

Mônica Vannucci Nunes

**Efeitos da Permetrina na Expressão da Carga
Genética Relativa ao Cromossomo X e de
Componentes do Valor Adaptativo de
*Drosophila Melanogaster***



1910000546



MONICA VANNUCCI NUNES

EFEITOS DA PERMETRINA NA EXPRESSÃO DA CARGA GENÉTICA
RELATIVA AO CROMOSSOMO X E DE COMPONENTES DO VALOR ADAPTATIVO
DE *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Dissertação apresentada para obtenção do
título de **Mestre em Genética** no Curso de
Pós-Graduação em Ciências Biológicas,
Área de Concentração em Genética, do
Instituto de Biociências, Letras e Ciências
Exatas da Universidade Estadual
Paulista - UNESP.



546/91

t575.11
N972e

São José do Rio Preto

1991



ORIENTADOR: Prof. Dr. Aluísio José Gallo



Este trabalho foi realizado no Laboratório de Genética de Populações de **Drosophila** do Departamento de Biologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, da Universidade Estadual Paulista - UNESP, com auxílio-bolsa da CAPES.



Dedico este trabalho
a todas as pessoas
com as quais convivi
nos últimos três anos.
Com essas pessoas,
tive a oportunidade de
trabalhar, aprender,
divertir-me, chorar
e ... amar.
Elas fazem parte do que sou.
E do que faço.

Os amantes e os loucos têm mentes tão febris,
tantas fantasias tão vívidas,
que compreendem mais
do que a razão fria jamais compreenderá.
O lunático, o amante e o poeta,
estão todos repletos de imaginação.

Shakespeare

Sonho de uma noite de verão



ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	
II. MATERIAL E MÉTODOS	21
II.1. Caracterização do Composto e sua Utilização nos Experimentos	21
II.2. Material Biológico	22
II.3. Meio de Cultura	24
II.4. Componentes do Valor Adaptativo	26
II.5. Carga Genética	30
III. RESULTADOS	33
III.1. Atividade Sexual	33
III.2. Fecundidade	42
III.3. Tempo de Desenvolvimento	48
III.4. Tamanho da Progenie	52
III.5. Carga Genética	64
IV. DISCUSSÃO	69
V. RESUMO	84
VI. ABSTRACT	86
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
VIII. APÊNDICE	101
IX. AGRADECIMENTOS	117

I. INTRODUÇÃO

A agricultura moderna tem gerado uma crescente utilização de pesticidas sintéticos que, até meados da década de 1970 era satisfeita pelo uso de compostos organoclorados, organofosforados e metilcarbamatos. Porém, devido aos seus efeitos nocivos, estes pesticidas foram substituídos por compostos piretróides, descritos a partir de 1973 (Elliott et alii, 1973) e desenvolvidos a partir do princípio ativo de uma substância de origem vegetal, o piretro ou piretrina, de atividade repelente e inseticida eficaz, porém de baixa estabilidade. Estes novos compostos têm alta eficiência contra pragas e baixa toxicidade aos mamíferos e têm sido utilizados em larga escala, tanto em regiões agropecuárias, como inseticida e acaricida, bem como em residências, sob diversas formulações, devido à sua baixa toxicidade.

O controle de pragas foi razoavelmente bem sucedido até os anos quarenta, utilizando apenas compostos de origem natural, constituindo a primeira geração de inseticidas, composta por agentes tóxicos inorgânicos, como os arseniacais, ou de origem vegetal, como a nicotina, a rotenona e as piretrinas (Rizzini & Mors, 1976). Com exceção destas últimas, foram substituídos pelos inseticidas orgânicos sintéticos, entre as décadas quarenta e cinquenta. Esta segunda geração estava próxima de propiciar o controle completo, associado ao custo reduzido e à alta eficácia e persistência no ambiente.

Há quatro classes de inseticidas de segunda geração: compostos organofosforados, metilcarbamatos, organoclo-



rados e piretróides. Todos atuam sobre o sistema nervoso. As duas primeiras classes inibem a acetilcolinesterase, interrompendo a transmissão sináptica. As demais, atuam na membrana do nervo, principalmente por alteração dos mecanismos de condutância do sódio.

Vários dos compostos organoclorados (DDT, Aldrin e Dieldrin) foram restritos ou proibidos, devido à sua persistência inaceitável, efeitos sobre a vida selvagem e possível atividade carcinogênica. Alguns dos organofosforados e metilcarbamatos podem causar muitos danos durante a sua manufatura, formulação e aplicação, devido à sua alta toxicidade aguda quando ingeridos, inalados ou absorvidos através da pele. A maioria dos piretróides parece, até o momento, ter persistência e características toxicológicas geralmente vantajosas em relação a outros compostos.

Os piretróides são substâncias sintéticas desenvolvidas a partir do princípio ativo das piretrinas, que são ésteres extraídos das flores de piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium*, Trev.), uma herbácea perene da família Compositae. A exposição acidental a altas doses, por via oral ou dérmica, causa uma sensação temporária de torpor na língua e nos lábios (Casida, 1980). Seu extrato tem baixa toxicidade aguda para mamíferos e aves, apesar de alta toxicidade a insetos, outros invertebrados e peixes, estes sensíveis a baixíssimas concentrações, de poucas partes por bilhão na água (Barnes & Verschoyle, 1974; Elliott et alii, 1974, 1978; Elliott, 1976; Schmidt et alii, 1976; Elliott & Janes, 1978; Faraone et alii, 1978; McClanahan, 1978; Hassal, 1982; Rattner & Franson, 1984



e Sidon **et alii**, 1988). Testes laboratoriais com mamíferos indicaram que estes compostos não produziram efeitos carcinogênicos, mutagênicos ou teratogênicos, mesmo quando combinados a sinergistas (Casida, 1980; Chatterjee **et alii**, 1982 e Hoellinger **et alii**, 1987).

A atividade biológica dos constituintes do piretro depende das características estruturais e estereoquímicas de suas frações álcool e ácido (Casida, 1980; Ford **et alii**, 1989). Os crisantematos (piretrinas tipo I) são geralmente mais potentes como inseticidas e os piretratos (piretrinas tipo II) como agente inativador. O extrato de piretro contém seis ésteres de ação inseticida, que diferem somente por substituições nas cadeias laterais dos componentes álcool e ácido. Segundo Casida (1980), o ácido é do tipo ciclopropanocarboxílico (ácido crisantêmico ou ácido pirétrico) e o álcool uma ciclopentenolona (piretrolona, jasmolona ou cinerolona).

O extrato de piretro possui ação inseticida muito eficaz, mas não persistente o suficiente para o uso na agricultura. A propriedade de inativação requer penetração rápida no organismo, conferida pela polaridade dos componentes ácido ou álcool e a instabilidade resulta da susceptibilidade à fotooxidação. A utilização dos piretróides na agricultura tornou-se possível através da substituição dos centros fotolábeis dos ésteres precursores por unidades estruturais mais estáveis (Elliott **et alii**, 1973, 1974, 1978; Elliott, 1976; Elliott & Janes, 1978; Casida, 1980 e Hassal, 1982).

Pode às vezes ser difícil decidir se um inseticida



sintético é ou não um piretróide. Geralmente novos compostos são considerados piretróides se as suas propriedades biológicas dependem de características estereoquímicas semelhantes às das piretrinas (Elliott, 1976). As frações ácidas de alguns piretróides apresentam uma grande semelhança estrutural a várias moléculas do tipo do DDT, sugerindo que eles possam agir em partes semelhantes ou sobre os mesmos neurorreceptores (Elliott *et alii*, 1978; Casida, 1980; Verschoyle & Aldridge, 1980; Lawrence & Casida, 1982; Nation & Roth, 1987; Crofton & Reiter, 1988; Lombet *et alii*, 1988 e Rossignol, 1988). Lombet *et alii* (1988), verificaram que os piretróides parecem atuar sobre sítios específicos de ligação nos canais de sódio dependentes de voltagem, correspondendo ao mesmo sítio de ação do DDT, além de exercerem efeitos inibitórios não específicos sobre os canais de íons neurotransmissores de recepção e operação. Esses efeitos provavelmente pouco contribuem para os sintomas excitatórios desses inseticidas (Oortgiesen *et alii*, 1989). O aumento na atividade de descarga elétrica pode ser explicado por um aumento na condutância do sódio através da membrana celular.

A maioria dos agentes carcinogênicos e mutagênicos ambientais necessita de ativação mediada enzimaticamente para que exerça efeitos biológicos. O grupo do citocromo P-450, constituído de oxigenases de função mista, desempenha uma função central no processo de bioativação, originando a formação de reagentes eletrofílicos, que causam efeitos tóxicos tardios, como por exemplo neoplasias malignas ou danos genéticos (Baars *et alii*, 1977).



Uma característica notável dos piretróides, distinguindo-os de outros inseticidas lipofílicos como os organoclorados, é a susceptibilidade ao ataque de sistemas metabólicos. Essa propriedade toxicológica favorável está relacionada à característica de penetrar e interagir com o sítio de ação nos insetos, enquanto que após administração externa ou oral a mamíferos são eliminados, intactos ou modificados pelo metabolismo, antes de atingirem regiões sensíveis. A existência de sítios susceptíveis nos mamíferos é indicada através da alta toxicidade intravenosa de alguns compostos, que é muito maior do que por administração oral (Verschoyle & Barnes, 1972 cf Casida, 1980).

A habilidade de metabolização desses compostos varia enormemente conforme o tipo de composto e a espécie de organismo, mas a extensão em que isso afeta a potência como inseticida não é ainda definida precisamente; a situação em linhagens de insetos resistentes é complicada pela interação entre os vários fatores de resistência (Sawicki, 1975 cf Casida, 1980). Entretanto, na mosca doméstica, a atividade aumentada das piretrinas e de alguns ésteres sintéticos quando sinergizados torna evidente que o metabolismo limita a toxicidade desses compostos (Casida, 1980). Investigações sobre a ação dos sinergistas, compostos potencializadores amplamente utilizados nas formulações, como o Sesamex (Burt et alii, 1976 cf Casida, 1980) e de formamidinas e formanilidas (Kamel et alii, 1987), entretanto, mostraram níveis de sinergismo insatisfatórios, mesmo sob doses elevadas. Isso leva a crer que o



uso extensivo dos sinergistas conhecidos, como por exemplo o butóxido de piperonila, parece contrário às evidências.

Os mamíferos parecem ser relativamente tolerantes aos piretróides; assim, esses inseticidas são alternativas adequadas a alguns dos demais agentes de segunda geração no controle de insetos. Poucos compostos administrados intravenosamente são tóxicos para ratos nos níveis equivalentes à sua potência sobre insetos susceptíveis (Sternberg, 1979; Hoellinger *et alii*, 1987; Eadsforth *et alii*, 1988 e Catinot *et alii*, 1989). A toxicidade relativamente baixa por exposição oral, dérmica (Cagen *et alii*, 1982) ou inalação resulta portanto de fatores que previnem a entrada no sistema nervoso, tais como detoxificação metabólica, devendo-se também considerar as variações interespecíficas. Sidon *et alii* (1988), realizando testes para a verificação da absorção pericutânea de permetrina, constataram que esta é maior em ratos do que em macacos Rhesus e que também o sítio anatômico designado para o teste é importante (em macacos, a cabeça foi mais permeável do que o braço).

Segundo Elliott (1976), a baixa toxicidade dos piretróides aos mamíferos é relacionada à facilidade e à velocidade do metabolismo do composto. A clivagem do éster é especialmente importante e não ocorre nos inseticidas organoclorados; desse modo, esses inseticidas são inigualáveis para substituir qualquer dos demais compostos utilizados.

Eadsforth *et alii* (1988), por meio do acompanhamento da excreção urinária, avaliaram a absorção e o metabolismo de doses orais e de aplicações dérmicas de cipermetrina minis-



tradas a humanos. A absorção por exposição dérmica, como resultado da aplicação de "sprays", mostrou ser muito maior do que aquela devida à exposição por inalação ou ingestão. Em média, 43% dos metabólitos provenientes do componente **cis** e 71% do componente **trans**, originados por exposição oral, foram excretados em 24 horas, enquanto que apenas 1% dos metabólitos originados por exposição dérmica foram recuperados após 72 horas de monitoramento. A exposição excessiva a certos piretróides pode resultar em irritação da pele de indivíduos sensíveis.

Segundo Crofton & Reiter (1988) a classificação toxicológica dos piretróides em dois tipos (tipo I e tipo II) é baseada em três itens: 1) sinais de toxicidade **in vivo** em ratos, camundongos e insetos; 2) duração do prolongamento da corrente de sódio nos axônios; e 3) interações nos receptores complexos do ácido gama-aminobutírico - GABA.

Há dois sítios de ação conhecidos da permetrina em invertebrados: o canal de sódio dependente de voltagem e o receptor nicotínico da acetilcolinesterase, sendo o primeiro mais importante em termos de função neural.

Há poucos estudos acerca de atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica dos piretróides em mamíferos, em decorrência de ser considerado como o grupo de pesticidas mais seguro. Catinot **et alii** (1989) verificaram que a ligação covalente dos piretróides em homogeneizado de fígado de ratos é dependente da concentração e foi drasticamente reduzida pelo agente sinergista butóxido de piperonila. Os resultados indica-



ram que a metabolização se processa em duas etapas principais, sendo estas o processo de ativação (provavelmente epoxidação) e conseguinte hidrólise. Sternberg (1979) verificou que os piretróides provocaram um decréscimo na concentração de DNA hepático em ratos; a administração de Sumicidin (fenvalerato) em doses baixas, prolongadas por 21 dias, induziu aberrações cromossômicas e alterações do índice mitótico, além de ter tido um efeito cumulativo dependente da dosagem e do tempo de exposição, especialmente sobre o mecanismo do fuso (Chatterjee **et alii**, 1982). Os metabólitos apresentaram uma atividade muito maior (Nakayama **et alii**, 1978 e Verschoyle & Barnes, 1972, cf Casida, 1980). A cismetrina apresentou um efeito antimitótico brando (Hoellinger **et alii**, 1987).

Os piretróides são bastante tóxicos a peixes (Haya, 1989 e Bradbury & Coats, 1989). Sua lipofilicidade indica que são absorvidos pelas brânquias mesmo quando em concentrações muito baixas. Na revisão de Casida (1980), encontram-se diversas referências a esse respeito, desde indicações sobre a toxicidade de piretrinas, com e sem o sinergista butóxido de piperonila para uma série de organismos aquáticos, até estudos comparativos, fornecendo dados preliminares sobre a toxicidade dos isômeros ópticos e geométricos da fenotrina, permetrina, resmetrina e tetrametrina sobre **Oryzias latipes**. Os piretróides foram mais tóxicos a esses peixes do que os organofosforados e carbamatos. Os estudos mostraram que a toxicidade relativa varia conforme a espécie e, para qualquer uma delas, a toxicidade geralmente é proporcional à atividade inseticida (Haya, 1989).



Segundo Coats *et alii* (1989), a toxicologia dos inseticidas piretróides aos seres aquáticos afeta dois grupos importantes de organismos susceptíveis: peixes e insetos. A sensibilidade dessas espécies é dependente de vários fatores, que incluem a cinética toxicológica, o sítio-alvo (sistema nervoso), a sensibilidade e possíveis mecanismos secundários de ação, que podem tanto ser propriedades químicas quanto físicas do meio aquático, influenciando a toxicidade e a disponibilidade biológica do composto no ambiente.

Estudos com a permetrina, a cipermetrina e o fenvalerato (Bradbury & Coats, 1989) mostraram que a taxa de metabolismo e eliminação na truta arco-íris (*Salmo gairdneri*) foram significativamente menores que aquelas determinadas para aves e mamíferos. As concentrações letais no cérebro foram comparativamente mais baixas em relação aos aspectos não-neurais das intoxicações, sugerindo que variações na toxicodinâmica são de importância fundamental na avaliação dos efeitos seletivos dos piretróides.

A absorção rápida nas margens dos rios, sedimentos e matéria orgânica em geral diminui bastante a concentração na água, reduzindo a toxicidade efetiva (Day, 1989 e Hill, 1989). Assim, sob condições práticas normais, a permetrina não demonstrou ação direta sobre peixes e teve efeito pouco significativo sobre vermes, caramujos, bivalves, sanguessugas, girinos e a flora aquática (Ruscoe, 1977 *cf* Casida, 1980). Cipermetrina aplicada em uma lagoa não afetou anfíbios ou peixes, inclusive alevinos (Breese, 1977, *cf* Casida, 1980). Já a resmetrina foi



considerada tóxica para peixes no combate à larvas de **Simulium damnosum** (borrachudo), impedindo o tratamento de córregos e rios (Quélenec, 1972 cf Casida, 1980). O fenvalerato mostrou atividade relativamente alta sobre o peixe **Gambusia affinis** (Miura & Takahashi, 1976 cf Casida, 1980). Clark et alii (1989) verificaram que a correspondência entre a concentração na água e a dose letal média, para invertebrados marinhos e peixes, indicam a importância da quantificação da porção remanescente dos piretróides nas amostras de campo para caracterizar acuradamente o risco ambiental associado ao abalo causado após aplicação na agricultura.

Os piretróides tipo II, mas não os do tipo I, parecem ligar-se ao receptor do GABA e afetá-lo (Lawrence & Casida, 1983; Gammon et alii, 1982 e Chalmers & Osborne, 1986, cf Casida, 1980).

Os efeitos resultantes da aplicação de permetrina em um neurônio sensorial isolado do lagostim **Procambarus clarkii** foram complexos, variando não somente com a concentração, mas também com o tempo de exposição (Nation & Roth, 1987). Mulla et alii (1975, cf Casida, 1980), investigaram a ação da permetrina, utilizada como larvicida, e verificou que alguns organismos não-alvo (larvas de besouros) foram afetados mais do que outros (copépodos e ostrácodos). Os piretróides são também potentes molusquicidas, mais ativos do que organofosforados e metilcarbamatos (Singh & Agarwall, 1987).

De todas as evidências disponíveis na literatura, a toxicidade de piretrinas e piretróides a aves é muito baixa. A administração oral de doses elevadas de fenvalerato ao falcão

americano (*Falco sparverius*) causou intoxicação branda e aumentou a atividade plasmática da alanina aminotransferase. Temperaturas baixas (-5°C) não aumentaram a toxicidade (Rattner & Franson, 1984).

Apesar dos efeitos de piretróides terem sido bem analisados em mamíferos, tanto qualitativa quanto quantitativamente, o número de investigações detalhadas em insetos é limitado, devido a dificuldades experimentais além de tais informações não serem requisitadas para estabelecer a segurança de um inseticida. Existem evidências de que os piretróides induzem aumento na frequência de mutações recessivas letais ligadas ao sexo em *Drosophila melanogaster* (Batiste-Alentorn et alii, 1986, 1987a) além da perda do cromossomo sexual e da não-disjunção (Batiste-Alentorn et alii, 1987a). Esses autores verificaram que, tanto para a cipermetrina quanto para o fenvalerato, os machos são mais sensíveis (Batiste-Alentorn et alii, 1987b) entretanto, a permetrina não induziu perda cromossômica em *Drosophila melanogaster* (Woodruff et alii, 1983).

Estudos sobre os efeitos dos piretróides adicionados à alimentação durante o tempo de vida, utilizando mamíferos, são tão importantes quanto observações de toxicidade aguda na avaliação da segurança dos piretróides. Alguns desses estudos estão ainda em andamento para cada piretróide, proposto ou em uso para a proteção contra as pragas (Casida, 1980).

Doses subletais de cipermetrina provocaram uma redução substancial na postura de ovos do besouro mostarda (*Phaedon cochleariae*), devido à toxicidade (a redução foi



proporcional à dose) e à ação repelente, prejudicando a alimentação e provocando um comportamento anormal de oviposição (Hajjar & Ford, 1989).

Valores de tolerância ou quantidade máxima de resíduos permitida na dieta, que não produzam efeitos, são estabelecidos pela quantidade de resíduos normalmente presentes quando os compostos são usados de acordo com práticas agrícolas corretas e um fator de segurança para corrigir possíveis diferenças de sensibilidade entre mamíferos de laboratório e humanos.

Os piretróides são geralmente inseticidas de amplo espectro. Controlam uma grande variedade de insetos, apesar da dose efetiva variar de modo marcante entre espécies mais e menos sensíveis. Na proteção de produtos armazenados, um sinergista é comumente adicionado. Na produção de alimentos e fibras, os piretróides são frequentemente utilizados juntamente com outros pesticidas.

A maioria dos estudos salientam a eficácia dos inseticidas piretróides na proteção de insetos úteis, como por exemplo as abelhas, contra parasitas. No entanto, Fries & Wibran (1987), através da aplicação de cipermetrina em plantas visitadas por abelhas, constataram a morte de 80% das operárias das colméias. A utilização de piretróides menos potentes, além de aplicações com frequência e quantidade visando minimizar o dano ao polinizador e à colméia poderia solucionar este problema. A morte de predadores e parasitas pode levar à recorrência de pestes controladas por seus inimigos naturais.

Piretróides não são eficazes no controle de insetos



do solo, possivelmente devido à sua ligação com este e ao metabolismo de seus componentes. Crustáceos e insetos aquáticos benéficos não são alvo em potencial do uso de piretróides no controle de larvas de mosquitos de importância médica.

O caráter lipofílico dos piretróides indica que eles são absorvidos prontamente por superfícies cerosas nas plantas e penetram nos vasos condutores de seiva predominantemente a metabólitos mais polares (Casida, 1980).

Até recentemente pouco se sabia acerca do metabolismo de piretróides no solo. Kaufman *et alii* (1977 cf Casida, 1980) mostrou que a persistência da permetrina no solo é limitada, devido à sua degradação pelos microorganismos do solo nas primeiras quatro semanas. Estudos sobre a estabilidade da deca-metrina em solos secos demonstraram que esta é dependente da umidade (Barlow *et alii*, 1977 cf Casida, 1980). As conclusões mais importantes desses e de outros estudos levam a crer que os piretróides são completamente degradados em um período de duas a quatro semanas, em vários tipos de solo, em contraste com os inseticidas organoclorados, que não o são (Casida, 1980). Sob dosagens recomendadas, a permetrina é provavelmente metabolizada de maneira rápida o suficiente para minimizar efeitos adversos sobre a fauna e a microflora do solo. Maloney *et alii* (1988) verificaram que a transformação microbiana da permetrina por *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens* e *Achromobacter* sp é rápida, com uma meia vida para o composto inferior a cinco dias.

