratamentos</i>	<i>Total de Ovos depositados</i>	<i>Número ($x \pm EP$) de ovos depositados</i>	<i>% de redução de ovos depositados</i>
4 criadouros <i>sem GAT</i>	12.715	3.178,8 \pm 133,57 a	3,6
<i>com GAT</i>	12.252	3.063,0 \pm 1.123,45 a	
8 criadouros <i>sem GAT</i>	10.798	2.699,5 \pm 424,52 a	11,9
<i>com GAT</i>	9.514	2.378,5 \pm 255,45 a	
16 criadouros <i>sem GAT</i>	9.265	2.316,3 \pm 493,73 a	0,7
<i>com GAT</i>	9.197	2.299,3 \pm 356,35 a	

Embora praticamente todos os quatro, oito ou 16 criadouros disponíveis tenham sido utilizados para a deposição de ovos por fêmeas de *Ae. aegypti* (Tab. 28), a distribuição de ovos ocorreu de forma heterogênea entre os diferentes tipos de criadouros avaliados (Figuras 38 e 39). Nos testes em que foram avaliadas BGS, na maioria das simulações, os criadouros grandes receberam significativamente maior percentual de ovos (MLG, $p < 0,05$). Apenas no peridomicílio com quatro criadouros e BGS, o recipiente médio recebeu significativamente mais ovos do que o criadouro grande (MLG; $df = 1,334$; $X^2 = -1,106$; $p < 0,001$). Os percentuais de ovos depositados nas Ovitampas e nos recipientes médios não diferiram significativamente na simulação de peridomicílio contendo 4 criadouros e BGS e nos ambientes com 16 criadouros, tanto com a armadilha quanto sem ela, conforme Figura 37.

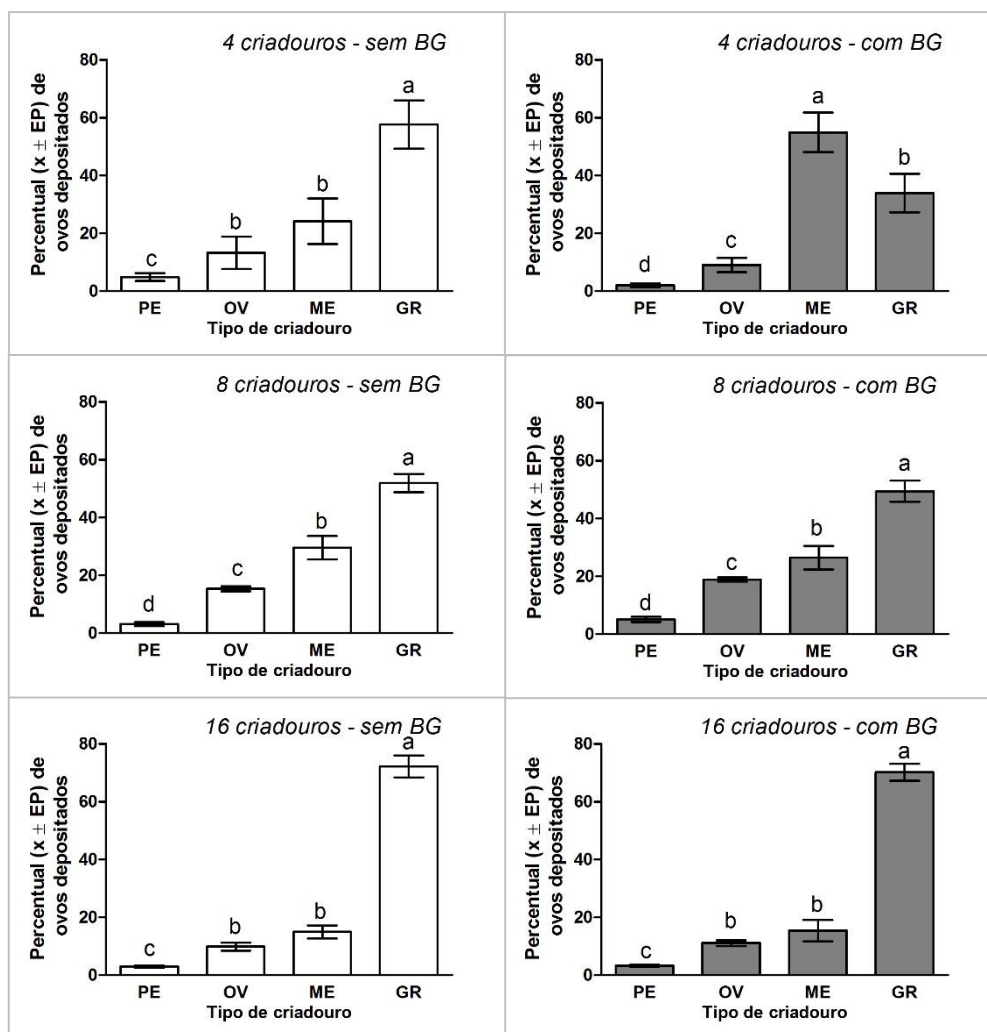


Figura 37. Percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* em simulação de peridomicílio contendo 4, 8 ou 16 criadouros de diferentes dimensões, na presença e na ausência de BGS, em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$.

Nos bioensaios com a GAT, mais uma vez os criadouros grandes receberam o maior percentual do total de ovos depositados na maioria das situações avaliadas (MLG; $p < 0,05$), com exceção do peridomicílio contendo quatro criadouros e armadilha GAT. Nesta simulação, os percentuais de ovos depositados no criadouro grande e no recipiente médio não diferiram significativamente (MLG, $p > 0,05$). Nos peridomicílios contendo oito e 16 criadouros, independente da presença de GAT, o percentual de ovos na Ovitrampa não diferiu significativamente do percentual de ovos no criadouro médio (MLG; $p > 0,05$), conforme Figura 38.

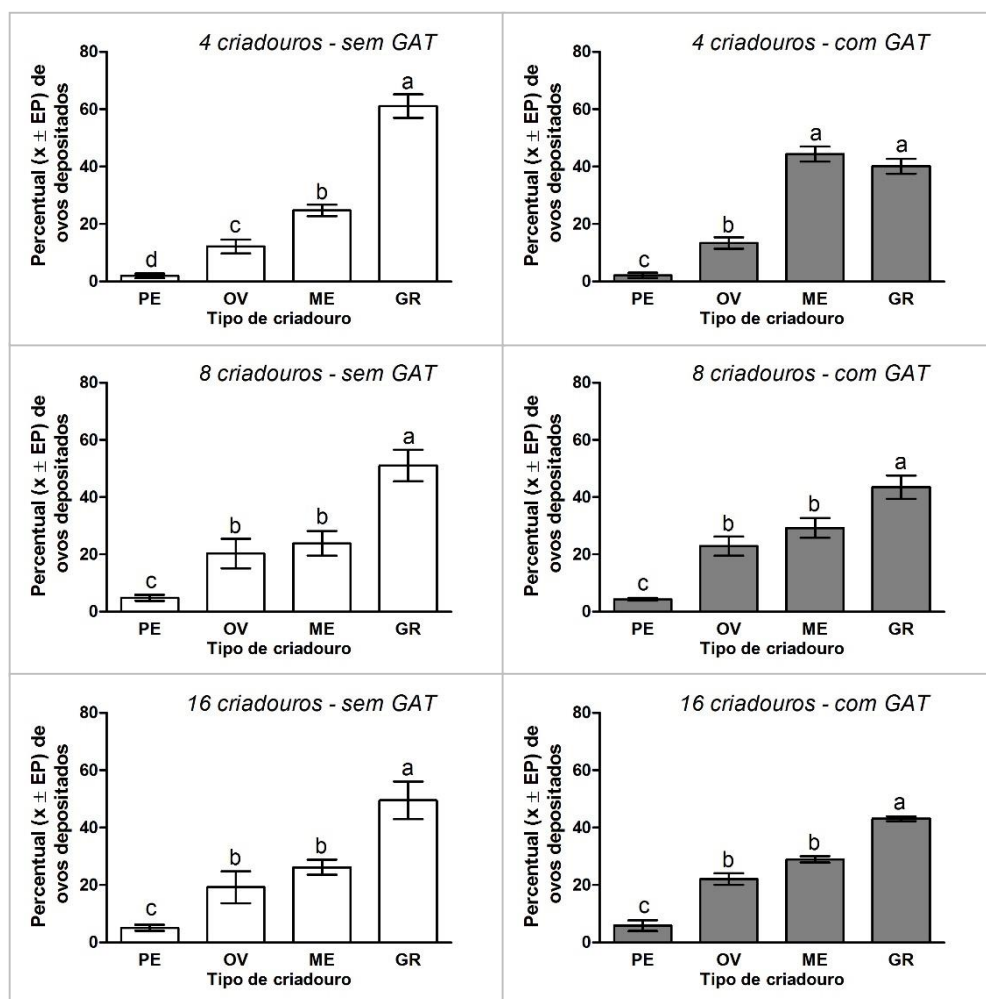


Figura 38. Percentual médio (\pm EP) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* em simulação de peridomicílio contendo 4, 8 ou 16 criadouros de diferentes dimensões, na presença e na ausência de GAT, em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$.

Nos testes com a BGS, em peridomicílios com oito e 16 criadouros, não houve diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados nos criadouros de cada tipo na presença ou na ausência da armadilha (MLG, $p > 0,05$). No entanto, no peridomicílio com quatro criadouros, o recipiente grande da gaiola com BGS recebeu significativamente menor percentual de ovos do que no peridomicílio sem a armadilha (MLG; $df = 3,181$; $X^2 = 1,231$; $p < 0,001$). Por outro lado, o recipiente médio recebeu significativamente maior percentual de ovos no peridomicílio com armadilha do que no peridomicílio sem armadilha (MLG; $df = 3,181$; $X^2 = 1,231$; $p < 0,001$), conforme Figura 39.

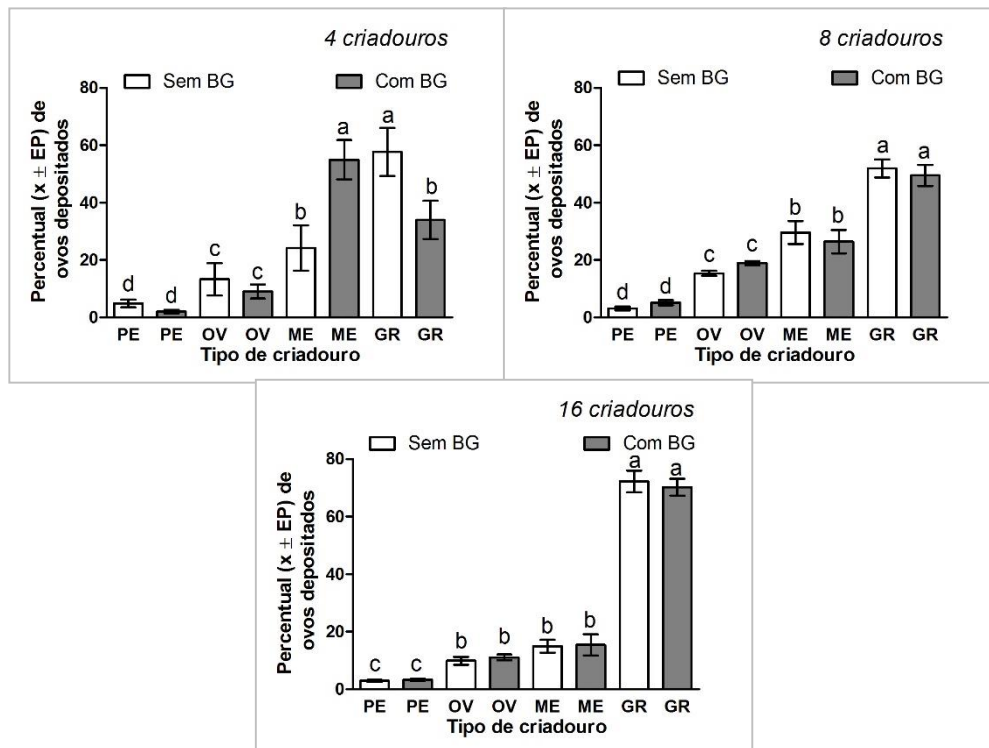


Figura 39. Comparação entre os percentuais ($x \pm EP$) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* na presença e na ausência de BGS em simulações de peridomicílios com diferentes quantidades (4, 8 e 16) de criadouros de diversas dimensões, em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$.

O criadouro grande recebeu significativamente menor percentual de ovos no peridomicílio com quatro criadouros e GAT do que no peridomicílio com quatro criadouros sem a armadilha (MLG; $df = 0,785$; $X^2 = 0,380$; $p < 0,001$). No entanto o recipiente médio recebeu significativamente maior percentual de ovos no peridomicílio com quatro criadouros e armadilha do que no peridomicílio com quatro criadouros sem GAT (MLG; $df = 0,770$; $X^2 = 0,365$; $p < 0,001$). No ambiente com quatro criadouros, os percentuais de ovos nos recipientes pequenos (MLG; $df = 0,388$; $X^2 < 0,001$; $p = 0,898$) e Ovitrapas (MLG; $df = 0,389$; $X^2 = 0,002$; $p = 0,691$) não foram influenciados pela presença da GAT. Nos bioensaios com oito criadouros e 16 criadouros não houve diferença significativa entre os percentuais de ovos depositados nos criadouros de cada tipo em função da presença ou ausência de armadilha (MLG, $p > 0,005$, Figura 40).

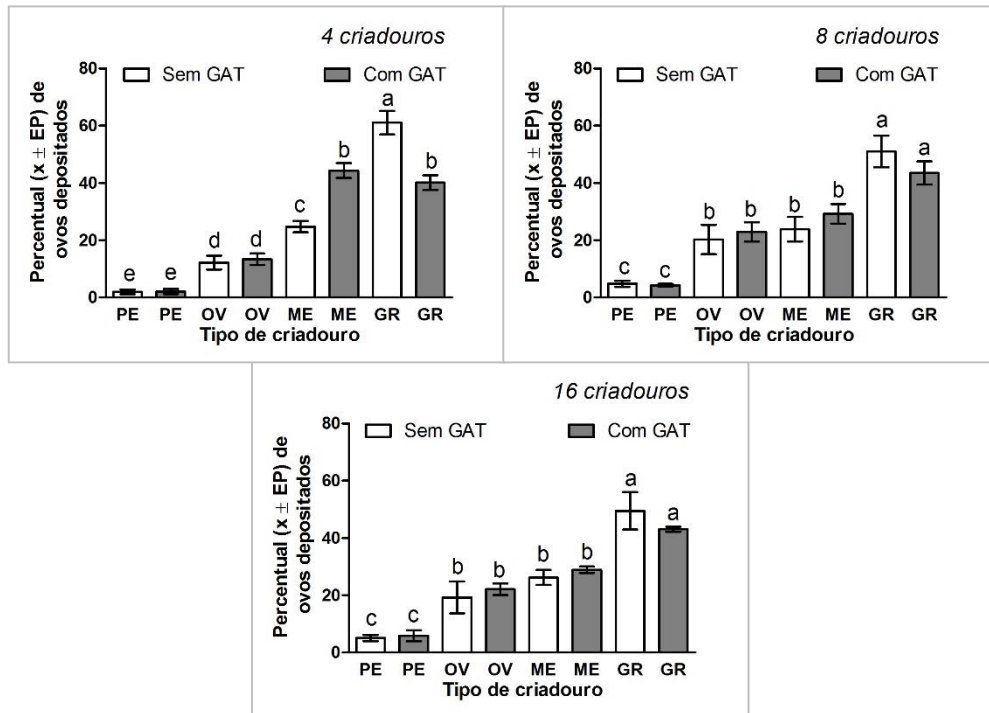


Figura 40. Comparação entre os percentuais ($x \pm EP$) de ovos depositados por fêmeas de *Aedes aegypti* na presença e na ausência de GAT em simulações de peridomicílios com diferentes quantidades (4, 8 e 16) de criadouros de diversas dimensões, em condições de semicampo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$.

Ao disponibilizar quatro (MLG; $df = 3,394$; $X^2 = -0,691$; $p = 0,599$), oito (MLG; $df = 0,312$; $X^2 = -0,055$; $p = 0,667$) ou 16 (MLG; $df = 0,313$; $X^2 = -0,070$; $p = 0,493$) criadouros, a produtividade dos recipientes de diferentes dimensões, tanto nos testes com BGS quanto nos testes sem a armadilha, não foi alterada (Figura 41).

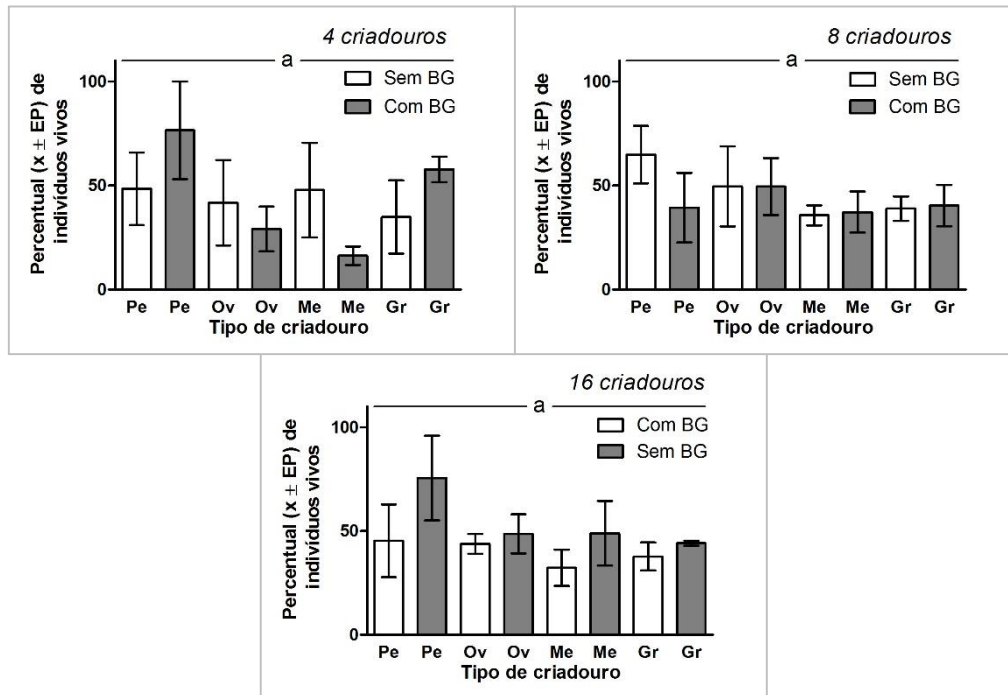


Figura 41. Percentual ($x \pm EP$) de indivíduos vivos nos criadouros, 21 ou 24 dias após o contato dos ovos com a água, sendo os criadouros mantidos em condições de semicampo após os experimentos com a armadilha BGS. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$.

