

Sirlei Branco

*Efeitos do Acaricida Dicofol Sobre Alguns Componentes do
Valor Adaptativo de *Drosophila melanogaster**

Dissertação de Mestrado apresentada ao 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).

São José do Rio Preto

1989



Sirlei Branco

EFEITOS DO ACARICIDA DICOFOL SOBRE ALGUNS COMPONENTES DO
VALOR ADAPTATIVO DE *Drosophila melanogaster*

Dissertação de Mestrado apresentada ao 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).



T- 440/90

São José do Rio Preto
1989



O presente trabalho foi realizado no Departamento de Biologia
do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas do São
Paulo de São Paulo, da Universidade Estadual Paulista (UNESP),
como requisito de graduação para a obtenção do título de
Bacharel em Biologia (CABP).

Orientador: Prof. Dr. Wladimir João Tadei



O presente trabalho foi realizado no Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), com o auxílio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).



à memória de meu pai
à Celina, minha mãe e amiga



ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO.....	1
II. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
II.1. Espécie e meio de cultura.....	19
II.2. Caracterização do composto.....	19
II.3. Obtenção da F_1	20
II.4. Parâmetros analisados.....	23
II.4.1. Fecundidade.....	23
II.4.2. Tempo de Desenvolvimento.....	24
II.4.3. Viabilidade larva-imago.....	24
II.4.4. Fertilidade.....	25
II.4.5. Longevidade.....	25
II.5. Determinação de resíduos.....	26
III. RESULTADOS.....	29
III.1. Fecundidade.....	30
III.2. Tempo de Desenvolvimento.....	35
III.3. Viabilidade larva-imago.....	53
III.4. Fertilidade.....	69
III.5. Longevidade.....	77
III.5. Determinação de Resíduos.....	86
IV. DISCUSSÃO.....	90
V. CONCLUSÕES.....	100
VI. RESUMO.....	102
VII. SUMMARY.....	104
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	106
IX. AGRADECIMENTOS.....	118

I. INTRODUÇÃO

A modernização na prática da agricultura intensiva tem sido acompanhada por mudanças, destacando-se dentre estas a aplicação de insumos modernos tais como os fertilizantes inorgânicos, a irrigação, a mecanização e ainda os destinados ao combate de pragas. Com relação a este último, os chamados defensivos agrícolas, agrotóxicos ou mesmo pesticidas, embora com resultados satisfatórios sob o ponto de vista agrícola, podem contribuir para o desequilíbrio ambiental causando sérios prejuízos à espécie humana. Quimicamente, segundo Jamet e Leroux (1983), os pesticidas podem ser classificados em organofosforados, carbamatos e organoclorados. Os organofosforados e carbamatos, também conhecidos como inibidores da acetilcolinesterase (AChE), são absorvidos por vias dérmica, respiratória e digestiva. No organismo, uma vez inibida a ação da AChE, ocorrerá o acúmulo de acetilcolina nas sinapses dos neurônios, assim, o estímulo não sendo interrompido, haverá uma hiperestimulação muscular ficando prejudicadas as funções de respiração e batimento cardíaco.

Finkelstein e cols. (1988), através de análise histoquímica quantitativa, verificaram que a inibição de AChE pelo organofosforado Paration em cérebros humanos é regionalmente seletiva. Comparando os cérebros de duas vítimas de intoxicação letal com cérebros controles correspondentes por idade e sexo, observaram as maiores reduções ocorrendo na região do cerebelo e as menores na do gânglio basal.

Segundo Sterling (1983), o envenenamento por carbamatos é bem similar àquele produzido por organofosforados, porém com ação menos duradoura e é também muito maior a razão entre a dose letal e a que produz sinais iniciais de toxicidade. Além destes três grupos

de compostos, Zambrone (1986) considera as piretrinas e os piretróides. As piretrinas são ésteres extraídos de flores do gênero *Chrysanthemum* enquanto que os piretróides são piretrinas sintéticas.

Vários estudos têm sido desenvolvidos no sentido de verificar resíduos e os efeitos de compostos químicos sobre os mais variados organismos. Alam e cols. (1974), estudando células de hamsters chineses submetidos à ação do organofosforado Gution, encontraram aumento significativo de quebras cromossômicas, associado ao aumento das concentrações. Os efeitos do Metamidofós, ainda do mesmo grupo, foram estudados por Amer e Farah (1987) em raízes de *Vicia faba*. Verificaram que o composto induziu porcentagem significativa de células com aberrações cromossômicas tanto em plantas jovens como naquelas já no estágio de florescência. Pednekar e cols. (1987), trabalhando com os inseticidas Malation e Fosadona, ambos organofosforados, e com o piretróide Permetrina, não detectaram atividade mutagênica. Utilizando as linhagens TA97, TA98 e TA100 de *Salmonella thyphimurium*, avaliaram através do teste de Ames, com e sem ativação metabólica, e sugeriram que os metabólitos produzidos pela microflora intestinal podem não ser genotóxicos.

Experimentos envolvendo seleção de organismos resistentes ao Malation têm sido bastante desenvolvidos e, segundo Raftos (1986) isto não se deve apenas ao uso intenso nas últimas décadas mas também à rara estrutura que ele apresenta. Em seu estudo sobre as bases bioquímicas da resistência a este pesticida em duas linhagens de *Lucila cuprina*, uma sensível e outra selecionada, verificou nesta última um aumento na capacidade de degradação do composto tanto "in vivo" com "in vitro". Não foram evidenciados mecanismos tais



como redução no nível de penetração do inseticida, sobre o efeito na AChE ou mesmo aumento de excreção e armazenamento. Plutero e cols. (1982) selecionando três linhagens de *Drosophila melanogaster* utilizando diferentes concentrações de Malation, observaram que a resistência fisiológica e comportamental diante do inseticida tem origens genéticas diferentes.

Flickinger e col. (1984) detectaram resíduos de Monocrotofós e Dicrotofós em pássaros mortos no distrito de Matagorda, Texas, como consequência de abusos de organofosforados. Relatam ainda que, entre 1980 e 1982, ocorreram quatro incidentes envolvendo mortalidade de pássaros e outros animais selvagens em Panhandle, também em consequência do uso de Monocrotofós. Os dois compostos, de acordo com os autores, devido à sua alta toxicidade, não tinham o uso permitido em culturas de arroz, mas os agricultores tratavam as sementes e as deixavam próximas ao campo plantado como iscas para atrair e matar os pássaros. Cid e Matos (1987) estudaram os efeitos de cinco concentrações (40, 75, 150, 250 e 350 mg/ml de meio de cultura) de Aldicarb, um carbamato também conhecido como Temik, em culturas de linfócitos do sangue periférico humano. Foi verificado que apenas a concentração mais elevada induziu aumento na frequência de células anômalas. Embora doses altas deste composto talvez não sejam utilizadas, os autores chamam a atenção para a possibilidade de interações entre pesticidas aos quais os indivíduos geralmente estão expostos. Efeitos mutagênicos do piretróide Cipermetrim foram analisados por Batista-Alentorn e cols. (1986) em *D.melanogaster* verificando aumento significativo na frequência de mutações gênicas sendo, porém, ineficientes em testes para avaliação de danos cromossômicos.

Recentemente as atenções têm se concentrado sobre os organoclorados, que estão proibidos no Brasil desde setembro de 1985



(portaria nº 329 do Ministério da Agricultura) sendo que, dois meses depois, foi autorizado o uso de produtos que continham como princípio ativo o Endosulfan para culturas de café, cacau, algodão e soja e o Dicofol para as de algodão e citrus. O uso indiscriminado tem produzido um acúmulo destes compostos em muitos ecossistemas contaminando tanto organismos aquáticos como terrestres. Persistindo por longo tempo no ambiente, são absorvidos por vias oral, respiratória e dérmica e, embora bastante estudados, os mecanismos de ação ainda não estão bem esclarecidos. Sabe-se contudo, que, devido à diversidade de estruturas químicas que apresentam, seus mecanismos de ação deverão ser diferentes principalmente no que se refere à interação dos mesmos aos receptores. São substâncias que, segundo Larine (1979) e Zambrone (1986), agem tanto sobre o sistema nervoso central como periférico e sendo de pronunciada lipossolubilidade, seus produtos de degradação armazenam-se preferencialmente no tecido adiposo animal, inclusive no humano.

Karakaya e Özalp (1987) encontraram resíduos de pesticidas organoclorados em amostras de tecido adiposo de pacientes habitantes de Ankara (Turquia) e verificaram que a concentração dos compostos era maior em indivíduos idosos, sugerindo um efeito cumulativo em virtude de exposição prolongada. Resíduos de organoclorados também foram detectados por Barbera e cols. (1986) em águas naturais e peixes mortos junto à costa do Mediterrâneo na região de Castelón, Espanha. A área contaminada, principalmente pelos acaricidas Dicofol, Fenson e Tetradifon, era de uma região agrícola que, segundo os autores, tinha sido alvo de um ataque de ácaros vermelhos. Lyman e Anderson (1979) encontraram resíduos de Dicofol em amostras de solo de dezessete entre vinte e uma regiões dos Estados Unidos, onde o composto tinha sido utilizado várias vezes como acaricida durante cinco anos.



Verificaram que os resíduos tendem a permanecer próximo a superfície e que devem existir mecanismos que, embora desconhecidos, os dissipem.

No Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo, são realizados muitos trabalhos com o objetivo de detectar resíduos de pesticidas. Tanto carne, leite de vaca e seus derivados, bem como leite materno, têm mostrado contaminação acima dos limites tidos como de tolerância. Segundo Kucinski (1986), neste mesmo Instituto foram repetidas em 1979, medidas realizadas em leite oito anos antes e os pesquisadores verificaram queda acentuada da contaminação por BHC (hexaclorociclohexano), contudo, a detecção de DDT (diclorodifeniltricloroetano) na nova análise, indica apenas mudança de pesticida. Lara e Barreto (1972), analisaram 59 amostras de água coletadas no município de São Paulo e regiões próximas. Estas amostras, água de poço, de nascentes, poços semi-artesianos, de superfície tais como rios, lagos e represas e ainda da rede de abastecimento, mostraram-se todas contaminadas por BHC, três apresentaram DDT e apenas uma apresentou Aldrin, porém em níveis baixos.

Resíduos de pesticidas organoclorados também foram detectados por Cáceres e cols. (1987) analisando amostras de 30 reservatórios das sete bacias hidrográficas do Estado de São Paulo. Em todas foram detectados BHC e DDT. Outros compostos deste mesmo grupo também foram encontrados (Heptacloro, Aldrin, Dieldrin, Endrin e Clordane), porém em concentrações menores. Os autores compararam os dados obtidos com os de outras regiões brasileiras e verificaram que o conteúdo de resíduos encontrados era muito menor que os demais, contudo na maioria das amostras, os limites ainda eram superiores aos estabelecidos pela EPA ("Environmental Protection Agency") para a proteção da vida aquática. Celeste e Cáceres (1988), verificaram que também sedimentos de represas e rios são passíveis de contami



nação por pesticidas e que a quantidade e diversidade de compostos químicos encontrados são de modo geral, mais elevadas nas represas em relação aos rios tributários.

Velázquez e cols. (1984) estudaram os efeitos do inseticida Endosulfan em *D. melanogaster* utilizando três concentrações, 50, 100 e 200 ppm. O Endosulfan segundo os autores, é um composto cuja permanência no ambiente é mais curta do que a dos demais organoclorados além de que, tem toxicidade mais baixa. Os testes para a avaliação de mutagenicidade foram desenvolvidos utilizando machos tratados desde a fase larvária até a de imago e outros tratados apenas quando adultos. As diferenças encontradas em relação ao controle, foram significativas nos testes para indução de letais recessivos ligados ao sexo ("SLRL") e perda do cromossomo sexual ("SCL").

Rabello e cols. (1975) estudando indivíduos ocupacionalmente expostos ao DDT, encontraram correlação positiva entre os níveis do composto e o tempo de exposição, mas o contato direto ou indireto com o inseticida nem sempre estava correlacionado com o grau de contaminação. Lara e cols. (1981) analisando sangue de aplicadores de Aldrin, encontraram resíduos de Dieldrin em lavradores da região de São José do Rio Preto, SP. De acordo com os autores, a epoxidação do Aldrin no fígado ocorre rapidamente, assim, apenas o Dieldrin foi detectado. A ação do Dieldrin foi estudada por Majumdar e cols. (1976) em células de medula óssea de camundongos e células embrionárias de pulmão humano WI-38. Em ambos os casos, encontraram diferenças significativas em relação ao controle no que diz respeito à porcentagem de metáfases com um e mais de um tipo de aberração cromossômica. Em relação aos efeitos citotóxicos, culturas de fibroblastos WI-38 mostraram células com o crescimento inibido e variados graus de degeneração tal como presença de células esféricas e grande quantidade de grânulos citoplasmáticos. As concentrações uti-



lizadas, 1, 10, 30 e 50 $\mu\text{g/ml}$ foram todas tóxicas, aumentando a toxicidade de acordo com a concentração e tempo de exposição. O BHC é também um organoclorado cujos efeitos e detecção de resíduos têm sido bastante estudados (e.g. Uhnák e cols., 1986; To-Figueiras e cols., Leoni e cols., 1986; Brusick, 1986; Kose e cols., 1986; Jain e Sarbhoy 1987a,b).