A resistência das pragas restringiu o uso de quase



todos os tipos de inseticidas e colocou uma séria ameaça ao futuro dos piretróides. Ahmad et alii (1989) afirmaram em seu estudo sobre a resistência em linhagens tailandesas de **Heliothis armigera**, que esta é devida a um mecanismo de diminuição da sensibilidade do nervo aos piretróides. A existência de um fator que confere resistência ao DDT e aos piretróides através de um mecanismo de insensibilidade do sítio-alvo é bem conhecida. A expressão "resistência à inativação" (**knockdown resistance** ou **kdr**) foi utilizada pela primeira vez em 1951 para descrever esse mecanismo, visto que moscas domésticas o possuíam, apresentando um retardamento dos sintomas de inativação causados pelo DDT e pelas piretrinas, e isso gerava proteção contra os efeitos letais do DDT. Estudos neurofisiológicos mostraram que a base da resistência à inativação é uma redução da sensibilidade do sistema nervoso à ação desses compostos. O mecanismo está presente nas linhagens resistentes de moscas domésticas possuidoras do gene **kdr** (Farnhan, 1977 e Sawicki, 1978, cf Ahmad et alii, 1989). A expressão **kdr** tem sido amplamente usada desde então para descrever a resistência ao DDT e aos piretróides em artrópodes que possuam características de redução da toxicidade sobre o sistema nervoso, mesmo quando a base genética para essa resistência seja desconhecida.

Linhagens de **Culex tritaeniorhynchus** do Japão, com resistência a esses inseticidas detectada desde 1978, foram susceptíveis à permetrina (Yasutomi & Takahashi, 1987). Entretanto, conforme Casida (1980), a seleção prévia de moscas resistentes ao DDT para o fator recessivo que confere resistência à inativação (**kdr**) gera resistência cruzada com pire-



tróides. Segundo esse autor, o estudo de moscas em fazendas dinamarcadas mostrou que estas desenvolveram resistência a piretrinas e piretróides, quando estes foram usados em substituição a organoclorados e organofosforados. Uma linhagem de campo resistente a piretróides foi selecionada no laboratório com bioresmetrina para um fator de resistência de 1400 vezes. Apesar de não haver ocorrido exposição anterior, essa linhagem era mais de 60 mil vezes resistente à decametrina. Assim, o inseticida mais potente para uma linhagem normal praticamente não tem efeito sobre a linhagem resistente. Esse é o mais dramático exemplo de resistência a piretróides que se conhece.

Musca domestica resistente à inativação (kdr) apresentou resistência a inseticidas piretróides e ao DDT devido à diminuição da sensibilidade neural a essas toxinas, por modificação dos canais de sódio. Enquanto a capacidade dos receptores de acetilcolinesterase é idêntica nas linhagens resistentes e não-resistentes, as moscas resistentes possuem menos canais de sódio em comparação ao controle. Assim, os resultados sugerem que uma redução do número de canais de sódio seja o mecanismo de resistência a neurotoxinas que causam ativação persistente dos canais (Rossignol, 1988).

Em relação à mosca do chifre, **Haematobia irritans**, as linhagens hoje resistentes foram provavelmente selecionadas pelo uso de DDT. Roush et alii (1986, cf McDonald & Schmidt, 1987) definiram seu mecanismo de resistência como sendo de herança autossômica recessiva, o que foi descartado por



McDonald & Schmidt (1987), que atribuíram a resistência à herança recessiva ligada ao sexo, utilizando a permetrina como agente selecionador. Em 18 meses, cerca de 40 gerações, estes pesquisadores atingiram um fator de resistência de 100 (DL50) a 300 vezes (DL90) para as linhagens selecionadas. Byford *et alii* (1987) verificaram que na **Haematobia** a distribuição de moscas sobre gado com brincos impregnados com fenvalerato foi afetada significativamente, ou seja, a resistência comportamental ao fenvalerato é um fenômeno que requer estimulação sensorial do inseto no sentido de evitar o contato, incluindo irritabilidade e repelência, no qual o inseto é estimulado a deixar a fração de ambiente tóxico, ocorrendo redistribuição das moscas resistentes mesmo sobre o gado tratado.

Baixos níveis de resistência no campo são também conhecidos para mosquitos, carrapatos de gado, alguns lepidópteros, pragas de algodão, entre outros. Para a praga do tabaco e do algodão **Heliothis virescens** (Lepidoptera), a resistência foi primeiramente detectada em 1985 (Roush & Luttrell, 1989). É possível prevenir a resistência a piretróides através da restrição de seu uso a doses e aplicações mínimas, além da utilização de sistemas mais completos de manejo integrado de pragas.

Estudos demonstram que os piretróides apresentam uma dose letal média elevada e baixa toxicidade, além de não serem persistentes no ambiente. Todavia, estudos da ação destes compostos a médio e longo prazo são escassos na literatura.

A grande diversidade ambiental leva os seres vivos a desenvolver respostas às oportunidades de vida em nosso planeta. Para tal, há estratégias de propagação e ocupação de



novos nichos por genótipos versáteis, variados e adaptados a ambientes específicos.

Conforme Dobzhansky (1970), a variação tem dois aspectos, um estático e o outro dinâmico. Variação enquanto estado (variabilidade) é a diversidade observável de indivíduos ou grupos de indivíduos dentro de uma espécie, ou a diversidade entre espécies. Variação como um processo significa que o desenvolvimento dos indivíduos pode ser modificado por influências ambientais, e o patrimônio hereditário pode ser modificado por recombinação de genes ou por mutação, a fonte primária de toda a variabilidade genética.

Os fenótipos resultantes variam de acordo com o ambiente genético interno, sendo determinados pela potencialidade da norma de reação, que por sua vez é decorrente da sequência ambiental onde o desenvolvimento se realiza.

Os indivíduos que compõem uma população devem possuir características que lhes atribuam a capacidade de utilizar os recursos ambientais para a sua sobrevivência e reprodução. Essa adaptação é necessária e sua conservação resulta de variabilidade genética que permite o surgimento de indivíduos pré-adaptados às futuras condições do ambiente.

Para manter a flexibilidade genética necessária à realização de uma mudança adaptativa nos fenótipos, uma população apresenta diversas estratégias. Por exemplo, nos microorganismos, as populações são enormes e as taxas de reprodução muito altas. Em qualquer fase de sua existência, certamente surge um número suficiente de novas mutações, que permitem



enfrentar situações diferentes, por meio da rápida reprodução daqueles mutantes que são adaptados às novas condições. Nos organismos pluricelulares com reprodução sexuada, todavia, as populações são muito menores, como também são mais baixas as taxas de reprodução. Assim, as mutações de origem recente raramente servem de base para respostas adaptativas após uma mudança nas condições do meio. Em contrapartida, a flexibilidade genética é conseguida pela recombinação da variabilidade genética armazenada, oculta e já presente na população, mas não expressa nos fenótipos da maioria dos indivíduos (Mettler & Gregg, 1969). Uma grande quantidade de genótipos em uma população produzirá indivíduos bem adaptados e "normais", que constituem a norma adaptativa da população. Essas variações podem aumentar ou diminuir o valor adaptativo de seus portadores.

Dobzhansky (1968) conceituou o valor adaptativo como sendo "a contribuição de um genótipo ao conjunto gênico da geração seguinte, em comparação aos demais genótipos da população". Carareto (1989) afirmou que na maioria dos estudos de mensuração do valor adaptativo são feitas medidas de um ou de poucos componentes na suposição de que estejam positivamente correlacionados com o valor adaptativo total.

A produção constante de fenótipos não tão adaptados às condições presentes mas que, por acaso, possam estar bem adaptados a um certo ambiente no futuro possibilita a sobrevivência das populações. Com isso, elas podem facilmente modificar-se, de modo a permanecerem adaptadas ao seu ambiente quando este se altera. Essa variação que origina fenótipos mal-adaptados é a carga genética (Mettler & Gregg, 1969).



Medidas da carga genética têm sido realizadas com o objetivo de avaliar o valor adaptativo e o estado-de-ser-adaptado das populações naturais, baseando-se na redução da aptidão dos homozigotos em relação aos heterozigotos para os mesmos conjuntos de genes ou cromossomos. Como medir o valor adaptativo total é muito difícil, na prática a redução é expressa em função de um ou de alguns dos seus componentes (viabilidade, fertilidade, fecundidade, tempo de desenvolvimento, etc.).

A quantificação da carga genética é baseada no endocruzamento sistemático. Cruzando-se sucessivamente indivíduos com certo grau de parentesco, obtem-se uma progênie em homozigose crescente. Assim, genes recessivos ocultos nos heterozigotos podem ser postos em homozigose e manifestar seu efeito. Em **Drosophila**, existem técnicas que permitem a obtenção de moscas homozigotas para determinados cromossomos e que fornecem estimativas mais precisas da carga genética.

Drosophila tem se mostrado também muito adequada para o estudo do efeito de drogas em geral devido, entre outras vantagens, à sua capacidade de converter xenobióticos de forma semelhante à que ocorre em mamíferos (Legator & Zimmering, 1975).

Ocorreu, assim, a possibilidade de testá-los, utilizando entre outros procedimentos, a análise de gerações sucessivas, provenientes de endocruzamentos sistematizados, de modo a permitir uma quantificação da possível carga genética induzida pela exposição a compostos dessa natureza.



No presente estudo procurou-se avaliar os efeitos da permetrina, um dos primeiros piretróides descritos (Elliott et alii, 1973, 1974), na carga genética e em componentes do ciclo biológico de *Drosophila melanogaster*, com o objetivo de quantificar a carga genética, através da hemi-homozigose do cromossomo X e pela análise de componentes do valor adaptativo.



II. MATERIAL E MÉTODOS

Avaliou-se os efeitos da permetrina sobre componentes do valor adaptativo e na carga genética de *Drosophila melanogaster*.

II.1. Caracterização do composto e sua utilização nos experimentos

A permetrina [(1RS) - cis,trans-3-(2,2) diclorovinil - 2,2 - dimetilciclopropano - 1 - carboxilato de 3 - fenoxibenzila] é um líquido de cor âmbar que cristaliza-se parcialmente à temperatura ambiente sendo completamente líquido a temperaturas superiores a 60 °C, quase insolúvel em água, porém solúvel na maioria dos solventes orgânicos e estável ao calor. A permetrina é comercializada como concentrado emulsionável e como "spray" doméstico, neste último geralmente associada a outros inseticidas, piretróides ou não, além de sinergistas. Neste trabalho foi usado o composto puro, cedido pela Companhia de Ceras Johnson (Rio de Janeiro - RJ), que elabora formulações de uso doméstico, sob o nome comercial de Protector. Como solvente, utilizou-se acetona p.a. (Merck).

O composto foi utilizado em três concentrações, escolhidas a partir dos resultados de um experimento piloto, no qual moscas adultas foram mantidas em meio de cultura tratado com solução de permetrina. Deste modo foi possível determinar a concentração em que metade dos indivíduos morriam (Dose Letal Média, a DL50) após 48 horas de exposição. Nas condições do



experimento, verificou-se que a DL50 ficou em torno da concentração de 18 ppm, o que levou a adotar-se concentrações próximas a esse valor: 15ppm, 18ppm e 20ppm. Para o preparo das soluções, 1mg do composto foi diluído segundo a concentração final desejada, de modo que a concentração do solvente fosse de 5% da solução total, constituída a partir de solução de sacarose a 5%, conforme procedimento adaptado de Wurgler (1980) e Batiste-Alentorn *et alii* (1987a,b).

Além dos grupos de tratamento, denominados **T15**, **T18** e **T20**, segundo a concentração de permetrina, foram preparados dois tipos de solução controle, uma com o solvente (acetona), com a mesma concentração utilizada nos tratamentos, ou seja, 5% da solução total, denominada controle solvente ou **Ca**, e outra com sacarose, também a 5% e denominada **Cs**.

Para cada grupo experimental (**T15**, **T18**, **T20**, **Ca** e **Cs**), adicionou-se 1 ml da solução a cada garrafa contendo aproximadamente 25 ml de meio de cultura, 24 horas antes da exposição dos machos da linhagem Berlin-K, para possibilitar a penetração do composto na superfície do meio e impedir a morte das moscas por excesso de umidade. Estas foram submetidas a abstinência alimentar por quatro horas antes de serem transferidas para o meio tratado, no qual foram mantidas por 48 horas.

II.2. Material Biológico

Para a realização dos experimentos utilizou-se três linhagens de *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830:

a) linhagem selvagem Berlin-K, isogênica, proveni-



ente do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo;

b) linhagem Muller-5 ou Basc, pertencente ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto - UNESP, que possui os mutantes "Bar" (B - semidominante), que reduz o número de omatídios, "apricot" (w^a - recessivo), conferindo a coloração damasco aos olhos e inversões que envolvem o locus "scute" (sc) no cromossomo X, reduzindo a taxa de recombinação neste cromossomo (Muller *et alii*, 1954 cf Gallo, 1970), para obtenção de hemi-homozigose dos cromossomos X, conforme é esquematizado na Figura 1.

c) linhagem $\widehat{XX}/Y$, proveniente da Universidade de Bowling, EUA, possuindo fêmeas mutantes "yellow" (y - recessivo), com corpo de coloração amarela, "white" (w - recessiva), ausência de pigmentação nos olhos (cor branca) e cerdas fendidas, devidas à mutação "forked" (f - recessiva), todas no cromossomo X. Os machos apresentam as mutações "cinnabar" (cn - recessiva, no cromossomo II), que confere cor avermelhada aos olhos e "forked". Essa linhagem apresenta também duas inversões incluídas que reduzem a recombinação entre os loci y e w a menos de 1%. Esta linhagem foi utilizada para verificar a ocorrência de letais recessivos ligados ao sexo na geração F1 (Figura 1).

Para os cruzamentos iniciais, foram utilizados machos adultos da linhagem Berlin-K, com idade de 3 a 4 dias. Cada macho tratado foi simultaneamente cruzado com duas fêmeas Basc e duas fêmeas $\widehat{XX}/Y$ para a obtenção de hemi-homozigose do



cromossomo X em F3 e, com fêmeas da linhagem Berlin-K para a análise dos componentes da atividade sexual e a fecundidade.

Todos os experimentos foram realizados sob condições de temperatura controlada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$).

II.3. Meios de Cultura

Para a manutenção das linhagens e execução dos experimentos, empregou-se três tipos de meio de cultura: à base de fubá-trigo-araruta, de banana-ágar e de ágar-açúcar-água, com a seguinte composição:

1. Meio de fubá-trigo-araruta

água	1000 ml
fubá	100 g
farinha de trigo	100 g
araruta	30 g
xarope de açúcar	25 ml
fermento biológico (<i>Saccharomices cerevisiae</i>)...	8 g
ácido propiônico	2 ml
solução alcoólica de Nipagin a 7%	8 ml

2. Meio de banana-ágar

água	1000 ml
ágar-ágar	12 g
banana nanica	800 g
fermento biológico (<i>Saccharomices cerevisiae</i>)...	15 g
xarope de açúcar	25 ml
ácido propiônico	22 ml
solução alcoólica de Nipagin a 7%	8 ml

O xarope de açúcar foi preparado com 1 Kg de açúcar fervido em 250 ml de água até atingir o ponto de calda caramelada.

3. Meio à base de ágar-açúcar-água

ágar-ágar	3 g
açúcar	5 g
água	200 ml

Empregou-se garrafas de 1/4 de litro com meio de banana-ágar para a exposição das moscas e, para manter os indivíduos virgens ou para o "envelhecimento" dos adultos recém-emergidos, utilizou-se tubos de 10 cm de altura por 2,5 cm de diâmetro.

O meio à base de fubá-trigo-araruta foi utilizado exclusivamente para a exposição das moscas ao tratamento pois, devido à sua textura, possibilita uma absorção uniforme da solução de tratamento.

O meio de cultura à base de banana-ágar foi empregado para a manutenção das linhagens e para os cruzamentos para obtenção da hemi-homozigose do cromossomo X. Antes de serem colocadas as moscas, colocava-se dentro da garrafa com meio uma tira de guardanapo de papel absorvente de aproximadamente 4,5 por 17 cm, previamente embebida em solução alcoólica de nipagin a 2% e seca em estufa, pressionando-a dobrada em forma de "w" contra a superfície do meio de cultura. Tal procedimento permite aumentar a área de pouso para os indivíduos adultos tanto quanto para a fixação de pupas, além de contribuir para a

redução de umidade excessiva no próprio meio.

O meio de cultura transparente, à base de ágar, açúcar e água, submetido à fervura e distribuído em colheres plásticas, foi utilizado para a contagem dos ovos. Cada colher era colocada em uma garrafa vazia, previamente esterilizada, mantida na posição horizontal e vedada com rolha de gaze e algodão. Antes de serem introduzidas nas garrafas, as colheres eram pinceladas com uma solução de fermento biológico e tinham sua superfície cortada em quadrados com um molde, o que auxilia na contagem dos ovos.

Desse modo, foi possível estudar os seguintes aspectos:

II.4. Componentes do Valor Adaptativo

II.4.1. Atividade Sexual

Para o estudo da atividade sexual, utilizou-se 100 casais da linhagem Berlin-K de cada grupo de tratamento (15, 18 e 20 p.p.m, grupo controle acetona e grupo controle sacarose). Machos virgens de três dias de idade foram submetidos ao tratamento por 48 horas antes da realização do experimento, conforme o procedimento descrito no item II.1. Fêmeas virgens não-tratadas, de mesma idade, foram mantidas em tubos de cultura até o momento do experimento. Grupos de 5 casais foram postos em tubos sem meio de cultura e observados por 60 minutos ou até que todos os acasalamentos iniciados neste período se completassem. O procedimento experimental permitiu o estudo dos seguintes componentes:



- a) FA = frequência de acasalamentos;
- b) TPC = tempo de pré-cópula definido como o tempo, em minutos, decorrido entre o início da observação e o início da cópula;
- c) TCA = tempo de cópula absoluto, considerado como o tempo, em minutos, em que o macho permaneceu sobre a fêmea;
- d) TAS = tempo de atividade sexual, considerada como a soma dos tempos de pré-cópula e de cópula absoluto, dada pela expressão:

$$TAS = TPC + TCA$$

- e) TCR = tempo de cópula relativo, dado pela expressão:

$$TCR = 100 \text{ TCA} / \text{TAS}$$

Os testes estatísticos utilizados para a análise dos componentes da atividade sexual foram a análise de variância para a homogeneidade das médias para os componentes referentes a tempo, seguida de teste de Dunnett (Steel & Torrie, 1960) para amostras desiguais, que permite detectar diferenças em relação aos controles. Para comparações múltiplas dos diferentes tratamentos, foi utilizado o teste de Scheffé (Zar, 1974). Foram ainda realizadas análises de correlação para verificar associações entre componentes.

II.4.2. Fecundidade de fêmeas da linhagem Berlin-K inseminadas por machos tratados.

Para o estudo da fecundidade, utilizou-se grupos de 200 casais por tratamento, divididos em 40 garrafas com 5 casais cada seguindo-se o mesmo procedimento descrito para o



estudo dos componentes da atividade sexual, porém colocando os casais em garrafas cerca de uma hora antes de serem introduzidas as colheres com meio de cultura transparente. A troca das colheres contendo os ovos foi feita diariamente, à mesma hora, iniciando-se a contagem a partir do 5º dia de vida das moscas até o 16º dia. As moscas mortas durante o experimento foram substituídas no 4º e 8º dias, por moscas da mesma idade, mantidas sob condições semelhantes em um estoque paralelo.

Os valores do número de ovos postos em cada contagem, bem como durante os doze dias de contagem, para cada tratamento, foram submetidos à análise de variância para homogeneidade de médias e ao teste de Tukey, para comparações múltiplas entre médias (Vieira, 1985).

II.4.3. Tempo de Desenvolvimento

O tempo de desenvolvimento corresponde ao tempo médio de emergência dos imagos, analisado para os genótipos das gerações **F2** e **F3**, segundo a expressão:

$$TD = [t' + (t' + t'')/2] + T/2$$

Para essa estimativa foram utilizados os seguintes intervalos de tempo: t' correspondendo ao número de dias decorridos entre a retirada das moscas parentais da garrafa e a primeira contagem de imagos; t'' correspondendo ao intervalo de tempo entre duas contagens sucessivas e T correspondendo ao tempo de manutenção das moscas parentais nas garrafas.

Para essa estimativa, considerou-se o intervalo de



tempo de desenvolvimento inicial 10,5 dias, pois a primeira contagem foi realizada no décimo primeiro dia após terem sido colocadas as moscas parentais na garrafa. Nas contagens seguintes, soma-se 1,0 dia, dispondo-as em uma distribuição de dados agrupados, com frequências dadas pelo número de moscas obtidas em cada uma das oito contagens. Desse modo, para cada cromossomo analisado, obtêm-se uma média do tempo de desenvolvimento.

II.4.4. Tamanho da progênie

O tamanho da progênie foi considerado como o total absoluto e relativo de moscas obtidas por genótipo, em cada um dos tratamentos.

As fêmeas utilizadas nos cruzamentos para o estudo do tempo de desenvolvimento e do tamanho da progênie foram as das linhagens **Basc** e $\widehat{XX}/Y$, na proporção de duas fêmeas de cada linhagem para cada macho tratado, por cruzamento, em garrafas de 250 ml, contendo meio de cultura à base de banana-água.

Com os descendentes obtidos (**F1**), foram realizados novos cruzamentos de modo a induzir hemi e homozigose do cromossomo **X** presente nos gametas do macho parental, hemizigose esta manifestada em moscas da geração **F2** (machos) e hemi e homozigose em **F3** (machos e fêmeas). Deste modo, pôde-se também avaliar os aspectos referentes à carga genética na geração **F3**.

Os controles foram realizados utilizando-se moscas que não tiveram contato com o composto, seguindo-se o mesmo esquema de cruzamentos, conforme ilustra a Figura 1.

II.5. Carga Genética

II.5.1. Ocorrência de letais na progênie das fêmeas $\widehat{XX}/Y$.

O cruzamento dos machos tratados com fêmeas desta linhagem teve por objetivo a "antecipação" da detecção de letais, induzidos pelo tratamento com o composto, que podem manifestar-se por meio desse processo de cruzamento na geração F1.