Nos bioensaios com a GAT, verificou-se que no peridomicílio contendo quatro criadouros houve diferença significativa na produtividade dos recipientes. O percentual de indivíduos vivos no recipiente médio do peridomicílio sem GAT foi significativamente menor do que nos demais tratamentos (MLG; d.f. = 0,475; $X^2 = -0,190$; $p = 0,033$). Os demais recipientes no peridomicílio contendo 4 criadouros não apresentaram diferença significativa na produtividade (MLG; d.f. = 0,349; $X^2 = 0,033$; $p = 0,095$). Por outro lado, nos testes com oito (MLG; df = 0,949; $X^2 = -0,214$; $p = 0,514$) e 16 (MLG; df = 0,096; $X^2 = -0,023$; $p = 0,377$) criadouros, a produtividade dos recipientes de diferentes dimensões não diferiu significativamente (Figura 42).

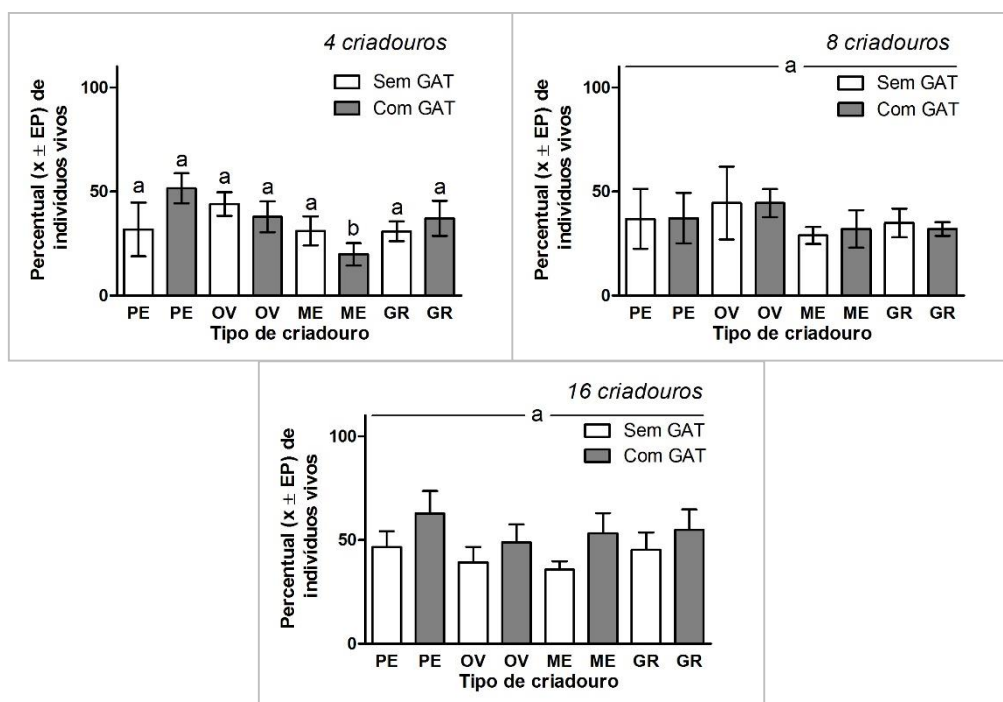


Figura 42. Percentual ($x \pm EP$) de indivíduos vivos nos criadouros, 21 ou 24 dias após o contato dos ovos com a água, sendo os criadouros mantidos em condições de semicampo após os experimentos com a armadilha GAT. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa - MLG, $p < 0,05$.

III.5 DISCUSSÃO

O desenvolvimento e o uso de armadilhas para a captura de adultos de *Ae aegypti* estão entre as recomendações da Organização Mundial de Saúde como ferramentas de controle mundial da dengue (WHO 2012). As armadilhas originam índices entomológicos que refletem a população adulta, podem detectar precocemente a presença do mosquito em áreas indenes ou com baixa transmissão da arbovirose, além de serem ferramentas para avaliar a eficiência dos programas de controle (WHO 2006). Os adultos capturados podem ainda ser analisados por técnicas moleculares para a detecção de arbovírus nas populações de vetores (Ritchie et al. 2014). Desta forma, várias armadilhas para a captura de adultos têm sido desenvolvidas. Alguns dispositivos, como a BGS (Kröckel et al. 2006) e a BG-Mosquitito (Haiparai et al. 2013, Degener 2014), utilizam energia elétrica para capturar e manter os insetos no seu interior. Outros dispositivos como a *Sticky trap* (Ritchie et al. 2003), a *Double sticky trap* (Chadee & Ritchie 2010), a MosquiTRAP (Fávaro et al. 2006, Eiras & Resende 2009) e a *CDC-AGO trap* (Barrera et al. 2014) dispensam a eletricidade e se valem de cartões adesivos para aprisionar o *Ae aegypti*. Recentemente foi desenvolvida a GAT, armadilha que também dispensa energia

elétrica, mantendo os insetos no seu interior através do princípio do voo orientado para a luz e do uso local de adulticidas (Eiras et al. 2014, Ritchie et al. 2014).

Como a armadilha foi desenvolvida recentemente, é importante entender seu funcionamento em ambientes heterogêneos. Assim, avaliamos o desempenho da GAT em uma simulação de peridomicílio, no semicampo, contendo diferentes quantidades de criadouros. O desempenho desta armadilha foi comparado ao da BGS, já que esta é usualmente utilizada como referência na comparação de dispositivos de captura do vetor (Maciel-de-Freitas et al. 2006, Williams et al. 2006, Ball & Ritchie 2010, Ritchie et al. 2014).

Nos bioensaios foram liberadas fêmeas de *Ae. aegypti* presumivelmente grávidas. No entanto, como os insetos recapturados nas armadilhas foram dissecados, identificamos uma variação no estado fisiológico das fêmeas testadas. Um grande percentual delas estava ou esteve grávida (párida ao cair na armadilha) durante os testes com a BGS (43,4 a 75,5%) e com a GAT (33,7 a 66,0%). No entanto, cerca de 10 a 30 % das fêmeas liberadas nos testes com ambas as armadilhas estavam nulíparas. Estas variações podem ter sido decorrentes da ausência de cópula e/ou da eficiência e qualidade do repasto sanguíneo (Colless & Chellapah 1960, Xue et al. 2008). Como foram comparados dois peridomicílios idênticos, sendo um com armadilha e o outro sem, os insetos destes experimentos estavam expostos às mesmas variações. Desta forma, buscamos comparar os dados de oviposição apenas entre os testes que foram avaliados simultaneamente.

A BGS recapturou entre 60 e 80% das fêmeas liberadas, enquanto a GAT recapturou entre 50 e 60 % dos indivíduos avaliados. Assim, mesmo diante de obstáculos visuais e, na maioria das situações, com criadouros competidores, a GAT foi eficiente para recapturar fêmeas de *Ae. aegypti*. Estes resultados corroboram Eiras e colaboradores (2014) que, ao comparar a GAT com outras três armadilhas num outro semicampo simulador de peridomicílio, verificaram que entre 30 e 50% do total de insetos recapturados nas quatro armadilhas estava na GAT. As recapturas na BGS também foram comparáveis a estudos anteriores realizados em semicampo contendo apenas a armadilha (Salazar et al. 2012) ou em um cômodo de uma casa contendo caixas e criadouros (Ball & Ritchie 2010).

As recapturas na BGS do presente estudo, assim como em outros realizados em semicampo (Salazar et al. 2012) ou outras condições de confinamento (Ball & Ritchie 2010), estão superestimadas em relação aos resultados obtidos no campo (Maciel-de-Freitas et al. 2007, Lacroix et al. 2012). Mesmo com a presença de obstáculos visuais e num ambiente heterogêneo como o semicampo do presente estudo, houve um confinamento espacial e temporal

dos insetos que não reflete o ambiente natural. Em avaliação anterior no semicampo, por exemplo, a BGS recapturou entre 66 e 98% das fêmeas nulíparas liberadas nas gaiolas de teste (Salazar et al. 2012). No entanto o percentual de recaptura de fêmeas co-específicas em campo oscilou entre de 11,9 e 13,7 (Maciel-de-Freitas et al. 2007). Tal superestimativa já foi observada também para a MosquiTRAP, que assim como a GAT, é um dispositivo para a captura de fêmeas grávidas. Em condições de semicampo, duas armadilhas MosquiTRAP foram capazes de recapturar 90% das grávidas de *Ae. aegypti* em apenas 2 horas (Roque & Eiras 2008). Entretanto, a recaptura de grávidas na mesma armadilha foi reduzida para 6,4 % durante 18 dias de coleta em campo (Maciel-de-Freitas et al. 2008a). Apesar de ainda não existirem observações de recaptura de *Ae. aegypti* na GAT em condições naturais, infere-se que assim como o observado para a BGS e para a MosquiTRAP, a recaptura em campo seja inferior a do presente estudo.

Mesmo com esta superestimativa, notou-se que a GAT foi tão eficiente quanto a BGS em duas situações: na ausência de criadouros e na presença de 16 recipientes. No entanto, em simulações contendo quatro e oito locais para a oviposição, a BGS recapturou mais fêmeas do que a GAT. Os resultados para as simulações contendo quatro e oito criadouros se aproximaram do observado previamente em campo. Ao compararem a eficiência de ambas as armadilhas em situação natural, Ritchie e colaboradores (2014) verificaram em Cairns (Austrália), que a BGS capturou significativamente maior número de fêmeas do que a GAT. No entanto, no presente estudo, na ausência de criadouros e na presença de 16 recipientes para a oviposição, estas armadilhas apresentaram desempenho comparável. Isto fornece indícios de que a GAT pode ser tão eficiente quanto a BGS para monitorar áreas com muitos ou na ausência de criadouros. Ou seja, como exemplo de uma situação real, antes e após intervenções para remoção de criadouros. Isso é relevante, uma vez que a GAT apresenta custos inferiores a BGS (Ritchie et al. 2014) e, por dispensar o uso de eletricidade, tem maior aceitação dos moradores no momento da instalação (Degener et al. 2014). No entanto é prudente realizar uma avaliação em campo para validação destas inferências de semicampo.

As recapturas de *Ae. aegypti* na GAT e na BGS não foram influenciadas pelo número de criadouros disponíveis. Estes resultados não corroboram o observado por Abreu (2010) ao avaliar uma única grávida do vetor em semicampo contendo dois, quatro, oito ou 16 criadouros e uma armadilha adesiva de oviposição, a MosquiTRAP. O autor verificou uma redução significativa na taxa de recaptura de fêmeas à medida que a densidade de criadouros aumentou. As diferenças observadas entre os trabalhos podem ser decorrentes da avaliação nesta pesquisa

de um grupo de fêmeas ao invés de fêmeas individualizadas. Além disso, trabalhamos com armadilhas diferentes.

Mesmo com a presença de GAT nos peridomicílios com quatro, oito ou 16 criadouros não houve redução no número de ovos depositados em relação aos respectivos peridomicílios controles (sem a armadilha). Uma vez que as fêmeas de *Ae. aegypti* realizam a oviposição em saltos (Fay & Perry 1965, Chadee et al. 1990, Apostol et al. 1994, Reiter et al. 1995, Abreu 2010, Wong et al. 2012), entende-se que elas depositaram a maior parte dos seus ovos em outros criadouros antes de explorarem a GAT no semicampo. Apesar de a armadilha estar iscada com infusão, o que a torna mais atraente que os demais criadouros contendo apenas água (Reiter et al. 1991, Sant'Ana et al. 2006), a GAT continha também inseticida. A ação repelente dos inseticidas (Kline et al. 2004, Xue et al. 2012) pode ter feito com que as fêmeas evitassem a GAT, explorando primeiramente os outros criadouros disponíveis. Assim, no ambiente com quatro criadouros, como havia menor número de recipientes disponíveis, as fêmeas grávidas acabaram explorando a GAT quando ainda estavam grávidas. Possivelmente por isso neste peridomicílio foram recapturadas maior quantidade de grávidas do que nos peridomicílios contendo oito e 16 criadouros. No entanto, como nem no ambiente com quatro criadouros houve uma redução do total de ovos depositados, é possível que as fêmeas tenham espalhado a maior parte dos ovos daquele lote nos outros criadouros antes de se deslocarem para a armadilha. A presença de párias na GAT (que simula um sítio de oviposição) indicou que elas continuaram a visitar os criadouros mesmo após a completa deposição dos ovos daquele lote. É possível que as fêmeas estivessem, desta forma, reconhecendo o território e selecionando criadouros para oviposições subsequentes ou apenas buscando um local para repouso. Com isso, fêmeas párias visitando os possíveis criadouros ou locais para descanso, acabaram recapturadas na GAT.

Mesmo que as armadilhas GAT não tenham reduzido o número de ovos depositados, elas recapturaram entre 50 e 60 % das fêmeas liberadas. Estas deixaram de depositar ovos nos ciclos gonotróficos subsequentes, contribuindo indiretamente para a redução da população do vetor. Considerando que a GAT recapturou uma grande quantidade de adultos no semicampo, comparáveis em algumas situações com BGS, sua ação se mostra ainda mais relevante.

A BGS, por outro lado, reduziu a deposição de ovos nos peridomicílios, sendo esta redução significativa em ambientes com oito e 16 criadouros. Ao avaliar o estado fisiológico das fêmeas recapturadas verificamos que, enquanto no ambiente com quatro criadouros houve uma recaptura comparável de fêmeas grávidas e párias, nos ambientes com oito e 16 criadouros houve uma maior recaptura de grávidas em relação às párias. Mais uma vez foram

recapturadas páridas nas armadilhas, indicando que elas podem ter continuado o forrageamento por sítios de oviposição ou por local para repouso. Novamente as fêmeas espalharam seus ovos entre os criadouros disponíveis, sendo entretanto recapturadas antes de espalharem a maior parte dos ovos. Isto porque houve uma redução no total de ovos depositados em todos os ambientes com armadilha em relação ao controle (sem armadilha). A BGS é um dispositivo ativo que, apresentando um exaustor, pode sucionar indivíduos que se aproximem do dispositivo. Diferentemente da GAT e outros dispositivos passivos, não é dependente da entrada ativa dos vetores na armadilha. Isso pode ter favorecido a recaptura das fêmeas que estavam voando em busca de um criadouro. Embora a BGS tenha sido desenvolvida para capturar grávidas do vetor, ela coleta fêmeas nos mais diferentes estados fisiológicos, incluindo grávidas. Assim, esta armadilha contribuiu diretamente (redução do número de ovos depositados) e indiretamente (redução do número de fêmeas que realizariam oviposições subsequentes) para a redução da população do vetor. Em ambiente natural a armadilha pode desempenhar ambas as funções.

Abreu (2010), ao avaliar uma única grávida de *Ae. aegypti* em semicampo, notou que com a presença da MosquiTRAP houve uma redução significativa na deposição de ovos em todas densidades de criadouros (dois, quatro, oito e 16) quando comparados com os ensaios onde a armadilha MosquiTRAP estava ausente. É importante ressaltar que estes resultados estão de acordo com os observados para a BGS, mas não estão de acordo com os resultados dos bioensaios com a GAT. Possivelmente tal diferença possa ser decorrente do uso de inseticidas na GAT e da avaliação de um grupo de insetos ao invés de fêmeas individualizadas. Bioensaios onde são avaliados grupos de fêmeas ou fêmeas individualizadas tendem a apresentar resultados diferentes por fatores como a interação entre fêmeas, presença de imaturos co-específicos nos criadouros e presença de fêmeas na armadilha.

O grupo de fêmeas avaliado em condições de semicampo depositou ovos em praticamente todos os criadouros disponíveis. Apenas em duas repetições nos peridomicílios contendo 16 criadouros, uma na avaliação da GAT e outra na avaliação da BGS, verificou-se que um dos criadouros não foi utilizado. Apesar de praticamente todos os criadouros serem colonizados, houve uma tendência de os maiores recipientes receberem um maior percentual de ovos do que os menores. Estes resultados corroboram os observados no capítulo II desta tese, quando avaliamos apenas uma grávida de *Ae. aegypti* em semicampo. A preferência por recipientes grandes já foi demonstrada para o *Ae. aegypti* em semicampo (Harrington et al. 2008) e em campo (Wong et al. 2011). Isto possivelmente ocorre porque criadouros maiores são

visualmente mais atrativos, mais resistentes à dessecação e apresentam maior disponibilidade de alimento. No entanto, quando os criadouros são suficientemente grandes (diâmetro de superfície maior que 270 cm) esta vantagem desaparece e estes criadouros passam a apresentar uma atratividade igual para as fêmeas do vetor. Possivelmente não observamos isto por termos trabalhado com criadouros menores.

Apesar de os criadouros maiores terem recebido maior número de ovos, a produtividade dos recipientes de diferentes dimensões foi igual. Os criadouros maiores apresentam mais recursos para o desenvolvimento de imaturos, como espaço e matéria orgânica (Wong et al. 2011, Wong et al. 2012) que neste trabalho foi representado pelos detritos das palhetas de diferentes dimensões. Por isso, estes criadouros, mesmo com uma maior quantidade de indivíduos, apresentaram a mesma proporção de indivíduos vivos que os recipientes menores. Se extrapolarmos para as condições naturais, veremos que estes criadouros são mais produtivos que os menores uma vez que além de receberem maior número de ovos, permitem o desenvolvimento destes assim como os criadouros menores, que recebem uma menor quantidade de ovos. Desta forma, estes criadouros devem ser observados com cautela em programas de controle da dengue.