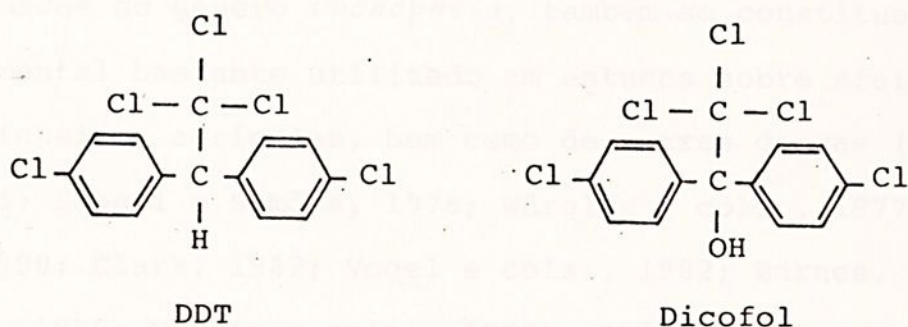
Com relação aos solventes utilizados na diluição de compostos químicos, também têm se executados trabalhos na tentativa de avaliar seus efeitos sobre os organismos. Parasher e cols. (1978) avaliando os efeitos do BHC sobre o crescimento de *Chlorella pyrenoidosa*, testaram também a acetona, solvente utilizado. Verificaram que 0,33% de acetona diminuiu levemente o crescimento da alga, sem alterar, contudo, a ultraestrutura celular. Com 3,33%, ocorreram danos que aos autores pareceu serem devidos à desidratação que concentrações mais elevadas podem causar à célula. Adams e cols. (1986) também observaram os efeitos da acetona, porém, sobre a toxicidade de quatro compostos químicos - DDT, Anilina, Tebutiuron e 2,4-D, utilizando *Selenastrum capricornutum* como organismo-teste. Verificaram, por exemplo, que o Tibutiuron, quando diluído em $100 \mu\text{l}^{-1}$ de acetona, esta não exerce nenhum efeito sobre a ação do composto no sistema-teste. As algas, de acordo com os autores, tiveram crescimento normal tanto nas culturas com acetona como naquelas em que esta não foi administrada.

Os efeitos do xileno foram estudados por Pap e Vargas (1987) em linfócitos de sangue periférico de indivíduos ocupacionalmente expostos. Estudos sobre trocas de cromátides irmãs mostraram resultados que não diferiram estatisticamente do controle. Em ratos, Wimalwattanapun e cols. (1987) verificaram que, em baixas concentrações, o xileno quando inalado não altera o comportamento de auto-estimulação, contudo, utilizando concentrações mais elevadas, encontraram diferenças significativas quanto ao número de respostas. Observaram,



também, desenvolvimento de tolerância após três dias de exposições repetidas ao composto.

O Dicofol [1,1-bis(clorofenil)-2,2,2-tricloretoanol] é um organoclorado de amplo uso na agricultura, como acaricida. Conhecido também como Keltane, DMTC e Mitigan (Index Merck, 1983), foi in introduzido no Brasil em 1955 pela Rohm e Haas Company, de acordo com Mariconi (1985). Segundo Fishbein (1974), é um metabólito do DDT, de peso molecular 370,25, sendo a estrutura de ambos bastante similar como se observa pelas fórmulas abaixo:



A toxicidade do Dicofol foi estudada por Smith e cols. (1959), verificando que a DL_{50} oral para ratos machos foi 809 ± 33 mg/kg e para fêmeas 684 ± 16 mg/kg do produto sem diluição. Não observaram mortalidade em cães quando da administração de 4 g/kg do produto técnico, via trato digestivo. Ratos alimentados com 20, 100, 500, 1250 e 2500 ppm, tiveram o seu desenvolvimento inibido em todas as concentrações acima de 100 ppm. Além de exames histopatológicos, o peso de órgãos foi avaliado e encontraram aumento significativo do fígado, o que segundo os autores, se justifica em parte por ocorrência de congestão. A avaliação do armazenamento no tecido adiposo dos ratos mantidos experimentalmente, mostrou que nos animais alimentados durante oito semanas com 32 ppm (concentração máxima administra

da) o acúmulo atingiu 75 e 200% da concentração da dieta para machos e fêmeas, respectivamente. Contudo, com a suspensão da dieta, após 12 semanas houve um declínio na porcentagem do material armazenado.

Njagi e Gopalan (1980) avaliaram a mutagenicidade de alguns conservantes alimentícios bem como de alguns defensivos agrícolas e entre estes o Dicofol. Utilizando o método padrão de Ames sem ativação metabólica, verificaram que na maioria das linhagens de *Salmonella thyphimurium* utilizadas (TA98, TA100, TA1537 e TA1938), o Dicofol foi um indutor de revertentes.

Moscas do gênero *Drosophila*, também se constituem em material experimental bastante utilizado em estudos sobre efeitos biológicos de defensivos agrícolas, bem como de outras drogas (e.g., Herkovitz, 1955; Sehgal e Simões, 1976; Würgler e cols., 1977; Bryant e Murnik, 1980; Clark, 1982; Vogel e cols., 1982; Barnes, 1983; Vogel e cols., 1985; Massie e cols., 1985). Além disso, nos últimos anos segundo Würgler e Vogel (1989), os novos avanços no campo da genética toxicológica, têm promovido o uso de *Drosophila*, sendo o teste do letal recessivo ligado ao sexo concludente para um grande número de substâncias químicas. Os efeitos de drogas podem ser estudados nas diferentes fases que compõem o ciclo vital destas moscas. A ação diferencial em uma ou mais fases, afetaria o valor adaptativo da espécie em estudo. O valor adaptativo ou aptidão Darwiniana, segundo Dobzhansky (1968), pode ser definido como a contribuição média que um genótipo ou uma classe de genótipos faz ao conjunto gênico da geração seguinte em relação à contribuição dos outros genótipos. Sua medida é relativa e dependente das condições em que é realizada, pois um mesmo genótipo pode ter respostas diferentes em diferentes ambientes. De acordo com Prout (1965), medidas experimen-

tais do valor adaptativo são melhor realizadas fracionando-o em componentes, tais como, fecundidade, tempo de desenvolvimento, viabilidade, fertilidade e longevidade.

Segundo McMillan e cols. (1969), a produção de ovos em *Drosophila melanogaster* é um traço herdado e, ao contrário de algumas características como por exemplo número de cerdas esternopleurais, a produção de ovos não é constante ao longo do tempo, havendo portanto certa reserva quanto à medida da fecundidade e variações nos critérios utilizados por diferentes pesquisadores. Este componente, definido como o número de ovos postos pelas fêmeas em um determinado período, tem sido estudado sob as mais diversas condições ambientais, não só em *Drosophila* como também em muitos outros organismos. Tantawy e Vetukhiv (1960) verificaram em *D. pseudoobscura* que a temperatura tem efeito marcante sobre a fecundidade das fêmeas. O estudo, envolvendo também importância do tamanho do corpo, mostrou que fêmeas maiores tiveram maior produção diária nas duas temperaturas utilizadas. A correlação positiva entre tamanho do corpo e produção de ovos, sugeriu que estes dois caracteres poderiam ser geneticamente controlados.

Efeito da temperatura também foi estudado por Lints e Lints (1971 a,b) verificando que em *D. melanogaster* a postura máxima ocorre a 25°C e que as temperaturas mais elevadas induzem a uma queda gradativa no número de ovos depositados. Ainda em populações de *D. melanogaster*, Mackenzie (1975) verificou que as moscas se adaptavam rapidamente às novas condições de temperatura quando a oviposição ocorria em temperaturas diferentes.

Cohet (1973), trabalhando com heterozigotos F_1 de *D. mela*nogaster selvagem e vestigial desenvolvidos a 13°C e 25°C, verificou que fêmeas desenvolvidas a 25°C quando inseminadas por machos desenvolvidos na



mesma temperatura, atingiam o pico de postura em quatro dias, ocorrendo a seguir redução lenta e progressiva no número de ovos postos. Com fêmeas inseminadas por machos desenvolvidos a 13°C , a postura foi lenta alcançando o pico no 10^o dia, ocorrendo a partir deste, também redução lenta e progressiva. Em se tratando das fêmeas desenvolvidas a 13°C , independente da temperatura de desenvolvimento dos machos, o pico de postura ocorreu no quarto dia, porém a fecundidade foi bastante reduzida.

Allemand (1977), estudando o potencial reprodutivo de dois genótipos selvagens de *D. melanogaster*, sob três regimes de luz (permanente, fotoperiodicidade e obscuridade permanente), observou que ambos reagiam diferentemente às condições impostas. Para um dos genótipos, a maior produção ocorreu na condição de luz permanente enquanto que para o outro, a postura máxima se deu na ausência de luz. Contudo, quanto à fertilidade, medida pela taxa de eclosão, a média de ovos eclodidos foi maior no regime de fotoperiodicidade para ambos os genótipos.

Feromônios parecem também afetar a produção de ovos em *Drosophila melanogaster* e *Drosophila simulans*. Observações a este respeito feitas por Mainardi (1968), mostraram que fêmeas destas espécies depositam ovos preferencialmente em sítios previamente ocupados por machos. Ayala e Ayala (1969) e Bortolozzi (1975), encontraram resultados opostos e atribuem o fato à diferenças quanto ao procedimento experimental.

Efeitos de compostos químicos sobre a fecundidade de *Drosophila*, têm atraído também a atenção de muitos autores. Gayathri e Krishnamurthy (1980) estudaram os efeitos do fungicida mercurial Ceresan sobre a fecundidade de *D. melanogaster*, verificando redução significativa no número de ovos depositados, relacionada à dose utili-



zada. Efeito do herbicida Roundup sobre a fecundidade dos mutantes "yellow", "vestigial" e "taxi" de *D. melanogaster*, foi observado por Bortolozzi e cols. (1985). Todas as linhagens estudadas tiveram sua produção reduzida, sendo a vestigial a mais sensível.

Viabilidade e fertilidade são para Anderson e Watanabe (1974) duas importantes frações do valor adaptativo que atuam em diferentes estágios do ciclo vital. A fertilidade em *Drosophila* bem como em outros organismos, é o componente que inclui todos os outros aspectos do valor adaptativo correlacionados com a reprodução. Segundo os autores, apesar do seu importante papel na seleção, há poucos estudos sobre a fertilidade enquanto a viabilidade tem sido extensivamente estudada, tanto teórica como experimentalmente. Verificaram em populações experimentais, diferenças significativas na fertilidade de *D. pseudoobscura* dos genótipos ST/ST, ST/AR e AR/AR. Em baixas frequências, machos e fêmeas ST/AR e ST/ST mostraram-se mais férteis, em frequência alta AR/AR foi mais vantajoso ficando em vantagem quando em frequência intermediária.

Cesário (1980) verificou que *D. simulans* e *D. nebulosa* tiveram sua viabilidade e fertilidade reduzidas quando submetidas a tratamento com o herbicida Atrazine. Branco e Tadei (1986, 1987) estudaram a ação de dois derivados orgânicos da triamida fosfórica - hexametilfosforamida e o tripiperidino fosfinóxido - e um composto de cloreto de cobalto e tripiperidino fosfinóxido, sobre a fertilidade de *D. melanogaster*. Para o estudo foram montados além do grupo controle, um grupo experimental em que apenas os machos foram tratados, outro com somente fêmeas tratadas e um terceiro com ambos tratados. Em todos os casos a fertilidade foi reduzida pela ação dos compostos, sendo maior a redução no grupo experimental em que ambos os pais receberam tratamento.

A viabilidade medida pelo número de indivíduos adultos partindo-se de um número conhecido de ovos (ovo-adulto) ou de larvas (larva-adulto), também tem sido estudada alterando-se o ambiente do organismo empregado. Beçak e Camargo (1959), tratando larvas com dosagens crescentes de penicilina G potássica e sódica, verificaram sensível diminuição na viabilidade de *D. melanogaster* e *D. willistoni* e sugeriram que tal resultado poderia ser explicado por uma possível inibição do desenvolvimento ou por efeito tóxico na larva. Ayala (1970) correlacionou a viabilidade de *Drosophila* com a quantidade de alimento e espaço. A taxa de emergência depende quase exclusivamente da quantidade de alimento, sendo que a viabilidade pode ser afetada em condições de alta densidade larval. Efeitos da densidade larval sobre este componente, foram verificados por Tadei (1975) em *D. sturtevantii* sendo a produção de imagos negativamente correlacionada com a densidade larval.

Ohnishi (1976a) também verificou efeito da densidade larval sobre a viabilidade de *D. melanogaster* em temperaturas constante e variada. Observou ainda que o tempo de desenvolvimento foi prolongado em virtude do aumento da densidade, sendo maior o efeito na condição de temperatura variada. Segundo Moya e Botella (1985), a mortalidade pupal é a principal responsável pela mortalidade total em populações de *D. melanogaster* quando em condições de apinhamento. Em experimentos realizados a 19° e 25°C, verificaram que a viabilidade é mais afetada na menor temperatura, contudo, nas duas condições estudadas foi observado o mesmo padrão de mortalidade. Botella e cols. (1985) verificaram, também em *D. melanogaster* que tanto a uréia como o ácido úrico provocam redução da viabilidade e aumento do tempo de desenvolvimento, sendo a redução mais drástica quando o meio é condicionado com o primeiro composto.



Segundo Anxolabéhère (1980), há vários trabalhos demonstrando variação dos valores adaptativos em função da frequência genotípica em *D. melanogaster*. O autor estimou o tempo de eclosão de ovos postos por heterozigotos descendentes do cruzamento entre duas linhagens, uma com o duplo mutante *Ta se-pts* (sépia e postura termossensível) e a selvagem *Ta se⁺-pts⁺*, ambas no "background" genético da linhagem selvagem Tautavel (*Ta*). A distância entre os loci *se* e *pts* é, segundo o autor, muito pequena e o mutante *pts* manifesta efeito materno no que se refere à morte do embrião. Comparando o tempo de eclosão da linhagem *Ta se⁺-pts⁺* com heterozigotos descendentes de fêmeas *Ta se⁺-pts⁺*, não encontrou diferenças significativas. Tão pouco foi encontrada diferença no tempo de eclosão da linhagem *Ta se-pts* e heterozigotos de fêmeas com o mesmo genótipo, contudo entre os dois tipos de heterozigotos, as diferenças foram altamente significativas.