II.5.2. Viabilidade e fertilidade da classe selvagem e efeito limitado ao sexo na geração F3.

a) Fertilidade

A fertilidade na geração F3 foi avaliada pela presença de larvas em tubos contendo moscas portadoras do cromossomo X selvagem (fêmeas) obtidas na progênie de F3, cruzadas com machos virgens do estoque Berlin-K. Foram testadas pelo menos três moscas por cromossomo analisado.

b) Razão sexual

A razão sexual foi obtida segundo a proporção de fêmeas nascidas em relação a 100 machos, por cromossomo analisado na geração F3, conforme a expressão:

$$RS = 100 \times \text{número de fêmeas} / \text{número de machos}$$

Os dados obtidos em relação a esse componente foram submetidos à análise de variância para homogeneidade de médias de viabilidade por genótipo, comparando-se os diversos tratamentos. O teste de Dunnett para amostras com números desiguais permitiu determinar as médias diferentes em relação aos con-

troles e, inclusive as médias diferentes entre estes.

A ocorrência de genótipos equivalentes (XX5 e XY) nas duas gerações analisadas, foi comparada por teste *t* de Student, para diferenças entre as viabilidades médias desses genótipos nas duas gerações.

c) Viabilidade

Os cromossomos analisados foram classificados através da viabilidade do cromossomo X, determinada pela razão sexual, ou seja, pela viabilidade dos indivíduos com este cromossomo em homozigose (fêmeas XX, da geração F3) relativa aos indivíduos em condição hemizigótica (machos XY). Adotou-se, como classificação de viabilidade cromossômica, uma adaptação do critério utilizado por Cavalcanti (1950) que baseou-se em valores fixos de classes de viabilidade, sendo estas letal, semi-letal, subvital, normal e supervital, segundo as razões sexuais obtidas para os cromossomos analisados.



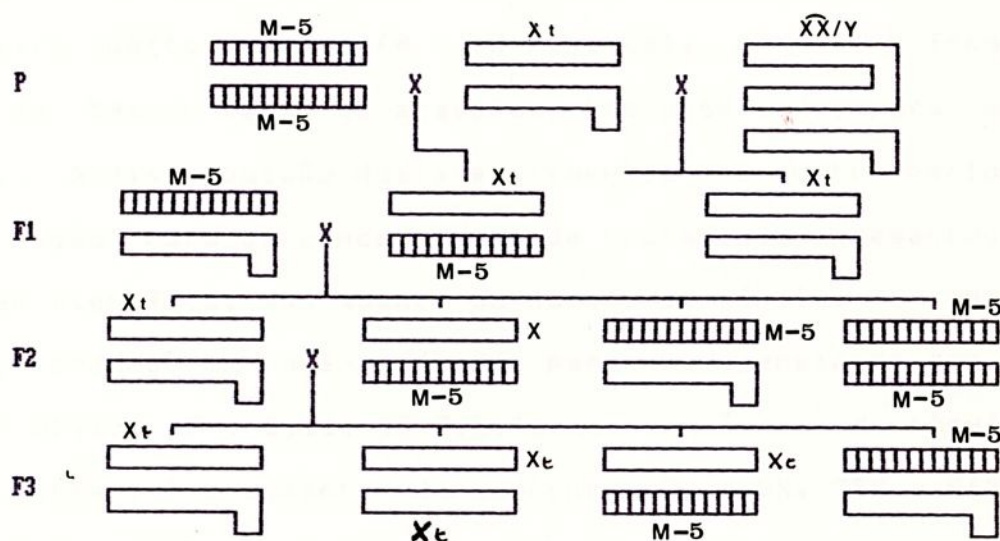


Figura 1. Representação esquemática da série de cruzamentos utilizada.

III. RESULTADOS

III.1. Atividade Sexual

Os resultados referem-se a dados obtidos do estudo da atividade sexual de 500 casais de *Drosophila melanogaster* da linhagem **Berlin-K**, divididos igualmente em 5 tratamentos, ministrados exclusivamente aos machos.

A Tabela 1 mostra o número e a respectiva frequência de acasalamentos, considerando-se o tempo de observação total (60 minutos) dividido em quatro períodos de 15 minutos cada. O período de maior ocorrência de acasalamentos foi o primeiro quarto de hora (0 - 15 minutos), no qual a frequência foi de 54% do total de acasalamentos observados para os 500 casais. A distribuição dos acasalamentos nos quatro períodos de observação para os cinco grupos de tratamento apresentou diferenças significativas quanto ao número de cópulas por quarto de hora, segundo um qui-quadrado para homogeneidade das médias ($X^2 = 32,13$; $P < 0,01$; 12 G.L.). As frequências de cópulas são crescentes com o aumento da concentração (63%, 75% e 86%, para **T15**, **T18** e **T20**) e, em relação aos controles, aquele com solvente (**Ca**) apresenta uma frequência menor de acasalamentos (85%) do que o **Cs** (89%). Um teste de qui-quadrado para homogeneidade das frequências revelou que o número de acasalamentos diferiu significativamente nos 5 tratamentos ($X^2 = 28,01$; $P < 0,01$; 4 G.L.), apresentando sua maior (89%) e menor (63%) frequências no controle **Cs** e no tratamento **T15**, respectivamente. Tais distribuições referentes à frequência de cópulas observadas nos



quatro períodos componentes dos sessenta minutos de observação são apresentados na Figura 2.

As médias do tempo de pré-cópula variaram de 15 (para Cs) a 23 minutos (Ca), com valores decrescentes para as moscas dos tratamentos T15, T18 e T20. Ao contrário, para os tempos de cópula absoluto, cujas médias variaram de 15 (Ca) a 22 minutos (T20), e de cópula relativo, cujas frequências variaram de 42% (Ca) a 63% (T20) verificou-se o oposto, às menores concentrações associam-se os menores valores. O controle normal (Cs) apresentou, para o tempo de cópula absoluto, valor intermediário entre T15 e T18 e para o tempo de cópula relativo um valor intermediário (58%) entre T18 e T20, valor este superior ao do controle com solvente (42%). A menor média do tempo de atividade sexual é a do controle Cs (32 minutos) e a maior a do controle Ca (39 minutos), sendo que esta última aproxima-se dos valores encontrados para os tratamentos T15, T18 e T20 (37 e 38 minutos).

A avaliação da homogeneidade das médias através de análises de variância indica diferenças significativas no nível de 1% entre os tratamentos para os quatro componentes, e no nível de 5% para o tempo de atividade sexual (TAS). Foram feitas comparações dos valores das médias nos diferentes tratamentos com os dos controles, através do teste de Dunnett, cujos valores são relacionados no apêndice I, para os componentes tempo de pré-cópula (TPC) e tempo de cópula absoluto (TCA), que são apresentadas na Tabela 2. Os asteriscos à esquerda e à direita das médias indicam as comparações dos valores com os controles Cs e Ca, respectivamente. Para o primeiro (TPC), a



média (23) do controle solvente (Ca) é significativamente superior à do controle normal (15), sendo que para os demais tratamentos há homogeneidade de médias quando comparados a Cs. As comparações dos tratamentos (T15, T18 e T20) com o controle solvente (Ca), mostram somente para T20 que a média é significativamente menor ($d = 3,08$; $P < 0,01$; 393 G.L.). Nas comparações referentes ao tempo de cópula absoluto (TCA), apenas a média do tratamento T20 (22) apresentou-se significativamente maior do que a dos controles Cs e Ca (17 e 15, respectivamente).

O tempo médio, em minutos, dos quatro componentes da atividade sexual relativo aos cinco tratamentos é apresentado na Figura 3.

Foram feitas comparações múltiplas entre as médias dos componentes da atividade sexual (TPC, TCA, TCR e TAS) pelo teste de Scheffé ($S\alpha = 5,03$; $P = 0,05$) para ser avaliada a variabilidade de expressão dos componentes do valor adaptativo e a heterogeneidade de médias, como percentuais das 16 diferenças possíveis para cada um dos componentes nos cinco tratamentos. Observa-se que os componentes tempo de cópula absoluto (TCA) e tempo de pré-cópula (TPC) são responsáveis, respectivamente, pelo maior (4) e menor (2) número de diferenças entre si, sendo que o componente tempo de atividade sexual (TAS) não apresentou diferença significativa alguma.

Quanto às comparações dentro dos tratamentos em relação aos demais, o grupo T20 apresentou um percentual maior de diferenças significativas (44%) seguido pelo grupo controle

com solvente (Ca), com 31,25%. O grupo mais homogêneo foi o T18, com 6,25% das diferenças significativas. Tanto o grupo T15 quanto o T18 apresentaram uma frequência menor de diferenças significativas em relação ao controle normal (12,5%, 6,25% e 19%, respectivamente).

Para avaliar associações entre os componentes da atividade sexual nos diversos tratamentos foram feitas análises de correlação apresentadas na Tabela 3. Das 15 análises realizadas, apenas quatro não foram significativas, sendo que, para todos os tratamentos, o tempo de cópula relativo foi correlacionado negativamente ao tempo de atividade sexual ($P < 0,01$). Foram significativas as correlações entre o tempo de pré-cópula e o tempo de cópula absoluto para T18 ($r = -0,387$; $t = 3,58$; $P < 0,01$; 73 GL), Ca ($r = -0,249$; $t = 2,34$; $P < 0,05$; 83 GL) e Cs ($r = 0,217$; $t = 2,07$; $P < 0,05$; 87 GL). Em relação às correlações entre o tempo de cópula absoluto e o tempo de atividade sexual (TCA vs TAS), que foram todas positivas, foram significativos os valores das relacionadas ao tratamento T20 ($r = 0,366$; $t = 3,60$; 84 GL), e dos controles, Ca ($r = 0,276$; $t = 2,62$; 83 GL) e Cs ($r = 0,644$; $t = 7,85$; 87 GL) no nível de 1%.



Tabela 1 .Frequência de cópulas observadas em 60 minutos, divididos em períodos de 15 minutos e respectivos percentuais, por tratamento.

Tratamento	0-15	16-30	31-45	46-60	Total
T15	31 (49%)	17 (27%)	7 (11%)	8 (13%)	63
T18	39 (52%)	19 (25%)	11 (15%)	6 (8%)	75
T20	54 (63%)	15 (17%)	12 (14%)	5 (6%)	86
Ca	31 (36%)	33 (39%)	9 (11%)	12 (14%)	85
Cs	61 (69%)	11 (12%)	13 (15%)	4 (4%)	89
Total	216 (54%)	95 (24%)	52 (13%)	35 (9%)	398

Tabela 2. Tempos de cópulas observadas em 60 minutos e respectivas médias e erros-padrão dos TPC, TCA, TCR e Tempo de AS em 100 casais por tratamento (F para homogeneidade das médias; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$).

	T15	T18	T20	Ca	Cs	F
TPC	22 ± 2	19 ± 2	16 ± 2	23 ± 2	15 ± 2	4,84 **
TCA	16 ± 0	18 ± 1	22 ± 1	15 ± 1	17 ± 1	10,18 **
TCR	49 ± 2	55 ± 3	63 ± 2	42 ± 2	58 ± 2	11,52 **
TAS	38 ± 2	37 ± 2	38 ± 2	39 ± 2	32 ± 2	3,01 *

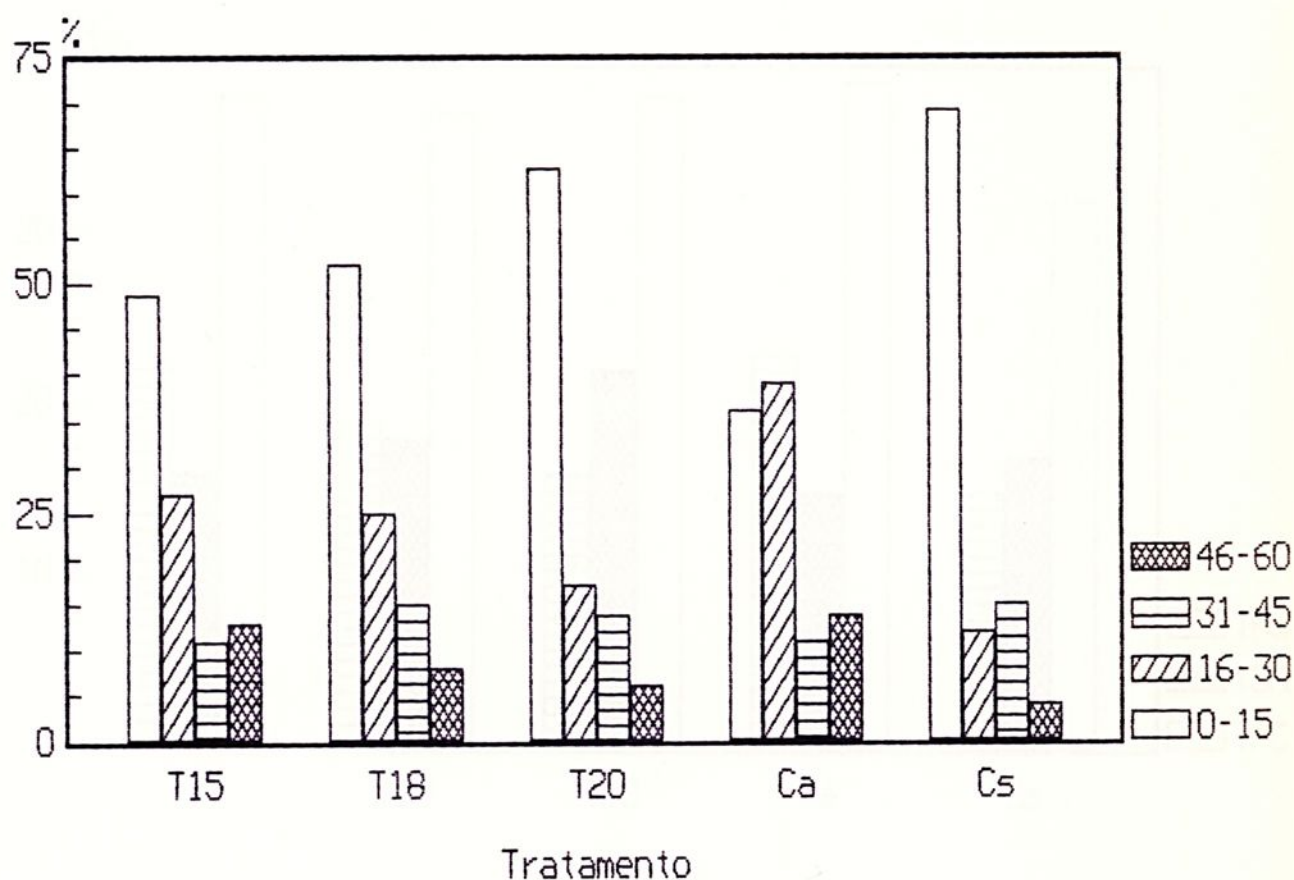


Figura 2. Frequência de cópulas observadas em 60 minutos, divididos em períodos de 15 minutos, para os cinco tratamentos.

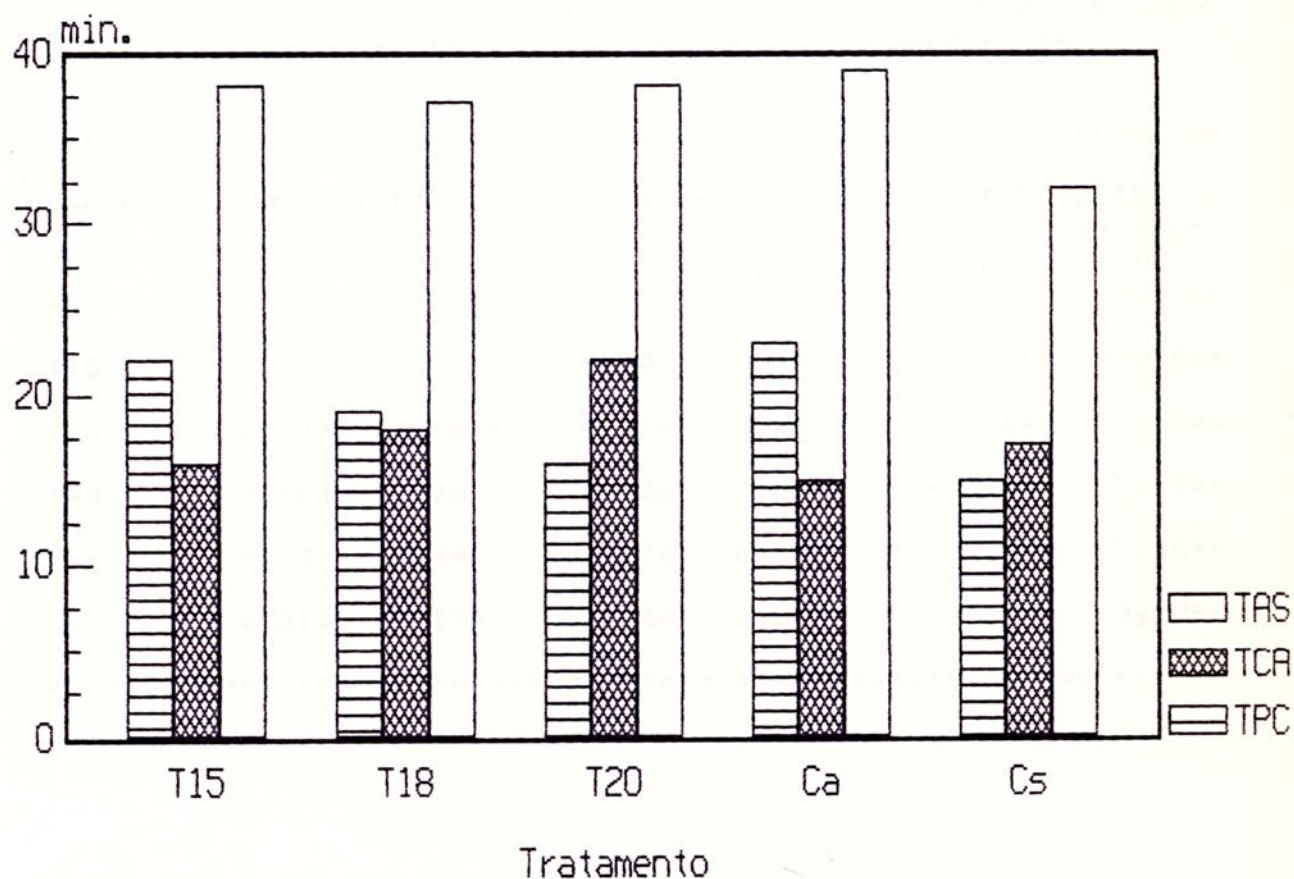


Figura 3. Tempo médio, em minutos, de três componentes da atividade sexual (tempo de pré-cópula - TPC, tempo de cópula absoluto - TCA e tempo de atividade sexual - TAS) para os cinco tratamentos.

Tabela 3. Correlações entre os componentes da atividade sexual para cada um dos tratamentos utilizados (t de Student para a significância de r. * : $P < 0,05$; ** : $P < 0,01$).

tratamento	TPC vs TCA		TCA vs TAS		TCR vs TAS	
	r	t	r	t	r	t
T15	- 0,173	1,37	0,101	0,79	- 0,814	10,34**
T18	- 0,387	3,58**	0,078	0,67	- 0,646	7,23**
T20	- 0,108	1,00	0,366	3,60**	- 0,648	7,79**
Ca	- 0,249	2,34*	0,276	2,62**	- 0,346	3,36**
Cs	0,217	2,07*	0,644	7,85**	- 0,388	3,93**

III.2. Fecundidade

Para o estudo da fecundidade foram utilizadas 2400 colheres com meio de cultura transparente (açúcar-agar), contando-se um total de 40244 ovos durante os 12 dias de experimento.

Na Tabela 4 são apresentadas as médias e respectivos erros-padrões para cada grupo. Há heterogeneidade das médias ($F = 24,08$; 4;195 G.L.; $P < 0,01$) sendo marcante a diferença entre as médias dos dois controles (158,9 para Cs e 250,5 para Ca). Os tratamentos T15 e T20 apresentaram efeito semelhante ao do grupo Ca e apenas o tratamento T18 mostrou uma queda de valor na média de postura (147,2) em relação ao controle Cs. A identificação das diferenças significativas entre as médias foi realizada através do teste de Tukey. O valor de W obtido ($W 0,05 = 35,96$) gerou 2 grupos de médias, conforme a sua igualdade:

T18	Cs	T15	T20	Ca
-----		-----		

A Tabela 4 mostra as médias de oviposição durante os 12 dias de contagem. Há heterogeneidade das médias dos cinco tratamentos, que variaram de modo estatisticamente significativo ($P < 0,01$) entre os tratamentos para cada uma das contagens, com exceção das médias correspondentes ao quarto dia. Do mesmo modo são significativos os valores de F quando transformamos essas mesmas médias em percentuais do total de ovos obtidos em cada dia de contagem, conforme o apresentado na Tabela 5.

Na Figura 4 estão representadas as médias do número de ovos postos nas 40 garrafas de cada grupo experimental durante os doze dias de contagem, bem como o total de ovos obtidos por tratamento. O controle **Cs**, juntamente com o tratamento **T18** apresentaram as menores produtividades. Para os demais tratamentos (**T15**, **T20** e **Ca**), o número de ovos foi superior àquele dos grupos anteriormente citados, formando dois grupos uniformes e distintos em se tratando de produtividade geral.

A Figura 5 representa a distribuição dos números percentuais médios de ovos obtidos durante o experimento, evidenciando a diversidade encontrada para os cinco tratamentos na distribuição das doze médias diárias da oviposição.



Tabela 4. Número médio de ovos ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) depositados em 40 garrafas nos diferentes tratamentos, no decorrer dos 12 dias de contagem. F para homogeneidade das médias; **: $P < 0,01$.