Com estes experimentos demonstramos que a GAT e a BGS foram consideradas ferramentas eficazes na recaptura de fêmeas de *Ae. aegypti*, mesmo competindo com outros criadouros em semicampo. Concluiu-se ainda que apesar de todos os criadouros terem sido utilizados, os criadouros maiores receberam mais ovos que os menores, sem prejuízo à sua produtividade.

III.6 CONCLUSÕES

Concluiu-se que as fêmeas de *Ae. aegypti* tendem a depositar maior percentual de ovos nos criadouros maiores em detrimento dos menores, independente do número de criadouros disponíveis e da presença e armadilhas.

Além disso, os criadouros de todas as dimensões avaliadas apresentaram produtividade de *Ae. aegypti* semelhante.

Concluiu-se ainda que a armadilha GAT foi tão eficiente quanto a BGS em simulações de peridomicílios no semicampo sem criadouros ou contendo 16 recipientes para a oviposição. A armadilha GAT recapturou mais da metade das fêmeas de *Ae. aegypti* liberadas em ambiente

heterogêneo e contendo diferentes quantidades de criadouros (0, 4, 8 e 16). A armadilha BGS recapturou entre 60 e 80% dos indivíduos liberados e reduziu a deposição de ovos nos peridomicílios, sendo esta redução significativa nos ambientes com oito e 16 criadouros.

CAPÍTULO IV

Avaliação de agentes exterminantes alternativos para associar à Gravid *Aedes* Trap (GAT), garantindo a eficiência do dispositivo na captura de *Aedes aegypti*

RESUMO

Uma das ferramentas para combater o *Aedes aegypti* é o seu monitoramento com armadilhas específicas. Recentemente foi desenvolvida uma armadilha de oviposição que dispensa eletricidade e cartão adesivo, a Gravid *Aedes* Trap (GAT). Os insetos capturados no dispositivo são mortos com um agente exterminante, sendo o utilizado atualmente o spray de superfície Mortein[®] para este fim. No presente trabalho, objetivou-se encontrar agentes exterminantes alternativos para associar à GAT. Para isso foram realizados testes de escape e *knock down* em laboratório, testes de entrada no semicampo e avaliação dos melhores protótipos em quadrados latinos no campo. Nós identificamos que telas impregnadas com inseticida (Bestnet Netprotect[®]) foram agentes exterminantes tão eficientes quanto o Mortein[®] em avaliação no laboratório, semicampo e campo. Para garantir esta eficiência foi necessário colocar o mosquito impregnado no fundo da câmara translúcida e (a) circundando as paredes do funil de entrada ou (b) circundando as laterais internas da câmara translúcida. O Metofluthrin[®], apesar de ser tão eficiente quanto o Mortein[®] nos testes de bancada (escape e *knock down*), apresentou uma tendência de reduzir o número de GATs positivas para o *Ae. aegypti* em campo. Além disso, foi demonstrada uma nova metodologia para avaliar o escape de *Ae. aegypti* da armadilha GAT. Esta técnica consiste em colocar um recipiente translúcido contendo um cartão adesivo transparente sobre o funil de entrada da armadilha. Concluímos que os mosquitos impregnados com inseticidas (Bestnet Netprotect[®]) foram eficientes como agentes exterminantes associados à GAT, apresentando potencial para serem utilizados em grande escala. Por outro lado, deve-se evitar o uso de Metofluthrin[®] no dispositivo.

IV.1 INTRODUÇÃO

Fêmeas de *Aedes (Stegomyia) aegypti* são potenciais vetores de várias arboviroses humanas como a dengue, o Chikungunya e a febre amarela urbana (Gubler 2008). Atualmente não existem medicamentos específicos capazes de combater os arbovírus envolvidos em cada moléstia, além de existir vacina apenas a profilaxia de febre amarela (Jonker et al. 2013). Diante disso a prevenção e redução das arboviroses transmitidas pelo *Ae. aegypti* dependem do controle dos mosquitos ou da interrupção do contato de humanos com o vetor (WHO 2012).

Nas últimas décadas, vem sendo enfatizado o controle integrado do vetor para reduzir as populações de *Ae. aegypti*. Este consiste da combinação dos métodos disponíveis de forma eficiente, econômica e segura, resultando em ações simples e efetivas que podem ser adotadas pela comunidade. Assim, para controlar a população do vetor é relevante limitar os fatores para a sua sobrevivência, implementar educação sanitária, expandir serviços de saneamento e coleta de lixo, usar controles biológicos e/ou químicos, além de barreira mecânicas quando necessário (Gubler & Clark 1994). Além disso, novas tecnologias devem ser incorporadas às práticas do controle integrado para otimizar as ações (WHO 2012). Entre estas novas tecnologias encontram-se o uso de materiais tratados com inseticidas (Kroeger et al. 2006, Lenhart et al. 2008, Vanlerberghe et al. 2011, Tsunoda et al. 2013), a liberação de insetos geneticamente modificados (Lacroix et al. 2012) ou artificialmente infectados com a bactéria *Wolbachia* (Hoffmann et al. 2011, Walker et al. 2011), a dispersão de repelentes espaciais (Lloyd et al. 2013, Salazar et al. 2013) e o uso de armadilhas para o monitoramento de adultos (Eiras & Resende 2009, Ritchie et al. 2014).

Atualmente existem algumas armadilhas disponíveis para o monitoramento do *Ae. aegypti*, através da coleta de ovos (Ovitampas), fêmeas em busca de sítios de oviposição (BGS and BG-Mosquitito) ou fêmeas grávidas (MosquiTRAP, Sticky trap, Double sticky trap and CDC-AGO trap). A Ovitampa detecta a espécie através da coleta de ovos. Esta armadilha foi desenvolvida na década de 1960 (Fay & Perry 1965, Fay & Eliason 1966) e ainda é ferramenta nos programas de monitoramento. Consiste num recipiente de plástico preto, com capacidade de 1000 mL, contendo uma palheta de madeira para coletar os ovos depositados por fêmeas de *Ae. aegypti*. No entanto, a Ovitampa requer a coleta de palheta com ovos para eclosão e identificações das larvas em laboratório. Assim é uma metodologia laboriosa e que permite informações sobre a população do vetor com um atraso de pelo menos uma semana, tempo

necessário para eclosão e identificação das larvas (Reiter et al. 1991, Ritchie et al. 2003, Chadee & Ritchie 2010).

Algumas armadilhas para a captura de adultos de *Ae. aegypti* dependem de fonte de energia para a sua operação, como a BG-Sentinel[®] (Krockel et al 2006) e a BG-Mosquitito[®] (Hapairai et al. 2013). Muitas vezes estas armadilhas não são bem aceitas pela população, que teme gastos extras com a conta de luz. Além disso, se faltar energia ou se o morador desligar a armadilha por alguns minutos há comprometimento das coletas (Degener et al. 2013). Como alternativa, existem as armadilhas que não dependem de energia elétrica, como a Sticky trap (Ritchie et al. 2003), a Double sticky trap (Chadee & Ritchie 2010), a MosquiTRAP (Fávaro et al. 2006, Eiras & Resende 2009) e a CDC-AGO trap (Barrera et al. 2014). Em todos estes dispositivos utiliza-se um cartão adesivo para aprisionar o mosquito na armadilha. Apesar de ser uma alternativa ecológica, não é prático trabalhar com a cola e os insetos coletados muitas vezes são danificados por ela dificultando a identificação (Eiras et al. 2014, Ritchie et al. 2014).

Como alternativa às armadilhas adesivas foi desenvolvida a Gravid *Aedes* Trap (GAT), específica para a captura de grávidas de *Ae. aegypti* (Eiras et al. 2014). A GAT independe de energia elétrica, é leve, prática e barata. Sendo assim é uma alternativa viável para o monitoramento do vetor em países em desenvolvimento. Além disso, pode ser uma ferramenta para o monitoramento de populações artificialmente infectadas com *Wolbachia* ou para coletar vetores para análises moleculares (Ritchie et al. 2014). Ao entrar na armadilha os insetos são exterminados com um inseticida em cerca de 15 minutos (Eiras et al. 2014). Atualmente o inseticida utilizado na GAT é um spray de superfície (Mortein Outdoor Barrier Surface Spray[®], Imiprotrina 0.3 g/Kg com 0.6 g/Kg Deltametrina), selecionado entre outros agentes exterminantes como o Metofluthrin[®] e a λ -cialotrina (Eiras et al. 2014). O inseticida é borrifado na parede interna da câmara translúcida e na tela preta pelo menos 24 h antes do início dos testes e deve ser reaplicado mensalmente (Eiras et al. 2014, Ritchie et al. 2014).

Apesar de o spray de superfície ser bastante eficiente, é interessante disponibilizar agentes exterminantes alternativos que possam ser incorporados na GAT em produção em larga escala. Isto é interessante em áreas onde já existem populações resistentes (Ritchie et al. 2014). Além disso é relevante identificar agentes exterminantes que tornem a armadilha mais prática, dispensando a borrifação mensal. Diante disso o objetivo do trabalho foi avaliar o potencial de telas impregnadas com inseticidas (Bestnet Netprotect[®]) e Metofluthrin[®] em matar os adultos capturados na GAT, em laboratório, semicampo e campo.

IV.2 OBJETIVOS

IV.2.1 Objetivo Geral

Avaliar a ação de agentes exterminantes alternativos (telas impregnadas com inseticidas e Metofluthrin[®]) associados à GAT em condições de laboratório, campo e semicampo.

IV.2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar o escape de fêmeas de *Ae. aegypti* de protótipos da GAT contendo os agentes exterminantes alternativos (Bestnet Netprotect[®] ou Metofluthrin[®]);
- ✓ Avaliar o “*knock down*” de fêmeas de *Ae. aegypti* em protótipos da GAT contendo os agentes exterminantes alternativos (Bestnet Netprotect[®] ou Metofluthrin[®]);
- ✓ Avaliar a recaptura de fêmeas grávidas de *Ae. aegypti* em GAT contendo os novos agentes exterminantes em condições de semicampo;
- ✓ Avaliar a captura de *Ae. aegypti* em protótipos da GAT contendo agentes exterminantes alternativos em campo.

IV.3 METODOLOGIA

IV.3.1 Manutenção de *Ae. aegypti* em condições de laboratório

A colônia de *Ae. aegypti* utilizada nos bioensaios foi estabelecida a partir de ovos coletados em Ovitrampas instaladas em Cairns, Queensland, Australia. As larvas foram criadas em recipientes plásticos circulares com capacidade máxima de 3L. Tiras de flanela contendo ovos de *Ae. aegypti* foram submergidas em cerca de 1.5 L de água para permitir a eclosão das larvas. Após 24 h, a flanela foi removida e as larvas alimentadas com ração para peixes triturada (TetraMin Rich Mix, Tetra Melle, Germany). Oito dias após a eclosão, larvas de quarto ínstar e pupas foram transferidas para um recipiente plástico (500 mL) contendo cerca de 300 mL de água. Estes recipientes foram colocados em uma gaiola de manutenção (BugDorm-1: Insect rearing cage with screen port, 30 x 30 x 30 cm, Mega View Science Education Services, Taiwan) onde os adultos emergiram. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 50 %. Três vezes na semana, um voluntário oferecia sua perna para que as fêmeas realizassem o repasto sanguíneo (Autorização do Comitê de Ética da James Cook University: protocolo

número 3555). Na gaiola de manutenção foi colocado um copo contendo 150 mL de água e uma tira de flanela vermelha para permitir a oviposição. Este copo foi substituído três vezes na semana e as flanelas contendo ovos armazenadas em caixas adequadas (Eiras et al. 2014).

IV.3.2 Mosquitos utilizados nos experimentos de laboratório e de semicampo

Foram utilizadas fêmeas de *Ae. aegypti* (G₄) procedentes da colônia nos bioensaios de laboratório e semicampo. Nos testes de (a) escape e (b) *knock down* foram utilizadas fêmeas nulíparas. Escolheu-se utilizar fêmeas que não estavam grávidas por elas serem mais ativas dentro da armadilha e, conseqüentemente, estarem mais aptas a escapar do dispositivo (Eiras et al. 2014). Estas fêmeas foram avaliadas entre o quinto e o 15º dia após a emergência. As fêmeas foram retiradas da gaiola de criação com um aspirador manual e adormecidas com gás carbônico. Adormecidas, as fêmeas foram quantificadas e transferidas para um recipiente telado até o momento dos testes. Tal procedimento foi realizado pelo menos 2 horas antes do início dos bioensaios.

Nos testes de semicampo foram avaliadas fêmeas grávidas. Com um aspirador a vácuo os mosquitos foram coletados das gaiolas de criação e anestesiados com CO₂. Com os insetos adormecidos, fêmeas foram quantificadas e transferidas para recipientes de plástico com tampa telada. O repasto sanguíneo foi realizado em um voluntário humano por 20 minutos, ao aproximar a tampa telada do seu braço. As fêmeas foram então anestesiadas em CO₂ e apenas aquelas que realizaram o repasto sanguíneo foram quantificadas e mantidas no recipiente plástico para a avaliação em semicampo. Elas foram avaliadas entre 4 e 6 dias após a hematofagia. Os mosquitos foram procedentes da colônia (G₄), apresentando entre 8 e 15 dias de idade cronológica.

IV.3.3 Gravid *Aedes* Trap (GAT)

A armadilha Gravid *Aedes* Trap (GAT) utilizada nos bioensaios foi detalhadamente descrita em “III.3.5 Armadilha Gravid *Aedes* Trap (GAT)” no Capítulo III desta tese. Ela é constituída por uma base preta (10L), uma câmara coletora translúcida, uma tela preta e um funil de entrada. A câmara translúcida consiste de um recipiente de plástico circular, inserido na base preta. A tela de nylon foi colocada entre a câmara e a base preta separando os dois compartimentos, para evitar o contato dos mosquitos com a infusão. O funil de entrada preto

foi inserido na parte superior da câmara translúcida (Eiras et al. 2014). Na base preta foi acrescentada infusão de 5 péletes de alfafa (~ 2,5 g) em cerca de 3 L de água. A infusão utilizada nos semicampo foi envelhecida entre 7 e 15 dias, enquanto a infusão utilizada nos testes de campo foi preparada no início dos testes e mantida por 4 semanas na armadilha.

IV.3.4 Agentes exterminantes alternativos e padrão utilizados na GAT

O agente exterminante padrão foi o spray de superfície: Mortein Outdoor Barrier Surface Spray[®] (imiprotrina 0.3 g/kg and 0.6 g/kg deltametrina, Reckitt Benschkiser Pty. Ltd., West Ryde, New South Wales, Australia). Este inseticida foi borrifado na parede interna da câmara translúcida e na tela preta da armadilha pelo menos 24 horas antes de iniciar o ensaio (Eiras et al. 2014, Ritchie et al. 2014).

Os agentes exterminantes alternativos avaliados foram: o (1) Metofluthrin[®] e (2) os mosquiteiros impregnados com inseticida Bestnet Netprotect[®]. O Metofluthrin[®] utilizado estava incorporado em uma malha de polietileno (SumiOne[®] net: 212 mg a.i. / 240cm², Sumitomo Chemical Australia Pty Ltd). Um pedaço (1,0 cm² ou 2,5 cm²) da malha contendo Metofluthrin[®] foi pendurado na parede translúcida da GAT e trocado quinzenal (Ritchie & Devine 2013). Já a tela impregnada com inseticida Bestnet Netprotect[®] (LLIN, 200 mesh, 1,8% de deltametrina por peso - preto ou verde) foi utilizada como a tela preta que separa a base preta da câmara translúcida, além de ter sido utilizada para criar diferentes protótipos contendo a tela também no interior da câmara translúcida.

IV.3.5 Bioensaios de laboratório (testes de bancada)

IV.3.5.1 Testes de escape da armadilha GAT em condições de laboratório

Estes bioensaios visaram mensurar o percentual de fêmeas de *Ae. aegypti* que escaparam dos diferentes tratamentos avaliados. Apenas a câmara translúcida, a tela preta (ou correspondente) e o funil de entrada foram utilizados. Eles foram colocados sobre um cartão branco numa bancada do laboratório (Eiras et al. 2014). Um recipiente transparente (500 mL) circundado internamente por um cartão adesivo também transparente foi colocado sobre o funil de entrada da armadilha para capturar os mosquitos que escaparam. Para cada repetição, um grupo de aproximadamente 10 fêmeas nulíparas foram gentilmente liberadas no interior da câmara transparente com um aspirador manual. Após 60 minutos, o número de fêmeas coladas

no cartão adesivo foi anotado. O número de fêmeas que escaparam em relação ao número de fêmeas liberadas (proporção) foi utilizado nas análises. Três ou seis repetições foram realizadas para cada tratamento, num arranjo experimental inteiramente casualizado.

IV.3.5.2 Testes de *knock down* com a armadilha GAT em condições de laboratório

A execução deste ensaio foi similar ao do teste de escape supradescrito. O número de mosquitos considerados *knock down* foi registrado a cada cinco minutos, durante uma hora. As fêmeas que foram consideradas como *knock down* foram aquelas parcialmente paralisadas, inaptas para o voo ou para manter uma postura ereta. Este efeito normalmente antecede a morte diante da exposição a inseticidas (Eiras et al. 2014). O número de fêmeas que sofreram o *knock down* em relação ao total de fêmeas liberadas (proporção) foi utilizado nas análises. Três ou seis repetições foram realizadas para cada tratamento, num delineamento experimental inteiramente casualizado.

IV.3.5.3 Experimento 1: Qual metodologia é melhor para avaliar o escape de fêmeas de *Ae. aegypti* da GAT?

Antes de iniciar os testes de bancada (escape e *knock down*) foram comparadas duas metodologias para quantificar a proporção de fêmeas que escaparam da armadilha GAT. A primeira metodologia consistiu em colocar uma gaiola de criação de mosquitos (Bugdorm-1, 30 x 30 x 30 cm) sobre o funil de entrada da armadilha. Com esta técnica, as fêmeas que escaparam da armadilha permaneceram dentro da gaiola, sendo quantificadas ao final do experimento (Eiras et al. 2014). A segunda metodologia avaliada consistiu em colocar um recipiente translúcido (1L) com o fundo telado sobre o funil de entrada da GAT. As paredes internas deste recipiente foram circundadas com um cartão adesivo também translúcido, assim as fêmeas que escaparam da GAT ficaram coladas no cartão. Seis repetições foram conduzidas para cada tratamento. A segunda metodologia foi escolhida e utilizada em todos os experimentos.