Interação entre genótipo e temperatura, também para o componente tempo de desenvolvimento, foi estudada por Fontdevila (1973) em *D. melanogaster*, não encontrando diferenças significativas entre as linhagens isogênicas e mesmo para os híbridos. De acordo com o autor, a origem geográfica comum das linhagens isogênicas pode favorecer um alto grau de coadaptação, o que explicaria seus resultados. Adicionando cafeína ao meio de cultura, Itoyama (1989) observou em *D. prosaltans* diferenças significativas no tempo de desenvolvimento, estando estas relacionadas com a concentração da droga utilizada.

A longevidade é outro componente do valor adaptativo que tem atraído a atenção de pesquisadores, sendo muito importante principalmente em indivíduos de vida curta com o que é o caso da *Drosophila*, que geralmente produz ovos e espermatozóides durante toda sua vida. Segundo Gould e Clark (1977), a duração da vida de *D. melanogaster*,

tem sido mostrada como uma característica herdável, assim, diferenças genéticas podem ser demonstradas, mantendo-se constante as condições ambientais. Irradiando machos, estes autores conseguiram três mutantes que mostraram encurtamento significativo do tempo de sobrevivência em relação aos machos não irradiados. Redução da longevidade também foi observada em fêmeas homozigotas para qualquer uma das mutações, enquanto as heterozigotas sobreviveram pelo mesmo tempo que as mantidas como controle.

Em uma revisão de Lints e Bourgois (1985) sobre envelhecimento e duração da vida em insetos, é abordado o papel dos supergenes e poligenes. Com relação ao primeiro, relatam resultados encontrados por Gould e Clark em 1983 com os mutantes ligados ao sexo AL-2 e AL-4 mostrando redução de cerca de 75% no seu tempo médio de sobrevivência e, após uma análise mais detalhada, os autores concluem que os efeitos dos genes AL-2 e AL-4 sobre a longevidade, poderiam ser devidos a uma lesão sem relação especial com o processo de envelhecimento. Para Lints e Bourgois (op. cit.), mutações desta natureza parecem meros acidentes interferindo no processo normal do envelhecimento. Uma tentativa para selecionar linhagens de *D. melanogaster* com maior longevidade, foi empreendida por Lints e cols. (1979) e seus resultados mostraram que o tempo de sobrevivência, pelo menos neste organismo, não está sob o controle de poligenes com ação aditiva, ou então a ação é muito pequena podendo contudo, ser controlada por poligenes com ação epistática. As diferenças encontradas pelos autores entre as linhagens selecionadas e as mantidas como controle foram muito pequenas. Encontrando variações entre algumas gerações, discutem o fato considerando que, aumento ou diminuição em um ou outro traço fenotípico em uma população de *Drosophila*, não são representativos quando se considera poucos meses de manutenção e que



as oscilações geralmente são atribuídas à mudanças casuais na frequência gênica.

Lamb (1964) verificou o efeito de radiações expondo machos e fêmeas virgens de *D. subobscura* a uma dose única de raios-X. Aumentando a dose, os machos tiveram sua longevidade diminuída enquanto que nas fêmeas o tempo de vida aumentou. Para o autor este aumento está correlacionado com o decréscimo observado na fecundidade após a irradiação. Também foi sugerida uma interação entre nutrição, produção de ovos e longevidade, quando as fêmeas foram mantidas em meio de cultura contendo apenas melaço.

Trout e Kaplan (1970) estudaram a relação entre longevidade, atividade e nível metabólico em mutantes neurológicos ("shaker") de *D. melanogaster*, descendentes de machos normais tratados com etil metanosulfonato. Devido ao fato de mutantes neurológicos reagirem ativamente aos estímulos ambientais e de terem vida curta, despertou, de acordo com os autores, o interesse em verificar se sua intensa atividade estava relacionada com o aumento na taxa metabólica. Constataram que a longevidade média foi inversamente proporcional ao nível metabólico médio, estando este, em relação às moscas normais, relacionado diretamente ao aumento da atividade que foi medida pelo grau de manifestação de vôo (movimento das asas). Segundo os autores, os resultados estão de acordo com a idéia de que uma atividade nervosa anormal e congênita destes mutantes, leva a um aumento na atividade muscular imposta tanto por ação direta como por uma reação ao ambiente.

Alguns autores têm mostrado que o tempo de sobrevivência depende do estado de acasalamento do indivíduo. Bilewicz (1953, in Lamb, 1978) mostrou que fêmeas virgens de *D. melanogaster* viveram aproximadamente o dobro do tempo vivido pelas acasaladas e sugeriu



que tal diferença poderia estar correlacionada com a taxa de produção de ovos. Lamb (1978) salienta que nem todos os dados apoiam a conclusão de que existe uma correlação negativa entre produção de ovos e longevidade.

Lints e cols. (1983) revendo a literatura sobre a longevidade, com o objetivo de verificar se o tempo de vida das fêmeas excede o dos machos, relatam que todas as publicações sobre o tempo de sobrevivência de *D. melanogaster* na "Experimental Gerontology", de 1964 a 1981, ao contrário do que se acreditava, mostram que a média de vida das fêmeas excede a dos machos em apenas aproximadamente 50% dos casos. O estudo mostra que dos 228 casos relacionados, em 128 os machos apresentaram longevidades maiores que as fêmeas. De acordo com os autores, na maioria dos trabalhos, afirma-se que em insetos e em muitos outros animais, o macho tem vida mais curta. O principal argumento baseia-se na diferença do número de cromossomos ou na diferença estrutural dos dois sexos. Ainda segundo os autores, diferentes pesquisadores observaram que em *Lepidoptera*, a fêmea é heterogamética e o macho homogamético, assim, se o argumento fosse válido, era de se esperar que os machos sobrevivessem às fêmeas, todavia, estudos com estes insetos já demonstraram pequena diferença na longevidade de machos em relação às fêmeas, estas com tempo médio maior de sobrevivência.

Parsons (1966) verificou que a longevidade varia entre os genótipos, mas o padrão de variação depende do ambiente. Estudando o efeito de duas temperaturas sobre a longevidade de quatro linhagens endocruzadas de *D. melanogaster* e seus 12 híbridos, verificou que na maioria dos casos o período de vida dos híbridos foi superior ao dos parentais. Burcombe e Hollingsworth (1970) também verificaram o efeito da temperatura sobre a longevidade de híbridos de *D.*

melanogaster mantidos a 25°C e envelhecidos a 15°, 20°, 25°, e 30°C. Em todas as temperaturas as fêmeas viveram mais que os machos e o maior tempo de sobrevivência para ambos foi a 15°C. Para os autores, o primeiro efeito da temperatura é sobre o tempo de desenvolvimento, tendo verificado que em temperaturas baixas o desenvolvimento é mais lento, as moscas são maiores e vivem mais tempo. Lints e Lints (1971a,b) encontraram resultados relacionados ao tamanho do corpo e longevidade que contrariam os de Burcombe e Hollingsworth, estudando o efeito de diferentes temperaturas e densidades larvais. Aumentando a densidade larval, o tempo de desenvolvimento aumentou, o tamanho dos imagos diminuiu e estes tiveram longevidade maior.

As alterações no ambiente de populações, quer de *Drosophila* ou de outros organismos, podem modificar as frequências genotípicas levando-as ao desequilíbrio genético, bem como afetar a densidade populacional. Devido ao amplo emprego do acaricida Dicofol pelos agricultores da região de São José do Rio Preto, SP, e também devido ao fato de serem raras as informações sobre seus efeitos em insetos, decidimos estudar sua ação sobre alguns componentes do valor adaptativo de *Drosophila melanogaster*. Neste sentido, procuramos avaliar o efeito do composto e do solvente (xileno mais emulsificante) sobre a fecundidade, e tempo de desenvolvimento, a viabilidade, a fertilidade e a longevidade, componentes estes muito importantes no controle da densidade populacional.



II. MATERIAL E MÉTODOS

II.1. Espécie e meio de cultura

No presente trabalho foram utilizados espécimes de *Drosophila melanogaster* de um estoque montado em março de 1986 a partir de oito fêmeas coletadas em São José do Rio Preto, SP, e mantido em câmara de temperatura constante ($25,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$).

Utilizou-se meio de cultura à base de banana e ágar preparado com os seguintes ingredientes:

1. água	1.000 ml
2. ágar	12 gramas
3. banana nanica	800 gramas
4. fermento Fleischmann	15 gramas
5. xarope Karo	25 ml
6. ácido propiônico	22 ml
7. solução alcoólica de Nipagin a 7%	2 ml

Para o estudo da fecundidade, visando facilitar a contagem dos ovos, utilizou-se meio de cultura transparente contendo 3 gramas de ágar, 5 gramas de açúcar e 200 ml de água. Os três ingredientes são misturados e levados ao fogo, aí permanecendo até a terceira fervura.

II.2. Caracterização do composto

O Dicofol [1,1-bis(clorofenil)-2,2,2-tricloroetanol] é um óleo viscoso de cor marrom, com 85% de pureza, fundindo-se a $78,5 - 79,5^{\circ}\text{C}$ e solúvel na maioria dos solventes orgânicos. Comercialmente é encontrado como concentrado emulsionável e pó molhável, ambos a 18,5% e, como pó seco, a 5%. Neste trabalho utilizou-se o princípio



ativo e o solvente cedidos pela Fersol Indústria e Comércio Ltda (São Paulo). O solvente, segundo informações obtidas na própria Indústria, consiste em xileno mais emulsificante. As concentrações utilizadas, 20, 40, 60 e 80 mg para cada 100 ml de meio de cultura, foram obtidas a partir de uma solução-mãe, preparada em nosso laboratório com quatro gramas do composto diluído em 20 ml do solvente. A quantidade de solvente foi a mínima possível mas suficiente para evitar precipitação do produto quando diluído em água antes da adição ao meio de cultura. As quatro concentrações utilizadas foram obtidas diluindo a solução-mãe no solvente da seguinte maneira:

- 20 mg - 5 ml da solução-mãe mais 15 ml de solvente
- 40 mg - 10 ml da solução-mãe mais 10 ml de solvente
- 60 mg - 15 ml da solução-mãe mais 5 ml de solvente
- 80 mg - a própria solução-mãe

Para cada 100 ml de meio de cultura diluía-se 0,4 ml da solução na concentração desejada em 3 ml de água, agitava-se e a seguir procedia-se a mistura. A medida 0,4 ml, correspondia a concentração desejada para cada grupo experimental. Assim, se 1 ml da solução-mãe continha 200 mg do Dicofol e querendo-se 80 mg, através de regra de três obtém-se a quantidade de 0,4 ml. O meio contendo o solvente também foi preparado da mesma forma, ou seja, diluindo-se 0,4 ml em 3 ml de água.

II.3. Obtenção da F_1

O estudo consistiu em verificar os efeitos do Dicofol e do solvente sobre moscas desenvolvidas em meio de cultura com ambos os compostos. Montou-se um grupo controle com moscas desenvolvidas em meio de cultura padrão, a que chamaremos grupo C e cinco grupos



de tratamento, sendo um com o solvente - grupo S e os demais com o Dicofol - grupos D_{20} , D_{40} , D_{60} e D_{80} com 20, 40, 60 e 80 mg, respectivamente. Em garrafas de 1/4 de litro, colocou-se cerca de 40 ml de meio de cultura à base de banana e ágar sendo que para os grupos tratados, o meio foi resfriado a 40°, medido em um bēquer e a seguir adicionado o composto já diluído em água. Esta diluição fez-se em um bēquer, colocando-se, com o auxílio de uma pipeta, a água e o composto na quantidade desejada. Isto feito e o meio em condições de receber a solução, esta foi adicionada, aos poucos procedendo-se a mistura. Dois dias após o preparo e antes da introdução das moscas, uma tira de guardanapo de papel absorvente de 4,5 por 17 cm, foi pressionada parcialmente nos bordos do meio de cultura. Este papel, embebido em uma solução alcoólica de Nipagin a 2,0%, seco à temperatura ambiente e esterilizado, além de aumentar a superfície de pouso das moscas, impedia o contato direto das mesmas com o meio.