Dias	Tratamentos					F
	T15	T18	T20	Ca	Cs	
1	24,33 $\pm$ 2,0	43,48 $\pm$ 4,0	17,60 $\pm$ 2,5	54,35 $\pm$ 6,1	7,00 $\pm$ 1,0	29,22 **
2	23,00 $\pm$ 1,5	17,00 $\pm$ 1,3	24,70 $\pm$ 1,6	45,28 $\pm$ 2,7	20,73 $\pm$ 1,6	38,20 **
3	15,40 $\pm$ 1,2	17,30 $\pm$ 1,2	19,40 $\pm$ 2,6	29,92 $\pm$ 2,2	18,68 $\pm$ 1,4	9,70 **
4	14,74 $\pm$ 1,3	10,75 $\pm$ 0,7	17,02 $\pm$ 1,9	15,18 $\pm$ 1,8	14,75 $\pm$ 1,3	2,49
5	19,65 $\pm$ 1,9	9,85 $\pm$ 1,0	18,60 $\pm$ 1,8	13,60 $\pm$ 1,1	21,10 $\pm$ 1,9	8,86 **
6	18,08 $\pm$ 1,6	6,85 $\pm$ 0,7	21,57 $\pm$ 1,7	12,15 $\pm$ 1,0	11,18 $\pm$ 1,0	22,09 **
7	17,55 $\pm$ 1,4	6,18 $\pm$ 0,8	19,40 $\pm$ 1,7	12,77 $\pm$ 0,9	15,45 $\pm$ 1,5	16,16 **
8	21,60 $\pm$ 1,5	5,78 $\pm$ 0,5	20,63 $\pm$ 1,3	11,75 $\pm$ 1,2	12,20 $\pm$ 1,2	31,97 **
9	18,73 $\pm$ 1,4	7,60 $\pm$ 1,0	19,58 $\pm$ 1,5	11,90 $\pm$ 1,2	10,90 $\pm$ 1,0	17,60 **
10	15,93 $\pm$ 1,3	8,70 $\pm$ 1,0	18,85 $\pm$ 1,5	13,98 $\pm$ 1,7	11,22 $\pm$ 1,2	8,29 **
11	13,10 $\pm$ 1,3	8,68 $\pm$ 0,8	16,33 $\pm$ 1,6	16,35 $\pm$ 1,9	9,12 $\pm$ 1,0	7,43 **
12	15,05 $\pm$ 1,5	5,08 $\pm$ 0,5	18,50 $\pm$ 1,9	13,25 $\pm$ 1,2	6,55 $\pm$ 0,7	20,36 **
Total	217,1 $\pm$ 8,7	147,2 $\pm$ 7,1	232,4 $\pm$ 10,4	250,5 $\pm$ 11,6	158,9 $\pm$ 8,1	24,08 **

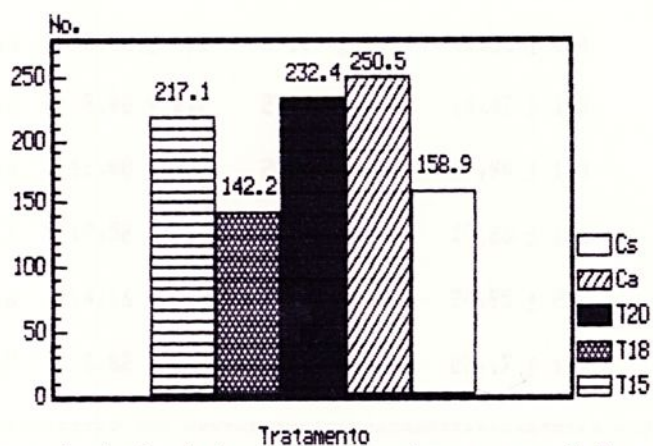
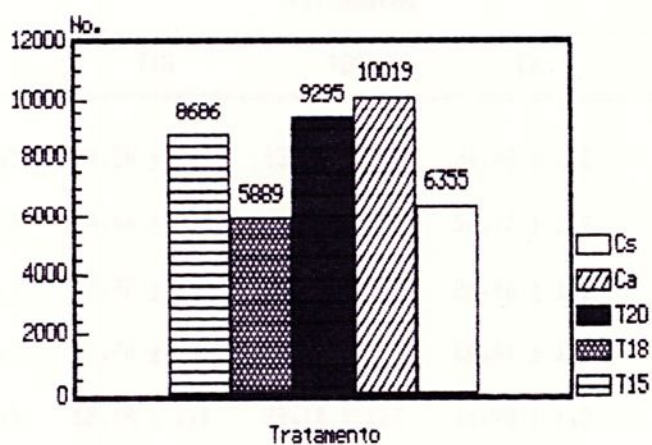


Figura 4. Número total (a) e média de ovos (b) para cada tratamento em 12 dias de contagem.

Tabela 5. Número percentual médio ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) de ovos obtidos diariamente, no decorrer dos doze dias de contagem em 40 garrafas por tratamento. F para homogeneidade da médias; **: $P < 0,01$.

Dias	Tratamentos					F
	T15	T18	T20	Ca	Cs	
1	17,26 $\pm$ 1,5	30,20 $\pm$ 2,4	13,46 $\pm$ 2,0	34,02 $\pm$ 3,2	5,02 $\pm$ 0,8	31,17 **
2	18,05 $\pm$ 1,2	13,06 $\pm$ 0,8	19,04 $\pm$ 1,1	34,17 $\pm$ 1,4	15,69 $\pm$ 1,1	51,51 **
3	15,45 $\pm$ 1,1	17,47 $\pm$ 1,2	18,13 $\pm$ 1,8	29,46 $\pm$ 1,8	19,50 $\pm$ 1,5	13,64 **
4	21,23 $\pm$ 1,8	15,78 $\pm$ 1,1	22,26 $\pm$ 1,8	20,41 $\pm$ 1,7	20,32 $\pm$ 1,6	2,40
5	23,20 $\pm$ 1,5	12,18 $\pm$ 1,1	22,10 $\pm$ 1,7	16,93 $\pm$ 1,2	25,59 $\pm$ 1,6	13,89 **
6	25,56 $\pm$ 1,6	9,87 $\pm$ 1,0	30,66 $\pm$ 1,9	17,50 $\pm$ 1,2	16,21 $\pm$ 1,2	32,39 **
7	24,73 $\pm$ 1,6	8,62 $\pm$ 1,0	27,09 $\pm$ 1,9	18,35 $\pm$ 1,4	21,21 $\pm$ 1,7	21,15 **
8	29,95 $\pm$ 1,6	8,08 $\pm$ 0,7	29,18 $\pm$ 1,7	16,47 $\pm$ 1,3	16,33 $\pm$ 1,4	45,89 **
9	27,16 $\pm$ 1,6	11,08 $\pm$ 1,2	28,73 $\pm$ 1,9	17,00 $\pm$ 1,3	16,03 $\pm$ 1,3	26,50 **
10	23,49 $\pm$ 1,7	12,52 $\pm$ 1,1	28,25 $\pm$ 2,0	19,26 $\pm$ 1,6	16,49 $\pm$ 1,5	14,27 **
11	20,63 $\pm$ 1,6	14,16 $\pm$ 1,3	25,93 $\pm$ 1,9	24,95 $\pm$ 2,1	14,33 $\pm$ 1,3	11,50 **
12	25,13 $\pm$ 1,7	8,82 $\pm$ 0,9	30,87 $\pm$ 2,0	23,17 $\pm$ 1,9	12,00 $\pm$ 1,4	31,53 **

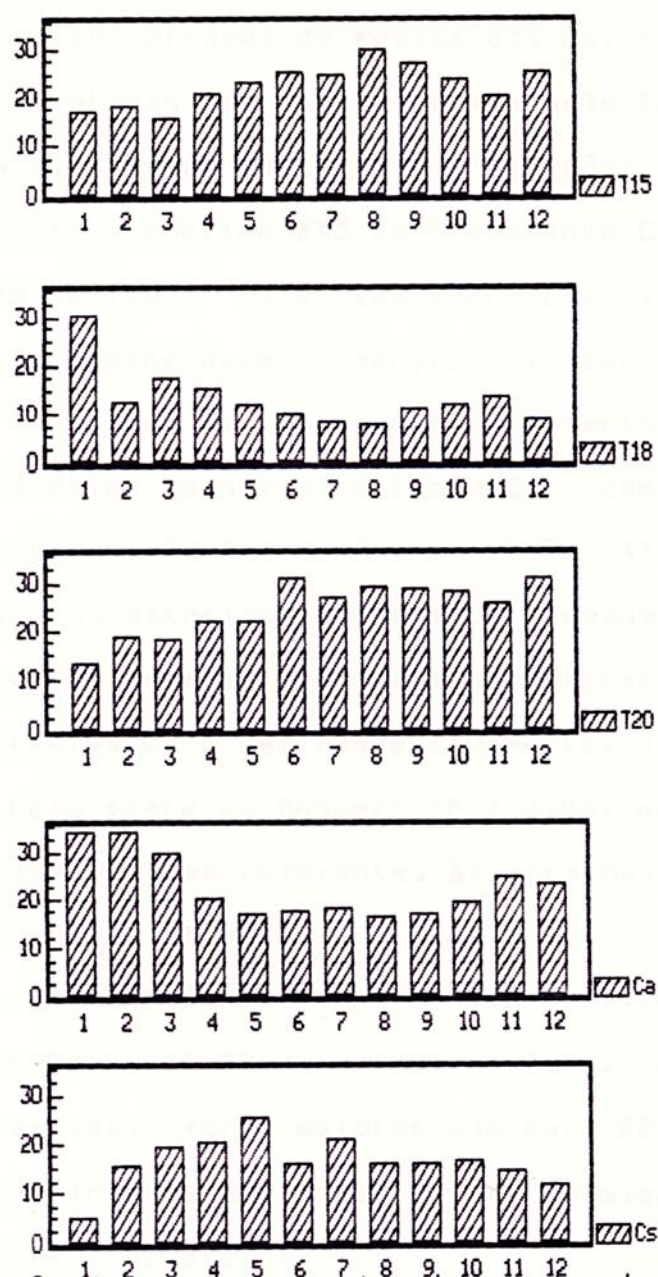


Figura 5. Frequências percentuais médias do número de ovos em 40 garrafas, em 12 contagens diárias, para os cinco tratamentos.

III.3. Tempo de Desenvolvimento

O tempo de desenvolvimento para cada cromossomo analisado foi obtido através de médias dos valores para as oito contagens, apresentadas nas Tabelas 6 (geração F2) e 7 (geração F3), e Figura 6. O tempo médio para a emergência dos imagos em F2 variou de 13,66 (genótipo XX5 do tratamento Ca) a 14,90 dias (genótipo X5X5 de T18). Para cada genótipo, a análise de variância para homogeneidade de médias foi significativa ($P < 0,01$), sendo que todos os tratamentos apresentaram um tempo de desenvolvimento maior do que o controle Cs, com exceção de Ca, cujos valores para três dos genótipos (XX5, XY e X5Y) foram menores que Cs. Os asteriscos colocados à esquerda e à direita das médias indicam aquelas que foram significativamente diferentes dos controles Cs e Ca, respectivamente, diferenças estas evidenciadas pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$) para comparações múltiplas, cujos valores referentes às gerações F2 e F3 estão relacionados no apêndice XVI.

Na geração F3, o tempo de desenvolvimento variou de 12,94 (XX5 em Cs) a 14,87 dias (X5Y em T15). As diferenças, todas significativas, foram maiores que para F2, sendo que o teste de Dunnett indicou que todas diferiram significativamente do controle Cs ($P < 0,05$).

Em relação aos diferentes genótipos dentro de um mesmo tratamento, os valores de F foram significativos ($P < 0,01$) para dois dos tratamentos em F2: Ca ($F = 4,73$) e T18 ($F = 13,15$) e, em três dos cinco tratamentos em F3 ($P < 0,05$): Cs ($F = 2,96$), T18 ($F = 3,17$) e T20 ($F = 3,19$) demonstrando uma maior habilidade de determinados genótipos em atingir a fase adulta.

Tabela 6. Tempo médio de desenvolvimento ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) para os genótipos da geração F₂, segundo a média de oito contagens diárias, para os cinco tratamentos analisados. **F** para homogeneidade das médias; **: $P < 0,01$; d de Dunnett - $\alpha = 0,05$ para comparações múltiplas de médias, a esquerda com **Cs**, a direita com **Ca**.

Tratamento	Genótipos				F
	XX5	XY	X5X5	X5Y	
T15	* 14,56 $\pm$ 0,18 *	* 14,65 $\pm$ 0,18 *	* 14,84 $\pm$ 0,20 *	* 14,82 $\pm$ 0,19 *	0,55
T18	* 14,52 $\pm$ 0,04 *	* 14,59 $\pm$ 0,05 *	* 14,90 $\pm$ 0,06 *	* 14,82 $\pm$ 0,05 *	13,15 **
T20	* 14,40 $\pm$ 0,12 *	* 14,50 $\pm$ 0,10 *	* 14,39 $\pm$ 0,16 *	* 14,59 $\pm$ 0,16 *	0,50
Ca	* 13,66 $\pm$ 0,11	* 13,70 $\pm$ 0,08	14,21 $\pm$ 0,14	13,86 $\pm$ 0,12	4,73 **
Cs	13,95 $\pm$ 0,08	14,05 $\pm$ 0,06	14,18 $\pm$ 0,09	14,09 $\pm$ 0,09	1,45
F	13,32**	16,19**	10,29**	13,99**	

Tabela 7. Tempo médio de desenvolvimento ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) para os genótipos da geração F3, segundo a média de oito contagens diárias, para os cinco tratamentos analisados. F para homogeneidade das médias; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; d de Dunnett - $\alpha = 0,05$ para comparações múltiplas de médias, a esquerda com Cs, a direita com Ca.

Tratamento	Genótipos				F
	XX	XY	XX5	X5Y	
T15	* 14,59 $\pm$ 0,25 *	* 14,46 $\pm$ 0,25 *	* 14,40 $\pm$ 0,23 *	* 14,87 $\pm$ 0,26 *	0,72
T18	* 13,84 $\pm$ 0,09	* 13,85 $\pm$ 0,08	* 13,63 $\pm$ 0,09	* 14,00 $\pm$ 0,08	3,17 *
T20	* 14,13 $\pm$ 0,13 *	* 13,95 $\pm$ 0,11 *	* 13,72 $\pm$ 0,16	* 14,32 $\pm$ 1,17 *	3,19 *
Ca	* 13,65 $\pm$ 0,13	* 13,62 $\pm$ 0,13	* 13,37 $\pm$ 0,16	* 13,73 $\pm$ 0,18	1,02
Cs	13,03 $\pm$ 0,08	13,17 $\pm$ 0,08	12,94 $\pm$ 0,08	13,25 $\pm$ 0,08	2,96 *
F(4;170)	23,13**	16,41**	17,36**	21,66**	

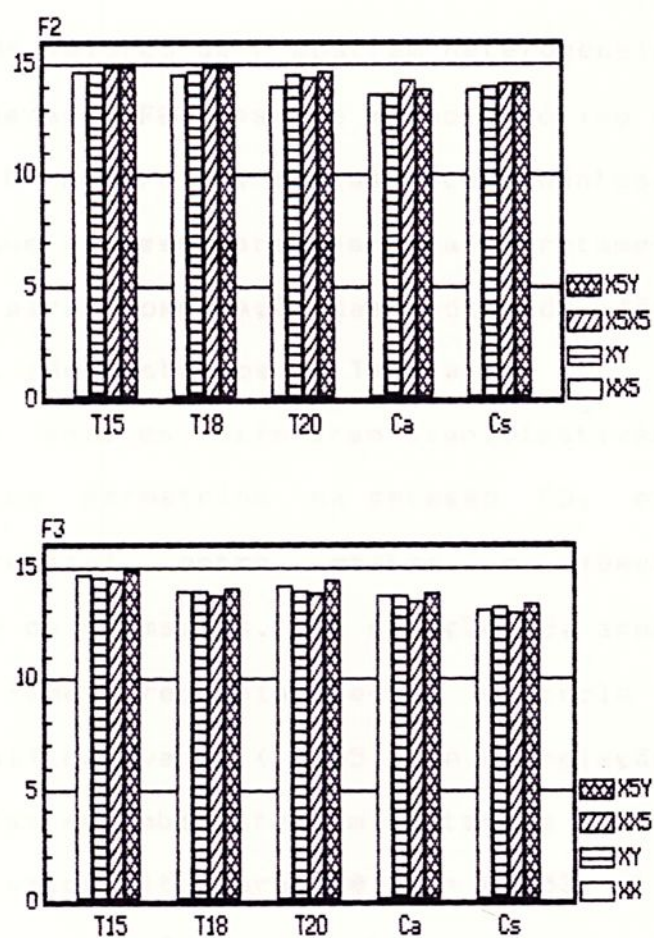


Figura 6. Tempo de desenvolvimento médio, em dias para os genótipos das gerações F2 e F3, segundo os cinco tratamentos.

III.4. Tamanho da Progenie

Os resultados referem-se aos cromossomos testados de acordo com o esquema de cruzamentos apresentado em Material e Métodos.

Os totais obtidos por classe genotípica dos cromossomos analisados para as duas gerações estudadas encontram-se na Tabela 8. Os valores de F mostram heterogeneidade das médias de moscas na geração F_2 , para o mesmo genótipo sob os diversos tratamentos. O número de moscas recombinantes, bem como a porcentagem que representaram para cada tratamento e o teste t de Student, para comparação das médias de fêmeas e machos recombinantes, são mostrados na Tabela 9.

Os valores diferiram significativamente para os tratamentos com permetrina na geração F_3 , evidenciando um efeito diferencial entre machos e fêmeas, afetando principalmente os primeiros. Na geração F_2 , apenas a proporção de machos e fêmeas recombinantes do controle C_s apresentou diferença significativa ($P < 0,05$). A correlação entre os dois sexos de moscas recombinantes em F_3 também foi significativa, apresentando valor alto para T_{20} ($r = 0,953$; $t = 14,41$; $P < 0,01$; 15 G.L.), conforme ilustra a Tabela 10. Não foram estabelecidos valores para o controle C_s devido à ausência de fêmeas recombinantes na geração F_3 .

Foram analisados 194 cromossomos na geração F_2 e, destes, obtidos 178 cromossomos para análise em F_3 , sendo nas gerações F_2 e F_3 , respectivamente 31 e 22 para T_{15} , 59 e 59 para T_{18} , 28 e 24 para T_{20} , 17 e 17 para o controle solvente



(Ca) e 59 e 56 para o controle normal (Cs), totalizando 72984 moscas (43143 para F2 e 29841 para F3). Os apêndices VI a XV apresentam a relação de todos os cromossomos analisados, segundo o número de moscas para cada genótipo.

Nas Tabelas 11 e 12 são apresentados os números médios de moscas nas gerações F2 e F3, respectivamente. As comparações múltiplas de médias de cada genótipo dos tratamentos T15, T18 e T20, com os dois controles, foram efetuadas através do teste de Dunnett para tratamentos de amostras desiguais, cujos valores encontram-se relacionados no apêndice II. Os asteriscos colocados à esquerda e direita das médias indicam as comparações significativas em relação ao controle Cs e Ca, respectivamente. Para a geração F2, com exceção dos fenótipos recombinantes, com diferenças significativas somente para T20, todas as demais médias diferiram significativamente do controle normal (Cs) e, das 24 médias comparadas, 10 diferiram do controle solvente (Ca). Este também diferiu do controle Cs em todas as suas médias, menos quanto aos genótipos recombinantes.

Para as médias obtidas na geração F3, a Tabela 12 apresenta diferenças significativas para todos os genótipos não-recombinantes, sendo também significativas as diferenças entre as médias dos três tratamentos quanto às dos controles Cs e Ca. No entanto, estes não demonstraram diferenças significativas entre si.

A Figura 7 representa o número médio de moscas obtidas por genótipo, inclusive os recombinantes, nas gerações F2 e F3, para os cinco tratamentos estudados.

As médias foram calculadas como percentuais do



total para cada tratamento (Tabelas 13 e 14, respectivamente para **F2** e **F3**). Para a geração **F2** os valores de **F** indicam diferenças significativas apenas para os genótipos **X5X5** (fêmeas **Basc**) e fêmeas recombinantes, sendo que o teste de Dunnett detectou somente uma diferença, a de fêmeas recombinantes em **T20** (7,80) em relação ao controle **Cs** (1,21), que foi bem inferior ($d = 6,58$). Em **F3**, os valores de **F** não foram significativos ($P < 0,05$ e $P < 0,01$; 5;172 G.L.).

As médias percentuais correspondentes aos genótipos presentes nas duas gerações (**XX5** e **XY**), excetuando-se os recombinantes, são apresentadas juntamente com seus respectivos erros-padrões para cada grupo de tratamento e controle, na Tabela 15. Comparou-se as médias de uma geração com a outra, dentro do mesmo tratamento, através do **t** de Student. Foram significativas as diferenças para **T20** e para os dois grupos controle, apenas nos machos de genótipo selvagem (**XY**).

Foram realizadas análises de correlação entre as médias dos genótipos das duas gerações. Apenas uma, entre as fêmeas recombinantes de **T18** mostrou resultado estatisticamente significativo ($r = 0,584$; $t = 5,432$; $P < 0,01$; 57 GL).



Tabela 8. Total de moscas analisados por genótipo nas gerações F2 e F3.

F2

Tratamento	n	XX5	XY	X5X5	X5Y	R	Total
T15	31	1364	1387	1131	1108	276	5266
T18	59	4708	4497	3993	4100	722	18020
T20	28	1019	1160	797	902	360	4238
Ca	17	774	729	692	688	74	2957
Cs	59	3222	3227	2911	2942	360	12662
Total	194	11087	11000	9524	9740	1792	43143

F3

Tratamento	n	XX	XY	XX5	X5Y	R	Total
T15	22	813	765	804	615	37	3034
T18	59	2545	2631	2523	1951	172	9822
T20	24	691	645	730	564	60	2690
Ca	17	817	879	805	700	32	3233
Cs	56	2803	3049	2759	2291	160	11062
Total	178	7669	7969	7621	6121	461	29841

Tabela 9. Total de recombinantes machos e fêmeas analisados nas duas gerações (F2 e F3), com as respectivas porcentagens, para os cinco tratamentos. t de Student para homogeneidade; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$.

		F2			F3		
Tratamento		número	%	t	número	%	t
T15	F	131	2,49		2	0,07	
	M	145	2,75	0,21	35	1,15	5,03**
	T	276	5,24		37	1,22	
T18	F	374	2,08		7	0,07	
	M	348	1,93	0,56	165	1,67	8,93**
	T	722	4,01		172	0,74	
T20	F	277	6,53		1	0,04	
	M	83	1,96	2,02	59	2,19	2,35**
	T	360	8,49		60	2,23	
Ca	F	45	1,52		7	0,22	
	M	29	0,98	1,62	25	0,77	1,88
	T	74	2,50		32	0,99	
Cs	F	153	1,21		0	0,00	
	M	207	1,63	2,29*	160	1,45	-
	T	360	2,84		160	1,45	

Tabela 10. Correlações entre o número de fêmeas e de machos recombinantes obtidos em F3, para os tratamentos utilizados. (t de Student para a significância de r; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$).

Trata- mento	n	r	t
T15	22	- 0,267	1,24*
T18	59	0,350	2,82**
T20	23	0,953	14,41**
Ca	17	- 0,102	0,40
Cs	56	-	-

Tabela 11. Número ($\bar{X} \pm SK$) de moscas na geração F2, por tratamento (F para homogeneidade das médias; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; d de Dunnett - $\alpha = 0,05$ para comparações múltiplas de médias, a esquerda com Cs, a direita com Ca).