IV.3.5.4 Experimento 2: A cor da tela impregnada com inseticida influencia no comportamento de escape e no tempo de *knock down* de fêmeas de *Ae. aegypti* na GAT?

Antes de iniciar os testes a avaliação das telas impregnadas com inseticidas (Bestnet Netprotect®), foram avaliadas se as cores disponíveis das telas (preta ou verde) influenciam na taxa de escape e no tempo de *knock down* de fêmeas do vetor. Para isso, um pedaço da tela impregnada com inseticida foi colocada no fundo da câmara transparente, em substituição à tela preta utilizada no dispositivo padrão. Além disso, um pedaço desta tela () foi colocado circundando as paredes internas da câmara transparente, em substituição ao spray de superfície. Este protótipo foi denominado como GAT com tela impregnada com inseticida no fundo e nas laterais da câmara transparente. Foram conduzidas três repetições para comparar a (a) tela verde e a (b) tela preta.

IV.3.5.5 Experimento 3: A presença de tela impregnada com inseticida nas laterais da câmara transparente é importante para o rápido *knock down* e para uma menor taxa de escape da GAT?

Foram realizados testes de bancada (escape e *knock down*) com armadilhas GAT contendo (a) tela impregnada apenas no fundo da câmara transparente e (b) tela impregnada no fundo e circundando as laterais internas da câmara transparente. Seis repetições foram realizadas para cada tratamento.

IV.3.5.6 Experimento 4: Como a tela impregnada com inseticida pode ser utilizada no funil de entrada, além do fundo da câmara transparente, para “*knock down*” as fêmeas rapidamente e prevenir o escape da GAT?

Seis repetições dos testes de bancada (escape e *knock down*) foram realizadas. Em todos os tratamentos (exceto o controle), a tela impregnada com inseticida (Bestnet Netprotect®) foi colocada no fundo da câmara transparente da GAT, substituindo a tela preta. Além disso foram acrescentadas tiras desta tela no funil de entrada da armadilha, para acelerar o contato dos mosquitos com o inseticida. Foram desenvolvidos alguns protótipos (Figura 43) e cada um foi considerado um tratamento:

(A) GAT padrão (controle) consistiu da câmara transparente e da tela preta impregnadas com Mortein® pelo menos 24 horas antes do início dos testes (Eiras et al. 2014, Ritchie et al. 2014);

(B) Funil padrão circundado com tela impregnada com inseticida consistiu do funil plástico padrão (13,5 cm de altura, 12,2 cm de diâmetro no topo e 10,4 cm de diâmetro no fundo) com a metade que permanece inserida na câmara transparente circundada com uma pequena tira de tela impregnada (6,5 x 37,0 cm);

(C) Funil curto com tira curta de tela impregnada com inseticida consistiu de um funil plástico curto (7,5 cm de altura, 12,2 cm de diâmetro no topo e 11,3 cm de diâmetro no fundo) do lado externo da câmara translúcida, enquanto dentro da câmara, como uma continuação do funil plástico, foi pendurada uma pequena tira da tela impregnada (6,5 x 37,0 cm). O funil plástico e a tela juntos apresentaram a mesma altura do funil padrão (13,5 cm);

(D) Funil curto com tira longa de tela impregnada com inseticida também consistiu de um funil plástico curto, porém a tira de tela pendurada era mais comprida (11,5 x 37,0 cm). A altura total deste funil, incluindo a parte plástica e a tela foi maior (18,5 cm) do que o funil padrão;

(E) Funil padrão com tira longa de tela impregnada com inseticida consistiu de um funil padrão com a parte presente na câmara transparente circundada com uma tira longa da tela impregnada com inseticida (11,5 x 37,0 cm). Como esta tira é mais comprida, 5 cm da tela ficou pendurada no final do funil, como se fosse uma continuidade do mesmo.

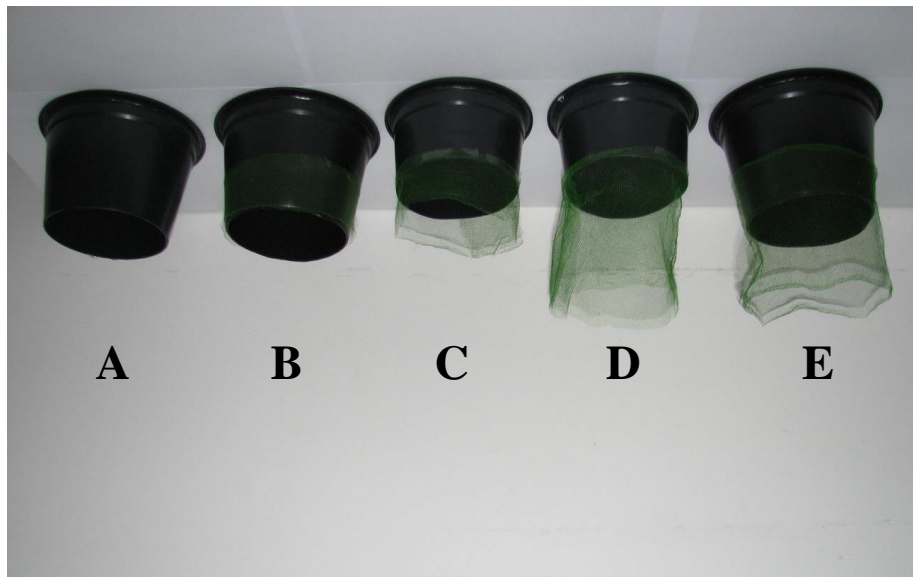


Figura 43. Avaliação de diferentes protótipos contendo tela impregnada com inseticida no funil de entrada. (A) GAT padrão - controle (B) funil padrão circundado com tira curta de tela, (C) funil curto circundado com tira curta de tela, (D) funil curto circundado com tira longa de tela e (E) funil padrão circundado com tira longa de tela.

IV.3.5.7 Experimento 5: Qual o melhor tamanho da tela impregnada com Metofluthrin[®] a ser usada na GAT como agente exterminante para prevenir o escape e garantir o rápido *knock down* de *Ae. aegypti* no interior do dispositivo?

Foram avaliados três tratamentos usando o Metofluthrin[®] como agente exterminante na GAT: (a) Mortein[®] (agente exterminante padrão), (b) tira de 1 cm² de Metofluthrin[®] e (c) tira com 2.5 cm² de Metofluthrin[®]. As tiras de Metofluthrin[®] foram penduradas nas paredes internas da câmara transparente e seis repetições foram realizadas para cada tratamento, tanto para os testes de escape quanto para os testes de *knock down*.

IV.3.6 Bioensaios de semicampo

IV.3.6.1 Área de semicampo

Os experimentos de semicampo foram conduzidos no Mosquito Research Facility, Semi-Field System (MRF-SFS) da James Cook University (JCU), descrito previamente (Ritchie et al. 2011). O MRF-SFS consiste de um laboratório de quarentena-nível 2, com duas áreas experimentais de semicampo idênticas. O MRF-SFS foi instalado numa área de 133 m² no *Campus* Smithfield (16°48'58''S, 145°41'15''E). As paredes do são constituídas por duas

camadas de uma tela de aço inoxidável (mesh de 0.25 mm). Ela previne o escape de mosquitos e o ingresso de outros insetos na gaiola. Partes da área de semicampo são protegidas dos raios ultravioletas e das chuvas por uma cobertura que confere um sombreamento de 90 %. Dentro de cada gaiola existe uma estrutura simulando o jardim de uma casa típica do estado de Queensland. Ali existem algumas cadeiras, mesas, sofás e alguns materiais entulhados. O resto da área consiste de um jardim. Todos os experimentos foram conduzidos na Gaiola B. Atualmente o jardim da casa foi reduzido para aproximadamente 2/3 do jardim originalmente descrito (Ritchie et al. 2011).

IV.3.6.2 Experimento 6: Protótipos de GAT contendo telas impregnadas com inseticida são agentes exterminantes eficientes em condições de semicampo?

As armadilhas contendo os tratamentos avaliados foram instaladas no jardim da gaiola B da área experimental de semicampo do MRF-SFS, JCU, Cairns-Australia (Ritchie et al. 2011). Foram mantidas a pelo menos três metros de distância uma da outra. Os experimentos tiveram a duração de 24 horas, começando entre a 5^a e 7^a hora de fotofase. Foi utilizado o delineamento de quadrado latino, sendo as armadilhas rodadas diariamente para evitar a influência da posição nas recapturas. Ao final dos testes, as GAT avaliadas foram recolhidas e o número de *Ae. aegypti* recapturado em cada tratamento quantificado (Eiras et al. 2014). Diariamente foram liberadas cerca de 50 fêmeas grávidas na gaiola B, sendo que estes não foram eliminados antes do início do experimento subsequente. Assim, os resultados foram analisados como a proporção de mosquitos recapturados em cada armadilha em relação ao total de recapturas na repetição, conforme metodologia descrita por Eiras e colaboradores (2014).

Os tratamentos contendo tela impregnada com inseticida (Bestnet Netprotect[®]) que apresentaram os menores percentuais de escape e os melhores resultados de *knock down* foram avaliados em semicampo. O objetivo deste teste foi escolher os melhores tratamentos para comparação em campo com o Mortein[®] (controle) e com o Metofluthrin[®]. Assim, os tratamentos avaliados no semicampo foram: (a) Mortein[®] – agente exterminante padrão, (b) tela impregnada substituindo a tela preta e circundando as laterais internas da câmara transparente, (c) tela impregnada substituindo a tela preta e uma tira curta circundando o funil de entrada padrão, (d) tela impregnada substituindo a tela preta e uma tira longa da tela circundando o funil de entrada curto. Foram realizadas 8 repetições em Novembro de 2013.

IV.3.7 Bioensaios de campo

IV.3.7.1 Experimento 7: Os agentes exterminantes alternativos são eficientes quando associados à GAT em condições de campo?

Os testes de campo foram conduzidos nos subúrbios Parramatta Park e Cairns North, Cairns (Queensland, Australia). Estes bairros foram escolhidos porque apresentam casas típicas do estado que favorecem uma desordem no peridomicílio e normalmente não apresentam telas nas janelas, favorecendo a dinâmica populacional de *Ae. aegypti*. Ambos os subúrbios apresentam uma população elevada de *Ae. aegypti* e histórico de transmissão de dengue (Ritchie et al. 2014).

Os testes de campo foram conduzidos em duas campanhas, sendo a primeira realizada em Novembro e Dezembro de 2013 com quatro quadrados latinos (4 x 4) rodando simultaneamente. A segunda campanha foi conduzida em Janeiro e Fevereiro de 2014 com três quadrados latinos (4x4) rodando simultaneamente. Os agentes exterminantes alternativos avaliados foram: (a) GAT padrão (Mortein[®]), (b) GAT com um pedaço de Metofluthrin[®] (2.5 cm²), (c) GAT com tela impregnada substituindo a tela preta e circundando a lateral interna da câmara transparente e (d) GAT com tela impregnada substituindo a tela preta e uma tira curta de mosquiteiro circundando o funil padrão. Foram realizadas 28 repetições para cada tratamento, sendo as armadilhas vistoriadas semanalmente.

IV.3.8 Análises estatísticas

Nos testes de escape a variável resposta foi a razão entre o número de fêmeas de *Ae. aegypti* que escaparam em relação ao total de fêmeas liberadas. A variável explicativa foi o tratamento avaliado (agentes exterminantes). Nos testes de semicampo considerou-se como variável resposta a razão entre o número de insetos recapturados em cada armadilha em relação ao número de insetos totais recapturados na repetição. Esta razão foi criada devido à impossibilidade de exterminar todos os insetos de uma repetição antes de começar novo experimento (Eiras et al. 2014). A variável explicativa foi o tratamento (agentes exterminantes). Estes dados foram analisados através de Modelos Lineares Generalizados (MLG), com variável resposta com distribuição Quasibinomial. Os modelos foram comparados através de análises de contraste por ANOVA seguida do teste Qui Quadrado, ambos com 5 % de significância.

Nos testes de *knock down* a variável resposta foi o tempo máximo gasto para o “*knock down*” de todas as fêmeas, enquanto a variável explicativa foi o tratamento (agentes exterminantes). Em campo, a variável resposta foi o número de fêmeas de *Ae. aegypti* capturadas nas armadilhas GAT. As variáveis explicativas foram: (a) endereço de instalação das armadilhas, (b) semana em que elas permaneceram em campo, (c) blocos de quadrados latinos, (d) campanha e (e) tratamento avaliado. Estes dados foram analisados através de MLG, com distribuição Normal. Os modelos foram comparados através de análises de contraste por ANOVA seguida do teste F, ambos com 5 % de significância.

O programa R (<http://www.R-project.org>) foi utilizado para a realização de análises estatísticas e o programa GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Software, San Diego, California, EUA) (5.0) para a produção de gráficos.

IV.4 RESULTADOS

IV.4.1 Experimento 1: Qual metodologia é melhor para avaliar o escape de fêmeas de *Ae. aegypti* da GAT?

Os percentuais de fêmeas que escaparam da GAT foram similares em ambas as metodologias avaliadas (MLG; $df = 0,300$; $X^2 = -0,053$; $p = 0,134$). Com a gaiola de criação (Bugdorm-1) colocada sobre o funil de entrada da GAT, verificou-se que 13,3 ($\pm 3,33$) % das fêmeas escaparam. Com o recipiente translúcido circundado com cartão adesivo sobre o funil de entrada, 8,33 ($\pm 1,67$) % das fêmeas foram capazes de escapar do dispositivo. Uma vez que não houve diferença significativa entre ambas as metodologias, a última (recipiente com cartão adesivo) foi utilizada nos experimentos desta tese.

IV.4.2 Experimento 2: A cor da tela impregnada com inseticida influencia no comportamento de escape e no tempo de “*knock down*” de fêmeas de *Ae. aegypti* na GAT?

O percentual de fêmeas de *Ae. aegypti* que escaparam da GAT contendo tela impregnada com inseticida (Bestnet Netprotect[®]) na cor verde ($10,0 \pm 0,00\%$) foi um pouco maior do que o escape da GAT com tela de coloração preta ($6,7 \pm 3,33\%$). Entretanto, esta diferença não foi significativa (MLG; $df = 0,191$; $X^2 = -0,022$; $p = 0,365$) (Fig. 44 A). O tempo de “*knock down*” foi similar para ambos os tratamentos. As fêmeas de *Ae. aegypti* começaram a ser “*knock down*”

após 5 minutos de exposição às telas impregnadas com inseticida. Além disso, independente da cor utilizada (verde ou preta), mais de 90 % das fêmeas foram *knock down* após 25 minutos de exposição (Fig. 44 B). Uma vez que não verificamos diferenças significativas entre mosquiteiros impregnados de coloração verde e preta, o primeiro foi escolhido e utilizado nos testes subsequentes.

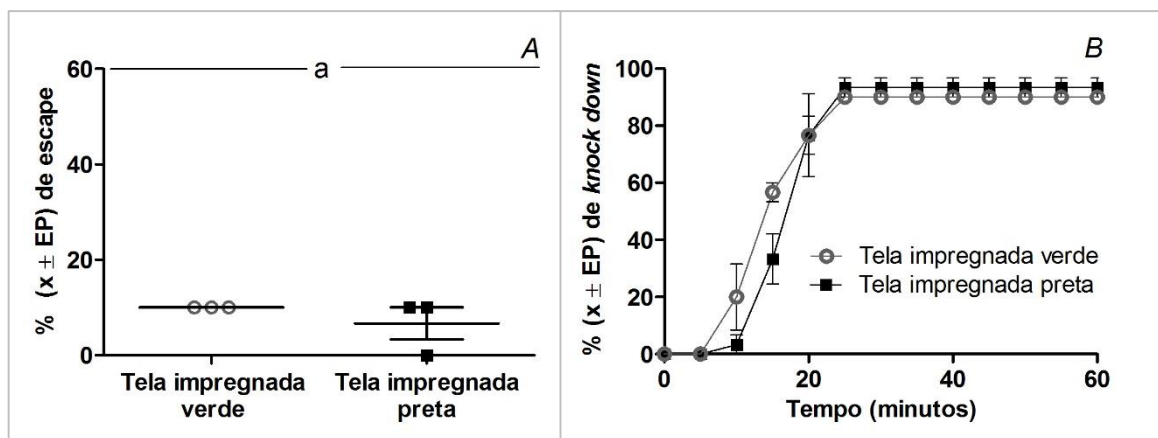


Figura 44. Comparação entre o comportamento de escape e tempo de “*knock down*” de fêmeas de *Aedes aegypti* em câmaras translúcidas contendo tela impregnada com inseticida de coloração verde ou preta em condições de laboratório. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os percentuais de escape - MLG, $p < 0,05$.

IV.4.3 Experimento 3: A presença de tela impregnada com inseticida nas laterais da câmara transparente é importante para o rápido *knock down* e para uma menor taxa de escape da GAT?

A tela impregnada com inseticida (Bestnet Netprotect®) presente no fundo e circundando as laterais internas da câmara translúcida reduziu significativamente o escape de *Ae. aegypti* em relação ao protótipo contendo tela apenas no fundo da câmara transparente (MLG; $df = 0,992$; $X^2 = -0,640$; $p < 0,001$; Fig. 45 A). Além disso, o “*knock down*” das fêmeas foi significativamente mais rápido nas armadilhas com tela impregnada com inseticida disposta no fundo e circundando as laterais internas da câmara translúcida do que nas armadilhas com tela apenas no fundo da câmara transparente (MLG; $df = 366,670$; $X^2 = -300,000$; $p < 0,001$). Curiosamente, a GAT com tela impregnada apenas no fundo da câmara transparente foi

responsável pelo *knock down* de 75,0 (\pm 3,42) % das fêmeas após 33,3 (\pm 1,05) min. de exposição contínua. Enquanto isso, a GAT com a tela no fundo e nas laterais da câmara transparente apresentou 91,7 (\pm 1,67) % das fêmeas “*knock down*” após 23,3 (\pm 1,05) min. de exposição (Fig. 45 B).