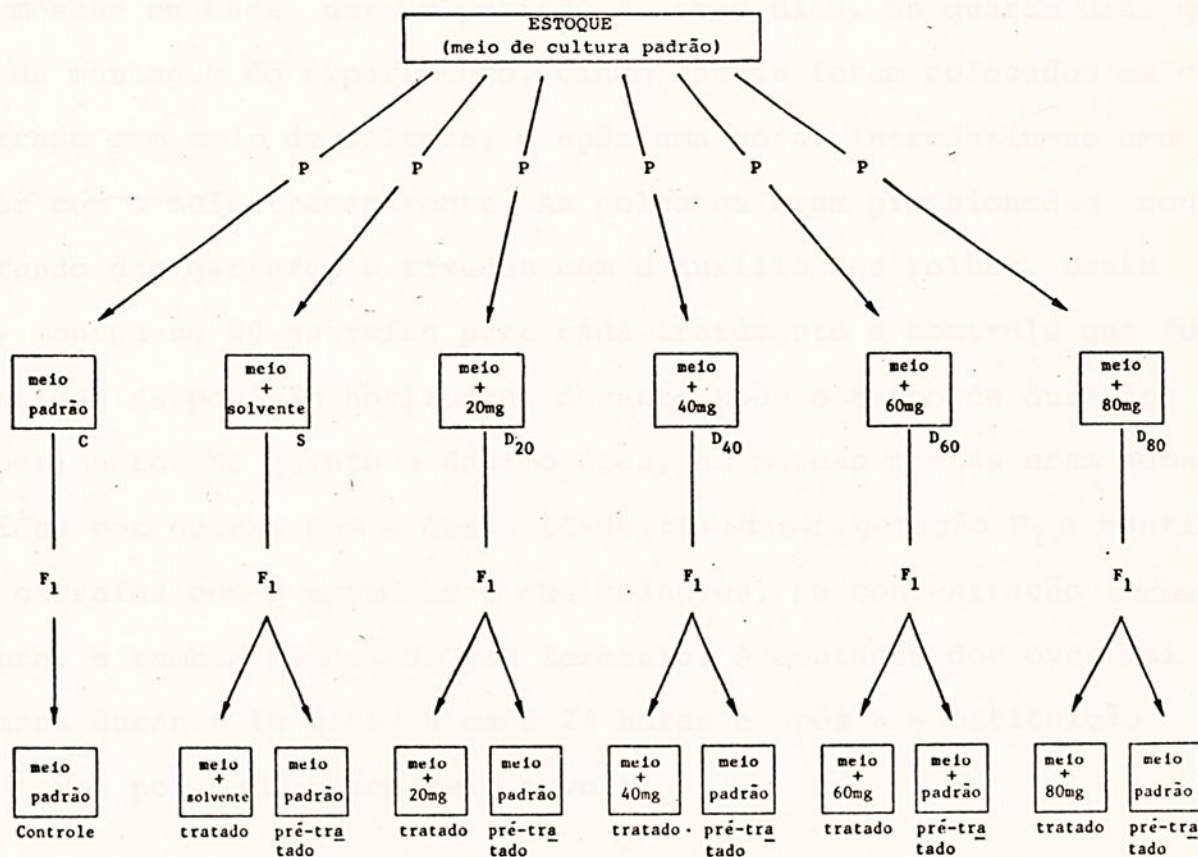
Preparadas as garrafas, procedeu-se a montagem dos cruzamentos utilizando-se moscas virgens com três dias de idade, provenientes do estoque. Eterizou-se as moscas por 60 segundos e agrupados os casais, estes foram colocados em tubos previamente esterilizados e sem meio de cultura, sendo 10 casais em cada. A transferência para as garrafas, fez-se com o auxílio de um funil de plástico com as moscas totalmente acordadas. Decorridos sete dias, descartou-se os casais e os imagos que emergiram até o nono dia a contar do início da emergência, foram utilizados para o estudo (F_1). Em todos os experimentos, com exceção do estudo sobre a longevidade, machos e fêmeas foram separados até três horas após a emergência e mantidos isolados em tubos.

O trabalho consistiu em estudar a geração F_1 que se desenvolveu em meio padrão (controle) e em meio de cultura ao qual se



adicionou 0,4 ml do solvente por 100 ml de meio e o Diçofol nas quatro concentrações acima mencionadas. Para tanto, as moscas F_1 que emergiram eram separadas em dois lotes, sendo um colocado em meio com o composto na mesma concentração que se desenvolveram (grupo tratado) e o outro em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado), conforme esquema abaixo.

A fertilidade, a fecundidade e a viabilidade foram estudadas em garrafas de 1/4 de litro que serão referidas como garrafas. A longevidade e o tempo de desenvolvimento foram estudados em tubos de 10 cm de altura por 2,5 cm de diâmetro. Todos os experimentos foram realizados à temperatura constante de $25,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ e o meio de cultura quer com composto ou não, foi preparado com dois dias de antecedência.



II.4. Parâmetros analisados

II.4.1. Fecundidade

Como referido anteriormente, para facilitar a contagem dos ovos, utilizou-se meio de cultura transparente que foi distribuído em colheres de plástico tipo sobremesa. Enquanto este meio era preparado, o composto já diluído em água permanecia em banho-maria à temperatura de $40,0^{\circ}\text{C}$. Ao meio pronto e resfriado tambaém a $40,0^{\circ}\text{C}$, adicionou-se a solução de Dicofol ou de solvente e rapidamente procedeu-se a distribuição nas colheres. Este meio de pois de totalmente frio, foi pincelado com uma solução de fermento Fleischmann e a seguir sua superfície foi quadriculada com cortes finos para facilitar a contagem dos ovos. Para o estudo, utilizou-se machos e fêmeas virgens tratadas na fase larvária, obtidos como descrito no item II.3, que foram mantidos isolados em tubos sendo cinco moscas em cada, por um período de três dias. No quarto dia, quando da montagem do experimento, cinco casais foram colocados em cada garrafa sem meio de cultura, e após uma hora, introduziu-se uma colher com o meio transparente. As colheres eram pressionadas contra o fundo das garrafas e fixadas com o auxílio das rolhas. Desta forma, montou-se 20 garrafas para cada tratamento e controle que foram mantidas na posição horizontal durante todo o tempo de duração do experimento. No quinto e décimo dias, as moscas mortas eram substituídas por outras com a mesma idade, obtidas da geração F_1 e mantidas em garrafas com o mesmo meio das colheres, na concentração correspondente, e também pincelado com fermento. A contagem dos ovos foi realizada durante 15 dias, a cada 24 horas e após a substituição das colheres por outras com meio novo.



II.4.2. Tempo de desenvolvimento

Para o estudo do tempo de desenvolvimento de descendentes de moscas tratadas na fase larvária, foram montados tubos com 10 casais da geração F_1 que eram observados em intervalos de uma hora, contando-se o número de ovos e selecionando-se 15 tubos, com número de ovos próximo de 10 para o controle e para cada grupo experimental, descartando-se os demais. As observações foram feitas com o auxílio de um microscópio estereoscópico Wild M-3 em laboratório com o ar condicionado previamente ligado para que a temperatura se mantivesse próxima a $25,0^{\circ}\text{C}$, mantendo-se os tubos fora da câmara de temperatura constante o menor tempo possível. Decorridos 16 horas da oviposição, os tubos foram observados de hora em hora registrando-se o número de ovos eclodidos. Após o surgimento da primeira pupa, as observações foram feitas a cada 24 horas, anotando-se o número de pupas bem como o de imagos. Desse modo mediu-se o tempo de desenvolvimento do embrião, da larva e da pupa.

II.4.3. Viabilidade

O estudo da viabilidade compreendeu a transferência de larvas de primeiro estágio para garrafas com cerca de 40 ml de meio de cultura. Para obtenção das larvas, utilizou-se para o controle e para cada grupo de tratamento, uma caixa de população de acrílico transparente, cúbica de 16 cm, na qual colocou-se 150 casais da geração F_1 tratados na fase larvária. Estas caixas de população apresentam uma abertura lateral para ventilação, fechada com gase, e duas aberturas na base com 6 cm de diâmetro. Nas duas aberturas basais adaptam-se placas de plástico tipo Petri com meio de



cultura que é utilizado como alimento pelas moscas bem como substrato para oviposição. No presente estudo, as placas com os ovos eram substituídas a cada quatro horas por outras com meio de cultura novo. Decorridas 16 horas da oviposição, as placas eram observadas e as larvas de 1º estágio obtidas da eclosão dos ovos em períodos de uma hora, eram transferidas com o auxílio de um pincel de cerdas finas umedecidas em solução fisiológica. Cada grupo constituiu-se de 15 garrafas com 100 larvas em cada, que foram observadas em intervalos de 24 horas para a contagem das pupas bem como dos imagos.

II.4.4. Fertilidade

A fertilidade foi medida pelo número de descendentes produzidos utilizando-se o mesmo procedimento experimental descrito no item II.3. (obtenção da F_1). Em cada garrafa foram colocados 10 casais da geração F_1 , em 20 garrafas para cada grupo, permitindo-se a oviposição por sete dias. Os descendentes produzidos nas 20 garrafas de cada grupo experimental e controle, foram contadados em intervalos de 24 horas durante nove dias a partir do início da emergência. Optou-se pela contagem até o nono dia a fim de garantir a não ocorrência da sobreposição de gerações.

II.4.5. Longevidade

O efeito do composto e do solvente sobre a longevidade de moscas tratadas na fase larvária, foi estudado montando-se 10 tubos para cada sexo com 10 moscas virgens em cada tubo para o controle e para cada grupo experimental. As moscas da geração F_1 que emergiam em um período de até três horas, eram separadas por se



xo e colocadas em tubos com meio de cultura padrão, com o solvente, e em meio com o composto na mesma concentração em que se desenvolveram, conforme esquema apresentado no item II.3. Os tubos foram mantidos em estantes, na posição vertical, procedendo-se a transferência das moscas a cada três e quatro dias para outros tubos com meio de cultura novo. As observações foram feitas diariamente, aproximadamente no mesmo horário, anotando-se o número de moscas mortas.

II.5. Determinação de resíduos

A determinação de resíduos de Dicofol em larvas e imagos, foi realizada através de análise cromatográfica em fase gasosa de amostras dos grupos controle e tratados com o Dicofol e com o solvente. Para obtenção das larvas, utilizou-se tubos e em cada um colocou-se casais virgens com três dias de idade que foram descartados 24 horas após. Decorridos quatro dias, os tubos foram colocados em um freezer por uma hora e após este período, colocou-se em cada tubo aproximadamente 3 ml de água destilada, resfriada à temperatura de $\pm 2,0^{\circ}\text{C}$, visando a imobilização de larvas que eventualmentes estivessem vivas. A seguir, os tubos foram agitados manualmente de forma a desprender as larvas da parede e do meio de cultura. O material foi lavado com água destilada em uma peneira de malha fina, até que todo resíduo de meio fosse retirado. Procedida a secagem das larvas com papel absorvente tipo guardanapo, armazenou-se em frascos de vidro colocando-se aproximadamente um grama de larvas em cada.

Os imagos foram obtidos de garrafas nas quais 100 casais foram mantidos para um período de oviposição de 24 horas. Quando da emergência, os imagos eram coletados diariamente e, após rápida eterização, pesados e também acondicionados em frascos.



Todas as amostras foram mantidas congeladas até o momento da análise, e para esta, foram utilizados os seguintes reagentes:

- n-hexano grau resíduo de pesticidas
- éter etílico grau resíduo de pesticidas
- diclorometano grau resíduo de pesticidas
- sulfato de sódio anidro granulado resíduo de pesticidas
- sílica gel 60; 0,063 - 0,200 mm (70-230 mesh) Merck, aquecida por uma noite a 360°C e desativada com 3% de água
- padrão de Dicofol (fornecido pela Environmental Protection Agency - EPA/USA)

As análises foram realizadas no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, em um cromatógrafo CG com detector de captura de elétrons, fonte de tritium, com coluna de vidro espiral de 1/8 de polegada diâmetro interno, seis pés de comprimento com fase estacionária 1,5% OV 17 + 1,95% OV 210 em chromosorb Q II, 100-120 meshes nas seguintes condições: temperatura da coluna 210°, temperatura do injetor 220°, temperatura do detector 225°; fluxo 40 ml/min. A amostra, misturada com Na₂SO₄ anidro granulado, foi macerada em almofariz e o pesticida extraído três vezes com porções de n-hexano. Os extratos hexânicos foram reunidos em frascos de vidro e tratados com H₂SO₄ concentrado. A camada superior foi então retirada, concentrada e purificada em coluna cromatográfica contendo sílica gel desativada, por eluição com uma solução de 25% de éter em n-hexano. O eluto foi concentrado e analisado por cromatografia em fase gasosa comparando-se o tempo de retenção obtido com o padrão de Dicofol.

Todo o material e reagentes foram analisados para verificar a ausência do pesticida pesquisado e feito um teste de padrão de Dicofol com ácido sulfúrico para se verificar a possível destrui



ção do pesticida quando tratado com ácido. A metodologia foi avaliada e mostrou uma recuperação média de 84% do Dicofol quando adicionadas às amostras isentas do pesticida.



III. RESULTADOS

Os resultados apresentados referem-se a um grupo controle e dez grupos experimentais montados com moscas F_1 que se desenvolveram em meio de cultura contendo o Dicofol e o solvente, mantidos a $25,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$. Em todos os parâmetros analisados comparou-se cada grupo tratado com o Dicofol que serão mencionados como D_{20} , D_{40} , D_{60} e D_{80} (20, 40, 60 e 80 mg do produto técnico, respectivamente para cada 100 ml de meio de cultura), com o controle - grupo C, e com o solvente - grupo S. Comparou-se também os resultados obtidos com as moscas F_1 em ambos os meios de cultura utilizados, ou seja, o meio em que as moscas continuaram recebendo tratamento segundo a concentração em que se desenvolveram (grupo tratado) e o meio de cultura padrão (grupo pré-tratado).

Para o estudo da fecundidade utilizou-se um total de 3.300 colheres com meio de cultura transparente nas quais contou-se durante os 15 dias dos experimentos, 80.686 ovos. Acompanhou-se o tempo de desenvolvimento de 1768 ovos dos quais eclodiram 1645 larvas, destas, 1531 alcançaram o estágio de pupa emergindo 1433 imagos. Estudou-se a viabilidade de 16500 larvas transferidas para 165 garrafas (100 em cada), nas quais foram produzidas 15003 pupas emergindo destas 14154 imagos. O estudo da fertilidade compreendeu a contagem de 55564 imagos - 27503 machos e 28061 fêmeas descendentes de 2200 casais da geração F_1 . O tempo de sobrevivência de 1100 machos e 1100 fêmeas da geração F_1 foi acompanhado através da observação diária até a morte da última mosca, o que ocorreu no 108º dia.