Tratamento	XXS	XY	XSXS	XSY	Recombinantes	
					F	H
T15	* 44,00 $\pm$ 3,2	* 44,74 $\pm$ 2,9	* 36,48 $\pm$ 3,0	* 35,74 $\pm$ 2,9 *	4,23 $\pm$ 1,3	4,68 $\pm$ 1,7
T18	* 79,80 $\pm$ 3,3 *	* 76,22 $\pm$ 3,1 *	* 67,68 $\pm$ 3,0 *	* 69,49 $\pm$ 3,0 *	6,34 $\pm$ 0,5	5,90 $\pm$ 0,6
T20	* 36,39 $\pm$ 3,5 *	* 41,43 $\pm$ 3,0	* 28,46 $\pm$ 2,7 *	* 32,21 $\pm$ 2,4 *	* 9,90 $\pm$ 3,4 *	* 2,96 $\pm$ 0,4 *
Ca	* 45,53 $\pm$ 2,2	* 42,88 $\pm$ 2,3	* 40,71 $\pm$ 1,9	* 40,47 $\pm$ 2,4	2,65 $\pm$ 0,5	1,71 $\pm$ 0,3
Cs	54,61 $\pm$ 2,0	54,69 $\pm$ 1,9	49,34 $\pm$ 1,9	49,86 $\pm$ 1,7	2,59 $\pm$ 0,2	3,51 $\pm$ 0,3
F (4;180)	34,05**	29,01**	34,41**	33,57**	4,96**	86,50**

Tabela 12. Número ($\bar{X} \pm S\bar{X}$) de moscas na geração F3, por tratamento (F para homogeneidade das médias; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; d de Dunnett - $\alpha = 0,05$ para comparações múltiplas de médias, a esquerda com Cs, a direita com Ca).

Tratamento	XX	XY	XXS	XSY	Recombinantes	
					F	H
T15	* 36,95 $\pm$ 3,2 *	* 34,77 $\pm$ 3,1 *	* 36,55 $\pm$ 3,1 *	* 27,95 $\pm$ 2,7 *	0,09 $\pm$ 0,1	1,59 $\pm$ 0,3
T18	* 43,14 $\pm$ 2,0 *	* 44,59 $\pm$ 2,0 *	* 42,76 $\pm$ 2,2 *	* 33,07 $\pm$ 1,8 *	0,12 $\pm$ 0,1	2,80 $\pm$ 0,3
T20	* 28,79 $\pm$ 3,7 *	* 26,87 $\pm$ 3,2 *	* 30,42 $\pm$ 3,5 *	* 23,50 $\pm$ 3,2 *	0,04 $\pm$ 0,0	2,46 $\pm$ 1,0
Ca	48,06 $\pm$ 2,9	51,71 $\pm$ 2,9	47,35 $\pm$ 3,7	41,18 $\pm$ 2,9	0,41 $\pm$ 0,4	1,47 $\pm$ 0,4
Cs	50,05 $\pm$ 2,4	54,45 $\pm$ 2,6	49,27 $\pm$ 2,6	40,91 $\pm$ 2,0	0,00 $\pm$ 0,0	2,86 $\pm$ 0,3
F	8,32**	15,03**	6,07**	8,89**	1,33	1,75

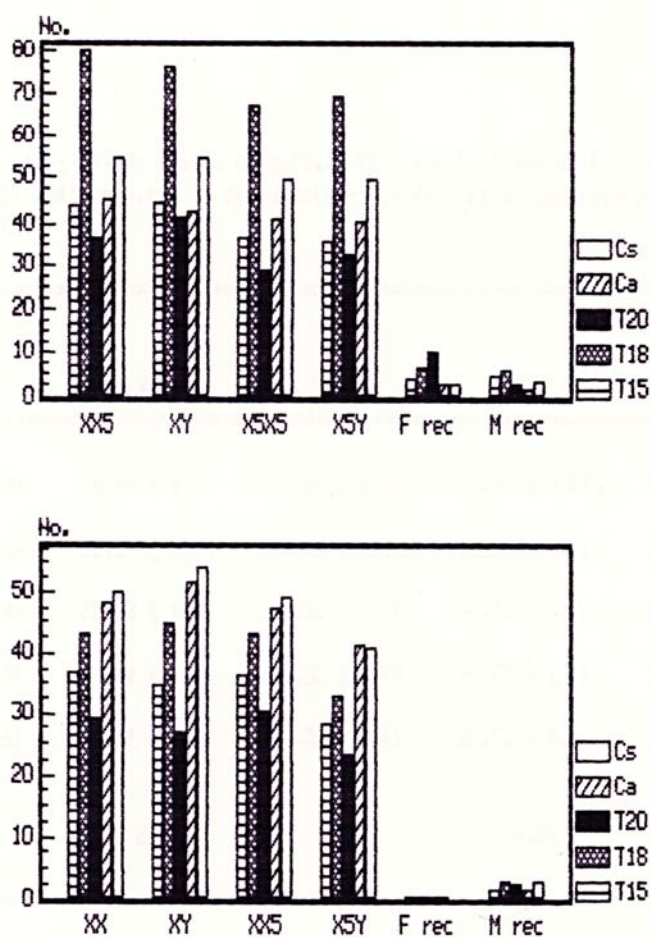


Figura 7. Número médio de moscas obtidas por genótipo, nas gerações F2 e F3, para os cinco tratamentos.

Tabela 13. Percentuais ($\bar{X} \pm SX$) de moscas na geração F2, por tratamento (F para homogeneidade das médias; *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; d de Dunnett - $\alpha = 0,05$ para comparações múltiplas de médias, à esquerda com Cs.

Tratamento	XXS	XY	XSXS	XSY	Recombinantes	
					F	H
T15	25,44 $\pm$ 0,83	26,95 $\pm$ 0,77	21,83 $\pm$ 0,98	20,97 $\pm$ 0,89	2,29 $\pm$ 0,62	2,51 $\pm$ 0,78
T18	26,27 $\pm$ 0,36	25,34 $\pm$ 0,44	21,90 $\pm$ 0,38	22,58 $\pm$ 0,31	2,02 $\pm$ 0,17	1,87 $\pm$ 0,17
T20	23,23 $\pm$ 1,43	27,68 $\pm$ 1,05	18,51 $\pm$ 1,20	20,71 $\pm$ 0,78	* 7,80 $\pm$ 2,50	2,10 $\pm$ 0,37
Ca	26,18 $\pm$ 0,99	24,60 $\pm$ 0,88	23,52 $\pm$ 0,94	23,27 $\pm$ 1,10	1,46 $\pm$ 0,27	0,98 $\pm$ 0,16
Cs	25,04 $\pm$ 0,61	25,07 $\pm$ 0,56	23,32 $\pm$ 0,61	23,76 $\pm$ 0,56	1,21 $\pm$ 0,11	1,60 $\pm$ 0,14
F (4;188)	2,22	2,93	5,78*	4,26	8,18**	1,87

Tabela 14. Percentuais ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) de moscas na geração F3, por tratamento (F para homogeneidade das médias).

Trata- mento	XX	XY	XXS	XSY	Recombinantes	
					F	H
T15	26,25 $\pm$ 0,87	25,17 $\pm$ 1,14	27,17 $\pm$ 1,07	20,13 $\pm$ 0,81	0,10 $\pm$ 0,10	1,18 $\pm$ 0,20
T18	27,24 $\pm$ 1,30	26,42 $\pm$ 0,69	25,10 $\pm$ 0,66	19,67 $\pm$ 0,67	0,06 $\pm$ 0,05	1,51 $\pm$ 0,14
T20	24,65 $\pm$ 1,86	23,01 $\pm$ 1,64	26,60 $\pm$ 1,74	23,74 $\pm$ 3,70	0,03 $\pm$ 0,03	1,97 $\pm$ 0,72
Ca	25,40 $\pm$ 0,83	27,40 $\pm$ 0,84	24,65 $\pm$ 1,06	21,54 $\pm$ 0,81	0,22 $\pm$ 0,18	0,79 $\pm$ 0,24
Cs	25,43 $\pm$ 0,47	27,59 $\pm$ 0,40	24,62 $\pm$ 0,50	20,87 $\pm$ 0,49	0,00 $\pm$ 0,00	1,49 $\pm$ 0,15
F(4;172)	0,76	3,93	1,39	1,30	1,35	1,54

Tabela 15. Valores de *t* de Student para as diferenças entre médias de genótipos nas gerações F2 e F3. *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$.

Trata- mento	Gera- ção	XX5		XY	
		$\bar{X} \pm S\bar{X}$	<i>t</i>	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	<i>t</i>
T15	F2	25,44 $\pm$ 0,83	1,28	26,95 $\pm$ 0,77	1,30
	F3	27,17 $\pm$ 1,10		25,17 $\pm$ 1,10	
T18	F2	26,27 $\pm$ 0,36	1,56	25,34 $\pm$ 0,44	1,32
	F3	25,10 $\pm$ 0,66		26,42 $\pm$ 0,69	
T20	F2	23,23 $\pm$ 1,43	1,49	27,68 $\pm$ 1,05	2,39*
	F3	26,60 $\pm$ 1,70		23,01 $\pm$ 1,60	
Ca	F2	26,18 $\pm$ 0,99	1,05	24,60 $\pm$ 0,88	2,29*
	F3	24,65 $\pm$ 1,16		27,40 $\pm$ 0,84	
Cs	F2	25,04 $\pm$ 0,61	0,54	25,07 $\pm$ 0,56	3,64**
	F3	24,62 $\pm$ 0,50		27,59 $\pm$ 0,40	

III.5. Carga Genética

III.5.1. Ocorrência de letais na progênie das fêmeas $\widehat{XX}/Y$.

O plano de cruzamento adotado (Figura 1) incluiu a utilização da linhagem $\widehat{XX}/Y$ com o objetivo de antecipar a detecção de letais que pudessem vir a ser induzidos durante o processo. No entanto, não foram detectadas tais alterações.

III.5.2. Viabilidade e fertilidade da classe selvagem e efeito limitado ao sexo na geração F3.

a) Fertilidade

Não foram detectados efeitos sobre a fertilidade das fêmeas de fenótipo selvagem da geração F3.

b) Razão Sexual

Os resultados referentes à proporção de fêmeas e machos de fenótipo selvagem são mostrados, juntamente com a viabilidade média da classe selvagem, na geração F3, para os cinco tratamentos, na Tabela 16.

Os valores para a razão de sexo da classe selvagem em F3 não mostram diferenças significativas ($F = 2,13$; $P < 0,05$), com valores entre 93,49 (Cs) e 109,88 (T15). Os tratamentos com permetrina apresentaram um pequeno aumento na proporção de fêmeas sobre a de machos, em relação aos grupos-controle. Em contraste a um valor de razão sexual alto, neste experimento, para T20 (108,17), quanto à viabilidade da classe selvagem, esse foi o tratamento em que foi obtido o menor valor médio (47,66) em comparação aos demais grupos, cujo maior valor ocorreu no tratamento T18 (53,66).

c) Viabilidade

Os cromossomos foram classificados quanto à viabilidade da classe selvagem, relativa à sua razão sexual e à viabilidade total, obtida através da soma de todas classes genotípicas de cada um. Adotou-se os critérios de classificação utilizados por Cavalcanti (1950), que baseia-se em valores pré-determinados, sendo que a viabilidade normal está contida em intervalo no qual a razão sexual assume valores entre 90 e 120. Considerou-se esta classificação como a que melhor atendeu os objetivos, visto que, apesar de atribuir valores arbitrários, aproxima-se mais dos objetivos deste estudo. A Figura 8 mostra os valores obtidos para a razão sexual e a viabilidade da classe selvagem, para os cinco tratamentos.

Na Tabela 17, encontra-se a relação dos percentuais do total de cromossomos testados para cada um dos tratamentos, segundo a classificação adotada.



Tabela 16. Valores médios ($S\bar{x} \pm \bar{x}$) da razão sexual ($100 \times XX/XY$) e da viabilidade da classe selvagem ($100 \times XX+XY/Total$) da geração F3, para os cinco tratamentos. F para homogeneidade de médias.

Tratamento	n	$100 \times XX/XY$	$100 \times XX+XY/Total$
T15	22	$109,88 \pm 9,0$	$51,24 \pm 1,4$
T18	59	$99,53 \pm 3,1$	$53,66 \pm 1,0$
T20	23	$108,17 \pm 9,1$	$47,66 \pm 3,2$
Ca	17	$94,36 \pm 4,7$	$52,80 \pm 1,1$
Cs	56	$93,49 \pm 2,3$	$53,03 \pm 0,6$
F(4;172)		2,13	2,60*

Razão Sexual

Viabilidade Classe Selvagem

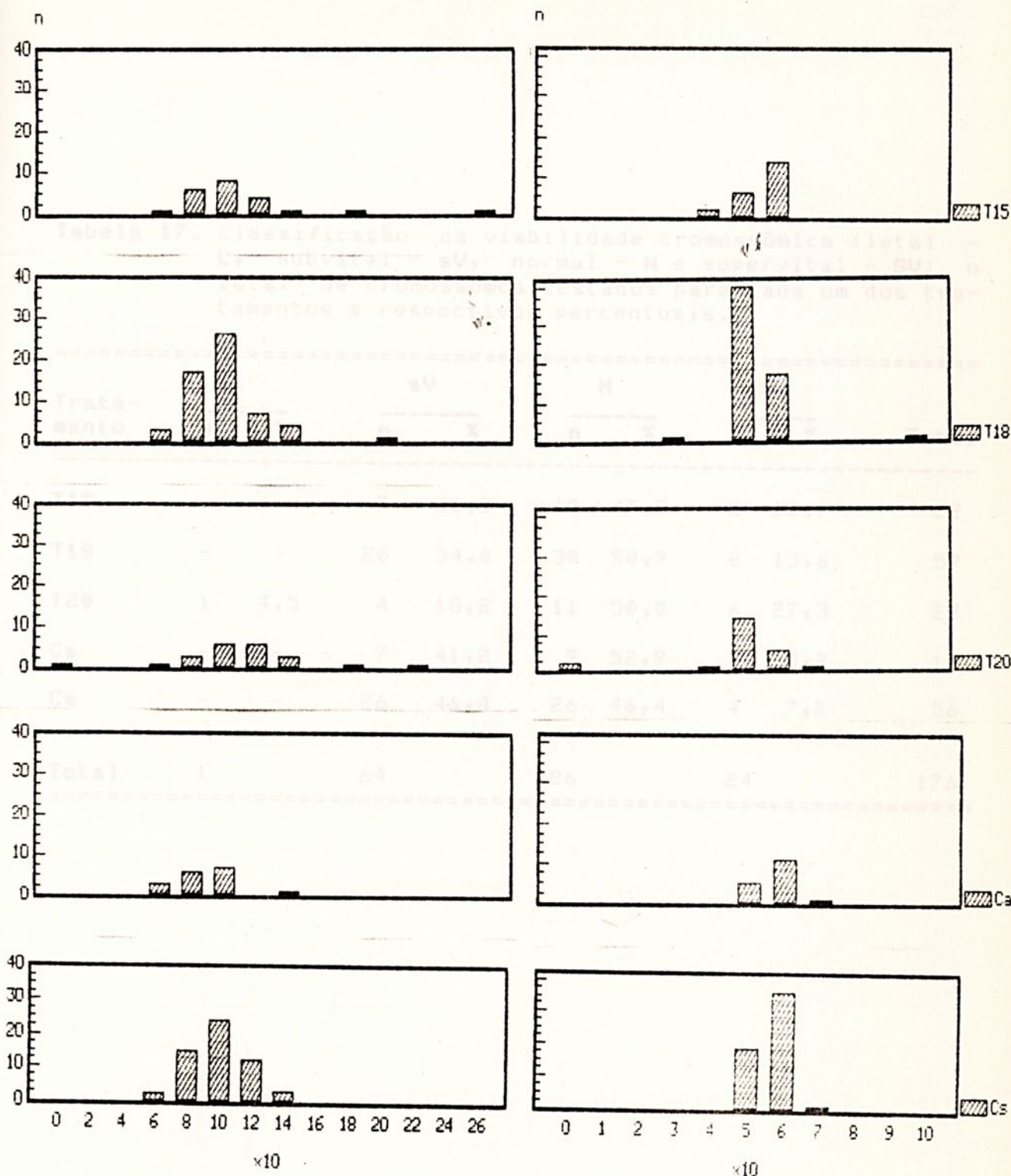


Figura 8. Médias de razão sexual ($100 \times XX/XY$) e de viabilidade da classe selvagem ($100 \times XX+XY/Total$) na geração F3, para os cinco tratamentos.

Tabela 17. Classificação da viabilidade cromossômica (letal - L, subvital - sV, normal - N e supervital - SV) o total de cromossomos testados para cada um dos tratamentos e respectivos percentuais.

Tratamento	L		sV		N		SV		Total
	n	%	n	%	n	%	n	%	
T15	-	-	7	31,8	10	45,5	5	22,7	22
T18	-	-	20	34,0	30	50,9	8	13,6	59
T20	1	4,5	4	18,2	11	50,0	6	27,3	22
Ca	-	-	7	41,2	9	52,9	1	5,9	17
Cs	-	-	26	46,4	26	46,4	4	7,2	56
Total	1		64		86		24		176

IV. DISCUSSÃO

Os piretróides adquiriram um papel importante entre os pesticidas disponíveis, não apenas para o controle de insetos na agricultura, mas também na erradicação de vetores de doenças endêmicas como a malária, na proteção de grãos durante o armazenamento e no combate a insetos domésticos (Demoute, 1989 e Carter, 1989). Durante muitos anos de esforços em conjunto de vários grupos de pesquisa, foram desenvolvidos novos derivados dos análogos fotoestáveis das piretrinas naturais, que são rapidamente degradáveis. A maioria dos piretróides recentes são halogenados, com alta lipofilicidade e solubilidade em água muito baixa (Coats & Bradbury, 1989) e compreendem cerca de um quarto de todos os pesticidas utilizados atualmente (Jackson, 1989). O sucesso é devido a algumas características, como, por exemplo, os níveis imprevistos de controle pela eficiência na inativação e efeito letal, amplo espectro de ação, boa atividade residual juntamente com um efeito repelente (Hirano, 1989), utilização em quantidades muito baixas, custo competitivo, apresentam poucos danos aos aplicadores e, comparados a outros compostos, têm impacto ambiental fraco.

Neste estudo, avaliou-se os efeitos da permetrina, um pesticida do grupo dos piretróides e da acetona sobre componentes do valor adaptativo e sobre a carga genética do cromossomo X de **Drosophila melanogaster**, procurando-se estabelecer associações entre os componentes relacionados às diversas etapas da vida das moscas, englobando a atividade sexual, fecundidade, tempo de desenvolvimento, tamanho da prole,



fertilidade, razão sexual e viabilidade, na tentativa de relacionar a ação da permetrina às etapas de vida do inseto.

A permetrina é um composto que não apresenta em sua molécula o componente alfa-ciano, sendo considerada um piretróide do tipo I. Segundo Ramadan *et alii* (1988a,b e c), a potência destes pesticidas na inibição de receptores de determinados íons (e.g. cloro e sódio) contribui para a toxicidade, considerando-se que os piretróides do tipo II são aproximadamente 14 vezes mais potentes do que os do tipo I.

Segundo Wurgler (1977), para propósitos gerais de investigação é recomendado utilizar somente machos para o tratamento com um composto químico, visto que fêmeas são mais facilmente esterilizadas por estes e têm, até o momento, provado ser mais refratárias à indução de alterações genéticas. Entretanto, ainda não foram encontrados agentes químicos com efeitos especificamente restritos a estágios das células germinativas específicas em fêmeas.

Sob um ponto de vista técnico, o método mais simples de exposição a um agente químico é a manutenção das moscas alimentando-as com as soluções (Wurgler, 1977, 1980). Desse modo, adaptou-se esse método às condições disponíveis no laboratório. Há um método que demonstrou ser bastante eficiente, descrito por Lewis & Bacher (1976, cf Wurgler 1977), utilizando exposição à solução-teste através da colocação de um papel embebido na solução em uma garrafa contendo as moscas. Porém, esse procedimento pode resultar na separação da substância de seu solvente. Assim, as moscas poderiam alimentar-se em regiões relativamente diferentes do papel e, desse modo, evitar subs-



tâncias repelentes (Wurgler, 1977). Em vista dessas observações, concluiu-se que, neste caso, o método de impregnação do alimento a ser administrado aos machos foi adequado.

O tratamento reduziu significativamente a frequência de cópulas, sendo que as concentrações menores apresentaram um efeito maior. A acetona também contribuiu para a diminuição dessa frequência (Tabela 2).

As características do acasalamento são alteradas quando um dos indivíduos participantes é deficiente na habilidade de receber certas informações sensoriais (Markow, 1987). A utilização de um composto neurotóxico neste estudo constatou evidências de alterações dessa natureza, como as diferenças nos tempos de pré-cópula e de cópula absoluto, ocorridas nos grupos tratamento, aumentando o tempo gasto na atividade sexual (Tabela 2).

Em relação às médias dos tempos de pré-cópula e de cópula absoluto, ocorreu um processo de compensação, visto que, os tempos de atividade sexual para todos os tratamentos, com exceção de Cs, foram muito semelhantes entre si (Tabela 2). Todas as moscas analisadas em relação aos tratamentos, inclusive ao controle acetona (Ca), apresentaram o tempo de atividade sexual maior do que o controle normal (Cs) e semelhantes entre si. Isto reforça a idéia de que, sob situações de estresse ambiental, ocorre uma auto-compensação de modo a minimizar os efeitos deletérios provocados por uma condição desfavorável. Dobzhansky (1977) afirmou que a seleção pode promover o estabelecimento de variantes genéticas com algumas



características desvantajosas que são compensadas por vantagens em outras características.

Na avaliação de associações entre os componentes relativos à atividade sexual, houve correlações significativamente negativas, embora fracas, entre o tempo de pré-cópula e o tempo de cópula absoluto para o controle **Ca** ($r = -0,249$; $t = 2,34$; $P < 0,05$) e para **T18** ($r = -0,387$; $t = 3,58$; $P < 0,01$) e positiva para **Cs** ($r = 0,217$; $t = 2,07$; $P < 0,05$), assim como ausência de correlação, indicando uma relação entre os tempos de pré-cópula e de cópula absoluto. A correlação entre o tempo de cópula relativo e o tempo de atividade sexual foi positiva e significativa para todos os tratamentos (Tabela 3).

Pode-se definir fecundidade como o número de ovos postos pelas fêmeas em um dado período. Fatores como a temperatura (Lints & Lints, 1971) ou determinadas substâncias, como herbicidas (Bortolozzi *et alii*, 1985) ou pesticidas (Branco, 1989) podem alterar a expressão deste componente.