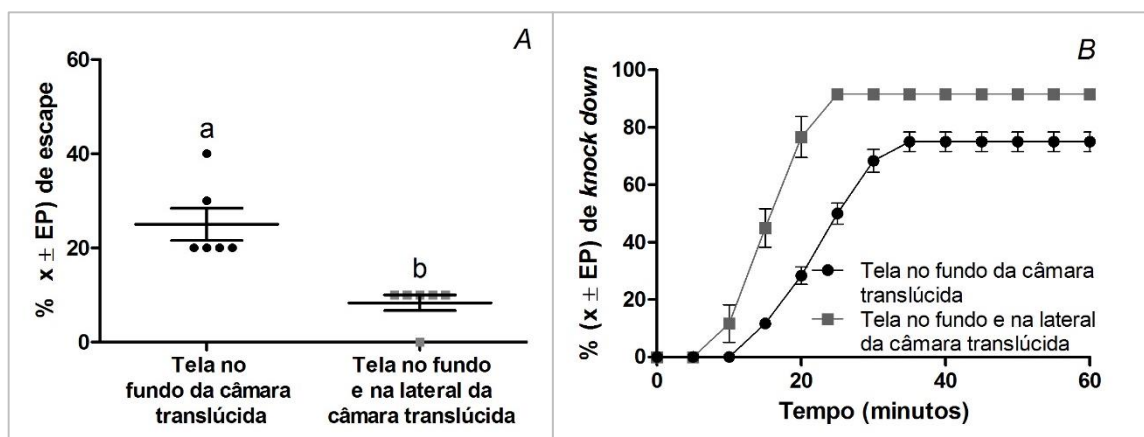


Figura 45. Comparação entre o comportamento de escape e tempo de *knock down* de fêmeas de *Aedes aegypti* em câmaras translúcidas contendo tela impregnada com inseticida verde em diferentes arranjos dentro da câmara translúcida em condições de laboratório. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os percentuais de escape - MLG, $p < 0,05$.

IV.4.4 Experimento 4: Como a tela impregnada com inseticida pode ser utilizada no funil de entrada, além do fundo da câmara transparente, para *knock down* as fêmeas rapidamente e prevenir o escape da GAT?

Ao avaliar os protótipos com a tela impregnada com inseticida (Bestnet Netprotect[®]) associada ao funil de entrada da GAT, notou-se que o menor percentual de escape foi obtido na GAT padrão, contendo Mortein[®] como agente exterminante. No entanto, não houve diferença significativa entre o escape de fêmeas da (1) GAT padrão e dos protótipos com (2) funil padrão circundado por uma pequena tira de tela impregnada, (3) funil padrão circundado por uma grande tira de tela impregnada e (4) funil curto circundado por pequena tira de tela impregnada (MLG; $df = 3,008$; $X^2 = -0,195$; $p = 0,166$). A GAT contendo funil curto circundado por grande tira de tela impregnada com inseticida apresentou o maior percentual de escape (MLG; $df = 4,478$; $X^2 = -2,038$; $p < 0,001$) entre os tratamentos avaliados, conforme Figura 46 A.

O tempo de "knock down" também foi diferente entre os tratamentos avaliados. As armadilhas GAT padrão e GAT contendo funil padrão circundado por pequena tira de tela impregnada apresentaram os maiores percentuais de fêmeas sendo *knock down*, respectivamente, 97,3 e 95,3%. Embora estes valores tenham sido semelhantes, o *knock down* de *Ae. aegypti* na GAT padrão ($20,8 \pm 2,01$ min) foi significativamente mais rápido do que no protótipo com funil padrão circundado por pequena tira de tela ($30,8 \pm 0,83$ min) (GLM, $df = 2.191,700$, $F = 4,282$, $p = 0,048$). Por outro lado, o tempo de *knock down* não diferiu significativamente entre os protótipos contendo (1) funil padrão circundado com uma tira de tela impregnada comprida (2) funil curto circundado com uma tira pequena de tela impregnada e (3) funil curto circundado com uma tira comprida de tela impregnada (MLG; $df = 1.891,700$; $F = 2,341$; $p = 0,138$). Menos de 90 % dos mosquitos avaliados foram *knock down* após 60 min de exposição a estes tratamentos (Fig. 46 B).

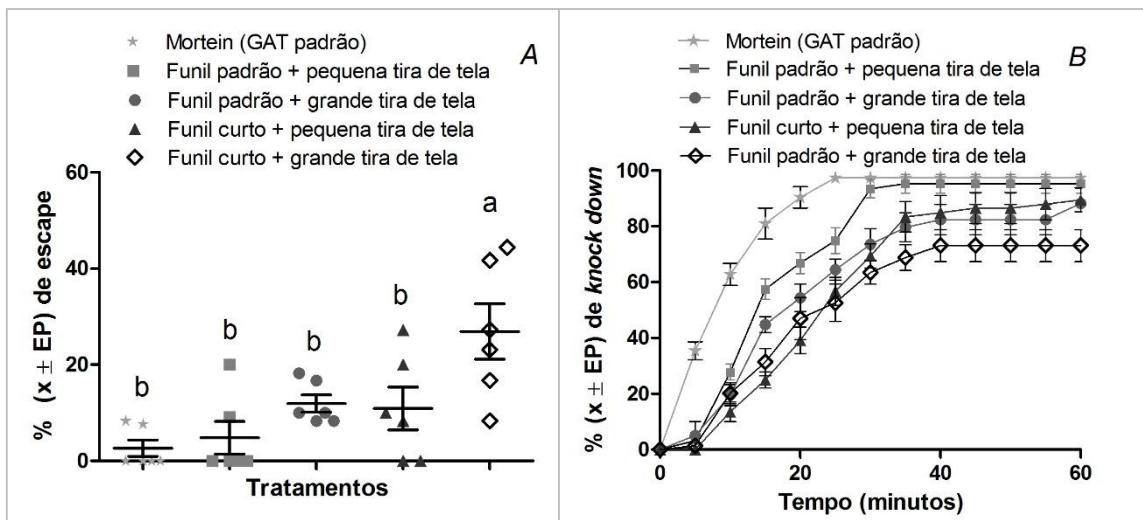


Figura 46. Comparação entre o comportamento de escape e tempo de *knock down* de fêmeas de *Aedes aegypti* em câmaras translúcidas contendo tela impregnada com inseticida em diferentes arranjos no funil de entrada da armadilha, em condições de laboratório. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os percentuais de escape - MLG, $p < 0,05$.

IV.4.5 Experimento 5: Qual o melhor tamanho da tela impregnada com Metofluthrin® a ser usada na GAT como agente exterminante para prevenir o escape e garantir o rápido *knock down* de *Ae. aegypti* no interior do dispositivo?

O percentual de fêmeas que escaparam da GAT com um pequeno pedaço (1,0 cm²) de Metofluthrin® foi significativamente maior do que o observado para a GAT com um fragmento maior do inseticida (2,5 cm²) (MLG; df = 2,189; X² = 0,686; p = 0,008), conforme Figura 47 A. Além disso, em cerca de 10 min. de exposição aos agentes exterminantes da GAT padrão e do pedaço de 2,5 cm² de Metofluthrin®, as fêmeas de *Ae. aegypti* foram completamente *knock down* (MLG; df = 341,67; F = 0,325; p = 0,578). Enquanto isso foram necessários 30 minutos para o "*knock down*" dos indivíduos expostos ao pedaço pequeno (1.0 cm²) de Metofluthrin® (MLG, df = 693,750; F = 7,028; p = 0,009), como mostrado na Figura 47 B.

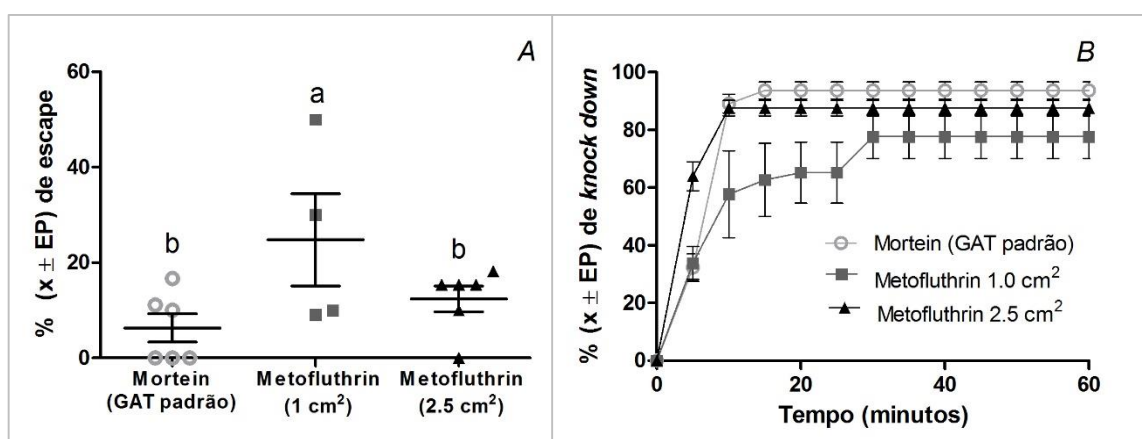


Figura 47. Comparação entre o comportamento de escape e tempo de *knock down* de fêmeas de *Aedes aegypti* em câmaras translúcidas contendo Mortein® ou Metofluthrin, em condições de laboratório. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os percentuais de escape – MLG, p < 0,05.

IV.4.6 Experimento 6: Protótipos de GAT contendo telas impregnadas com inseticida são agentes exterminantes eficientes em condições de semicampo

O percentual de grávidas de *Ae. aegypti* recapturadas nas armadilhas diferiu significativamente entre os agentes exterminantes avaliados em semicampo (MLG; df = 2,102; X² = -0,938; p < 0,001). O protótipo da GAT com funil curto circundado com uma tira grande

de tela impregnada com inseticida recapturou a minoria dos mosquitos avaliados (MLG; $df = 2,102$; $X^2 = -0,938$; $p < 0,001$). Entretanto, não houve diferença significativa entre as recapturas na (1) GAT padrão, (2) GAT com tela impregnada no fundo e circundando as laterais da câmara transparente e (3) GAT com funil padrão circundado por uma pequena tira de tela impregnada (MLG; $df = 1,196$; $X^2 = 0,028$; $p = 0,411$), conforme demonstrado na Figura 48.

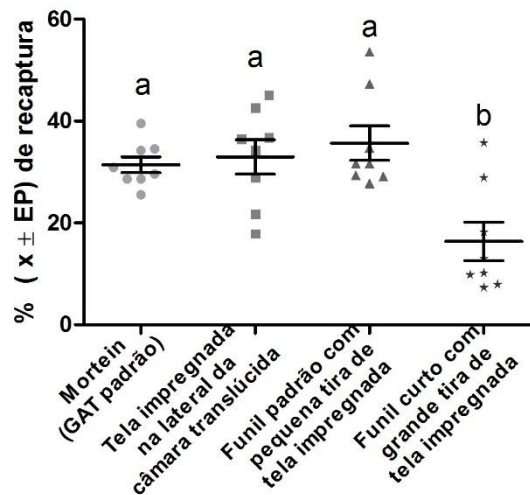


Figura 48. Avaliação de diferentes agentes exterminantes associados à GAT na recaptura de fêmeas grávidas de *Aedes aegypti* em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre tratamentos. MLG, $p < 0,05$.

IV.4.7 Experimento 7: Os agentes exterminantes alternativos são eficientes quando associados à GAT em condições de campo?

Durante os testes de campo, 225 fêmeas e 13 machos de *Ae. aegypti* foram capturados nas GAT com os diferentes agentes exterminantes. Entre as 225 fêmeas capturadas, 122 (50,62 %) estavam grávidas e 119 (49,8 %) estavam não grávidas. Outras espécies de mosquitos também foram coletadas, sendo elas *Culex quinquefasciatus* (3 machos e 24 fêmeas) e *Aedes notoscriptus* (1 macho e 19 fêmeas).

O número de fêmeas de *Ae. aegypti* capturadas na GAT com os diferentes agentes exterminantes não diferiu significativamente das capturas na GAT padrão com Mortein® (MLG; $df = 55,750$; $F = 1,260$; $p = 0,292$), conforme demonstrado na Figura 49.

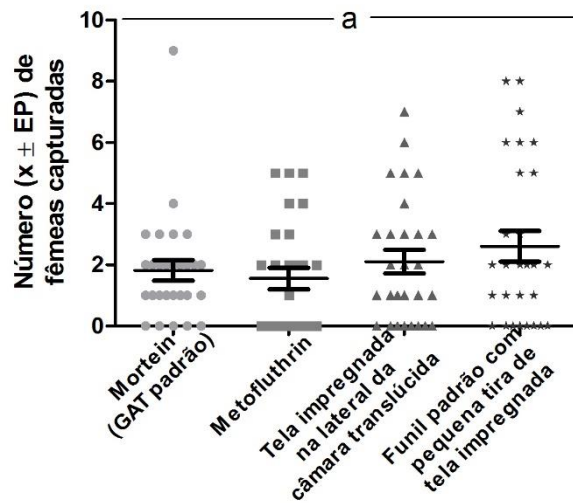


Figura 49. Avaliação de agentes exterminantes alternativos na captura de fêmeas de *Aedes aegypti* em armadilhas GAT instaladas no campo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos - MLG, $p < 0,05$.

Não foi observada influência significativa da campanha (MLG; $df = 556,420$; $F = 0,004$; $p = 0,952$), do bloco (MLG; $df = 490,920$; $F = 0,333$; $p = 0,900$) e do endereço de instalação das armadilhas (MLG; $df = 551,750$; $F = 1,546$; $p = 0,083$) na captura de fêmeas no campo. Notou-se, entretanto, a influência das semanas na captura de fêmeas de *Ae. aegypti* em condições de campo. Em ambas as campanhas a média ($\pm EP$) foi significativamente maior na terceira semana de experimento ($3,58 \pm 0,45$) do que nas demais (MLG; $df = 551,750$; $F = 2,554$; $p = 0,018$). A média de captura na primeira semana ($1,08 \pm 0,21$) não diferiu significativamente da segunda ($2,04 \pm 0,43$) (MLG; $df = 478,600$; $F = 1,744$; $p = 0,189$), sendo ambas iguais à média da quarta semana ($2,46 \pm 0,52$) (MLG; $df = 492,540$; $F = 3,146$; $p = 0,079$), conforme Figura 50.

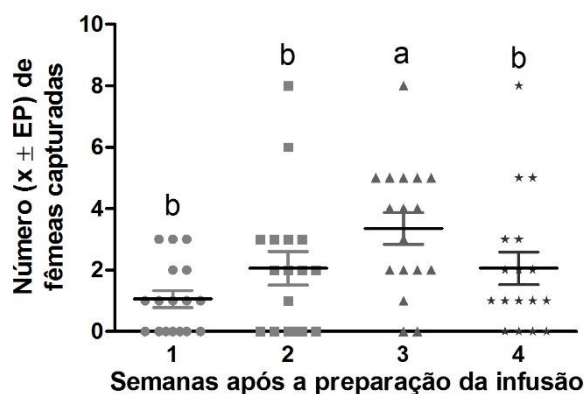


Figura 50. Número ($x \pm EP$) de fêmeas de *Aedes aegypti* capturadas na GAT com infusão envelhecida por diferentes semanas em condições de campo. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos - MLG, $p < 0,05$.

Armadilhas contendo Metofluthrin® apresentaram o menor percentual de positividade (50,0 %) nas avaliações de campo. As armadilhas contendo (1) tela impregnada no fundo e nas laterais da câmara transparente e (2) funil padrão circundado por uma tira pequena de tela impregnada apresentaram 71,4 % de positividade. O maior percentual de armadilhas positivas (82,1 %) foi observado em GAT contendo o agente exterminante padrão - Mortein®. Entretanto, estas diferenças não foram significativas (GLM; $df = 16,780$; $X^2 = -6,102$; $p = 0,107$).

IV.5 DISCUSSÃO

A GAT é uma promissora armadilha para o monitoramento e / ou supressão populacional de vetores da dengue, uma vez que dispensa o uso de energia elétrica, é simples de manusear e apresenta baixo custo de produção (Ritchie et al 2014). No entanto, a borrifação mensal do spray de superfície (ex. Mortein®) nas paredes da câmara translúcida e na tela preta dificultam o uso do dispositivo em grande escala (Martin Geier - BioGents, comunicação pessoal). Assim, a fim de aumentar a praticidade do GAT, dispensando reaplicações mensais do inseticida, e visando garantir a eficiência da armadilha diante de populações de *Ae. aegypti* já resistentes a alguns inseticidas, buscamos outros agentes exterminantes para incorporar à armadilha. Durante a avaliação dos agentes exterminantes desenvolvemos uma nova metodologia para mensurar o escape de *Ae. aegypti* da GAT. Esta consiste em colocar um recipiente transparente com um cartão adesivo também transparente sobre o funil de entrada da armadilha. Além disso, demonstramos que a tela impregnada com inseticida (Bestnet

Netprotect®) foi um agente exterminante tão eficiente quanto o Mortein® quando associado à armadilha em condições de laboratório, semicampo e campo. No entanto, o Metofluthrin® como agente exterminante da GAT, apesar de ser tão eficiente quanto Mortein® em testes de bancada (escape e "knock down"), mostrou uma tendência de reduzir o número de GATs positivas em condições de campo.

Verificamos que os percentuais de escape e os tempos máximos de *knock down* não diferiram significativamente entre as armadilhas contendo tela impregnada com inseticida (Bestnet Netprotect®) de coloração preta ou verde. Uma vez que a tela verde é mais clara, facilita a visualização dos insetos. Além disso, ela escurece menos o protótipo que contém a tela circundando a câmara translúcida. Assim, nos tratamentos em que foram utilizadas telas impregnadas com inseticida, trabalhamos com o material de cor verde.