Através da cromatografia gasosa, analisou-se aproximadamente seis gramas de larvas e seis gramas de imagos desenvolvidos em meio de cultura contendo Dicofol, verificando-se grandes quantidades de resíduos em ambas as fases do desenvolvimento.



III.1. Fecundidade

Na tabela I são apresentadas as médias e respectivos erros padrões para cada grupo experimental e controle. Em todos os grupos cujas moscas F_1 continuaram recebendo tratamento (grupos tratados), houve redução no número de ovos depositados - grupo S, com o solvente de 44%, sendo porém bem mais acentuada naqueles com Dicofol - D_{20} e D_{40} de 97%, e D_{60} e D_{80} de 98%. As médias comparadas com a do controle pelo teste t de Student mostraram diferenças significativas ($P < 0,001$), o mesmo ocorrendo quando das comparações de D_{20} , D_{40} , D_{60} e D_{80} com o grupo tratado com o solvente. Em meio de cultura padrão (grupos pré-tratados), o número médio de ovos postos pelas moscas da geração F_1 tratadas com diferentes concentrações de Dicofol e com o solvente, é aproximadamente igual ao do controle em todos os grupos, com exceção do grupo S que apresentou uma redução de 29%. A comparação entre médias mostrou que esta diferença é significativa tanto em relação ao controle quanto aos demais grupos.

As médias dos grupos tratado e pré-tratado foram comparadas pela análise de variância (tabela I), mostrando nas duas situações diferenças significativas tanto com o controle (moscas não-tra^{ta}tadas) como só com o grupo S (moscas tratadas com o solvente). A identificação das médias diferentes foi realizada pelo teste de Tukey e o valor de W obtido ($W_{0,01}=74,86$) para meio de cultura com o composto, permitiu a constituição de 3 grupos de médias segundo a igualdade, D_{20} , D_{40} , D_{60} e D_{80} iguais entre si e diferentes de C e de S e estes também diferentes entre si:

C	S	D_{20}	D_{40}	D_{60}	D_{80}

Em meio padrão ($W_{0,01}=122,51$), apenas S teve média diferente, os de

Tabela I. Número médio de ovos ($\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$) depositados pelas moscas F_1 tratadas na fase larvária, em 20 garrafas por tratamento (5 casais por garrafa), em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). t de Student para a comparação das médias do controle (tc) e do solvente (ts) com as de cada grupo experimental. F para a homogeneidade das médias. ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$

grupo	ovos	tc	ts
tratado			
S	354,4 $\pm$ 28,3	7,69***	-
D ₂₀	20,2 $\pm$ 5,0	21,41***	14,13***
D ₄₀	21,2 $\pm$ 5,9	21,24***	13,96***
D ₆₀	9,8 $\pm$ 3,2	21,96***	14,76***
D ₈₀	14,6 $\pm$ 2,8	21,82***	14,58***
F _{5;114}	292,74**		
F _{4;95}	186,76**		
pré-tratado			
C	635,3 $\pm$ 28,3	-	
S	451,6 $\pm$ 28,7	4,56***	-
D ₂₀	616,3 $\pm$ 21,6	0,53	4,59***
D ₄₀	627,5 $\pm$ 28,5	0,19	4,36***
D ₆₀	628,2 $\pm$ 15,9	0,22	5,39***
D ₈₀	655,2 $\pm$ 25,4	0,52	5,32***
F _{5;114}	8,89**		
F _{4;95}	11,19**		

mais grupos, inclusive o controle, constituíram um segundo grupo:

S D₂₀ D₄₀ D₆₀ C D₈₀

Na tabela II estão os números de ovos contados em cada grupo durante os 15 dias do experimento. Verifica-se que o maior número de ovos depositados pelas fêmeas F_1 ocorreu no primeiro dia, que corresponde ao quarto de vida das moscas, em todos os grupos, menos em S. A partir do terceiro dia, houve nos grupos tratados com Dicofol, uma redução brusca e até o final das contagens os quatro grupos mantiveram-se praticamente juntos, como pode ser observado na figura 1A. Observa-se na figura 1B que as fêmeas F_1 que depositaram ovos em meio de cultura sem tratamento (grupo pré-tratado) apresentaram o mesmo padrão de oviposição, ou seja, um pico inicial e quedas e elevações durante todo o tempo de contagem.

Tabela II. Total diário de ovos depositados por 100 fêmeas F_1 tratadas na fase larvária, em 20 garrafas por tratamento, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado).

Dia	tratado					pré-tratado					
	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀	C	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀
4º	410	126	217	40	69	1740	1015	2502	2808	1935	3751
5º	778	78	65	39	87	1108	588	1849	1670	1127	1719
6º	531	48	38	28	42	1458	669	520	956	537	789
7º	515	26	28	20	22	1062	819	678	581	627	718
8º	545	15	17	15	17	1058	914	841	792	545	378
9º	566	17	19	9	14	629	460	766	524	702	509
10º	469	14	7	13	8	1050	755	628	575	1040	553
11º	391	18	6	3	9	478	511	535	464	912	644
12º	307	26	6	12	7	636	564	380	469	766	524
13º	407	10	9	3	11	793	602	457	627	807	472
14º	324	4	3	4	4	666	537	661	527	658	516
15º	396	5	3	1	1	591	397	662	633	745	377
16º	431	11	4	2	0	505	530	736	659	753	452
17º	447	4	3	4	2	480	346	562	698	800	891
18º	570	2	0	4	0	452	325	549	567	609	810
Total	7087	404	425	197	293	12706	9032	12326	12550	12563	13103

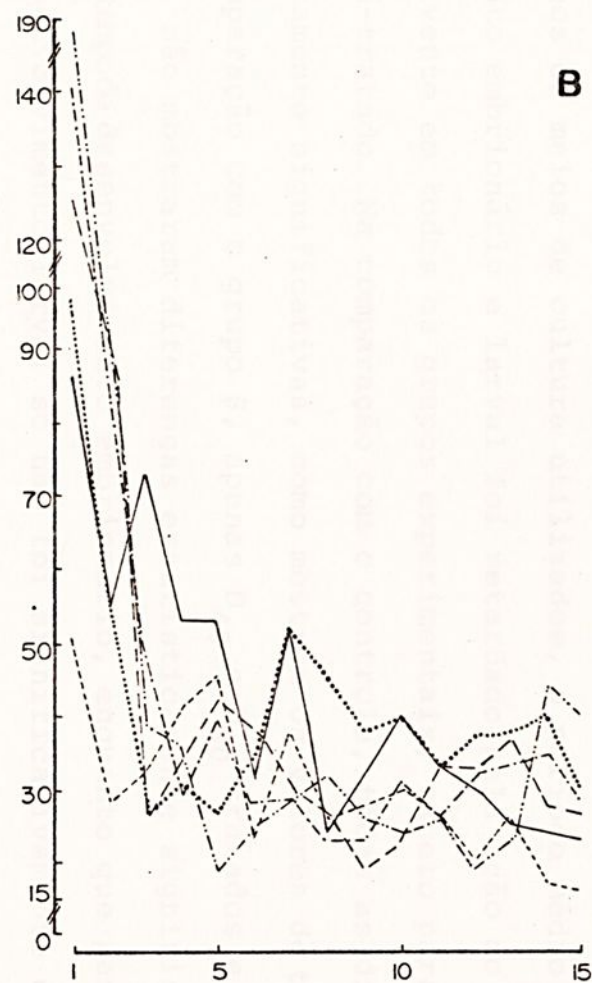
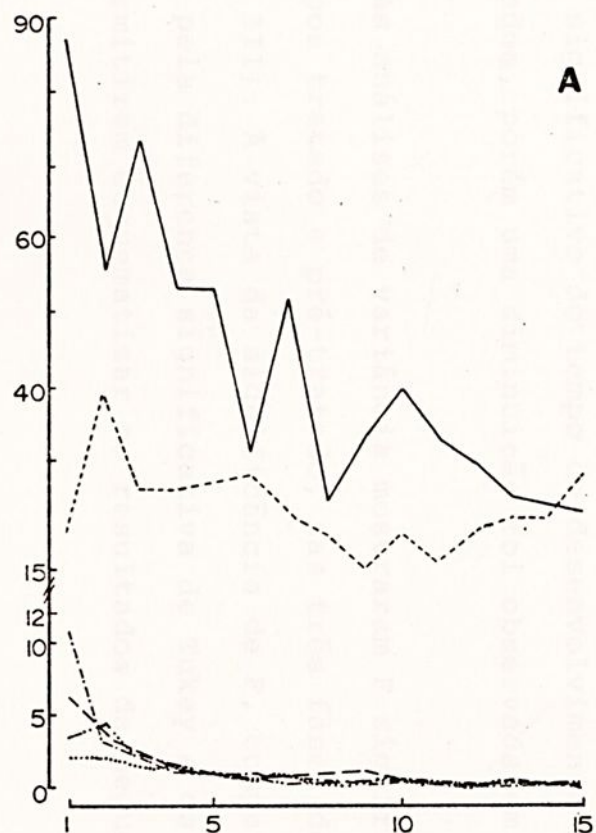


Figura 1. Número médio diário de ovos (ordenada) depositados em 20 garrafas (5 casais por garrafa) de cada grupo, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (A) e em meio de cultura padrão (B). Em abscissa, dias. Controle —; solvente ----; D_{20} - - - ; D_{40} - . - . ; D_{60} e D_{80} - - - - -.

III.2. Tempo de desenvolvimento

O tempo médio em horas, de duração de cada fase do ciclo de desenvolvimento, é apresentado na tabela III. Verifica-se que em ambos os meios de cultura utilizados, o período médio de desenvolvimento embrionário e larval foi retardado pela ação do composto e do solvente em todos os grupos experimentais, exceto para larvas no D_{80} pré-tratado. Na comparação com o controle, todas as diferenças foram altamente significativas, como mostram os valores de t ($P < 0,001$). Na comparação com o grupo S, apenas D_{40} e D_{80} tratados e D_{60} pré-tratado, não mostraram diferenças estatisticamente significativas quanto ao tempo de desenvolvimento embrionário, enquanto que para o tempo de desenvolvimento larval só não foi significativamente diferente o valor de t para D_{40} pré-tratado. Em relação ao tempo de desenvolvimento para pupa, somente os grupos D_{20} e D_{80} tratados diferiram do controle; nos pré-tratados as diferenças foram encontradas quando das comparações de D_{40} e D_{60} . Nas comparações com o grupo S, verificou-se aumento significativo do tempo de desenvolvimento nos grupos D_{20} e D_{80} tratados, porém uma diminuição foi observada em D_{40} e D_{60} pré-tratados.

As análises de variância mostraram F significativo para todos os grupos tratado e pré-tratado, nas três fases do desenvolvimento (tabela III). À vista da significância de F , comparou-se as médias dos grupos pela diferença significativa de Tukey e os valores de W obtidos permitiram esquematizar os resultados da seguinte forma:



Tabela III. Tempo de desenvolvimento ($\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$) em horas, de embrião larva e pupa, produzidos por moscas F_1 tratadas na fase larvária (15 tubos para cada tratamento), em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). t de Student para a comparação das médias do controle (tc) e do solvente (ts) com as de cada grupo experimental. F para a homogeneidade das médias. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

grupo	embrião				larva				pupa			
	N	horas	tc	ts	N	horas	tc	ts	N	horas	tc	ts
tratado												
S	159	22,2 $\pm$ 0,2	13,05***	-	158	124,5 $\pm$ 0,9	10,91***	-	150	95,5 $\pm$ 1,2	0,34	-
D ₂₀	169	21,5 $\pm$ 0,2	9,04***	3,22**	159	135,6 $\pm$ 2,4	10,59***	4,38***	140	105,4 $\pm$ 1,9	3,93***	4,44***
D ₄₀	160	22,0 $\pm$ 0,4	6,49***	0,39	132	214,1 $\pm$ 5,8	18,00***	15,25***	115	103,4 $\pm$ 5,3	1,31	1,44
D ₆₀	142	21,3 $\pm$ 0,2	8,98***	4,32***	139	166,1 $\pm$ 3,0	18,18***	13,37***	129	105,3 $\pm$ 5,9	1,52	1,64
D ₈₀	168	22,5 $\pm$ 0,4	8,21***	0,63	146	265,3 $\pm$ 10,8	14,61***	13,05***	124	117,3 $\pm$ 6,7	3,10**	3,21**
F _{5;84}		21,37**				88,99**				3,30*		
F _{4;70}		3,40**				103,99**				2,71*		
pré-tratado												
C	159	19,2 $\pm$ 0,2	-		159	107,0 $\pm$ 1,3	-		153	96,2 $\pm$ 1,4	-	
S	149	21,1 $\pm$ 0,2	7,84***	-	143	123,4 $\pm$ 0,4	11,95***	-	144	98,4 $\pm$ 1,2	1,21	-
D ₂₀	211	22,0 $\pm$ 0,2	8,88***	2,85**	196	118,0 $\pm$ 1,7	5,09***	3,10**	191	99,5 $\pm$ 2,2	1,28	0,44
D ₄₀	145	22,0 $\pm$ 0,1	13,42***	4,62***	134	122,7 $\pm$ 1,0	9,40***	0,65	122	91,3 $\pm$ 1,3	2,54*	4,08***
D ₆₀	153	21,0 $\pm$ 0,1	8,13***	0,32	135	115,1 $\pm$ 1,5	4,09***	5,46***	129	91,8 $\pm$ 1,0	2,48*	4,24***
D ₈₀	153	20,2 $\pm$ 0,2	3,89***	3,77***	144	107,0 $\pm$ 1,5	0,01	10,57***	134	96,4 $\pm$ 1,1	0,11	1,28
F _{5;84}		37,27**				131,82**				5,65**		
F _{4;70}		18,50**				26,03**				7,04**		