No presente trabalho, não ficou evidente a ação da permetrina sobre a fecundidade, pois o controle apresentou um total de ovos menor do que os tratamentos **T15** e **T20** (Figura 6). O tratamento com acetona apresenta a maior produtividade de ovos do experimento.

Branco (1989) constatou que o efeito do organoclorado dicofol sobre a produção de ovos e o padrão de postura cessa quando as moscas que receberam o composto durante o desenvolvimento são colocadas em meio de cultura padrão. No presente experimento, apenas os machos receberam tratamento, antes do acasalamento, e verificou-se que, sob o efeito da

permetrina, nas concentrações T15 e T20 ocorreu um aumento da taxa de oviposição, possivelmente devido a um processo de estimulação do sistema nervoso do macho, de modo a favorecer a transferência de esperma durante a cópula. Esse processo é possível devido a duas razões, o aumento da excitabilidade neuro-muscular provocada por inseticidas piretróides e o fato de que fêmeas apresentam um aumento na taxa de oviposição quando inseminadas pelo macho, sendo essa dependência relacionada ao número de espermatozóides disponíveis e à idade das fêmeas (Long *et alii*, 1980, Carareto-Camargo, 1987).

O padrão de oviposição nos cinco grupos foi bastante heterogêneo, com valores de F significativos para 11 dos doze dias de contagem (Tabela 4). Os tratamentos T15 e T20, que apresentaram altas frequências de oviposição em relação aos demais, tiveram uma distribuição crescente das médias de oviposição diária, conforme pode ser observado na Figura 4.

Drosophila continua sendo um dos mais importantes organismos para pesquisas genéticas. Segundo Wilbur *et alii* (1974, in Avelar *et alii*, 1987), a estratégia de um organismo é resultado da interação entre as diversas características da história da vida, cada uma das quais contribuindo para o valor adaptativo total. Essas características incluem, por exemplo, a viabilidade, o tempo de vida reprodutivo, a fecundidade e a regressão da idade fértil. Há uma enorme diversidade de estratégias da história de vida e, para compreendê-la, tenta-se descobrir se há padrões discerníveis nos grupos de características nos quais alguns caracteres são geralmente associados a



outros e, se dentre tipos particulares de características há aqueles que estão associados a determinados tipos de ambiente.

Dobzhansky (1970) afirmou que um dos parâmetros que refletem a habilidade de sobrevivência e reprodução de uma população em um dado ambiente utilizado para quantificar a adaptação é o valor adaptativo, ou seja, a medida da eficiência reprodutiva dos portadores de um genótipo em relação aos portadores de outro, tomado como referência; é portanto uma medida comparativa, pois um genótipo não tem baixa ou alta aptidão em abstrato, sendo o valor adaptativo uma função do ambiente e dos outros genótipos com os quais ele compete.

A contribuição de cada componente do valor adaptativo, bem como das diferentes frações do ciclo biológico para o valor adaptativo total é distinta entre linhagens diversas, evidenciando estratégias diferentes de adaptação aos seus ambientes (Carareto-Camargo, 1987).

Conforme Hiraizumi (1961), o valor adaptativo de um organismo é o resultado de muitos componentes e, mesmo o caráter mais trivial pode contribuir para o valor adaptativo através de uma ou mais das muitas vias bioquímicas do desenvolvimento. As inter-relações entre estas vias são complexas, de modo que os caracteres podem ser agrupados em categorias, mesmo se estas interrelações entre os componentes de uma categoria não forem compreendidas.

Quanto ao tempo de desenvolvimento, os dados obtidos demonstram uma interferência significativamente deletéria da permetrina. Nas gerações F2 e F3 os tempos de desenvolvimento foram maiores do que no controle para todos os genótipos



(Tabelas 6 e 7), porém de maneira não proporcional à concentração. Este aumento não parece diretamente relacionado aos genótipos em hemi-homozigose.

Os fatores genéticos e não-genéticos afetam a probabilidade de sobrevivência de modo cumulativo em cada indivíduo e estes podem ser classificados de acordo com o valor final dos fatores que afetam sua sobrevivência (King, 1967).

Os resultados indicam uma razão sexual baixa (93,49, para o grupo Cs) em relação aos dados de literatura (97,66 fêmeas por 100 machos em Kerr & Kerr, 1952 e 95,98 fêmeas por 100 machos em Drescher, 1964).

O efeito limitado ao sexo é um mecanismo do estado-de-ser-adaptado, que é condicionado pela habilidade de sobrevivência e reprodução em um dado ambiente. Sob este sentido, destaca-se o importante papel da razão sexual na determinação do grau de adaptabilidade das populações (Mourão *et alii*, 1981).

As populações de *D. melanogaster* são heterogêneas para fatores genéticos que influenciam o surgimento de mutações letais (Ives, 1943). Segundo Masing (1938, 1939), moscas heterozigotas para letais no cromossomo II apresentam viabilidade maior do que aquelas que não possuem letais, sendo essa viabilidade variável individualmente, denominada efeito heterótico.

Para compreender a estrutura genética das populações é necessário determinar seu conteúdo genético. No caso das populações de *Drosophila* um procedimento é tomar amostras de cromossomos da população para torná-los homozigotos por meio



de sistemas de cruzamentos e classificá-los como letais, semi-letais, subvitalis, normais e super-vitalis. A classificação é feita tendo como base as proporções das classes fenotipicamente distinguíveis e por comparações dessas proporções com um valor de referência, que pode ser a proporção mendeliana esperada ou a proporção média obtida em uma série de culturas-controle, por meio de cruzamentos em cadeia, gerando combinações ao acaso.

No presente estudo, considerou-se a classificação para a viabilidade cromossômica segundo os critérios adotados por Cavalcanti (1950), que apesar de arbitrária, fornece uma projeção mais aproximada do que se considera como padrão de população natural, referente aos dados.

Todos os tratamentos que continham permetrina apresentaram um aumento na frequência de cromossomos supervitalis em relação à frequência obtida para os dois controles (Tabela 17).

Milkman (1966) afirmou que o efeito heterótico é a principal causa da presença de heterozigose na natureza, sendo incorreto considerar a adaptabilidade como sendo o produto de valores fracionados e atribuídos a cada **locus**; o indivíduo é a unidade-objeto da seleção e os **loci** podem contribuir de modo cumulativo. A condição de heterose não só é presente como pode contribuir imediatamente para aumentar a adaptabilidade na população (Carson, 1958).

Os cromossomos dos indivíduos heterozigotos podem perder a coadaptação que caracteriza o cromossomo na população natural, quando comparados com as viabilidades de indivíduos homozigotos para um certo cromossomo selvagem e um cromossomo de laboratório, com marcadores mutantes (Dobzhansky & Spassky,



1953).

Segundo Wallace & Madden (1953), genes mutantes têm efeitos deletérios sobre a viabilidade de seus portadores. O material clássico para o estudo das razões de mutação em **Drosophila** são os genes letais recessivos. Juntamente com os letais, entretanto, há um grande número de genes sub-letais com efeitos menores sobre a viabilidade dessas moscas.

Segundo Sweet & Spiess (1962), a maioria das referências à carga genética em populações de **Drosophila** diz respeito aos efeitos detriminentais de viabilidade (letais, semi-letais ou subvitalis). A esterilidade e sua correlação ou não com a viabilidade, como um aspecto da carga genética, segundo os autores, tem recebido menor atenção. Se a carga genética consiste de uma incidência significativa de genes que conferem tanto uma redução da fertilidade quanto da viabilidade, a manutenção dessa carga por uma estrutura balanceada requeriria um valor adaptativo muito maior dos heterozigotos do que para os genes conferindo apenas um ou outro efeito detrimental isoladamente. Para definir a situação em outros termos, qualquer combinação de pequenos efeitos do valor adaptativo (pleiotropia) proveniente de uma única unidade gênica tenderia a apressar a sua eliminação da população relativamente às unidades gênicas que conferem apenas um efeito detrimental isolado no valor adaptativo.

Mourão **et alii** (1981) consideram que a carga genética diz pouco respeito à habilidade da população de perpetuar-se através das gerações, sendo uma medida que não pode ser



tomada como um índice geral do grau de adaptação ao ambiente. Há a possibilidade de que os genes subvitalis de efeito limitado ao sexo desempenhem um papel relevante sobre o estado-de-ser-adaptado da população, constituindo uma parte da variabilidade genética oculta, que em condição homozigota pode aumentar a viabilidade das fêmeas e produzir um alto estado-de-ser-adaptado na população em determinados ambientes, como um benefício da carga genética. Renesto (1979) acrescenta que o efeito deletério de autossomos em homozigose sobre a aptidão total é muito maior que sobre a viabilidade somente, mas bem inferior ou mesmo nulo sobre o estado-de-ser-adaptado da população.

Ainda segundo estes autores, os cromossomos subvitalis, mais do que os normais ou supervitalis produziram, em condições de homozigose nas populações um aumento na viabilidade das fêmeas. Assim, os genes para a viabilidade têm duas faces que podem ser observadas nas populações naturais: enquanto a heterozigose de cromossomos normais pode manifestar uma grande quantidade de efeitos detrimenais através de recombinação, conforme ressaltou Gallo (1981) para o cromossomo X, a condição homozigota dos genes dos cromossomos subvitalis pode aumentar bastante a viabilidade das fêmeas.

Conforme Temin (1966), a baixa viabilidade está associada à esterilidade de fêmeas, fato contrário aos dados deste trabalho, uma vez que não foi detectada a presença de fêmeas estéreis.

As frequências das mutações recessivas espontâneas ligadas ao sexo podem variar com o tempo. Os fatores ambientais desempenham um importante papel na determinação das frequências



de mutação (Mason *et alii*, 1985).

Quando se comparam as médias das culturas homo e heterozigotas para os cromossomos X selvagens verifica-se que elas não diferem quanto ao número de indivíduos, nem quanto à viabilidade e o efeito limitado ao sexo (Renesto, 1979). No mesmo trabalho, o autor afirma que isto indica que a homozigose do cromossomo X não altera os parâmetros analisados. No presente estudo, constatou-se um efeito diferencial sobre a taxa de recombinação de fêmeas e machos, estes bem mais susceptíveis (Tabela 10). Em relação à viabilidade, os efeitos da recombinação são variáveis conforme a espécie considerada e, portanto, conforme a natureza dos genes envolvidos nas diferentes combinações Martins (1983).

Conforme Renesto (1979), o cromossomo X é portador de variabilidade genética controlando o estado-de-ser-adaptado, a sobrevivência de machos e a frequência de fêmeas nas populações, mas esta variabilidade é independente da que determina a viabilidade, o efeito limitado ao sexo e a produtividade na geração posta em homozigose. No entanto, as estimativas destes parâmetros podem ter sido influenciadas por variabilidade genética autossômica, uma vez que o background genético é proveniente da natureza e, portanto, os cromossomos II, III e IV devem ser portadores de grande variabilidade. Segundo os resultados aqui apresentados, a dependência da variabilidade genética foi considerada inferior àquela observada por Renesto (1979) e, mesmo assim, houve diversidade quanto à reação ao composto testado para os diversos parâmetros.



Novas informações foram acrescentadas durante a primeira década de uso dos compostos piretróides, sob todos os aspectos. O problema da resistência tem gerado polêmicas, uma vez que alguns pesquisadores afirmam que ela é perfeitamente manejável (Jackson, 1989 e Elliott, 1989), enquanto outros defendem a utilização de compostos descobertos mais recentemente, como o metopreno, acompanhados de organofosforados, por exemplo, o metacrifós (Collins, 1990), ou carbamatos como o metomil (Webb *et alii*, 1989). De qualquer modo, recomenda-se que seu uso seja evitado em populações previamente selecionadas para resistência a organoclorados (McCaffery *et alii*, 1989). Mesmo alguns compostos desenvolvidos recentemente, como as avermectinas (um tipo de micopesticida), apresentam resistência cruzada com piretróides. Scott (1989), testando um dos mais potentes pesticidas desse grupo, o abamectin, verificou que a resistência cruzada era devida aos mesmos processos genéticos e toxicológicos da resistência aos piretróides, reduzindo sua penetração através da cutícula.

A descoberta e desenvolvimento de compostos com novos princípios de ação que visam a substituir os piretróides não é um processo barato. Segundo Riley (1989), os custos recentes estão estimados em 50 milhões de dólares e um período de 8 a 10 anos para o desenvolvimento de um novo composto. Um adicional de 40 a 100 milhões de dólares pode ser acrescentado se uma planta for necessária à sua manufatura. Uma preocupação adicional é o aumento na quantidade de ingredientes ativos colocados no ambiente. Para o algodão, por exemplo, os piretróides são aplicados em pequenas quantidades, em torno de 0,02



a 0,1 quilo de pesticida ativo por hectare, enquanto que muitos produtos alternativos têm uso efetivo em quantidades superiores a 1 quilo por hectare. Assim sendo, os produtos novos podem não ser suficientes para suprir as características dos piretróides (Elliott, 1989).

Segundo Watkinson (1989), no tempo dos primeiros inseticidas sintéticos, utilizados após a Segunda Guerra Mundial, verificou-se que o uso contínuo de qualquer classe de inseticida pode rapidamente gerar o surgimento de resistência da peste. Em quase todos os casos, observados, o resultado foi a redução do uso do pesticida em questão, e sua substituição por compostos alternativos. Entretanto, nos últimos dez anos, não surgiu nenhum novo agente químico que pudesse efetivamente substituir os piretróides. Assim, há sempre uma razão para que o modo de manejo permita a continuidade de seu uso como agente eficaz no controle de insetos ainda por muitos anos (Hodgson, 1984).

As grandes indústrias geralmente assumem uma posição de inércia em relação ao desenvolvimento de inseticidas mais seguros. Enquanto professam um interesse na inovação, fica claro que este não é prioritário, visto que têm uma atitude conservadora em relação aos métodos de desenvolvimento de novos produtos (Hodgson, 1984).

Em meio a tais polêmicas, diversos estudos têm sido realizados com o intuito de desvendar as propriedades toxicológicas desses compostos.

Segundo Hodgson (1984), em se tratando de toxicidade



dade aguda e crônica, é importante recordar que o modo de ação na toxicidade aguda é geralmente descrito em espécies alvo e não-alvo e que o controle da toxicidade aguda no homem, provocada por inseticidas não-persistentes, tem interesse na prevenção de acidentes.

No caso de toxicidade crônica, o modo de ação não é bem compreendido. Os efeitos são, a longo termo, difíceis de antecipar e geralmente relacionados ao ambiente.

Neste estudo foi possível verificar que os efeitos da permetrina e da acetona afetaram de maneiras diversas as diferentes fases da vida da mosca, ressaltando a conveniência de se utilizar vários procedimentos de análise das consequências da exposição do composto.

O efeito de compostos sobre populações naturais a médio e longo prazo é um processo pouco previsível, devido à grande influência de fatores externos. Talvez seja esta a razão da escassez de trabalhos que abordem este aspecto na literatura. Dentre os recursos utilizados para o estudo desses efeitos está a quantificação da carga genética, avaliada por meio da expressão de componentes do valor adaptativo e de aspectos como a indução de genes letais recessivos ligados ao sexo, a manifestação do efeito limitado ao sexo feminino e a viabilidade cromossômica relativa ao cromossomo X, entre outros.

A investigação do efeito de compostos sobre aspectos genéticos e fisiológicos dos organismos é de suma importância, pois as populações estão continuamente sendo submetidas à ação de inúmeras substâncias, cujas consequências de exposição nem sempre se apresentam definidas. Um programa de conscienti-



zação, visando esclarecer as necessidades e os riscos inerentes à convivência com tais compostos tem um papel fundamental no desenvolvimento e na segurança das sociedades humanas, bem como no respeito devido às espécies que com elas convivem.



V. RESUMO

Neste estudo verificou-se os efeitos do piretróide permetrina em três concentrações (15, 18 e 20 ppm) e da acetona (controle **Ca**) relativos a um controle com sacarose (**Cs**) sobre *Drosophila melanogaster*. Para tanto, analisou-se componentes relacionados às diversas etapas da vida, envolvendo a atividade sexual, a fecundidade, o tempo de desenvolvimento, o tamanho da progênie, em duas gerações, e a carga genética do cromossomo X, abordando a fertilidade de fêmeas selvagens da geração **F3**, a razão sexual e a viabilidade, segundo os critérios de classificação adotados por Cavalcanti (1950).

A permetrina reduziu a frequência de cópulas em todas as concentrações. Os tempos de pré-cópula foram maiores do que o do controle, aumentando conforme a concentração diminuiu. Ocorreu o inverso para o tempo de cópula absoluto, sugerindo-se um processo de compensação, uma vez que os tempos de atividade sexual foram bem semelhantes para o conjunto de tratamentos, com valores maiores do que o obtido para o controle **Cs**. Para a atividade sexual, o tratamento das moscas na concentração mais alta (**T20**) mostrou o maior número de diferenças significativas em relação ao controle **Cs** (44%), o que reafirma a ação do composto sobre as moscas.

A permetrina não provocou efeitos detectáveis sobre a fecundidade das moscas. A acetona, no entanto, aumentou o valor da postura diária.

Constatou-se ainda um alongamento do tempo de desenvolvimento para todos os genótipos, nas duas gerações.



Houve uma diminuição significativa do tamanho da progênie dos grupos tratados em relação ao controle Cs nas gerações F2 e F3, o que não ocorreu com o controle Ca da geração F3.

As razões de sexo em F3 das moscas de genótipo selvagem não diferiram significativamente nos grupos de tratamento em relação ao controle.

Os tratamentos causaram um aumento na frequência de supervitais em relação aos controles, segundo a classificação utilizada.

O presente estudo mostrou que, apesar de terem sido expostos apenas os machos parentais, através de cruzamentos sistematizados, constatou-se o efeito da permetrina e da acetona sobre a progênie desses indivíduos, evidenciando que, mesmo considerados pouco tóxicos e susceptíveis à metabolização, seu efeito manifesta-se de modo crônico, ao longo das gerações. Os mecanismos que provocam esses efeitos ainda não estão completamente elucidados, o que reforça a necessidade desse tipo de estudo.



VI. ABSTRACT

This study verified the effects of the permethrin pyrethroid under 3 concentrations (15, 18 and 20 ppm) and of acetone (Ca control) relative to a normal control with saccharose (Cs) for treated males of *Drosophila melanogaster*. For this components were analysed which are related to different steps of the life process involving sexual activity, fecundity, time of development, progeny size, in two generations and the X chromosome genetic load, broaching the sex ratio and the viability, according the classification criteria adopted by Cavalcanti (1950).

Permethrin reduced mating frequency for all treatments. The pre-copula times were longer than for control, increasing ower concentrations. The inverse process occurred for the copula time, which suggests that a compensation occurs. As to sexual activity, the flies which were treated with the highest concentration (T20) showed the largest significant differences, in comparison with the Cs control (44%), substantiating the action of this compound on the flies.

Permethrin did not demonstrate detectable differences in the fecundity of the flies. acetone, however, provoked greatly increased egg laying capacity, compared with the control Cs.

There was observed an increase in development time for all genotypes, in both generations.

There was a diminution of the number of flies in relation to Cs, in the F2 and F3 generations, that not occurred



for the Ca control in the F3 generation.

The sex ratio of the wild fenotype flies in F3 do not differ significantly in the treatment groups when they were compared to the control.

The treatments caused a increase in the supervitals frequency related to the control groups, according the classification used.

This work showed that, although only the male parents were exposed, systematic crossings reveal the effects of permethrin and acetona on the progeny of these individuals. This demonstrates that although considered to be of low toxicity and susceptible of being metabolized, their effects are manifested in a chronic manner over the generations. The mechanisms which provoke these effects are still incompletely understood, which reinforces the importance of this type of study.



VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, M., GLADWELL, R.T. & McCAFFERY, A.R. (1989). Decreased nerve sensitivity is a mechanism of resistance in a pyrethroid resistant strain of *Heliothis armigera* from Thailand. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 35: 165-171.
- AVELAR, T., ROCHA PITE, M.T. & MATOS, M. (1987). Variation of some demographic parameters in *Drosophila simulans*, *D. subobscura* and *D. phaetara* (Diptera, Drosophilidae) throughout the year under semi-natural conditions in Portugal. **Oecologia Generalis**, 8(3): 347-356.
- BAARS A.J., ZIJLSTRA, J.A., VOGEL, E. & BREIMER, D.D. (1977). The occurrence of cytochrome P-450 and aryl hydrocarbon hydroxylase activity in *Drosophila melanogaster* microsomes, and the importance of this metabolizing capacity for the screening of carcinogenic and mutagenic properties of foreign compounds. **Mutation Research**, 44: 257-268.
- BARNES, J.M. & VERSCHOYLE, R.D. (1974). Toxicity of new pyrethroid insecticide. **Nature**, 248: 711.
- BATISTE-ALENTORN, M., XAMENA, N., VELAZQUEZ, A., CREUS, A. & MARCOS, R. (1986). Mutagenicity testing of the pyrethroid insecticide cypermethrin in *Drosophila melanogaster*. **Mutagenesis**, 1(5): 343-346.
- BATISTE-ALENTORN, M., XAMENA, N., VELAZQUEZ, A., CREUS, A. & MARCOS, R. (1987). Non-mutagenicity of fenvalerate in *Drosophila*. **Mutagenesis**, 2(1): 7-10.



- BATISTE-ALENTORN, M., XAMENA, N., VELÁZQUEZ, A., CREUS, A. & MARCOS, R. (1987). Studies on the toxicity of cypermethrin and fenvalerate in different strains of **Drosophila melanogaster**. **Environmental Research**, 43: 117-125.
- BORTOLOZZI, J., HIRATA, S., CURY, P.R. & MORBI, T.E. (1985). Efeito do herbicida Roundup na fecundidade de **Drosophila melanogaster**. **Salusvita**, 4(1): 10-18.
- BRADBURY, S.P. & COATS, J.R. (1989). Toxicokinetics and toxicodynamics of pyrethroid insecticides in fish. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 8: 373-380.
- BRANCO, S. (1989). Efeitos do acaricida dicofol sobre alguns componentes do valor adaptativo de **Drosophila melanogaster**. Dissertação de Mestrado. IBILCE - UNESP, São José do Rio Preto, SP.
- BYFORD, R.L., LOCKWOOD, J.G., SMITH, S.M. & FRANKE, D.E. (1987). Redistribution of behaviorally resistant horn flies (Diptera: Muscidae) on cattle treated with pyrethroid-impregnated ear tags. **Environmental Entomology**, 16(2): 467-470.
- CAGEN, S.Z., ANGEVINE MALLEY, L., PARKER, C.M., GARDINER, T.H. & VAN GELDER, G.A. (1982). Pyrethroid-mediated skin stimulation characterized by a new behavioral paradigm. **Pharmacologist**, 24: 729.
- CARARETO-CAMARGO, C.M.A. (1987). Valor adaptativo em **Drosophila prosaltans**. Dissertação de Mestrado. IBILCE - UNESP, São José do Rio Preto, SP.