As observações sobre como associar a tela impregnada com inseticida na armadilha também foram interessantes. Identificamos que armadilhas contendo tela impregnada apenas no fundo da câmara transparente apresentaram o percentual de escape e o tempo máximo de *knock down* significativamente maiores do que GAT com a mesma tela no fundo e nas laterais da câmara transparente. Foram necessários cerca de 23 minutos para o completo "*knock down*" nos protótipos da GAT contendo tela impregnada no fundo e nas laterais da câmara transparente. Este tempo máximo para o "*knock down*" foi comparável com o observado nas armadilhas GAT com o agente exterminante padrão na presente pesquisa (10-22 min). O percentual de escape ($8,3 \pm 1,67$ %) da GAT contendo tela no fundo e na lateral da câmara transparente também foi semelhante ao observado em armadilhas contendo Mortein® no presente estudo e em uma avaliação anterior (Eiras et al. 2014). Em ambos, as porcentagens de fêmeas que escaparam da GAT padrão também foram menores que 10 %. Com estas observações demonstramos que a tela impregnada com inseticida disposta no fundo e nas laterais da câmara transparente foram tão eficientes quanto a GAT padrão em condições de laboratório. Provavelmente este resultado decorreu da manutenção do inseticida (em forma de tela impregnada) sobre as paredes da câmara translúcida, tão importante para o funcionamento da GAT (Eiras et al. 2014, Ritchie et al. 2014). Com coloração clara e espaço entre as fibras, não houve diminuição da transparência da câmara translúcida com este protótipo. Portanto, as fêmeas continuaram a voar para as paredes da câmara translúcida, segundo o conceito de voo para a luz explorado pela GAT (Eiras et al. 2014, Ritchie et al. 2014) e pela *passive trap* (Ritchie et al. 2013). Ao voar em direção à luz (paredes translúcidas), as fêmeas foram expostas aos

inseticidas presentes na tela, sofrendo o *knock down* antes de morrerem. Com tantas semelhanças com a GAT padrão, este protótipo foi avaliado no semicampo e em campo.

Com os resultados obtidos na presente pesquisa, verificamos que apenas substituir a tela preta da GAT padrão por tela impregnada com inseticida não seria suficiente para manter a eficiência da armadilha. Como o funil de entrada é relevante para o funcionamento da GAT (Eiras et al. 2014), criamos arranjos aleatórios com a tela impregnada no funil de entrada para avaliação. Os protótipos contendo a tela impregnada no fundo da câmara translúcida e com (a) o funil padrão circundado com uma pequena tira de tela impregnada ou (b) funil curto com uma grande tira de tela impregnada, apresentaram os melhores resultados nos testes de bancada. Apesar de apresentarem uma significativa diferença no tempo máximo de *knock down* (funil curto + grande tira de tela > funil padrão + pequena tira de tela > GAT padrão), isso não interferiu no percentual de escape de fêmeas dos três protótipos. O pedaço de tela impregnada presente em ambos os funis contribuiu para a atividade exterminante da tela impregnada no fundo da câmara transparente. Acredita-se que isso tenha ocorrido porque os mosquitos também pousam sobre o funil quando encontram-se dentro da câmara coletora translúcida. O inseto, voando em direção à luz, tenta atravessar as paredes da câmara transparente. Uma vez que não encontram saída, acabam se dirigindo ao topo translúcido da GAT, retornando ao funil preto ou pousando sobre a tela preta no fundo da câmara transparente. Estes comportamentos não ocorrem necessariamente nesta ordem. De qualquer forma eles aumentam a chance de o mosquito entrar em contato com o inseticida presente também no funil de entrada da armadilha nestes protótipos.

Diante destes resultados, os melhores protótipos com tela impregnada com inseticida no funil foram avaliados em semicampo, juntamente com o dispositivo que apresenta tela impregnada no fundo e circundando lateralmente as paredes da câmara translúcida. A GAT contendo Mortein[®] (GAT padrão) foi utilizada como controle. Verificou-se que o protótipo com tela impregnada no fundo + funil curto com uma tira grande de tela recapturou significativamente menos fêmeas do que a GAT padrão. Sendo assim ele foi excluído dos testes de campo. Os outros protótipos foram tão eficientes quanto a GAT padrão e assim foram avaliados também em campo.

No campo, o número de fêmeas de *Ae. aegypti* capturadas em armadilhas com (a) Mortein[®], (b) Metofluthrin[®], tela impregnada com inseticida no fundo da câmara transparente e (c) circundando as laterais desta câmara ou (d) com uma tira pequena circundando o funil de entrada não diferiu significativamente. Além disso, os percentuais de armadilhas positivas com

a tela impregnada com inseticida no fundo da câmara transparente e circundando as laterais desta câmara (74,1 %) ou com uma tira pequena circundando o funil de entrada (74,1 %) também não diferiram significativamente do percentual de GATs padrão (82,1 %) positivas para o *Ae. aegypti*. Estes resultados indicaram que ambos os arranjos com a tela impregnada com inseticida podem ser usados como agentes exterminantes sem comprometer a eficiência da armadilha. A vantagem da tela impregnada circundando o funil em relação ao protótipo com esta tela circundando as laterais da câmara translúcida é a quantidade de material utilizado. Enquanto o primeiro necessita de 6,5 x 37,0 cm de tela, o segundo protótipo gasta 17,8 x 76,0 cm de material. Isso sem contar a tela que é colocada no fundo da câmara coletora. Uma vez que estamos buscando agentes exterminantes para o uso na armadilha em grande escala, é interessante focar no arranjo que inclui a tela impregnada no funil de entrada. Isto porque este protótipo utiliza menor quantidade de tela, apresentando a mesma eficiência que os outros. Apresenta assim uma melhor relação de custo benefício para o uso em larga escala.

As telas impregnadas com inseticida tem sido amplamente utilizadas como ferramenta para o controle de malária (WHO 2007, WHO 2013). Devido a esta ampla utilização, diferentes tecnologias têm sido desenvolvidas para incorporar o inseticida na tela, como os mosquiteiros com inseticida de longa duração (WHO 2013) utilizados no presente estudo. Além disso, existe a possibilidade de associar mais compostos nas telas impregnadas, potencializando o efeito dos adulticidas e garantindo a eficiência das mesmas também contra populações resistentes (Pennetier et al., 2014, White et al. 2014). Uma vez que já foram identificadas populações de *Ae. aegypti* resistentes a piretróides (Rodriguez et al., 2007, Flores et al. 2013, Maciel-de-Freitas et al. 2014), é importante considerar a possibilidade de associar telas impregnadas com diferentes combinações de inseticidas na GAT, dependendo das características das populações do local onde a armadilha será instalada.

Existem outras vantagens de utilizar a tela impregnada com inseticida em detrimento do spray de superfície como, por exemplo, a menor exposição do agente de campo aos compostos ativos durante a impregnação mensal da câmara e da tela com Mortein® (Ritchie et al. 2014). Além disso, as telas com inseticida impregnado apresentam alta durabilidade (WHO 2013). Usada para proteger camas, janelas e portas, as telas impregnadas com inseticida podem permanecer ativas contra culicídeos por até dois anos (Odhiambo et al. 2013, WHO 2013). Outra vantagem de usar estas telas impregnadas é que o inseticida, na quantidade em que é associado à tela, é pouco tóxico para mamíferos. As telas impregnadas são bem aceitas pela população (Morrisson et al. 2008), sendo utilizadas até como mosquiteiros sobre as camas de

crianças (WHO 2013). Somando-se a estes fatores, existe ainda a já citada possibilidade de trocar o tipo de tela utilizada em armadilhas instaladas em diferentes regiões, possibilitando a adequação do inseticida às diferentes populações de insetos resistentes (Flores et al. 2013, Maciel-de-Freitas et al. 2014).

Um pedaço de polietileno impregnado com Metofluthrin[®] (2,5 cm²) pendurado na câmara translúcida da GAT foi tão eficiente quanto o Mortein[®] em condições de laboratório. Este pedaço de Metofluthrin[®] (2,5 cm²) exterminou as fêmeas em até 10,8 (± 0,83) minutos, permitindo um escape de apenas 12,4 (± 2,71) % delas. Em avaliação anterior, um pedaço de papel impregnado com Metofluthrin[®] (4 x 4 cm) colocado na GAT exterminou as fêmeas mais rapidamente (3 min), possivelmente pela maior quantidade de inseticida liberada no dispositivo. No entanto o percentual de escape observado no presente estudo foi similar ao da avaliação anterior (Eiras et al. 2014). Ao entrarem em contato com o Metofluthrin[®], fêmeas de *Ae. aegypti* passam a apresentar um vôo não orientado, seguido de pouso sobre superfícies, até o completo *knock down* (Rapley et al. 2009, Ritchie & Devine 2013). Isso pode ter dificultado a saída dos insetos da GAT, contribuindo para os baixos percentuais de escape observados. Tais resultados de laboratório estimularam a avaliação do agente exterminante em campo, para avaliação da entrada de insetos no dispositivo.

No campo, armadilhas GAT com Metofluthrin[®] capturaram o mesmo número de fêmeas que a GAT padrão (contendo Mortein[®]). Apesar disso, identificamos uma tendência, de este inseticida reduzir a positividade de armadilhas (50%) em relação ao Mortein[®] (82%). Em avaliação anterior, quando o Metofluthrin[®] foi colocado num cômodo de uma casa, não apresentou efeito repelente para fêmeas de *Ae. aegypti* (Rapley et al. 2009, Ritchie & Devine 2013). No entanto, em outras avaliações, o Metofluthrin[®] tem sido apontado como um repelente espacial de culicídeos (Kawada et al. 2008, Xue et al. 2012, Lloyd et al. 2013, Dame et al. 2014), reduzindo as capturas de mosquitos em armadilhas específicas (Lloyd et al. 2013, Dame et al. 2014) e o pouso sobre hospedeiros (Lucas et al. 2007, Xue et al. 2012). Esta repelência espacial foi caracterizada como parcial e inespecífica (Xue et al. 2012) e pode ter influenciado de alguma forma na quantidade de armadilhas positivas no presente estudo sem onerar a quantidade de insetos capturados. Como o dispositivo já vem sendo utilizado no monitoramento do vetor (Ritchie et al. 2014), a redução na positividade poderia comprometer sua aplicação em campo. Assim, sugere-se evitar o uso do Metofluthrin[®] na GAT e, caso seja imprescindível, deve-se estar atento à positividade das armadilhas.

A vantagem de associar o Metofluthrin[®], assim como as telas impregnadas com inseticida, à GAT é evitar a exposição do agente de campo aos compostos durante a impregnação mensal com o spray de superfície (Ritchie et al. 2014). Entretanto, o Metofluthrin[®] apresenta uma baixa durabilidade, permanecendo ativo por cerca de 20 dias (Ritchie & Devine 2013). Já o spray de superfície Mortein[®] dura até oito semanas no campo quando associado à GAT, embora seja recomendada sua reaplicação mensal (Ritchie et al. 2014). A durabilidade do Metofluthrin[®] torna-se ainda menor quando comparamos o composto com as telas impregnadas com inseticida, que podem permanecer ativas por até dois anos (Odhiambo et al. 2013, WHO 2013).

A identificação de agentes exterminantes alternativos é importante para garantir o funcionamento do dispositivo em regiões onde já existem populações de *Ae. aegypti* resistentes a certos inseticidas (Rodriguez et al. 2007, Flores et al. 2013, Maciel-de-Freitas et al. 2014). Além disso, como pretende-se comercializar a armadilha em larga escala, é necessário encontrar um método prático e seguro de exterminar os vetores. O spray de superfície, apesar de ser muito eficiente na GAT (Eiras et al. 2014, Ritchie et al. 2014), precisa ser reaplicado mensalmente e nesse processo o agente de campo é exposto aos compostos. Além disso, não é encontrado em todos os países e pode dificultar a implementação do monitoramento do vetor com a armadilha. O Metofluthrin[®] é um piretróide capaz de matar rapidamente (Ujihara et al. 2004) e desorientar o voo dos insetos (Rapley et al. 2009, Ritchie & Devine 2013). Tem uma duração em campo de cerca de 20 dias, e, associado à GAT tende a reduzir a positividade de armadilhas em campo. As telas impregnadas com inseticidas (Bestnet Netprotect[®]), por outro lado, apresentaram-se como um excelente agente exterminante. Com um efeito residual longo (WHO 2013, Odhiambo et al. 2013), manteriam a captura da armadilha por um grande período sem a necessidade de trocar o inseticida. Além disso, como existem vários tipos de inseticidas e misturas de compostos sendo impregnados em telas, haveria uma vasta gama de possibilidades para exterminar populações resistentes.

Demonstramos ainda que o percentual de escape de fêmeas de *Ae. aegypti* identificado com a metodologia da gaiola de manutenção sobre a GAT (Eiras et al. 2014) foi tão eficiente quanto o uso de um recipiente com um cartão adesivo sobre o funil. Assim sugerimos e adotamos a nova metodologia para avaliar o escape de fêmeas da GAT. A vantagem do uso do recipiente com cartão adesivo é que todos os insetos que escaparam do dispositivo ficaram grudados e incapacitados de retornar à GAT. Com a gaiola de manutenção sobre o GAT, os insetos que escaparam do dispositivo permanecem voando na gaiola por cerca de 2 horas antes

de sofrerem o *knock down* (Eiras et al. 2014). Durante este período eles podem retornar à GAT, já que não estão presas. Assim, não é possível garantir que todos os insetos que escaparam permaneceram na gaiola manutenção, sem retornar para a armadilha.

Com estes resultados, concluiu-se que a tela impregnada com inseticida (Bestnet Netprotect®) foi o melhor agente exterminante associado à GAT. Para isso a tela deve ser utilizada no fundo da câmara transparente além de (a) estar circundando as paredes internas da câmara translúcida ou (b) circundando o funil de entrada padrão. Não recomenda-se o uso do Metofluthrin® devido à tendência de redução de armadilhas positivas no campo. Atualmente a GAT está sendo produzida em massa pela BioGents e será avaliada como ferramenta de vigilância do *Ae. aegypti* na Austrália e no Brasil.

IV.6 CONCLUSÕES

Concluiu-se que o uso do recipiente translúcido com o cartão adesivo transparente foi tão eficiente quanto a gaiola de criação sobre o funil de entrada para avaliar o escape de *Ae. aegypti* da GAT. Como na primeira metodologia os insetos que escapam ficam impossibilitados de retornar à armadilha por estarem colados, sugere-se o uso desta técnica nas avaliações subsequentes.

A GAT contendo telas impregnadas com inseticidas no fundo da câmara transparente e (a) circundando as paredes internas da câmara translúcida ou (b) circundando o funil de entrada padrão foram tão eficientes quanto a GAT padrão em condições de laboratório, semicampo e campo. Assim, este agente exterminante pode substituir o spray de superfície, tornando a armadilha mais prática e aumentando a durabilidade do agente exterminante.

O Metofluthrin® deve ser evitado na GAT como agente exterminante, uma vez que demonstrou a tendência de reduzir a positividade das armadilhas no campo.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O vetor *Ae. aegypti* é considerado como modelo experimental, devido principalmente ser o mosquito mais fácil de ser mantido em condições de laboratório, fato que facilita seu uso em diversas pesquisas de inúmeros temas. Além disso, quando procedentes de colônias estabelecidas em laboratório, há garantia de que estão livres de arbovírus, conferindo segurança ao experimentador e à comunidade. No entanto, conforme demonstramos, ocorrem alterações na biologia e no comportamento de oviposição da espécie com colônias antigas de insetário. Inferimos que possam ocorrer alterações no comportamento de oviposição. Portanto, sugerimos que sempre que possível renovar periodicamente a colônia, garantido resultados obtidos próximos aos observados em indivíduos selvagens.

A escolha de criadouros por fêmeas de *Ae. aegypti* é um processo dinâmico e reflete várias estratégias de oviposição. Foram observadas variações, desde o local de deposição de ovos no recipiente (água ou parede), até a forma de dispersão dos ovos entre os criadouros disponíveis. Existiram ainda variações individuais entre as fêmeas avaliadas com relação ao número de ovos depositados e ao número de criadouros colonizados. Entretanto, mesmo com estas singularidades, observamos padrões constantes, como a tendência de as fêmeas espalharem seus ovos entre os criadouros disponíveis em detrimento da deposição de ovos num criadouro único. Ambos os comportamentos ocorreram, mas o primeiro foi mais frequente. Notou-se ainda, que as fêmeas individualmente avaliadas não espalharam os ovos em todos os criadouros disponíveis. No entanto, quando foram avaliados grupos de fêmeas, praticamente todos os criadouros foram colonizados. Observou-se que grávidas individualizadas de *Ae. aegypti*, apresentaram uma distribuição de ovos não heterogênea entre os criadouros, havendo normalmente um recipiente com a maioria dos ovos. Este é o criadouro predileto, e conseguimos identificá-lo matematicamente na presente pesquisa. Verificamos que criadouros de 200 mL foram preteridos na escolha dos prediletos, embora o vetor não tenha feito distinção entre criadouros de 1L, 5L e 14L no semicampo. As fêmeas demonstraram a tendência de colonizar com maior frequência os criadouros próximos a anteparos. Isso é um fator que pode ser considerado na instalação de armadilhas de oviposição (ex. GAT) no campo. Sugere-se que estas sejam instaladas próximas a uma parede, ou a um anteparo, para potencializar as taxas de captura.

Demonstramos que as fêmeas de *Ae. aegypti* apresentam uma grande variação no número de ovos depositados e que a distribuição dos ovos ocorre em mais de um criadouro de

forma heterogênea, havendo inclusive a deposição de todos os ovos do lote num criadouro único. Isto compromete a interpretação dos resultados obtidos com a coleta de ovos em armadilhas Ovitrampas, atualmente utilizadas para o monitoramento do vetor por recomendação do Ministério da Saúde. O número de ovos presente na armadilha não reflete a população de adultos pelos fatores supracitados, como a possibilidade de deposição de ovos em mais de um criadouro e variação no número de ovos/fêmea. Além disso, programas que usam Ovitrampas consideram apenas os ovos depositados nas palhetas, sendo desconsiderada a deposição na água.