EMBRIÃO

grupo tratado ($W_{0,01}=1,28$)	C	<u>D₆₀</u>	<u>D₂₀</u>	<u>D₄₀</u>	S	<u>D₈₀</u>
grupo pré-tratado ($W_{0,01}=0,89$)	C	D ₈₀	<u>D₆₀</u>	S	<u>D₂₀</u>	<u>D₄₀</u>

LARVA

grupo tratado ($W_{0,01}=0,38$)	C	S	D ₂₀	D ₆₀	D ₄₀	D ₈₀
grupo pré-tratado ($W_{0,01}=0,46$)	C	<u>D₈₀</u>	D ₆₀	D ₂₀	D ₄₀	S

PUPA

grupo tratado ($W_{0,01}=21,78$)	S	C	<u>D₄₀</u>	<u>D₆₀</u>	<u>D₂₀</u>	<u>D₈₀</u>
grupo pré-tratado ($W_{0,01}=7,06$)	<u>D₄₀</u>	<u>D₆₀</u>	C	<u>D₈₀</u>	S	<u>D₂₀</u>

Os tempos médios para o desenvolvimento do embrião, não diferem significativamente nos grupos tratados S, D₂₀, D₄₀, D₆₀ e D₈₀, mas estes são significativamente maiores que o tempo médio do controle; no pré-tratado, verifica-se quatro grupos de médias, C, D₈₀, S e D₆₀ e, D₂₀ e D₄₀. Em relação às larvas, todos os grupos tratados apresentaram tempos médios de desenvolvimento diferentes. Nos pré-tratados, D₈₀ teve tempo médio igual ao controle, os demais constituíram quatro grupos de médias significativamente diferentes entre si. Quanto ao tempo médio de desenvolvimento de pupas, nos grupos tratados apenas o grupo S diferiu de D₈₀, e no pré-tratado, os grupos S e D₂₀ diferiram significativamente de D₄₀ e D₆₀, mas não de C e D₈₀.

Os números de ovos eclodidos em intervalos de uma hora, para todos os grupos, em ambos os meios, são apresentados na tabela IV; da mesma forma, em intervalos de 24 horas, os números de pupas na ta

Tabela IV. Número de ovos eclodidos por horas, em 15 tubos para cada tratamento, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado).

hora	tratado					pré-tratado					
	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀	C	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀
17						8					
18						26					7
19		1	5	6	4	56	6	2		6	
20		32	25	14	2	60	20	42	3	42	54
21	33	54	33	67	23	9	79	53	38	48	33
22	75	48	40	44	50		30	52	53	28	11
23	35	18	18	8	22		8	19	38	9	4
24	12	5	4		33			15	2	2	
25	3	1	2		8			9			
26		5			3			3			
27					1			1			
Total	158	159	132	139	146	159	143	196	134	135	144

bela V e de imagos na tabela VI. Observa-se (tabela IV) que nos grupos tratados D_{20} e D_{60} , o maior número de eclosões ocorreu com 21 horas, enquanto em S, D_{40} e D_{80} foi com 22. Até 22 horas, os percentuais de eclosão foram 68%, 85%, 78%, 94% e 54% para os grupos S, D_{20} , D_{40} , D_{60} e D_{80} , respectivamente. Nos grupos pré-tratados o maior número ocorreu com 20 horas em C e D_{80} , com 21 horas em S, D_{20} e D_{60} e com 22 em D_{40} . Até 22 horas, os percentuais de eclosão foram 100%, 94%, 76%, 70%, 92% e 97%, respectivamente, para os grupos C, S, D_{20} , D_{40} , D_{60} e D_{80} . Com relação às pupas, observa-se na tabela V, que nos grupos tratados o maior número de larvas atingiu o estágio de pupa com 144 horas em S (87%) e D_{20} (49%), com 216 horas em D_{40} (34%), com 168 horas em D_{60} (48%) e com 264 horas em D_{80} (19%). Em meio padrão (grupos pré-tratados), com até 144 horas, 100% das larvas atingiram o estágio de pupa em C, S e D_{80} , 92% em D_{20} , 95% em D_{40} e 96% em D_{60} .

A emergência de imagos (tabela VI) teve início, nos grupos tratados, com 240 horas em S (89%), enquanto que o maior número de imagos emergiu com 264 horas em D_{20} (81%), em D_{40} com 336 horas (35%), em D_{60} com 288 horas (43%) e em D_{80} com 384 horas (20%). Nos grupos pré-tratados, com até 240 horas, 100% das moscas emergiram em C, 88% em S, 89% em D_{20} , 98% em D_{40} e D_{80} , e 99% em D_{60} .

A figura 2 mostra, para todo o período experimental, as distribuições dos tempos de desenvolvimento para as fases de embrião, de larva e de pupa.

Os coeficientes de correlação entre os valores dos tempos de desenvolvimento das fases de embrião, larva e pupa, bem como os respectivos valores de t, são apresentados na tabela VII. Verifica-se que em meio com o composto (grupos tratados), só são significativas as



Tabela V. Número de pupas obtidas, em 15 tubos para cada tratamento, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado).

hora	tratado					pré-tratado					
	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀	C	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀
120						111	141	38	6	45	91
144	130	68				42	3	137	110	79	43
168	20	56		62	5			13	3	3	
192		16	15	36	5			3	3	2	
216			39	22	15						
240			27	9	11						
264			20		24						
288			4		21						
312			9		19						
336			1		10						
360					8						
384					2						
408					3						
432					1						
Total	150	140	115	129	124	153	144	191	122	129	134

Tabela VI. Número de imagens obtidos, em 15 tubos para cada tratamento, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado).

hora	tratado					pré-tratado					
	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀	C	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀
216						106		21	17	60	92
240	126			1		39	121	145	96	61	37
264	15	98	1	25			17	18	1	1	3
288		0	4	56	4			0	0		
312		4	28	29	13			0	1		
336			37	16	9			0			
360			0	1	7			1			
384			27	1	20			0			
408			6		20			0			
432			0		7			1			
456			0		11						
480			0		3						
504			2		1						
528					2						
552					1						
576					1						
Total	141	121	105	129	99	145	138	186	115	122	132

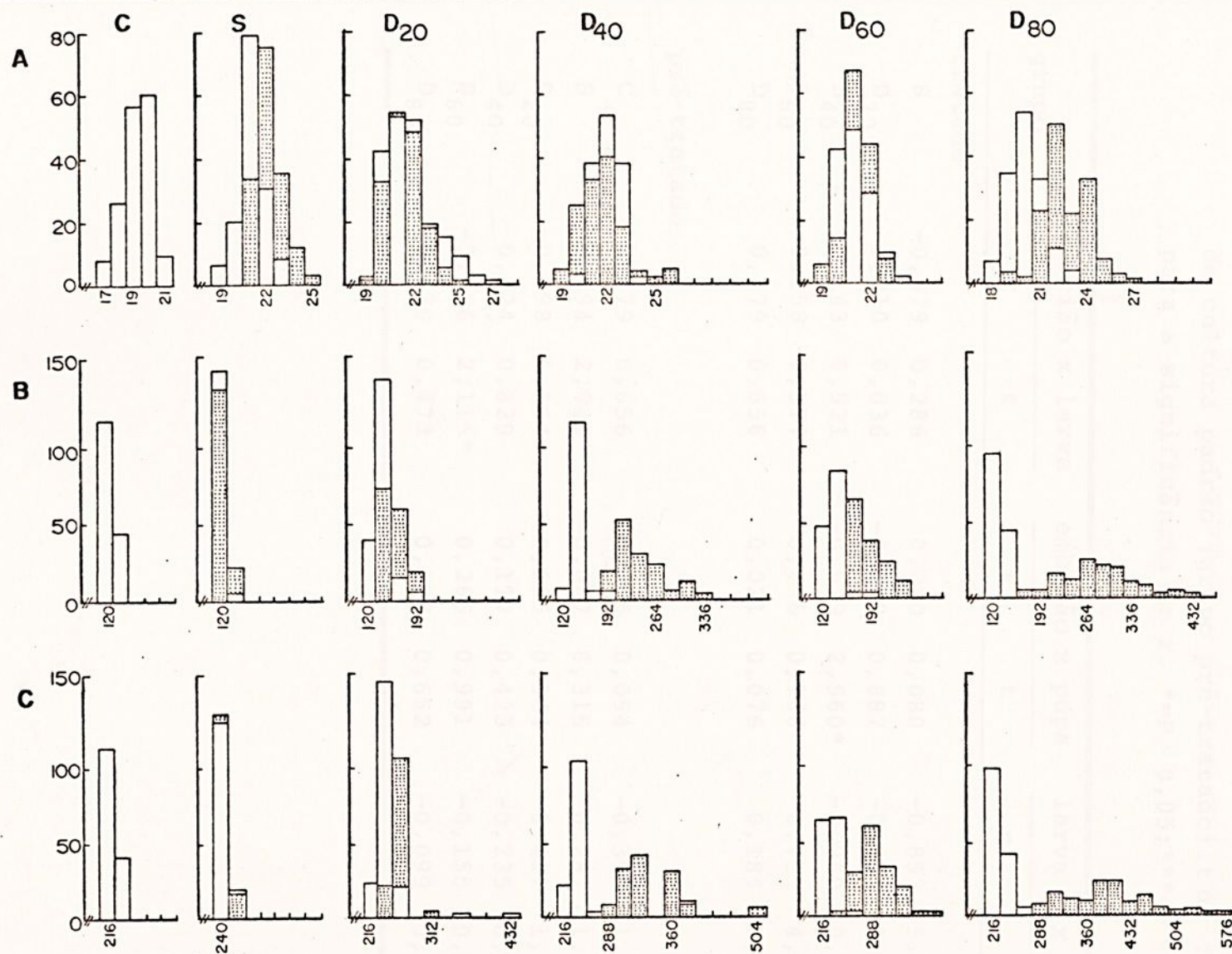


Figura 2. Histogramas para os tempos de desenvolvimento em horas (abscissa), das fases de embrião (A), larva (B) e pupa (C), em meio de cultura com Dicofol e com solvente (▨) e em meio de cultura padrão (□). Em ordenada, frequência em números.

Tabela VII. Correlações entre tempo de desenvolvimento das fases de embrião, larva e pupa, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). t de Student para a significância de r. $*=P < 0,05$; $***=P < 0,001$

grupo	embrião x larva		embrião x pupa		larva x pupa	
	r	t	r	t	r	t
tratado						
S	-0,079	0,286	0,080	0,080	-0,853	5,893***
D ₂₀	-0,010	0,036	-0,239	0,887	-0,590	2,635*
D ₄₀	-0,143	0,521	-0,579	2,560*	-0,269	0,270
D ₆₀	0,158	0,577	0,046	0,166	-0,753	4,126***
D ₈₀	0,179	0,656	0,021	0,076	0,184	0,675
pré-tratado						
C	0,179	0,656	-0,015	0,054	-0,391	1,532
S	-0,494	2,049*	-0,087	0,315	0,287	1,080
D ₂₀	-0,398	1,564	0,095	0,344	-0,427	1,703
D ₄₀	-0,224	0,829	0,117	0,425	-0,235	0,872
D ₆₀	-0,506	2,115*	0,265	0,991	-0,155	0,566
D ₈₀	-0,130	0,473	0,178	0,652	-0,099	0,359

correlações entre embrião-pupa, no grupo D_{40} e larva-pupa, nos grupos S, D_{20} e D_{60} . Em meio padrão (grupos pré-tratados), somente são significativas as correlações entre embrião-larva nos grupos S e D_{60} .