- CARARETO, C.M.A. (1989). Valor adaptativo em **Drosophila sturtevantii**. Tese de Doutorado. IBILCE - UNESP, São José do Rio Preto, SP.
- CARSON, H.L. (1958). Increase in fitness in experimental populations resulting from heterosis. **Proceedings of the Nacional Academy of Sciences**, 44(11): 1136-1141.
- CARTER, S.W. (1989). A review of the use of synthetic pyrethroids in public health and vector pest control. **Pesticide Science**, 27: 361-374.
- CASIDA, J.E. (1980). Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. **Environmental Health Perspectives**, 34: 189-202.
- CATINOT, R., HOELLINGER, H., SONNIER, M., THANG, D.C., PICHON, J. & NAN, N.H. (1989). In vitro covalent binding of the pyrethroids cypermethrin and deltamethrin to rat liver homogenate and microsomes. **Archives of Toxicology**, 63: 214-220.
- CAVALCANTI, A.G.L. (1950). Contribuição à genética das populações naturais: análise dos gens autossômicos recessivos dos cromossomos II e III de **Drosophila prosaltans** (Duda). Departamento de Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, Brasil.
- CHATTERJEE, K.K., TALUKDER, G. & SHARMA, A. (1982). Effects of synthetic pyrethroids on mammalian chromosomes. I. Sumicidin. **Mutation Research**, 105: 101- 106.
- CLARK, J.R., GOODMAN, L.R., BORTHWICK, P.W., PATRICK Jr., J.M., CRIPE, G.M., MOODY, P.M., MOORE, J.C. & LORES, E.M. (1989). Toxicity of pirethroids to marine invertebrates and fish: a literature review and tests results with sediment-sorbed chemicals. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 8: 393-401.



- COATS, J. & BRADBURY, S.P. (1989). Aquatic toxicology of synthetic pyrethroid insecticides. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 8: 359.
- COATS, J.R., SYMONIK, D.M., BRADBURY, S.P., DYER, S.D., TIMSON, L.K. & ATCHISON, G.D. (1989). Toxicology of synthetic pyrethroids in aquatic organisms: an overview. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 8: 671-679.
- COLLINS, P.J. (1990). A new resistance to pyrethroids in *Tribolium castaneum* (Herbst). **Pesticide Science**, 28: 101-115.
- CROFTON, K.M. & REITER, L.W. (1988). The effects of type I and II pyrethroids on motor activity and the acoustic startle response in the rat. **Fundamental and Applied Toxicology**, 10: 624-634.
- DAY, K.E. (1989). Acute, chronic and sublethal effects of synthetic pyrethroids on freshwater zooplankton. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 8: 411-416.
- DEMOUTE, J.P. (1989). A brief review of the environmental fate and metabolism of pyrethroids. **Pesticide Science**, 27: 375-385.
- DOBZHANSKY, T. (1968). On some fundamental concepts of Darwinian biology. **Evolutionary Biology**, 2: 1-34.
- DOBZHANSKY, T. (1970). **Genética do Processo Evolutivo**. Trad. Celso A. Mourão. São Paulo, Polígono-EDUSP.
- DOBZHANSKY, T. (1977). Acaso e criatividade na evolução. **Ciência e Cultura**, 29: 1203-1224.



- DOBZHANSKY, T. & SPASSKY, B. (1953). Genetics of natural populations. XXI. Concealed variability in two sympatric species of *Drosophila*. **Genetics**, **38**: 471-484.
- DRESCHER, W. (1964). The sex limited genetic load in natural populations of *Drosophila melanogaster*. **The American Naturalist**, **98**: 167-171.
- EADSFORTH, C.V., BRAGT, P.C. & VAN SITTERT, N.J. (1988). Human dose-excretion studies with pyrethroid insecticides cypermethrin and alphacypermethrin: relevance for biological monitoring. **Xenobiotica**, **18**(5): 603-614.
- ELLIOTT, M. (1976). Properties and applications of pyrethroids. **Environmental Health Perspectives**, **14**: 3-13.
- ELLIOTT, M. (1989). The pyrethroids: early discovery, recent advances and the future. **Pesticide Science**, **27**(4): 337-351.
- ELLIOTT, M., FARNHAM, A.W., JANES, N.F., NEEDHAM, P.H. & PULMAN, D.A. (1974). Synthetic insecticide with a new order of activity. **Nature**, **248**: 710-711.
- ELLIOTT, M., FARNHAM, A.W., JANES, N.F., NEEDHAM, P.H., PULMAN, D.A. & STEVENSON, J.H. (1973). A photostable pyrethroid. **Nature**, **246**: 169-170.
- ELLIOTT, M. & JANES, N.F. (1978). Synthetic pyrethroids - A new class of insecticide. **Chemical Society Reviews**, **7**(4): 473-505.
- ELLIOTT, M., JANES, N.F. & POTTER, C. (1978). The future of pyrethroids in insect control. **Annals of Rev. Entomology**, **23**: 443-469.

- FARAONE, U., FORINA, D. & CESARONI, F. (1978). Prove di campo con permetrina e cipermetrina contro popolazioni autunnali di **Musca domestica** L. in Sicilia. **Rivista di Parassitologia**, 39(2-3): 167-186.
- FORD, M.G., GREENWOOD, R., TURNER, C.H., HUDSON, B. & LIVINGSTONE, D.J. (1989). The structure/activity relationships of pyrethroid insecticides. 1. A novel approach based upon the use of multivariate QSAR and computational chemistry. **Pesticide Science**, 27(3): 305-326.
- FRIES, I & WIBRAN, K. (1987). Effects on honey-bee colonies following application of the pyrethroids cypermethrin and PP 321 in flowering oilseed rape. **American Bee Journal**, 127(4): 266-270.
- GALLO, A.J. (1970). Estudo da carga genética em populações naturais de **Drosophila melanogaster**, para genes do cromossomo X. Tese de Doutorado. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de São José do Rio Preto, SP.
- GALLO, A.J. (1981). Release of variability through recombination of **Drosophila melanogaster** X chromosomes with sex-limited effect. **Revista Brasileira de Genética**, 4(3): 337-346.
- HAJJAR, M.J. & FORD, J.B. (1989). The effect of sublethal doses of Cypermethrin on egg laying of mustard beetle (**Phaedon cochleariae** - F.). **Pesticide Science**, 26(3): 227-239.
- HASSAL, K.A. (1982). Other insecticides and related compounds. In: **The Chemistry of Pesticides: their metabolism, mode of action and uses in crop protection**. The Macmillan Press, Hong Kong.



- HAYA, K. (1989). Toxicity of pyrethroids insecticides to fish. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 8: 381-391.
- HILL, I.R. (1989). Aquatic organisms and pyrethroids. **Pesticide Science**, 27(4): 429-457.
- HIRANO, M. (1989). Characteristics of pyrethroids for insect pest control in agriculture. **Pesticide Science**, 27: 353-360.
- HIRAIZUMI, Y. (1961). Negative correlation between rate of development and female fertility in **Drosophila melanogaster**. **Genetics**, 16: 615-624.
- HODGSON, E. (1984). Development of safer insecticides. **Drug Metabolism Reviews**, 15(5-6): 881-895.
- HOELLINGER, H., LECORSIER, A., SONNIER, M. LEGER, C., THANG, D.C. & NAM, N.H. (1987). Cytotoxicity, citogenotoxicity and allergenicity tests on certain pyrethroids. **Drug Chemistry Toxicology**, 10(3-4): 291-310.
- IVES, P.T. (1943). Heterogeneity in the lethal mutation rate within a wild population of **Drosophila melanogaster**. **Genetics**, 28: 77.
- JACKSON, G.J. (1989). The pyrethroid insecticides: a scientific advance for human welfare? **Pesticide Science**, 27(4): 335.
- KAMEL, E.H., MCKEE, M.J. & KNOWLES, C.O. (1987). Formamidines and formanilides as inhibitors of permethrin degradation by insect preparations. **Journal of Economic Entomology**, 80(2): 322-326.
- KERR, W.E. & KERR, L. (1952). Concealed variability in the X chromosome of **Drosophila melanogaster**. **The American Naturalist**, 86: 405-407.



- KING, J.L. (1967). Continuously distributed factors affecting fitness. **Genetics**, **55**: 483-492.
- LAWRENCE, L.J. & CASIDA, J.E. (1982). Intracerebral toxicity of pyrethroids in mice. **Pharmacologist**, **24**: 279.
- LINTS, F.A. & LINTS, C.V. (1971). Influence of preimaginal environment on fecundity and ageing in **Drosophila melanogaster** hybrids. II. Preimaginal temperature. **Experiments of Gerontology**, **6**: 417-426.
- LOMBET, A., MOURRE, C. & LAZDUNSKI, M. (1988). Interaction of insecticides of the pyrethroid family with specific binding sites on the voltage - dependent sodium channel from mammalian brain. **Brain Research**, **459**: 44-53.
- LONG, C.E., MARKOW, T.A. & YAEGER, P. (1980). Relative male age, fertility and competitive mating success in **Drosophila melanogaster**. **Behavior Genetics**, **10**: 163-170.
- MALONEY, S.E., MAULE, A. & SMITH, A.R.W. (1988). Microbial transformation of the pyrethroid insecticides: permethrin, deltamethrin, fastac, fenvalerate and fluvalinate. **Applied Environmental Microbiology**, **54**(11): 2874-2876.
- MARKOW, T.A. (1987). Behavioral and sensory basis of courship success in **Drosophila melanogaster**. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, **84**: 6200-6204.
- MARTINS, I.C. (1983). Variabilidade genética liberada por recombinação de cromossomos X de **Drosophila melanogaster**. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.



- MASING, R.A. (1938). Increased viability of heterozygotes for a lethal in *Drosophila melanogaster*. *Comptes Rendus (Doklady) de l'Académie des Sciences de l'U.R.S.S.*, 20(2-3): 173-176.
- MASING, R.A. (1939). Different viability among flies of *Drosophila melanogaster* heterozygous for lethals. *Comptes Rendus (Doklady) de l'Académie des Sciences de l'U.R.S.S.*, 23(8): 835-838.
- MASON, J.M., VALENCIA, R., WOODRUFF, R.C. & ZIMMERING, S. (1985). Genetic drift and seasonal variation in spontaneous mutation frequencies in *Drosophila*. *Environmental Mutagenesis*, 7: 663-676.
- MCCAFFERY, A.R., KING, A.B.S., WALKER, A.J. & EL-NAYIR, H. (1989). Resistance to synthetic pyrethroids in the bollworm, *Heliothis armigera* from Andhra Pradesh, India. *Pesticide Science*, 27(1): 65-76.
- McCLANAHAN, R.J. (1978). Toxicity of insecticides to larvae of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. *Proceedings of the Entomological Society of Ontario*, 109: 61-63.
- MCDONALD, P.T. & SCHMIDT, C.D. (1987). Genetics of permethrin resistance in the horn fly (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology*, 80: 433-437.
- METTLER, L.E. & GREGG, T.G. (1969). *Genética de Populações e Evolução*. Trad. R. Vencovsky, J.L. Azevedo e G. Bandel. São Paulo, Polígono.
- MILKMAN, R.D. (1967). Heterosis as a major cause of heterozygosity in nature. *Genetics*, 55: 493-495.

- MOURÃO, C.A., GALLO, A.J. & SALCEDA, V.M. (1981). Sex-limited effect and adaptedness in experimental populations of *Drosophila melanogaster*. **Revista Brasileira de Genética**, **4**(3): 317-327.
- NATION, P.N. & ROTH, S.H. (1987). Complex effects of the insecticide permethrin on a isolated sensory neuron. **Proceedings of West. Pharmacology Society**, **30**: 343-347.
- OORTGIESEN, M., VAN KLEEF, G.D.M. & VIJVERBERG, H.P.M. (1989). Effects of pyrethroids on neurotransmitter-operated ion channels in cultured mouse neuroblastoma cells. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, **34**: 164-173.
- RAMADAN, A.A., BAKRY, N.M., MAREY, A.S.M., ELDEFRAWI, A.T. & ELDEFRAWI, M.E. (1988). action of pyrethroids on GABA_A receptor function. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, **32**: 97-105.
- RAMADAN, A.A., BAKRY, N.M., MAREY, A.S.M., ELDEFRAWI, A.T. & ELDEFRAWI, M.E. (1988). Actions of pyrethroids on the peripheral benzodiazepine receptor. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, **32**: 106-113.
- RAMADAN, A.A., BAKRY, N.M., MAREY, A.S.M., ELDEFRAWI, A.T. & ELDEFRAWI, M.E. (1988). Action of pyrethroids on K⁺-stimulated calcium uptake by, and [H] nimodipine binding to rat brain synaptosomes. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, **32**: 114-122.
- RATTNER, B.A. & FRANSON, J.C. (1984). Methyl parathion and fenvalerate toxicity in American kestrels: acute physiological responses and effects of cold. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, **62**: 787-792.



- RENESTO, E. (1979). Efeito do cromossomo X em populações experimentais de **Drosophila melanogaster**. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.
- RILEY, S.L. (1989). Pyrethroid resistance in **Heliothis virescens**: current U.S. management programs. **Pesticide Science**, 26(4): 411-421.
- RIZZINI, C.T. & MORS, W.B. (1976). **Botânica Econômica Brasileira**. EPU/EDUSP, São Paulo.
- ROSSIGNOL, D.P. (1988). Reduction in number of nerve membrane sodium channels in pyrethroid resistant house flies. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 32: 146-152.
- ROUSH, R.T. & LUTTRELL, R.G. (1989). Expression of resistance to pyrethroid insecticides in adults and larvae of tobacco budworm, **Heliothis virescens** (Lepidoptera: Noctuidae): implications for resistance monitoring. **Journal of Economic Entomology**, 82(5): 1305-1310.
- SCHMIDT, C.D., MATTER, J.J. MEURER, J.H., REEVES, R.E. & SHELLEY, B.K. (1976). Evaluation of a syntetic pyrethroid for control of stable flies and horn flies on cattle. **Journal of Economic Entomology**, 69(4): 484-486.
- SCOTT, J.C. (1989). Cross-resistance to the biological insecticide Abamectin in pyrethroid-resistant house-flies. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 34: 21-31.
- SIDON, E.W., MOODY, R.P. & FRANKLIN, C.A. (1988). Percutaneous absorption of cis- and trans- permethrin in Rhesus monkeys and rats: anatomic site and interspecies variation. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, 23: 207-216.



- SINGH, D.K. & AGARWAL, R.A. (1987). Effect of the syntetic pyrethroid permethrin on the snail *Limnaea acuminata*. *The Science of the Total Environment*, **67**: 263-267.
- STEEL, R.G.D. & TORRIE, J.H. (1960). *Principles and procedures of statistics - with special reference to the biological sciences*. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York.
- STERNBERG, S.S. (1979). The carcinogenesis, mutagenesis and teratogenesis of insecticides. Review of studies in animals and man. *Pharmac. Ther.*, **6**: 147-166.
- SWEET Jr., E.E. & SPIESS, E.B. (1962). Frequency of sterility in a laboratory population of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **47**: 1519-1534.
- TEMIN, R.G. (1966). Homozygous viability and fertility loads in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **53**: 27-46.
- VERCHOYLE, R.D. & ALDRIDGE, W.N. (1980). Structure-activity relationships of some pyrethroids in rats. *Archives of Toxicology*, **45**: 325-329.
- VIEIRA, S. (1985). *Introdução à Bioestatística*. 3 ed. Rio de Janeiro, Campus, Ltda.
- WALLACE, B. & MADDEN, C. (1953). The frequencies of sub and supervitals in experimental populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **63**: 456-470.
- WATKINSON, I.A. (1989). Pyrethroids and the economics of pest management. *Pesticide Science*, **27**(4): 465-469.
- WEBB, D.P., WILDEY, K.B. & CHAPMAN, P.A. (1989). A comparison of Permethrin and Methomyl insecticides for the control of a multiresistant strain of houseflies (*Musca domestica*). *Pesticide Science*, **27**(1): 13-22.



WOODRUFF, R.C., PHILLIPS, J.P. & IRWIN, D. (1983). Pesticide-induced complete and partial chromosome loss in screens with repair-defective females of *Drosophila melanogaster*. **Environmental Mutagenesis**, 5: 835-846.

WURGLER, F.E. (1977). *Drosophila* as a assay sistem for detecting genetic changes. Handbook of test procedures (Kilbey et alii, Eds.): 335-373.

WURGLER, F.E. (1980). Mutagenicity testing with *Drosophila*. **Archives of Toxicology**, 46: 77-87.

YASUTOMI, K. & TAKAHASHI, M. (1987). Insecticidal resistance of *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera, Culicidae) in Japan: a country-wide survey of resistance to insecticides. **Journal of Medical Entomology**, 24(6): 604-608.

ZAR, J.H. (1974). **Bioestatistical Analysis**. Prentice Hall, Inc., New Jersey.



VIII. APÊNDICE

- 1 . Valores de **d** de Dunnett para as comparações múltiplas entre as médias dos componentes da atividade sexual com os controles **Cs** e **Ca**.
- 2 . Valores de **d** de Dunnett para as médias percentuais no número de moscas na geração **F2**, segundo comparações entre os tratamentos e os controles, conforme o genótipo.
- 3 . Valores de **d** de Dunnett para as médias percentuais no número de moscas na geração **F3**, segundo comparações entre os tratamentos e os controles, conforme o genótipo.
- 4 . Valores de **d** de Dunnett para as médias do número de moscas na geração **F2**, segundo comparações entre os tratamentos e os controles, conforme o genótipo.
- 5 . Valores de **d** de Dunnett para as médias do número de moscas na geração **F3**, segundo comparações entre os tratamentos e os controles, conforme o genótipo.
- 6 . Total por genótipo das moscas analisadas na geração **F3** para **T15**, bem como os valores correspondentes para a razão de sexo e frequência de classe selvagem.
- 7 . Total por genótipo das moscas analisadas na geração **F3** para **T18**, bem como os valores correspondentes para a razão de sexo e frequência de classe selvagem.
- 8 . Total por genótipo das moscas analisadas na geração **F3** para **T20**, bem como os valores correspondentes para a razão de sexo e frequência de classe selvagem.
- 9 . Total por genótipo das moscas analisadas na geração **F3** para **Ca**, bem como os valores correspondentes para a razão de sexo e frequência de classe selvagem.
- 10 . Total por genótipo das moscas analisadas na geração **F3** para **Cs**, bem como os valores correspondentes para a razão de sexo e frequência de classe selvagem.
- 11 . Total por genótipo das moscas analisadas na geração **F2** para **T15**.
- 12 . Total por genótipo das moscas analisadas na geração **F2** para **T18**.



- 13 . Total por genótipo das moscas analisadas na geração F2 para T20.
- 14 . Total por genótipo das moscas analisadas na geração F2 para Ca.
- 15 . Total por genótipo das moscas analisadas na geração F2 para Cs.
- 16 . Valores de **d** de Dunnett para as comparações múltiplas entre as médias de tempo de desenvolvimento para F2, com os controles Cs e Ca.
- 17 . Valores de **d** de Dunnett para as comparações múltiplas entre as médias de tempo de desenvolvimento para F3, com os controles Cs e Ca.