Armadilhas como a BGS ou a GAT são capazes de mensurar a abundância de adultos e podem refletir melhor a população do vetor. Conforme observamos, as fêmeas podem até distribuir seus ovos em criadouros antes de serem capturadas nas armadilhas. Uma vez capturado na armadilha, é possível medir a população do vetor, diferentemente do número de ovos depositados na Ovitampa, que é variável, conseqüentemente impossibilitando medir a abundância de adultos em uma determinada área. Além disso, as fêmeas de *Ae. aegypti* retidas no dispositivo deixam de depositar ovos remanescentes daquele ciclo gonotrófico e de ciclos gonotróficos subsequentes, contribuindo indiretamente para a redução da população do vetor.

Apesar de a BGS capturar maior número de fêmeas do que a GAT, o uso em grande escala da GAT é promissor. A GAT é um dispositivo de baixo custo, leve, prático que pode ser facilmente utilizado e manuseado no campo. Como a infusão é preparada e dispensada no local de instalação há uma maior praticidade do seu uso. Além disso, como dispensa energia elétrica, a aceitação da comunidade é elevada. Diferentemente de outras armadilhas com mecanismos passivos de captura, a GAT dispensa o uso de cartões adesivos. Isso torna a ação do agente de campo mais fácil e os insetos capturados apresentam um excelente estado de conservação para identificação e análises moleculares.

No entanto, a armadilha foi desenvolvida recentemente e alguns aprimoramentos podem ser realizados. Sugerimos assim o uso de telas impregnadas com inseticidas piretróides como um agente exterminante alternativo para o dispositivo. Este tipo de tela mosquiteiro facilita a ação dos agentes de campo além de reduzir a exposição dos mesmos aos inseticidas. Além disso, a tela impregnada é interessante porque existem vários produtos disponíveis no mercado, com diferentes inseticidas e até mesmo combinações de compostos que podem ser eficientes para populações de *Ae. aegypti* resistentes.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu FVS 2010. *Estudo do comportamento de “oviposição em saltos” por fêmeas de Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) em diferentes densidades de criadouros e a influência da armadilha MosquiTRAP® na redução de ovos e criadouros positivos*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 121 pp.
- Albuquerque CMR, Cavalcanti VMS, Melo MAV, Verçosa P, Regis LN, Hurd H 1999. Bloodmeal microfilariae density and the uptake and establishment of *Wuchereria bancrofti* infections in *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 591-596.
- Allan SA, Kline DL 1998. Larval rearing water and preexisting eggs influence oviposition by *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 35: 943-947.
- Apostol BL, Black IV WC, Reiter P, Miller BR 1994. Use of randomly amplified polymorphic DNA amplified by polymerase chain reaction markers to estimate the number of *Aedes aegypti* families at oviposition sites in San Juan, Puerto Rico. *Am J Trop Med Hyg* 51: 89-97.
- Ázara TMF 2009. *Captura de culicídeos com ênfase em Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) e Aedes albopictus (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) em área urbana de Manaus (AM)*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 103pp.
- Azil AH, Long SA, Ritchie SA, Williams CR 2010. The development of predictive tools for pre-emptive dengue vector control: a study of *Aedes aegypti* abundance and meteorological variables in North Queensland, Australia. *Trop Med Int Health* 15:1190-1197.
- Ball TS, Ritchie SR 2010. Evaluation of BG-sentinel trap trapping efficacy for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in a visually competitive environment. *J Med Entomol* 47:657-663.
- Barata EAMF, Costa AIP, Chiaravalloti-Neto F, Glasser CM, Barata JMS, Natal D 2001. População de *Aedes aegypti* (L.) em área endêmica de dengue, Sudeste do Brasil. *Rev Saúde Pública* 35: 237-242.
- Barrera R, Amador M, MacKay AJ 2011. Population dynamics of *Aedes aegypti* and dengue as influenced by weather and human behavior in San Juan, Puerto Rico. *PLoS Negl Trop Dis* 5: e1378.
- Barrera R, Amador M, Acevedo V, Caban B, Felix G, Mackay AJ 2014. Use of the CDC Autocidal Gravid Ovitrap to Control and Prevent Outbreaks of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 51: 145-451.
- Bentley MD, Day JF 1989. Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Ann Rev Entomol* 34: 401-421.
- Benedict MQ, Knols BG, Bossin HC, Howell PI, Mialhe E, Caceres C, Robinson AS 2009. Colonisation and mass rearing: learning from others. *Mal J* 8(suppl 2):S4.

- Beserra EB, Castro-Júnior FP, Santos JW, Santos TS, Fernandes CRM 2006. Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. *Neotrop Entomol* 35: 853-860.
- Beserra EB, Freitas EM, Souza JT, Fernandes CRM, Santos KD 2009. Ciclo de vida de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera, Culicidae) em águas com diferentes características. *Iheringia* 99: 281-285.
- Blackmore MS, Lord CC 2000. The relationship between size and fecundity in *Aedes albopictus*. *J Vector Ecol* 25: 212-217.
- Bosch JO, Geier M, Boeckh J 2000. Contribution of fatty acids to olfactory host finding of female *Aedes aegypti*. *Chem Senses* 25: 323-330.
- Braga IA, Castro Gomes A, Nelson M, Mello RCG, Bergamaschi DP, Souza JMP 2000. Comparação entre pesquisa larvária e armadilha de oviposição, para detecção de *Aedes aegypti*. *Rev Soc Brasil Med Tropic* 33: 347-353.
- Braga IA, Valle D 2007. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. *Epidemiol Serv Saúde* 16: 295-302.
- Chadee DD 1997. Effects of forced egg-retention on the oviposition patterns of female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Bull Entomol Res* 87: 649-651
- Chadee DD 2009. Oviposition strategies adopted by gravid *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) as detected by ovitraps in Trinidad, West Indies (2002–2006). *Acta Trop* 111: 279-283.
- Chadee DD 2010. The diel oviposition periodicity of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in Trinidad, West Indies: effects of forced egg retention. *Bull Entomol Res* 24: 1-5.
- Chadee DD, Beier JC, Mohammed RT 2002. Fast and slow blood-feeding durations of *Aedes aegypti* mosquitoes in Trinidad. *J Vector Ecol* 27: 172-177.
- Chadee DD, Corbet P, Greenwood J 1990. Egg-laying Yellow Fever mosquitoes avoid sites containing eggs laid by themselves or by conspecifics. *Entomol Exp Appl* 57: 295-298.
- Chadee DD, Corbet PS 1987. Seasonal incidence and diel patterns of oviposition in the field of the mosquito, *Aedes aegypti* (L.) (Diptera Culicidae) in Trinidad, West Indies: a preliminary study. *Ann Trop Med Parasitol* 81: 151–161.
- Chadee DD, Ritchie SA 2010. Efficacy of sticky and standard ovitraps for *Aedes aegypti* in Trinidad, West Indies. *J Vector Ecol* 35: 395-400.
- Christophers S 1960. *Aedes aegypti* (L.) The yellow fever mosquito. Its life history, bionomics and structure. The University Press, Cambridge, 739 pp.
- Clark GG, Bernier UR, Allan SA, Kline DL, Golden FV 2011. Changes in host-seeking behavior of Puerto Rican *Aedes aegypti* after colonization. *J Med Entomol* 48: 533-537.

- Clements AN 1999. *The biology of mosquitoes: Sensory reception and behavior*, Vol II, CABI Publishing, Nova York, 740 pp.
- Colless DH, Chellapah WT 1960. Effects of body weight and size of blood-meal upon egg production in *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera, Culicidae). *Ann Trop Med Parasitol* 54: 475-482.
- Colton YM, Chadee DD, Severson DW 2003. Natural skip oviposition of the mosquito *Aedes aegypti* indicated by codominant genetic markers. *Med Vet Entomol* 17: 195-204.
- Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R 1994. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*, Fiocruz, Rio de Janeiro, 228 pp.
- Corbet PS, Chadee DD 1993. An improved method for detecting substrate preferences shown by mosquitoes that exhibit 'skip oviposition'. *Phys Entomol* 18:114-118.
- Costa LH 2010. *Avaliação de infoquímicos presentes em ovos e larvas de Aedes (Stegomyia) aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) como atraentes e/ou estimulantes de oviposição para grávidas co-específicas*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 128 pp.
- Dame DA, Meisch MV, Lewis CN, Kline DL, Clark GG 2014. Field evaluation of four spatial repellent devices against Arkansas rice-land mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 30:31-36.
- Degener CM 2014. *Avaliação das armadilhas MosquiTRAP, BG-Sentinel e BG-Mosquitito como possíveis ferramentas no controle de Aedes aegypti*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 169 pp.
- Degener CM, Eiras AE, Azara TM, Roque RA, Rösner S, Codeço CT, Nobre AA, Rocha ES, Kroon EG, Ohly JJ, Geier M 2014. Evaluation of the effectiveness of mass trapping with BG-Sentinel traps for dengue vector control: a cluster randomized controlled trial in Manaus, Brazil. *J Med Entomol* 51:408-420.
- de Melo DPO, Scherrer LR, Eiras AE 2012. Dengue fever occurrence and vector detection by larval survey, Ovitrap and MosquiTRAP: a space-time clusters analysis. *PLoS ONE* 7: e42125.
- Deng L, Koou SY, Png AB, Ng LC Lam-Phua SG 2012. A novel mosquito feeding system for routine blood-feeding of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Trop Biomed* 29: 169 - 174.
- Detinova TS 1962. Age-grouping methods in Diptera of medical importance with special reference to some vectors of malaria. *Monogr Ser World Health Organ.* 47: 13-191.
- Donalísio MR, Glasser CM 2002. Vigilância entomológica e controle de vetores do Dengue. *Rev Bras Epidemiol* 5: 259-272.
- Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Pretrick M, Marfel M, Holzbauer S, Dubray C, Guillaumot L, Griggs A, Bel M, Lambert AJ, Laven J, Kosoy

- O, Panella A, Biggerstaff BJ, Fischer M, Hayes EB 2014. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* 360:2536-2543.
- Edman JD, Scott TV, Costero A, Morrison AC, Harrington LC, Clark GG 1998. *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) movement influenced by availability of oviposition sites. *J Med Entomol* 35: 578-583.
- Edman JD, Strickman D, Kittayapong P, Scott TW 1992. Female *Aedes aegypti* in Thailand rarely feed on sugar. *J Med Entomol* 29: 1035-1038.
- Eiras AE 1991. *The role of human odours in host location behaviour by female Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)*. PhD Thesis, University of Southampton, Southampton, 122 pp.
- Eiras AE, Sant'Ana AL. Atraentes de oviposição de mosquitos. Depósito de patente no Brasil: PI 0106701-0, 22 de dezembro de 2001.
- Eiras AE, Resende MC 2009. Preliminary evaluation of the "Dengue-MI" technology for *Aedes aegypti* monitoring and control. *Cad Saúde Pública* 25: 45-58.
- Eiras AE, Roque RA. Composição de atraente sintético para oviposição de fêmeas grávidas de *A. aegypti*. Depósito de patente no Brasil: PI 0901970-7, 22 de maio de 2009.
- Eiras AE, Ritchie AS. *Dispositivo para capturar e eliminar mosquitos adultos*. Depósito de patente no Brasil: PI 102012028002-7, 31 de outubro de 2012.
- Eiras AE. Armadilha para a captura de insetos. Depósito de patente no Brasil: PI0203907-9, 05 de setembro de 2002.
- Ellis AM 2008. Incorporating density dependence into the oviposition preference-offspring performance hypothesis. *J Anim Ecol* 77: 247-256.
- Fansiri T, Thavara T, Tawatsin A, Krasaesuba S, Sithiprasasna R 2006. Laboratory and semi-field evaluation of Mosquito Dunks® against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae (Diptera: Culicidae). *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 37: 62-66.
- Farnesi LC, Martins AJ, Valle D, Rezende GL 2009. Embryonic development of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): influence of different constant temperatures. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 124-126.
- Fávaro EA, Dibo MR, Mondini A, Ferreira AC, Barbosa AAC, Eiras AE, Barata EAMF, Chiaravalloti-Neto F 2006. Physiological state of *Aedes (Stegomyia) aegypti* mosquitoes captured with MosquiTRAPs in Mirassol, São Paulo, Brazil. *J Vector Ecol* 31: 285 - .291.
- Fay RW, Eliason DA 1966. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosq News* 26: 531-535.
- Fay RW, Perry AS 1965. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosq News* 25: 276-281.
- Fay RW, Prince WH 1970. A modified visual trap for *Aedes aegypti*. *Mosq News* 30: 20-23.

- Figueiredo LTM 2007. Emergent arboviruses in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 224-229.
- Flores AE, Ponce G, Silva BG, Gutierrez SM, Bobadilla C, Lopez B, Mercado R, Black WC IV 2013. Wide spread cross resistance to pyrethroids in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Veracruz state Mexico. *J Econ Entomol* 106: 959-969.
- Forattini OP 2002. *Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia*, Vol. II, Edusp, São Paulo, 864 pp.
- Funasa 2001. *Dengue. Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor. Manual de Normas Técnicas*, 3ª ed., Fundação Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, Brasília.
- Funasa 2002. *Plano Nacional de Controle da Dengue*, Fundação Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, Brasília.
- Funasa 2009. *Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue*. Fundação Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, Brasília.
- Gadelha DP, Toda AT 1985. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. *Rev Bras Malariol D Trop* 37: 29-36.
- Gama RA, Alves KC, Martins RF, Eiras AE, Resende MC 2005. Efeito da densidade larval no tamanho de adultos de *Aedes aegypti* criados em condições de laboratório. *Rev Soc Bras Med Trop* 38: 64-66.
- Ganesan K, Mendki MJ, Suryanarayana MVS, Prakash S, Malhotra RC 2006. Studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) ovipositional responses to newly identified semiochemicals from conspecific eggs. *Aust J Entomol* 45: 75-80.
- Gargan TP, Ii, Bailey CL, Higbee GA, Gad A, Said SE 1983. The effect of laboratory colonization on the Vector-pathogen interactions of Egyptian *Culex pipiens* and rift valley fever virus. *Am J Trop Med Hyg* 32: 1154-1163.
- Geier M, Bosch OJ, Boeckh J 1999. Ammonia as an attractant of host odour for the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Chem Senses* 24: 647- 653.
- Gomes AC 1998. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em programa de vigilância entomológica. *Inf Epidemiol Sus* 7: 49-57.
- Gomes AS, Sciavico CJS, Eiras AE 2006. Periodicidade de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) em laboratório e campo. *Rev Soc Bras Med Trop* 39: 327-332.
- Gubler DJ, Clark GG 1994. Community -based integrated control of *Aedes aegypti*: a brief overview of current programs. *Am J Trop Med. Hyg* 50: 50-60.
- Gubler DJ 2008. The global threat of emergent/reemergent vector-borne diseases. In *Vector-Borne Diseases: understanding the environmental, human health, and ecological*

- connections*, The National Academies Press, Institute of Medicine, Washington, D.C., p. 43-64.
- Hapairai LK, Joseph H, Sang MA, Melrose W, Ritchie SA, Burkot TR, Sinkins SP, Bossin HC 2013. Field evaluation of selected traps and lures for monitoring the filarial and arbovirus vector, *Aedes polynesiensis* (Diptera: Culicidae), in French Polynesia. *J Med Entomol* 50:731-739.
- Harrington LC, Edman JD 2001. Indirect evidence against delayed "skip oviposition" behavior by *Aedes aegypti* in Thailand. *J Med Entomol* 38: 641-645.
- Harrington LC, Edman JD, Scott TW 2001. Why do female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) feed preferentially and frequently on human blood? *J Med Entomol* 38: 411-422.
- Harrington LC, Ponlawa A, Edman JD, Scott, TW, Vermeulen F 2008. Influence of container size, location, and time of day on oviposition patterns of the dengue vector, *Aedes aegypti*, in Thailand. *Vector Borne Zoonotic Dis* 8: 415-423.
- Hoffmann AA, Montgomery BL, Popovici J, Iturbe-Ormaetxe I, Johnson PH, Muzzi F , Greenfield M, Durkan M, Leong YS, Dong Y, Cook H, Axford J,1, Callahan AG, Kenny N, Omodei C, McGraw EA, Ryan PA, Ritchie SA, Turelli M, O'Neill SL 2011. Successful establishment of *Wolbachia* in *Aedes* populations to suppress dengue transmission. *Nature* 476: 454-457.
- Jonker EF, Visser LG, Roukens AH 2013. Advances and controversies in yellow fever vaccination. *Ther Adv Vaccines* 1:144-152.
- Joshi V, Mourya DT, Sharma RC 2002. Persistence of dengue-3 virus through transovarial transmission passage in successive generations of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 67: 158-161.
- Katsuda Y, Leemingsawat S, Thongrungrat S, Prummonkol S, Samung Y, Kanzaki T, Watanabe T 2009. Control of mosquito vectors of tropical infectious diseases: (3) susceptibility of *Aedes aegypti* to pyrethroid and mosquito coils. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 40:929-936.
- Kawada H, Temu EA, Minjas JN, Matsumoto O, Iwasaki T, Takagi M 2008. Field evaluation of spatial repellency of metofluthrin-impregnated plastic strips against *Anopheles gambiae* complex in Bagamoyo, coastal Tanzania. *J Am Mosq Control Assoc* 24:404-409.
- Kline DL 1999. Comparison of two american biophysics mosquito traps: the professional and a new counterflow geometry trap. *J Am Mosq Control Assoc* 15: 276-282.
- Kline DL 2006. Semiochemicals, traps/targets and mass trapping technology for mosquito management. *J Am Mosq Control Assoc* 23: 241-251.
- Kröckel U, Rose A, Eiras AE, Geier M 2006. New tools for surveillance of adult yellow fever mosquitoes: comparison of trap catches with human landing rates in an urban environment. *J Am Mosq Control Assoc* 22: 229-238.