Com o objetivo de representar a distribuição dos dados de cada grupo, os valores foram ordenados em ordem crescente e apresentados sob a forma de ramo-e-folhas (Tukey, 1977), estando à direita do retângulo, a distribuição dos grupos tratados e à esquerda, os pré-tratados. No ramo-e-folhas, os valores ordenados são distribuídos em classes que são escolhidas em função dos números iniciais, do menor até o maior valor do conjunto de dados e incluídas no retângulo. Cada linha constitui o que é chamado folha e apresenta os valores pertencentes à classe correspondente. As figuras 3, 4 e 5 representam os ramo-e-folhas dos tempos médios de desenvolvimento, encontrados em cada um dos 15 tubos, para as fases de embrião, de larva e de pupa, respectivamente. Considerando por exemplo o grupo S na figura 3, os tempos médios referentes ao desenvolvimento do embrião, estão distribuídos, dentro do retângulo, em cinco classes: 23, 22, 21, 20 e 19. Os valores pertencentes a estas classes estão alinhados à direita para os grupos tratados e à esquerda para os pré-tratados. Temos assim na primeira classe de cima para baixo, 23:00, 23:91; na segunda, 22:00, 22:00, 22:11, 22:12, 22:33, 22:75 e na terceira, 21:78, 21:82, 21:86, 21:90, 21:90, 21:91 e 21:91. Os dados assim dispostos permitem que se leia o menor e o maior valor da distribuição que nos grupo exemplificado são 21:78 e 23:91, respectivamente. Nas situações em que as classes apresentavam um grande número de valores, estas foram subdivididas em intervalos menores (0—4 e 5—9). Na figura 4 por exemplo, tempos para o grupo C na primeira classe: 116,50; 111,75; 113,83 e 113,84 e assim por diante. Os ramo-e-folhas além de mostrarem a distribuição dos dados evidenciando a sequência

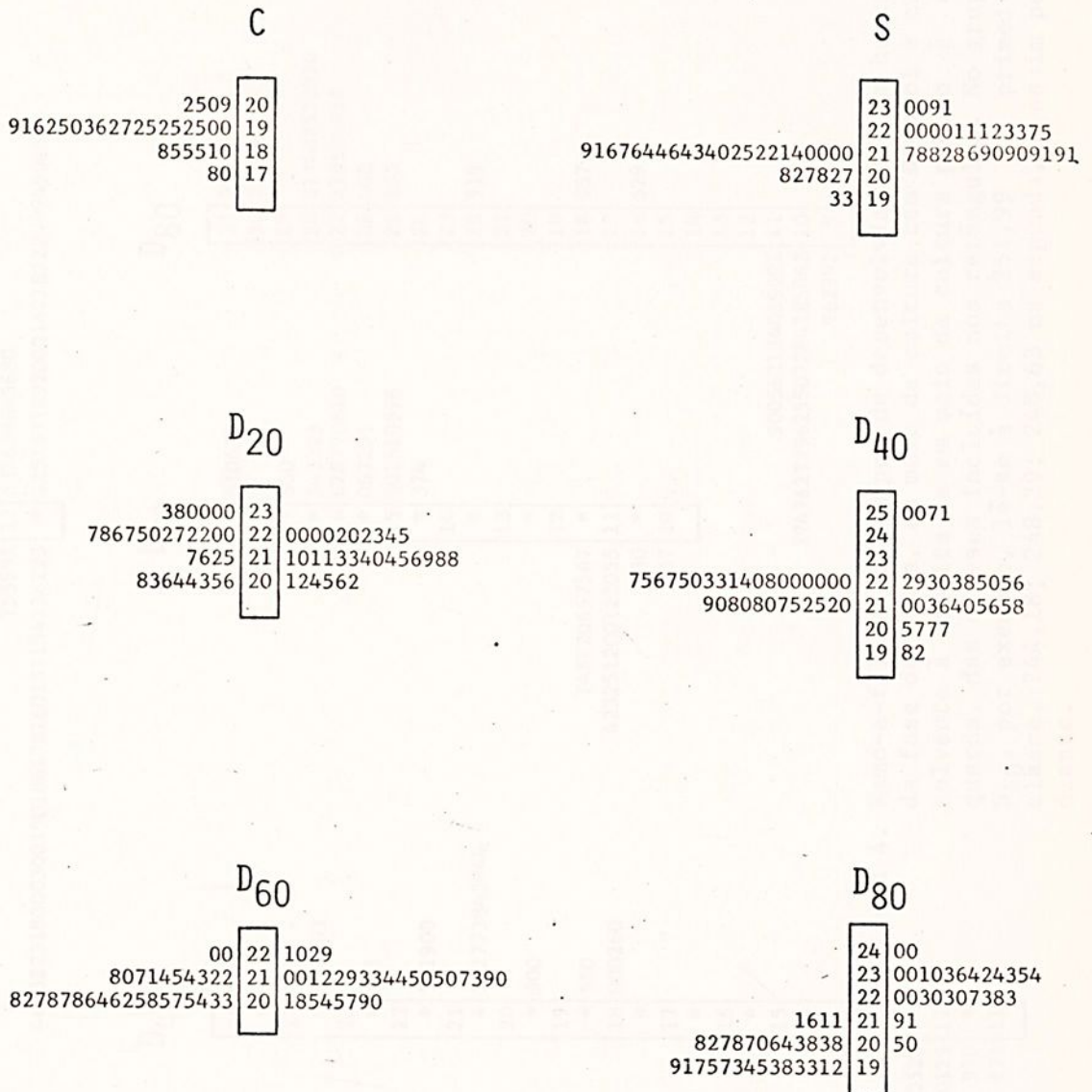


Figura 3. Ramo-e-folhas dos tempos de desenvolvimento em horas, da fase de embrião, em meio de cultura com Dicofol e com solvante à direita, e em meio de cultura padrão à esquerda, das classes incluídas nos retângulos. No grupo C, por exemplo, lê-se à esquerda 20,09; 20,25 na primeira classe; 19,00; 19,25; ... e 19,91 na segunda classe, e assim por diante.

C

056	11
483383571	*
169028876076	10
064724243672572511460	*

S

	13	518
	*	
755591	12	633638645680
467322318300300190186178160157154136133	*	125167189200214218222409450450

 D_{20}

	15	555
	*	
	14	
357338173173150	*	012180185
	13	513583682709
175	*	188315
	12	633733889977
357338173173150	*	200
960882800600	11	
444307111	*	
	10	
862		
226	*	

D₄₀

25	199
*	
24	418
*	829863
23	
*	661
22	
*	501900
21	
*	562773842944
20	
*	900
19	
*	550
18	000260
*	
17	
*	
16	
*	
15	
*	
14	
*	
13	Figura 4
*	
12	
*	
11	

D₆₀

18	610634
*	
17	800
*	143323
16	628770810
*	067271
15	502610976
*	374
14	
*	
13	
*	
12	
*	
11	
*	
780	
337	10

745720657567
423251200122055

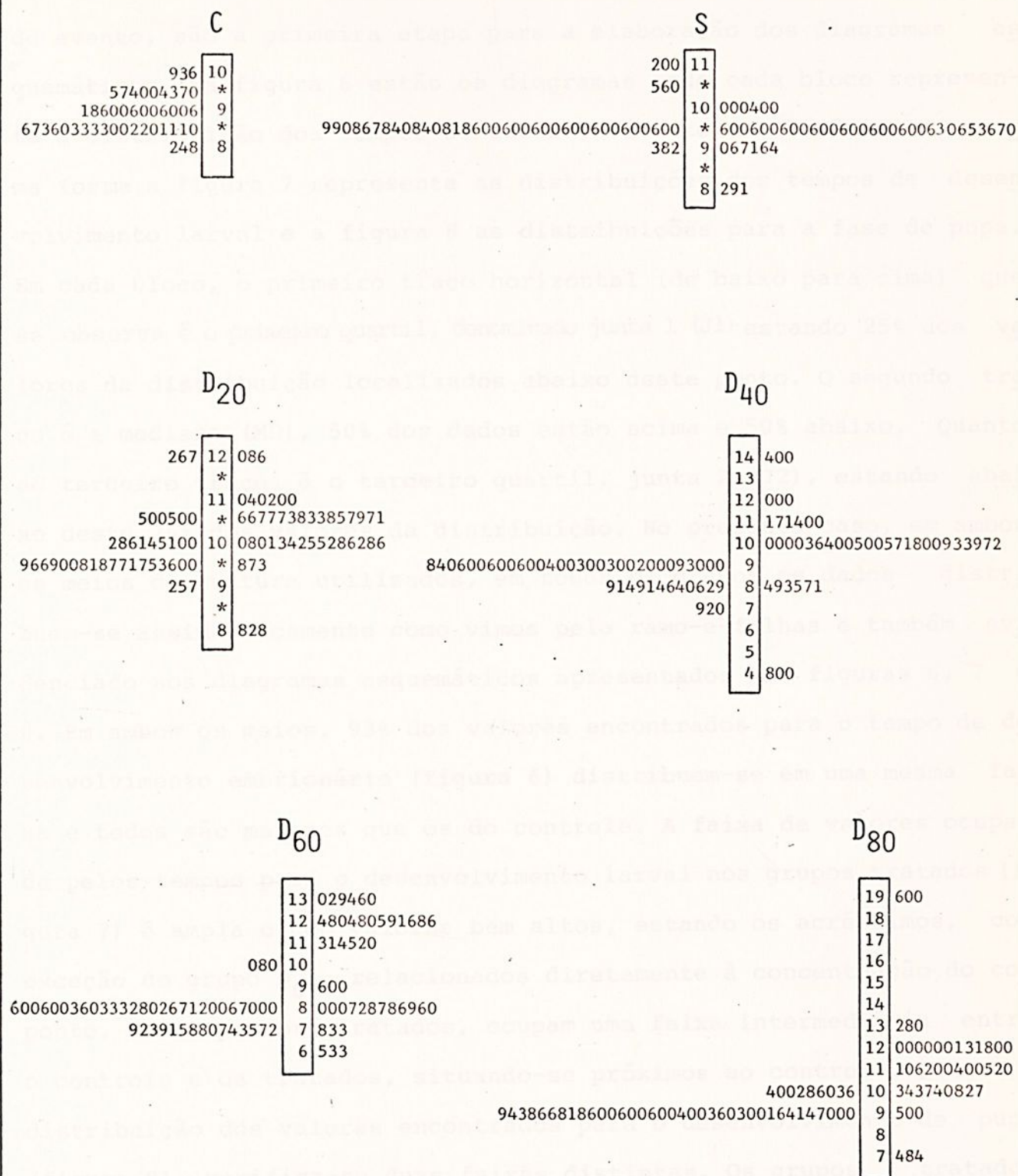
900582134089021
774762729625507284185062
962992

 D_{80}

31	258
30	200390
29	
28	117487570970
27	118186457
26	400
25	853
24	
23	
22	519
21	
20	
19	
18	957
17	
16	529
15	
14	
13	
12	
11	
10	
9	

700613520
475392200200200186150167150125
970
171

Figura 4. Ramo-e-folhas dos tempos de desenvolvimento, em horas, da fase de larva, em meio de cultura com Dicofol e com solvente à direita, e em meio de cultura padrão à esquerda, das classes incluídas nos retângulos. No grupo D₄₀, por exemplo, lê-se à direita 251,99 na primeira classe, 244,18; 248,29; 248,63 na segunda, e assim por diante.



do evento, são a primeira etapa para a elaboração dos diagramas esquemáticos. Na figura 6 estão os diagramas onde cada bloco representa a distribuição dos tempos de desenvolvimento embrionário; da mesma forma a figura 7 representa as distribuições dos tempos de desenvolvimento larval e a figura 8 as distribuições para a fase de pupa. Em cada bloco, o primeiro traço horizontal (de baixo para cima) que se observa é o primeiro quartil, denominado junta 1 (J1) estando 25% dos valores da distribuição localizados abaixo deste ponto. O segundo traço é a mediana (MD), 50% dos dados estão acima e 50% abaixo. Quanto ao terceiro traço, é o terceiro quartil, junta 2 (J2), estando abaixo deste 75% dos valores da distribuição. No presente caso, em ambos os meios de cultura utilizados, em todos os grupos os dados distribuem-se assimetricamente como vimos pelo ramo-e-folhas e também evidenciado nos diagramas esquemáticos apresentados nas figuras 6, 7 e 8. Em ambos os meios, 93% dos valores encontrados para o tempo de desenvolvimento embrionário (figura 6) distribuem-se em uma mesma faixa e todos são maiores que os do controle. A faixa de valores ocupada pelos tempos para o desenvolvimento larval nos grupos tratados (figura 7) é ampla e com valores bem altos, estando os acréscimos, com exceção do grupo D₆₀, relacionados diretamente à concentração do composto. Os grupos pré-tratados, ocupam uma faixa intermediária entre o controle e os tratados, situando-se próximos ao controle. Quanto a distribuição dos valores encontrados para o desenvolvimento de pupa (figura 8), verifica-se duas faixas distintas. Os grupos tratados com Dicofol, situam-se na faixa de valores mais altos e os pré-tratados, ocupam a mesma faixa onde se encontra a distribuição dos tempos de desenvolvimento do controle. Os círculos vazios presentes nas figuras, são chamados pontos soltos e localizam-se na região delimita-

ϕ	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
*	17,8	21,8	19,3	20,1	20,6	19,8	21,2	20,2	20,3	18,6	19,1
J1	18,8	21,9	20,8	21,1	20,8	21,0	21,7	20,9	20,6	22,0	19,4
MD	19,2	22,0	21,2	21,4	22,2	21,6	22,0	21,3	20,8	22,8	20,4
J2	19,6	22,3	21,5	22,0	22,8	22,5	22,3	21,7	21,4	23,4	20,8
*	20,2	23,9	21,9	22,4	23,4	25,7	22,8	22,3	21,8	24,0	21,2

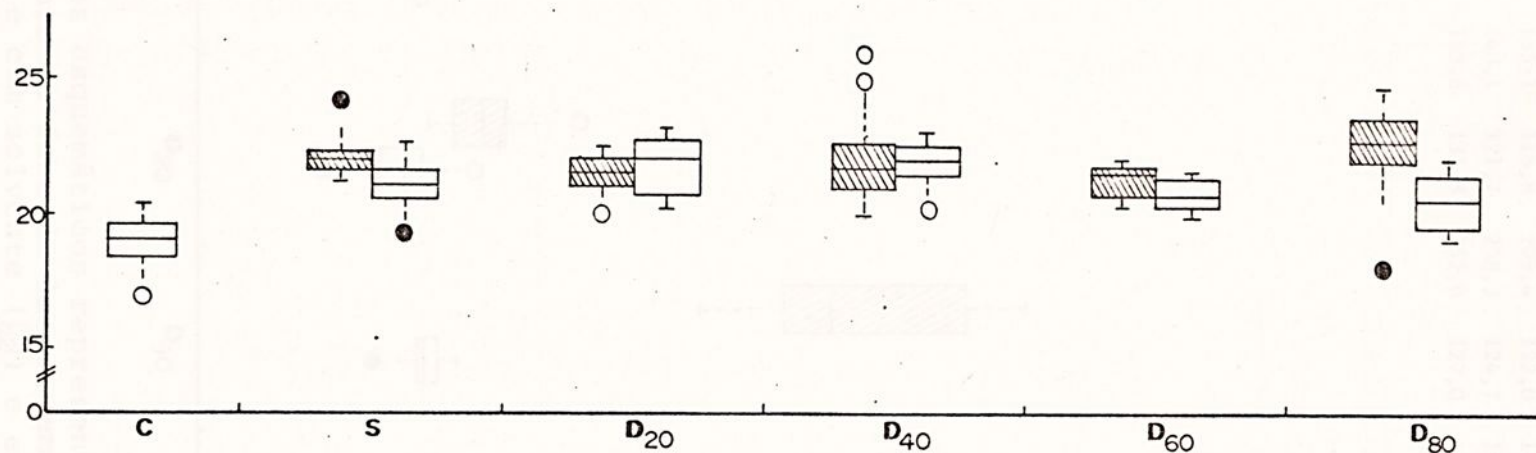


Figura 6. Diagramas esquemáticos representando o tempo de desenvolvimento da fase embrionária em meio de cultura com Dicofol e com solvente (▨) e em meio de cultura pa drão (□). Em cima, os esquemas de cinco números: ϕ = número de observações; *=va lor máximo ou mínimo; J1= junta 1; MD= mediana e J2= junta 2.