Apêndice 1

	T15		T18		T20		Ca
	s	a	s	a	s	a	s
TPC	6,09	5,49	6,37	5,69	6,59	5,85	5,96
TCA	3,12	3,19	3,05	3,12	2,90	2,95	3,18

Apêndice 2

	T15		T18		T20		Ca
	s	a	s	a	s	a	s
XX5	6,80	6,72	6,74	6,67	6,95	6,87	6,75
XY	6,21	6,23	6,30	6,33	6,16	6,19	6,35
X5X5	6,53	6,52	6,53	6,51	6,79	6,77	6,42
X5Y	6,40	6,44	6,29	6,32	6,42	6,46	6,24
F rec	10,56	10,21	10,98	10,58	6,58	6,50	12,10
M rec	10,49	11,38	11,42	12,60	11,06	12,12	13,24

Apêndice 3

	T15		T18		T20		Ca
	s	a	s	a	s	a	s
XX	5,70	5,71	5,65	5,66	5,80	5,80	5,75
XY	5,62	5,64	5,56	5,57	5,74	5,75	5,51
XX5	6,02	6,02	6,14	6,14	6,05	6,05	6,17
X5Y	5,52	5,47	5,55	5,50	5,29	5,25	5,42

Apêndice 4

	T15		T18		T20		Ca
	s	a	s	a	s	a	s
XX5	4,86	5,10	4,16	4,31	5,06	5,33	4,82
XY	4,49	4,78	3,91	4,10	4,56	4,87	4,53
X5X5	4,74	5,00	4,06	4,22	4,98	5,28	4,63
X5Y	4,63	4,90	3,92	4,08	4,73	5,02	4,50
F rec	7,57	7,54	6,61	6,59	5,59	5,58	8,63
M rec	7,43	8,42	6,93	7,71	3,37	3,44	9,31

Apêndice 5

	T15		T18		T20		Ca
	s	a	s	a	s	a	s
XX	4,40	4,45	4,25	4,29	4,62	4,68	4,14
XY	4,33	4,39	4,11		4,53	4,16	3,97
XX5	4,68	4,73	4,52	4,56	4,85	4,91	4,41
X5Y	4,26	4,25	4,11	4,10	4,40	4,39	3,90

Apêndice 6

n	XX	XY	XXS	XSY	Fr	Mr	Total	RS	FCS
1	44	51	52	32	0	0	179	86,28	53,07
2	41	37	36	33	0	1	148	110,81	52,70
3	24	24	23	15	2	0	88	100,00	54,54
4	6	9	9	7	0	1	32	66,67	46,88
5	39	51	44	23	0	1	158	76,47	56,96
6	34	33	40	21	0	2	130	103,03	51,54
7	25	35	29	22	0	0	111	71,43	54,05
8	48	39	30	33	0	3	153	123,08	56,86
9	34	40	51	24	0	5	154	85,00	48,05
10	4	3	8	4	0	0	19	133,34	36,84
11	28	26	37	35	0	2	128	107,69	42,19
12	50	53	41	31	0	3	178	94,34	57,86
13	34	38	51	45	0	2	170	89,47	42,35
14	51	28	48	41	0	0	168	182,14	47,02
15	58	22	68	55	0	2	205	263,64	39,02
16	41	36	34	24	0	1	136	113,89	56,62
17	29	28	27	19	0	2	115	139,29	58,26
18	46	57	35	38	0	2	178	80,70	57,86
19	54	50	48	46	0	2	200	108,00	52,00
20	46	46	43	28	0	4	167	100,00	55,09
21	53	45	35	28	0	1	162	117,78	60,49
22	14	14	15	11	0	1	55	100,00	50,91

Apêndice 7

n	XX	XY	XX5	X5Y	Fr	Mr	Total	RS	FCS
1	45	52	45	42	0	4	188	86,54	51,60
2	57	52	53	51	0	3	216	109,62	50,46
3	54	63	63	37	0	1	218	85,71	53,67
4	47	56	50	53	0	4	210	83,93	49,05
5	30	35	24	14	0	1	104	85,71	62,50
6	35	38	29	25	0	2	129	92,10	56,59
7	50	57	57	51	0	5	220	87,72	48,64
8	25	26	22	23	0	0	96	96,15	53,12
9	43	50	41	45	0	4	183	86,00	50,82
10	44	57	58	47	0	6	212	77,19	47,64
11	35	31	21	22	0	1	110	112,90	60,00
12	56	70	65	41	0	3	235	80,00	53,62
13	31	43	37	32	0	0	143	72,09	51,75
14	61	47	50	40	0	3	201	129,79	53,73
15	20	26	24	15	0	2	87	76,92	52,87
16	28	26	25	18	0	3	100	107,69	54,00
17	57	52	56	40	0	2	207	109,62	52,66
18	40	57	44	38	0	1	180	70,18	53,89
19	27	47	44	31	0	1	150	57,45	49,33
20	61	47	56	45	0	2	211	129,79	51,18
21	11	11	11	10	0	0	43	100,00	51,16
22	53	49	65	35	0	3	205	108,16	49,76
23	67	49	62	35	0	5	218	136,74	53,21
24	48	53	62	40	0	4	207	90,57	48,79
25	61	58	40	38	0	5	202	105,17	58,91
26	59	53	50	30	6	3	201	111,32	55,72
27	53	36	39	36	1	5	170	147,22	52,35
28	40	42	48	32	0	4	166	95,24	49,40
29	45	48	44	53	0	4	194	93,75	47,94
30	64	55	47	44	0	5	215	116,36	55,35
31	46	48	50	39	0	5	188	95,83	50,00
32	56	66	47	47	0	4	220	84,85	55,46
33	42	38	51	39	0	3	173	110,53	46,24
34	2	1	3	3	0	0	9	200,00	33,33
35	36	44	42	17	0	4	143	81,82	55,94
36	48	64	45	41	0	2	200	75,00	56,00
37	42	31	49	39	0	1	162	135,48	45,06
38	58	66	68	39	0	2	233	87,88	53,22
39	56	51	65	41	0	6	219	109,80	48,86
40	36	33	20	27	0	1	117	109,09	58,97
41	32	48	42	24	0	6	152	66,67	52,63
42	24	30	16	16	0	0	86	80,00	62,79
43	50	49	38	35	0	5	177	102,04	55,93
44	24	40	36	24	0	1	125	60,00	51,20
45	57	59	64	1	0	1	182	96,61	63,74
46	50	53	51	47	0	5	206	94,34	50,00
47	46	53	52	37	0	2	190	86,79	52,10
48	41	31	29	34	0	2	137	132,26	52,56
49	46	46	30	42	0	2	166	100,00	55,42
50	35	37	29	31	0	0	132	94,60	54,54
51	1	1	0	0	0	0	1	*	100,00
52	63	60	48	55	0	6	232	105,00	53,02
53	43	44	35	21	0	2	145	97,73	60,00
54	44	42	60	41	0	1	188	104,76	45,74
55	57	45	57	33	0	5	197	126,67	51,78
56	4	4	3	2	0	0	13	100,00	61,54
57	51	55	54	41	0	1	202	92,73	52,48
58	46	49	39	27	0	1	162	93,88	58,64
59	62	58	68	45	0	11	244	106,90	49,18

Apêndice 8

n	XX	XY	XX5	X5Y	Fr	Mr	Total	RS	FCS
1	48	43	44	42	0	2	179	111,63	50,84
2	24	29	19	23	0	1	96	82,76	55,21
3	49	43	50	46	0	4	192	113,95	47,92
4	50	42	42	44	0	4	182	119,05	50,55
5	35	38	33	0	0	4	110	92,10	66,36
6	44	41	34	45	0	3	167	107,32	50,90
7	22	31	31	28	0	3	115	70,97	46,09
8	42	32	41	31	0	3	149	131,25	49,66
9	50	48	43	36	0	0	177	104,17	55,37
10	0	7	72	44	1	25	149	0,00	4,70
11	60	48	51	38	0	0	197	125,00	54,82
12	22	30	23	20	0	0	95	73,33	54,74
13	0	0	0	4	0	0	4	*	0,00
14	30	33	32	17	0	0	112	90,91	56,65
15	44	24	27	13	0	3	111	183,33	61,26
16	34	24	33	11	0	0	102	141,67	56,86
17	21	19	18	21	0	2	81	110,53	49,38
18	31	27	31	25	0	3	117	114,82	49,57
19	42	45	47	41	0	0	175	93,33	49,71
20	11	17	21	11	0	0	60	64,71	46,67
21	12	13	14	9	0	1	49	92,31	51,02
22	7	5	8	6	0	0	26	140,00	46,15
23	13	6	16	9	6	1	45	216,67	42,22

Apêndice 9

n	XX	XY	XX5	X5Y	Fr	Mr	Total	RS	FCS
1	49	48	29	25	0	0	151	102,08	64,24
2	54	54	44	48	0	0	200	100,00	54,00
3	43	49	50	41	0	7	190	87,76	48,42
4	42	54	52	32	0	1	181	77,78	53,04
5	52	51	60	43	0	2	208	101,96	49,52
6	34	31	27	25	1	0	118	109,68	55,08
7	38	53	39	26	0	3	159	71,70	57,23
8	31	34	23	30	0	1	119	91,18	54,62
9	51	62	39	44	6	1	203	82,26	55,66
10	76	77	75	64	0	1	293	98,70	52,22
11	53	49	80	48	0	0	230	108,16	44,35
12	60	40	38	51	0	0	189	150,00	52,91
13	68	73	52	54	0	2	249	93,15	56,63
14	39	45	46	26	0	3	159	86,67	52,83
15	35	50	53	47	0	0	185	70,00	45,94
16	50	48	49	53	0	3	203	104,17	48,28
17	42	61	49	43	0	1	196	68,85	52,55

Apêndice 10

n	XX	XY	XX5	X5Y	Fr	Mr	Total	RS	FCS
1	19	18	15	21	0	1	74	105,56	50,00
2	42	41	51	52	0	1	187	102,44	44,38
3	49	56	42	49	0	1	197	87,50	53,30
4	62	56	71	46	0	2	237	110,71	49,79
5	36	36	23	22	0	2	119	100,00	60,50
6	28	34	42	39	0	1	144	82,35	43,06
7	58	72	79	44	0	4	257	80,56	50,58
8	62	68	72	57	0	0	259	91,18	50,19
9	47	62	36	43	0	6	194	75,81	56,18
10	68	49	54	37	0	3	211	138,78	55,45
11	96	109	70	74	0	2	351	88,07	58,40
12	93	84	98	64	0	4	343	110,71	51,60
13	60	62	57	57	0	4	240	96,77	50,83
14	54	61	39	38	0	4	196	88,52	58,67
15	70	67	49	35	0	5	226	104,48	60,62
16	29	37	28	31	0	4	129	78,38	51,16
17	27	36	20	25	0	2	110	75,00	57,27
18	50	47	47	41	0	1	186	106,38	52,15
19	40	35	36	30	0	6	147	114,29	51,02
20	52	40	47	24	0	3	166	130,00	55,42
21	69	102	86	75	0	3	335	67,65	51,04
22	48	67	58	21	0	0	194	71,64	59,28
23	43	43	45	31	0	4	166	100,00	51,81
24	30	28	22	15	0	0	95	107,14	61,05
25	68	53	60	36	0	3	220	128,30	55,00
26	50	55	61	45	0	1	212	90,91	49,53
27	72	68	63	37	0	5	245	105,88	57,14
28	48	57	41	39	0	3	188	84,21	55,85
29	106	91	88	90	0	6	381	116,48	51,71
30	66	68	58	60	0	10	262	97,06	51,14
31	36	68	64	39	0	2	209	52,94	49,76
32	52	55	58	37	0	2	204	94,54	52,45
33	26	38	34	44	0	2	144	68,42	44,44
34	44	39	34	27	0	0	144	112,82	57,64
35	70	96	95	64	0	1	326	72,92	50,92
36	45	52	53	53	0	2	205	86,54	47,32
37	50	62	37	34	0	1	184	80,64	60,87
38	62	69	55	44	0	6	236	89,86	55,51
39	54	61	60	43	0	3	221	88,52	52,04
40	37	41	42	32	0	0	152	90,24	51,32
41	26	30	27	27	0	0	110	86,67	50,91
42	36	33	23	26	0	3	121	109,09	57,02
43	36	37	22	23	0	6	124	97,30	58,87
44	36	44	30	36	0	4	150	81,82	53,33
45	40	46	36	33	0	6	161	86,96	53,42
46	51	54	39	42	0	4	190	94,44	55,26
47	40	39	28	26	0	0	133	102,56	59,40
48	35	56	47	41	0	2	181	62,50	50,28
49	75	87	77	58	0	1	298	86,21	54,36
50	42	36	57	35	0	1	171	116,67	45,61
51	33	45	43	34	0	3	158	73,33	49,37
52	48	47	45	47	0	5	192	102,13	49,48
53	58	48	53	38	0	4	201	120,83	52,74
54	37	41	37	40	0	3	158	90,24	49,37
55	56	76	60	63	0	7	262	73,68	50,38
56	36	47	45	27	0	1	156	76,60	53,20

Apêndice 11

n	XX5	XY	X5X5	X5Y	Fr	Mr	Total
1	42	30	40	38	2	6	158
2	58	59	34	55	5	3	214
3	42	45	28	25	4	2	146
4	23	24	28	17	3	2	97
5	46	44	38	38	3	4	173
6	38	56	26	28	1	2	151
7	33	37	36	40	3	3	152
8	38	54	49	38	8	4	191
9	39	46	30	34	2	2	153
10	77	43	56	60	0	1	237
11	44	49	63	38	2	3	199
12	33	28	22	23	1	1	108
13	17	22	16	20	1	2	78
14	2	7	6	4	0	0	19
15	45	63	60	65	6	5	244
16	59	61	56	48	0	5	229
17	57	70	63	50	1	1	242
18	51	59	53	47	3	2	215
19	65	46	32	49	7	7	206
20	66	56	50	48	6	6	232
21	61	49	49	41	2	4	206
22	44	53	41	54	0	2	194
23	54	45	31	45	4	1	180
24	41	40	31	15	1	0	128
25	58	56	9	6	42	53	224
26	37	37	24	24	7	10	139
27	52	47	35	42	4	3	183
28	32	45	27	28	2	1	135
29	42	53	48	38	1	0	182
30	68	63	50	50	10	10	251

Apêndice 12

n	XX5	XY	X5X5	X5Y	Fr	Mr	Total
1	79	79	57	66	4	1	286
2	85	83	72	77	6	11	334
3	92	108	93	111	7	4	415
4	89	78	85	85	5	5	347
5	57	54	29	46	3	5	194
6	52	46	49	45	4	3	199
7	77	66	73	75	3	3	297
8	8	11	4	4	0	0	27
9	51	51	49	44	2	2	199
10	123	111	94	94	6	5	433
11	60	60	48	46	1	2	218
12	99	114	92	103	9	2	429
13	92	67	87	70	6	0	322
14	117	95	81	84	8	7	392
15	68	51	32	36	6	7	200
16	93	68	63	62	9	10	305
17	148	129	97	115	9	6	504
18	119	111	105	114	5	7	461
19	105	93	93	99	3	7	400
20	90	96	99	90	5	4	384
21	97	91	81	96	15	23	403
22	94	96	77	81	4	2	354
23	100	92	111	90	9	5	407
24	84	75	55	62	6	8	290
25	74	102	67	68	8	3	322
26	58	81	56	68	21	7	291
27	95	84	64	69	16	10	338
28	69	70	70	70	12	17	308
29	76	57	62	60	5	7	267
30	93	112	86	89	11	17	408
31	63	52	52	54	2	6	229
32	93	91	77	98	5	4	368
33	14	14	9	14	0	0	51
34	56	41	48	40	6	2	193
35	73	78	70	73	9	2	305
36	71	78	44	55	6	5	259
37	70	56	67	56	4	5	258
38	92	95	89	82	9	5	372
39	77	60	85	79	5	0	306
40	100	79	72	73	4	3	331
41	105	102	99	97	7	5	415
42	67	67	55	83	4	7	283
43	44	51	49	42	9	1	196
44	83	75	81	84	8	13	344
45	104	100	100	88	7	8	407
46	94	104	73	72	3	4	350
47	113	95	85	90	9	9	401
48	72	59	51	53	9	11	255
49	67	79	94	69	18	10	337
50	43	54	39	34	2	3	175
51	56	62	43	59	4	3	227
52	99	65	77	82	8	6	337
53	57	53	52	45	5	8	220
54	101	83	76	72	2	6	340
55	58	65	52	47	4	5	231
56	85	88	69	56	3	3	304
57	60	62	44	52	2	3	223
58	52	68	45	60	3	1	229
59	95	90	65	72	9	9	340

Apêndice 13

n	XX5	XY	X5X5	X5Y	Fr	Mr	Total
1	58	78	41	56	4	5	242
2	47	37	30	33	0	0	147
3	51	40	43	44	3	5	186
4	60	54	42	51	2	2	211
5	33	22	26	26	2	2	111
6	37	32	30	32	8	4	143
7	53	51	39	42	5	2	192
8	55	41	53	45	3	0	197
9	11	28	5	14	25	1	84
10	30	46	29	36	4	2	147
11	31	33	23	35	12	1	135
12	0	29	1	30	64	2	126
13	17	24	17	22	17	2	99
14	6	41	3	33	77	4	164
15	23	33	17	11	9	4	97
16	13	34	17	13	0	2	79
17	46	68	37	30	2	6	189
18	60	55	38	43	1	5	202
19	21	18	10	9	9	8	75
20	44	53	35	47	2	4	185
21	48	46	50	41	2	2	189
22	45	45	35	33	1	3	162
23	43	38	31	43	6	4	165
24	29	41	26	30	7	2	135
25	71	57	48	34	4	3	217
26	9	16	12	6	3	0	46
27	48	74	34	39	4	6	205
28	30	26	25	24	1	2	108

Apêndice 14

=====							
n	XX5	XY	X5X5	X5Y	Fr	Mr	Total
=====							
1	54	37	51	33	2	1	178
2	41	44	26	41	0	0	152
3	53	60	34	43	6	4	200
4	43	57	46	38	3	3	190
5	47	45	28	38	6	1	165
6	47	31	35	40	1	1	155
7	48	38	43	38	3	3	173
8	48	55	51	52	2	1	209
9	45	51	40	31	6	2	175
10	45	48	53	40	2	3	191
11	45	48	49	52	4	0	198
12	36	35	34	28	0	2	135
13	43	38	42	47	4	4	178
14	60	44	44	66	3	1	218
15	21	27	35	43	1	1	128
16	40	37	43	25	0	1	146
17	58	34	38	33	2	1	166
=====							

Apêndice 15

n	XX5	XY	X5X5	X5Y	Fr	Mr	Total
1	47	57	44	55	9	8	220
2	51	51	51	51	0	5	209
3	49	59	36	45	3	0	192
4	62	61	62	67	3	4	259
5	37	45	36	37	4	1	160
6	51	34	33	36	3	5	162
7	29	48	35	29	3	2	146
8	52	60	39	41	4	5	201
9	42	36	45	38	1	4	166
10	70	64	49	61	3	2	249
11	0	0	1	1	0	0	2
12	44	52	39	50	2	2	189
13	49	48	37	46	6	3	189
14	55	50	55	52	2	7	221
15	58	58	64	50	3	2	235
16	48	45	45	54	2	4	198
17	49	55	39	50	3	4	200
18	38	34	33	33	1	3	142
19	36	41	32	28	3	2	142
20	78	80	61	60	2	1	282
21	29	34	29	32	3	2	129
22	53	67	63	60	6	2	251
23	67	61	52	53	1	4	238
24	62	71	51	44	1	8	237
25	50	56	42	43	4	5	200
26	51	45	29	47	3	3	178
27	57	52	56	34	2	5	206
28	65	68	59	63	6	7	268
29	49	53	57	55	3	6	223
30	70	84	83	72	5	2	316
31	48	44	28	48	3	2	173
32	72	65	67	58	2	3	267
33	57	70	65	51	4	6	253
34	49	52	64	67	1	6	239
35	74	70	42	59	4	4	253
36	74	45	55	54	0	3	231
37	78	65	44	63	3	2	255
38	84	69	67	81	1	2	304
39	70	66	55	54	1	2	248
40	58	71	75	67	4	2	277
41	54	55	54	54	0	3	220
42	43	60	42	48	2	7	202
43	72	73	61	69	5	7	287
44	41	43	38	42	1	2	167
45	51	76	70	61	4	8	270
46	39	37	34	34	1	0	145
47	76	69	58	41	1	4	249
48	38	23	24	37	1	0	123
49	72	50	52	51	0	0	225
50	46	55	59	58	3	3	224
51	76	63	78	65	4	7	293
52	66	62	56	47	1	4	236
53	70	57	51	47	5	12	242
54	45	49	43	47	2	2	188
55	63	73	64	69	2	1	272
56	53	45	70	49	4	1	222
57	62	61	48	51	1	1	224
58	59	49	42	44	1	1	196
59	34	41	48	39	1	4	167

Apêndice 16

	T15		T18		T20		Ca
	s	a	s	a	s	a	s
XX5	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
XY	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,26
X5X5	0,32	0,32	0,32	0,32	0,33	0,33	0,33
X5Y	0,31	0,32	0,31	0,32	0,32	0,32	0,32

Apêndice 17

	T15		T18		T20		Ca
	s	a	s	a	s	a	s
XX	0,34	0,33	0,34	0,34	0,34	0,33	0,34
XY	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32
XX5	0,35	0,34	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
X5Y	0,35	0,35	0,36	0,35	0,36	0,35	0,36

IX. AGRADECIMENTOS

Ao término deste trabalho, gostaria de expressar minha gratidão àqueles que tornaram possível a sua realização.

Ao Prof. Dr. Aluísio José Gallo, meu orientador, pelo carinho e dedicação com que vem me acompanhando desde os meus primeiros passos na formação científica.

Ao Prof. Dr. Celso Abbade Mourão, pela amizade, participação e incentivo constantes em todas as etapas deste trabalho.

A Profa. Dra. Cláudia Márcia Aparecida Carareto, cuja amizade, incentivo e disponibilidade, inclusive na revisão do texto e análise estatística dos dados, contribuíram inestimavelmente para esta realização.

A Companhia de Ceras Johnson S/A, por gentilmente ter cedido o composto utilizado nos experimentos.

Ao Prof. Dr. Jehud Bortolozzi, pela amabilidade e atenção no exame da pró-forma.

Ao Prof. Dr. James Robert Coleman, pela revisão do Abstract.

Aos docentes do Departamento de Biologia, em especial aos Professores Doutores Wladimir João Tadei, Marileila Varella Garcia, Hermione E. M. de Campos Bicudo, Adelina Buzzini da Costa e Silva, Maria Tercília de Azeredo Oliveira, Maria Astride Saad Corradi, Eloiza Helena Tajara da Silva e Grigor Vartaniam, por terem me propiciado oportunidade de crescimento profissional e pessoal durante o nosso convívio e aos professores Dr. Carlos Roberto Ceron, Dr. Valdir Antonio Taddei

e Cristina Carneiro Rodrigues, pela dedicação e amizade.

A Profa. Dra. Maria Lúcia Ribeiro, Chefe do Departamento de Química Orgânica do Instituto de Química da UNESP - Araraquara, pela atenção e interesse com que me recebeu durante minha estada naquela Instituição.

Aos funcionários do Departamento de Biologia, Paulo Antonio Maziero e Sebastião Dias Barbosa pelo zelo na confecção do meio de cultura e a Laura Nascimento A. Pinheiro, pela disponibilidade e carinho com que me auxiliou durante a realização dos experimentos. A Josué Rodrigues dos Santos, Simone Carvalho Fernandes e Yone Sass Dias, pela amizade.

As funcionárias da Biblioteca, Olinda Vacari Luchesi, Maria Helena Lima e Maria do Carmo Junqueira pela dedicação e presteza na obtenção de referências bibliográficas.

Aos funcionários do Laboratório de Computação, Romildo O. Rodrigues, Getúlio A. Salinas e Guilherme Dworak, pela dedicação e o convívio agradável.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, em especial a Nanci Queiroz e Onilda N. de Oliveira Akasaki.

A Direção do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto - UNESP, na pessoa do Prof. Dr. Paulo César Naoum, pela disponibilidade e empenho em proporcionar as condições de trabalho para que este trabalho pudesse se concretizar.

A CAPES - Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior, pelo apoio financeiro, através da Bolsa de Demanda Social.



Aos amigos do Curso de Pós-Graduação, pela oportunidade e alegria da convivência, além do constante incentivo durante todas as etapas, em especial aos amigos Fádua Rosana C. Rits, Nilce Barril Gama, Ana Silvia Lapenta, Rosângela de Oliveira, Dinocésar Caris Rigue, Silma Regina Pereira Martins, Ana Maria Alves de Oliveira e Mary Massumi Itoyama.

Ao amigo Marcelo Ferreira Lourenço, pelo carinho e disponibilidade constantes.

A amiga Maria de Lurdes Coelho Monteiro, pelo carinho de irmã que, apesar da distância, a torna tão presente em todos os momentos.

A Eliana do Amaral Gimenez, amiga e companheira de sempre.

A meus pais, Miriam e Teobaldo, e à minha irmã, Simone, pela compreensão, carinho e incentivo constantes, que muito contribuíram para o que sou hoje.

A vida, esse dom maravilhoso e à força interior que me permite continuar sempre, sobre pedras ou nuvens.

Meus sinceros agradecimentos.