- Kroeger A, Lenhart A, Ochoa M, Villegas E, Levy M, Alexander N, McCall PJ 2006. Effective control of dengue vectors with curtains and water container covers treated with insecticide in Mexico and Venezuela: cluster randomised trials. *BMJ* 332:1247-1252.
- Kuno G 2010. Early History of Laboratory Breeding of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) focusing on the origins and use of selected strains. *J Med Entomol* 47: 957-971.
- Lacroix R, McKemey AR, Raduan N, Wee LK, Ming WH, Ney TG, Siti Rahidah AA, Salman S, Subramaniam S, Nordin O, Hanum NAT, Angamuthu C, Mansor SM, Lees RS, Naish N, Scaife S, Gray P, Labbe G, Beech C, Nimmo D, Alphey L, Vasan SS Lim LH, Wasi HA, Murad S 2012. Open field release of genetically engineered sterile male *Aedes aegypti* in Malaysia. *PLoS ONE* 7: e42771.
- Lee HL, Joko H, Nazni WA, Vasan SS 2009. Comparative life parameters of transgenic and wild strain of *Aedes aegypti* in the laboratory. *Dengue Bull* 33: 103-114.
- Lenhart A, Orelus N, Maskill R, Alexander N, Streit T, McCall PJ 2008. Insecticide-treated bednets to control dengue vectors: preliminary evidence from a controlled trial in Haiti. *Trop Med Int Health* 13:56-67.
- Lloyd AM, Farooq M, Diclaro JW, Kline DL, Estep AS 2013. Field evaluation of commercial off- the shelf spatial repellents against the Asian Tiger Mosquito, *Aedes albopictus* (Skuse), and the potential for use during deployment. *US Army Med Dept J* (Apr–Jun): 80-86.
- Lorenz L, Beaty BJ, Aitken TH, Wallis GP, Tabachnick WJ 1984. The effect of colonization upon *Aedes aegypti* susceptibility to oral infection with yellow fever virus. *Am J Trop Med Hyg* 33:690-694.
- Lucas JR, Shono Y, Iwasaki T, Ishiwatari T, Spero N, Benzon G 2007. U.S. laboratory and field trials of metofluthrin (SumiOne) emanators for reducing mosquito biting outdoors. *J Am Mosq Control Assoc* 23:47-54.
- Maciél-de-Freitas R, Avendanho FC, Santos R, Gabriel S, Araújo SC, Lima JBP, Martins AJ, Coelho GE, Valle D 2014. Undesirable consequences of insecticide resistance following *Aedes aegypti* control activities due to a dengue outbreak. *PLoS One* 9: e92424.
- Maciél-de-Freitas R, Koella JC, Lourenço-de-Oliveira R 2011. Lower survival rate, longevity and fecundity of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) females orally challenged with dengue virus serotype 2. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 105:452-458.
- Maciél-de-Freitas R; Eiras AE, Lourenco-de-Oliveira R 2006. Field evaluation of effectiveness of the BG-Sentinel, a new trap for capturing adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 321-325.
- Maciél-De-Freitas R, Codeço CT, Lourenço-De-Oliveira R. 2007. Body size-associated survival and dispersal rates of *Aedes aegypti* in Rio de Janeiro. *Med Vet Entomol* 21:284-292.
- Mackauer M. 1980. Some aspects of quality and quality control of biological control agents during insectary propagation. *Proc V Int Symp Biol Contr* 1: 207-220.

- Madeira NG, Macharelli CA, Carvalho LR 2002. Variation of the oviposition preferences of *Aedes aegypti* in function of substratum and humidity. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 415-420.
- McCall PJ, Cameron MM 1995. Oviposition pheromones in insect vectors. *Parasitol Today* 11: 352-355.
- Mendki MJ, Ganesan K, Prakash S, Suryanarayana MVS, Malhotra RC, Rao KM, Vaidyanathaswamy R 2000. Heneicosane: an oviposition-attractant pheromone of larval origin in *Aedes aegypti* mosquito. *Curr Sci* 78: 1295-1296.
- Mieli MV, Campos RE 2003. Oviposition activity and seasonal pattern of a population of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in subtropical Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 659-663.
- Mogi M, Morky J 1980. Distribution of *Wyeomyia smithii* (Diptera: Culicidae) eggs in pitcher plants in Newfoundland, Canada. *Trop Med* 22: 1-12.
- Mokany A, Shine R 2003. Oviposition site selection by mosquitoes is affected by cues from conspecific larvae and anuran tadpoles. *Aust Ecol* 28: 33-37.
- Monath TP, Cetron MS 2002. Prevention of yellow fever in persons traveling to the tropics. *Vaccines* 34: 1369- 1378.
- Morrison AC, Zielinski-Gutierrez E, Scott TW, Rosenberg R 2008. Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *PLoS Med* 5:e68.
- Nelson MJ 1986. *Aedes aegypti: Biology and Ecology*. PAHO, Washington, DC, 59 pp.
- Nelson MJ 1994. The role of sampling in vector control. *Am J Trop Med Hyg* 50: 154-150.
- Njiru BN, Mukabana WR, Takken W, Knols BGJ 2006. Trapping of the malaria vector *Anopheles gambiae* with odour-baited MM-X traps in semi-field conditions in western Kenya. *Malar J* 5:39.
- Odiambo MTO, Skovmand O, Vulule JM, Kokwaro ED 2013. Polyethylene-based long lasting treated bed net netprotect on *Anopheles* mosquitoes, malaria incidence, and net longevity in Western Kenya. *J Trop Med* 2013: 1-10.
- O'Neal PA, Juliano SA 2013. Seasonal variation in competition and coexistence of *Aedes* mosquitoes: stabilizing effects of egg mortality or equalizing effects of resources? *J Anim Ecol* 82: 256-265.
- PAHO 1995. *Dengue y Dengue Hemorrágico en las Américas: Guías para su Prevención y Control*, Pan American Health Organization, Pub Cient Washington, 548 pp.
- Pennetier C, Bouraima A, Chandre F, Piameu M, Etang J, Rossignol M, Sidick I, Zogo B, Lacroix MI, Yadav R, Pigeon O, Corbel V 2014. Efficacy of Olyseth Plus, a new long-lasting insecticidal net incorporating permethrin and piperonyl-butoxide against multi-resistant malaria vectors. *PLoS One* 8: e 75134.

- Pialoux G, Gaüzère BA, Jauréguiberry S, Strobel M 2007. Chikungunya, an epidemic arbovirosis. *Lancet Infect Dis* 7: 319-327.
- Ponlawat A, Harrington LC 2007. Age and body size influence male sperm apacity of the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 44: 422-426.
- Ponlawat A, Harrington LC 2009. Factors associated with male mating success of the dengue vector mosquito, *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 80: 395-400.
- Ponnusamy L, Xu N, Nojima S, Wesson DM, Schal C, Apperson CS 2008. Identification of bacteria and bacteria-associated chemical cues that mediate oviposition site preferences by *Aedes aegypti*. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 9262-9267.
- Powers AM, Logue CH 2007. Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus. *J Gen Virol* 88: 2363-2377.
- Rapley LP, Russell RC, Montgomery BL, Ritchie SA 2009. The effects of sustained release metofluthrin on the biting, movement, and mortality of *Aedes aegypti* in a domestic setting. *Am J Trop Med Hyg* 81:94-99.
- Reiskind MH, Zarrabi AA 2012. Water surface area and depth determine oviposition choice in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 49: 71-76.
- Reiter P 2007. Oviposition, dispersal, and survival in *Aedes aegypti*: implications for the efficacy of control strategies. *Vector-Borne Zoon Dis* 7: 261-273.
- Reiter P, Amador MA, Anderso RA, Clark, GG 1995. Dispersal of *Aedes aegypti* in the urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs. *Am J Trop Med Hyg* 52:177-179.
- Reiter P, Fontenille D, Paupy C 2006. *Aedes albopictus* as an epidemic vector of chikungunya virus: another emerging problem? *Lancet Infect Dis* 6: 463-464.
- Reiter P, Nathan MB 2001. Guidelines for assessing the efficacy of insecticide space sprays for the control of the Dengue vector *Aedes aegypti*. *WHO/CDS/CPE/PVC*.
- Reiter P, Amador MA, Colon N 1991. Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. *J Am Mosq Control Assoc* 7:52-55.
- Resende MC, Ázara TMF, Costa IO, Heringer LC, Andrade MR, Acebal JL, Eiras AE 2012. Field optimisation of MosquiTRAP sampling for monitoring *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107: 294-302.
- Richardson AJ, Williams CR 2013. Inter-population mating success in Australian dengue vector mosquitoes: effects of laboratory colonization and implications for the spread of transgenics. *J Vector Ecol* 38:111-119.

- Ritchie SA, Devine GJ 2013. Confusion, knock-down and kill of *Aedes aegypti* using metofluthrin in domestic settings: a powerful tool to prevent dengue transmission? *Parasit Vectors* 6:262.
- Ritchie SA, Buhagiar TS, Townsend M, Hoffmann A, Van Den Hurk AF, McMahon JL, Eiras AE 2014. Field validation of the Gravid *Aedes* Trap (GAT) for collection of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 51:210-219.
- Ritchie SA, Johnson PH, Freeman AJ, Odell RG, Graham N, Dejong PA, Standfield GW, Sale RW, O'Neill SL 2011. A secure semi-field system for the study of *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis* 5: e988.
- Ritchie SA, Cortis G, Paton C, Townsend M, Shroyer D, Zborowski P, Hall-Mendelin S, Van den Hurk AF 2013. A simple non-powered passive trap for the collection of mosquitoes for arbovirus surveillance. *J Med Entomol* 50:185-194.
- Ritchie SA, Long S, Hart A, Webb CE, Russell RC 2003. An adulticidal sticky ovitrap for sampling container-breeding mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 19: 235-242.
- Ritchie SA, Rapley LP, Williams CW, Johnson PH, Larkman M, Silcock RM, Long SA, Russell RC 2009. A lethal ovitrap-based mass trapping scheme for dengue control in Australia. I. Public acceptability and performance of lethal ovitraps. *Med Vet Entomol* 23: 295-302.
- Rodríguez MM, Bisset JA, Fernández D 2007. Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. *J Am Mosq Control Assoc* 23:420-429.
- Roque RA 2002. *Avaliação de armadilhas iscadas com infusões de gramíneas como atraentes e/ou estimulantes de oviposição do mosquito Aedes (Stegomyia) sp. (Diptera:Culicidae)*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 83 pp.
- Roque RA 2007. *Avaliação de atraentes de oviposição, identificados em infusões de capim colônio (Panicum maximum) para fêmeas de Aedes aegypti (L. 1762) (Diptera: Culicidae) em condições de semicampo e campo*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 113 pp.
- Roque RA, Eiras AE 2008. Calibration and evaluation of field cage for oviposition study with *Aedes (Stegomyia) aegypti* female (L.) (Diptera: Culicidae). *Neotrop Entomol* 37: 478-485.
- Rutledge LC, Ward RA, Gould DJ 1964. Studies on the feeding response of mosquitoes to nutritive solutions in a new membrane feeder. *Mosq News* 24: 407-419.
- Salazar FV, Achee NL, Grieco JP, Prabaripai A, Ojo TA, Eisen L, Dureza C, Polsomboon S, Chareonviriyaphap T 2013. Effect of *Aedes aegypti* exposure to spatial repellent chemicals on BG-Sentinel[®] trap catches. *Parasit Vectors* 6: 145.
- Sanford MR, Tomberlin JK 2011. Conditioning individual mosquitoes to an odor: sex, source, and time. *PLoS One* 6(8):e24218.

- Sant'Ana AL, Roque RA, Eiras AE 2006. Characteristics of grass infusion as oviposition attractants to *Aedes (Stegomyia)* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 43: 214-220.
- Schneider JR, Mori A, Romero-Severson J, Chadee DD, Severson DW 2007. Investigations of dengue-2 susceptibility and body size among *Aedes aegypti* populations. *Med Vet Entomol* 21: 370-376.
- Scott TW, Clark GG, Lorenz LH, Amerasinghe PH, Reiter P, Edman JD 1993. Detection of multiple blood feeding in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) during a single gonotrophic cycle using a histologic technique. *J Med Entomol* 30:94-99.
- Silva HHG, Silva IG 1999. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. *Rev Soc Brasil Med Trop* 32: 349-355.
- Silva HHG, Silva IG, Lira KS 1998. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. *Rev Pat Trop* 27: 53-63.
- Simões TC, Codeço CT, Nobre AA, Eiras AE 2013. Modeling the non-stationary climate dependent temporal dynamics of *Aedes aegypti*. *PLoS ONE* 8: e64773.
- Soumahoro MK, Gérardin P, Boëlle PY, Perrau J, Fianu A, Pouchot J, Malvy D, Flahault A, Favier F, Hanslik T 2009. Impact of chikungunya virus infection on health status and quality of life: a retrospective cohort study. *PLoS ONE* 4: 1-6.
- Sucharit S, Tumrasvin W 1981. Ovipositional attractancy of waters containing larvae of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Jap J Sanit Zool* 32: 261 - 264.
- Sudia WD, Chamberlain RW 1962. Battery-operated light trap, an improved model. *Mosq News* 22: 126-129.
- Sunahara T, Ishizaka K, Mogi M 2002. Habitat size: a factor determining the opportunity for encounters between mosquito larvae and aquatic predators. *J Vec Ecol* 27: 8-20.
- Taípe-Lagos CB, Natal D 2003. Abundância de culicídeos em área metropolitana preservada e suas implicações epidemiológicas. *Rev Saúde Pública* 37: 275-279.
- Tilston N, Skelly C, Weinstein P 2009. Pan-European Chikungunya surveillance: designing risk stratified surveillance zones. *Int J Health Geogr* 8: 61 -69.
- Triola MF 2005. *Introdução à Estatística*, LTC, Rio de Janeiro, 656pp.
- Tsunoda T, Fukuchi A, Nanbara S, Takagi M 2010. Effect of body size and sugar meals on oviposition of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Vec Ecol* 35: 56-60.
- Tsunoda T, Kawada H, Huynh TTT, Luu LL, Le SH, Tran HN, Vu HTQ, Le HM, Hasebe F, Tsuzuki A, Takagi M 2013. Field trial on a novel control method for the dengue vector,

Aedes aegypti by the systematic use of Olyset® Net and pyriproxyfen in Southern Vietnam. *Parasites & Vectors* 6: 2-11.

Ujihara K, Mori T, Iwasaki T, Sugano M, Shono Y, Matsuo N 2014. Metofluthrin: a potent new synthetic pyrethroid with high vapor activity against mosquitoes. *Biosci Biotechnol Biochem* 68:170-174.

Vasconcelos PFC 2003. Febre amarela. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 275-293.

Vector Base – Liverpool LVP – Organism *Aedes aegypti*. [dados de internet] [citado em 28 Mai 2013].Disponível em: <https://www.vectorbase.org/organisms/aedes-aegypti/liverpool-lvp>

Walker T, Johnson PH, Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Frentiu FD, McMeniman CJ, Leong YS, Dong Y, Axford J, Kriesner P, Lloyd AL, Ritchie SA, O'Neill SL, Hoffmann AA 2011. The wMel *Wolbachia* strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations. *Nature* 24: 450-453.

White MT, Lwetoijera D, Marshall J, Caron-Lormier G, Bohan DA, Denholm I, Devine GJ 2014. Negative cross resistance mediated by co-treated bed nets: a potential means of restoring pyrethroid- susceptibility to malaria vectors. *PLoS One* 9: e95640.

WHO 1997. *Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance*, World Health Organization, Geneva, 129pp.

WHO 2006. *Report of the Scientific Working Group meeting on Dengue*, World Health Organization, Geneva, 160 pp.

WHO 2007. *Insecticide-treated mosquito nets: a WHO Position Statement*, World Health Organization, Geneva, 12pp.

WHO 2012. *Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020*, World Health Organization, Geneva 35pp.

WHO 2013. *World Malaria Report 2013*, World Health Organization, Geneva 255pp.

Williams CR, Leach KJ, Wilson NJ, Swart VR 2008. The Allee effect in site choice behaviour of egg-laying dengue vector mosquitoes. *Trop Biomed* 25: 140-144.

Williams CR, Long SA, Webb CE, Bitzhenner M, Geier M, Russell RC, Ritchie SA 2007. *Aedes aegypti* population sampling using BG-Sentinel traps in North Queensland Australia: statistical considerations for trap deployment and sampling strategy. *J Med Entomol* 44: 345-350.

Williams CR, Long SA, Russell RC, Ritchie SA 2006. Field efficacy of the BG-Sentinel compared with CDC Backpack Aspirators and CO₂-baited EVS traps for collection of adult *Aedes aegypti* in Cairns, Queensland, Australia. *J Am Mosq Control Assoc* 22:296-300.

Wong J, Morrison AC, Stoddard ST, Astete H, Chu YY, Baseer I, Scott TW 2012. Linking oviposition site choice to offspring fitness in *Aedes aegypti*: consequences for targeted larval control of dengue vectors *PLOS Neglect Trop D* 6: e1632.

- Wong J, Stoddard ST, Astete H, Morrison AC, Scott TW 2011. Oviposition site selection by the dengue vector *Aedes aegypti* and its implications for dengue control. *PLOS Neglect Trop D* 5: e1015.
- Vanlerberghe V, Villegas E, Oviedo M, Baly A, Lenhart A, McCall PJ, Van der Stuyft P 2011. Evaluation of the effectiveness of insecticide treated materials for household level dengue vector control. *PLoS Negl Trop Dis* 29(3): e994.
- Xue RD, Ali A, Barnard DR 2008. Host species diversity and post-blood feeding carbohydrate availability enhance survival of females and fecundity in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Exp Parasitol* 119:225-228.
- Xue RD, Barnard DR, Ali A 2009. Influence of multiple blood meals on gonotrophic dissociation and fecundity in *Aedes albopictus*. *J American Mosquito Control Assoc*, 25:504–507.
- Xue RD, Qualls WA, Smith ML, Gaines MK, Weaver JH, Debboun M 2012. Field evaluation of the Off! Clip-on Mosquito Repellent (metofluthrin) against *Aedes albopictus* and *Aedes taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) in northeastern Florida. *J Med Entomol* 49:652-655.
- Zahiri N, Rau ME, Lewis JD 1997. Oviposition responses of *Aedes aegypti* and *Aedes atropalpus* (Diptera: Culicidae) females to waters from conspecific and heterospecific normal larvae and from larvae infected with *Plagiorchis elegans* (Trematoda: Plangiorchiidae). *J Med Entomol* 34:565-568.