ϕ	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
*	100,6	121,2	121,3	122,0	106,2	180,0	111,7	147,0	103,4	165,3	99,2
J1	102,8	122,0	121,6	128,9	113,1	199,0	121,5	156,1	111,2	225,2	101,8
MD	106,7	124,1	121,9	135,1	118,8	209,4	122,0	166,3	115,7	274,6	107,3
J2	111,8	126,4	123,2	140,1	121,7	238,3	124,7	173,2	120,4	289,7	110,9
*	116,5	135,2	127,5	155,6	131,8	252,0	127,0	186,3	123,4	312,6	119,0

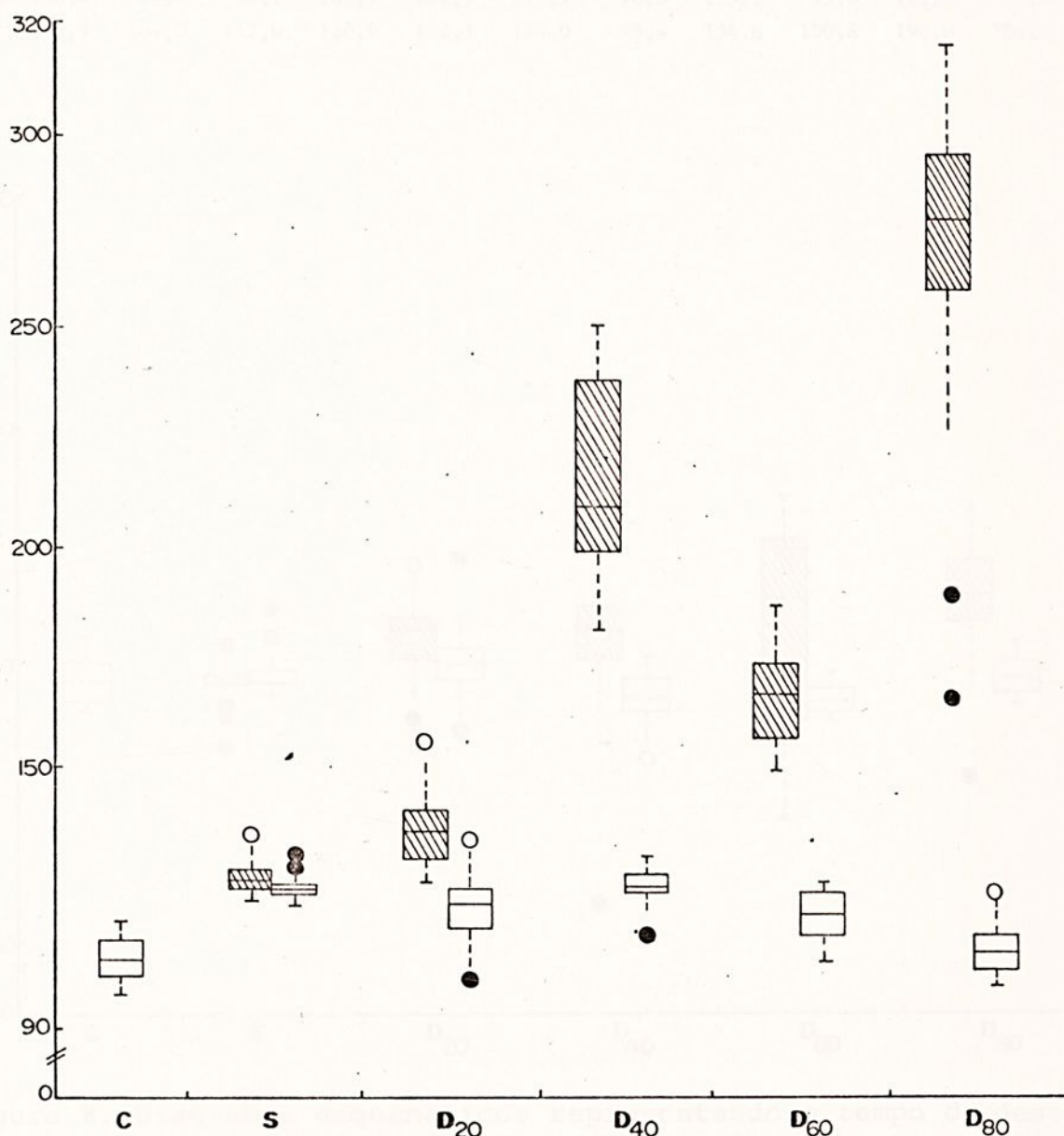


Figura 7. Diagramas esquemáticos representando o tempo de desenvolvimento da fase de larva, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (▨) e em meio de cultura padrão (□). Em cima, os esquemas de cinco números: ϕ = número de observações; * = valor máximo ou mínimo; J1 = junta 1; MD = mediana; J2 = junta 2.

ϕ	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
*	88,2	82,9	93,8	88,3	85,7	48,0	79,2	65,3	85,7	74,8	90,0
J1	92,0	96,0	96,0	101,3	96,0	100,0	89,1	87,3	89,1	107,4	99,1
MD	96,0	96,0	96,0	96,7	99,0	105,7	92,0	113,1	91,2	114,0	91,2
J2	100,4	96,5	98,7	109,7	102,9	111,7	96,0	125,9	93,6	121,3	93,6
*	106,9	104,0	112,0	120,9	122,7	144,0	98,4	134,6	100,8	196,0	104,0

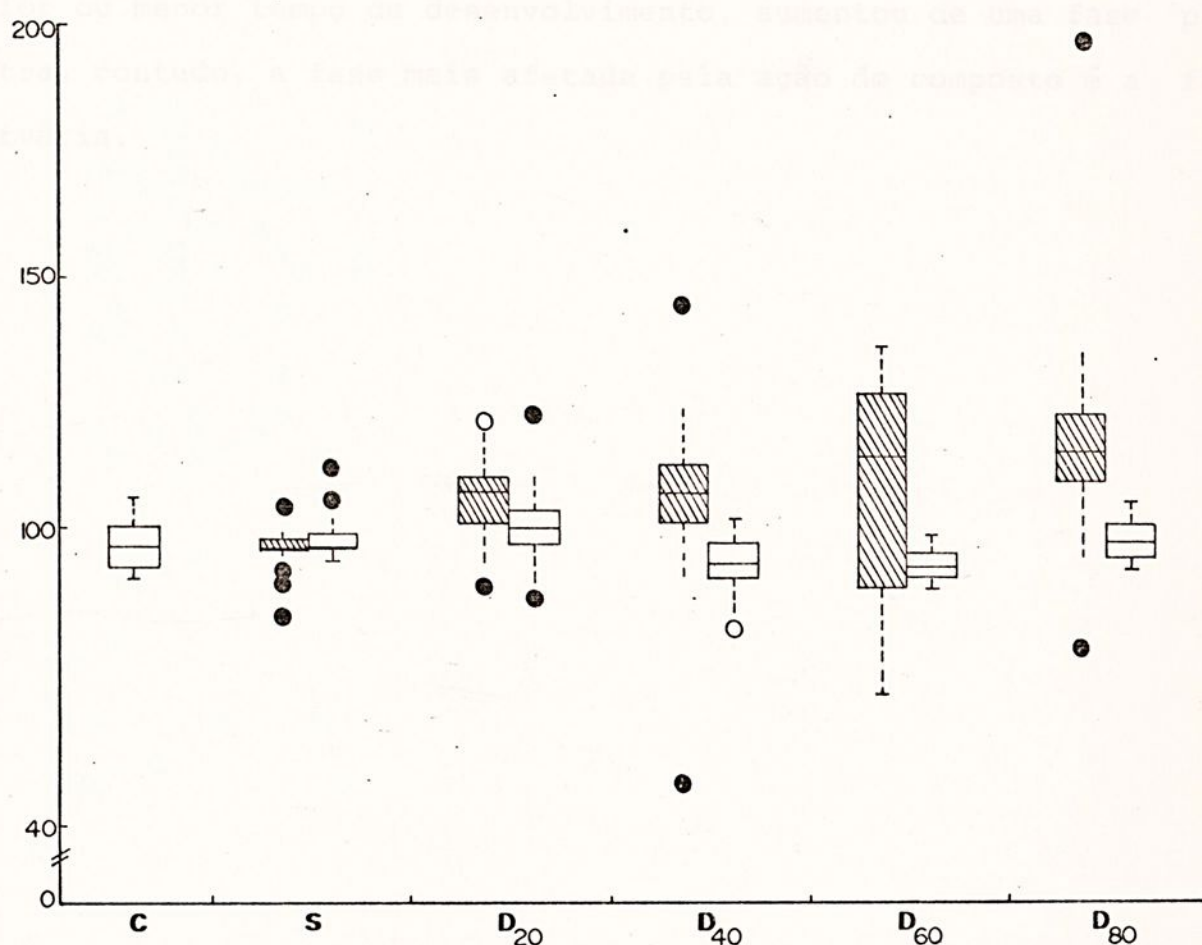


Figura 8. Diagramas esquemáticos representando o tempo de desenvolvimento da fase de pupa, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (▨) e em meio de cultura padrão (□). Em cima, os esquemas de 5 números: ϕ = número de observações; *= valor máximo ou mínimo; J1= junta 1; MD= mediana; J2= junta 2.

da por uma diferença interquartílica e até uma diferença e meia acima do terceiro quartil ou abaixo do primeiro. Os círculos cheios são chamados pontos desgarrados, correspondem aqueles valores muito altos ou muito baixos e localizam-se acima ou abaixo da região delimitada por uma diferença interquartílica e meia. Segundo Tukey (1977) os pontos soltos ocorrem com baixa frequência e os desgarrados com baixíssima frequência. Observa-se, comparando-se as três figuras, que o número de pontos desgarrados indicando casos excepcionais de maior ou menor tempo de desenvolvimento, aumentou de uma fase para outra, contudo, a fase mais afetada pela ação do composto é a fase larvária.



III.3. Viabilidade larva-imago

A tabela VIII refere-se ao número de larvas e de pupas que completaram o desenvolvimento, a partir das 1500 larvas de 15 garrafas de cada grupo. Em meio de cultura com Dicofol (grupos tratados), as comparações das médias destes grupos com o controle e com o solvente, tanto para larvas como para pupas, mostraram valores de t estatisticamente significativos em todos os casos. As comparações entre S e C mostraram diferenças não significativas nas duas fases do ciclo de desenvolvimento. As análises de variância mostraram F significativo tanto para larva como para pupa nos grupos tratados, mas não nos pré-tratados. Pelo teste de Tukey, evidenciou-se as diferentes médias conforme se verifica a seguir:

LARVAS	-	($W_{0,01}=12,16$)	C	S	D_{20}	D_{40}	D_{60}	D_{80}
PUPAS	-	($W_{0,01}=13,45$)	C	S	D_{20}	D_{40}	D_{60}	D_{80}

Nos grupos tratados observa-se, tanto para larvas quanto para pupas uma redução da viabilidade que se acentua com o aumento das concentrações do Dicofol. Na viabilidade larva-pupa somente o grupo D_{80} diferiu significativamente dos demais, enquanto na viabilidade pupa-imago distingue-se três grupos de médias, D_{80} que diferiu de todos, e D_{60} que diferiu significativamente de C e S mas não de D_{20} e D_{40} .

As tabelas IX e X contêm respectivamente, o número diário de larvas e de pupas de cada grupo, que completaram o desenvolvimento. Nos grupos tratados, além da diminuição da viabilidade com o aumento da concentração, observa-se também um aumento no tempo de desenvolvimento de larvas e de pupas claramente relacionado com as concentrações utilizadas. Nos grupos pré-tratados, tanto a viabilidade

Tabela VIII. Número médio ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$) de larvas e de pupas que completaram o desenvolvimento, produzidas por moscas F_1 tratadas na fase larvária (15 garrafas para cada tratamento), em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). t de Student para a comparação das médias do controle (tc) e do solvente (ts) com as de cada grupo experimental. F para a homogeneidade das médias. * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$

grupo	larvas	tc	ts	pupas	tc	ts
tratado						
S	93,5 $\pm$ 0,8	0,80		92,7 $\pm$ 0,8	1,22	-
D ₂₀	91,1 $\pm$ 1,8	2,48*	2,12*	86,6 $\pm$ 2,3	2,98**	2,44*
D ₄₀	90,3 $\pm$ 1,9	2,70*	2,36*	80,9 $\pm$ 3,4	3,74***	3,34**
D ₆₀	86,5 $\pm$ 2,4	3,70***	3,44**	76,0 $\pm$ 2,9	5,58***	5,25***
D ₈₀	59,1 $\pm$ 4,6	7,93***	7,81***	48,4 $\pm$ 3,9	11,10***	10,98***
F _{5;84}	32,41**			39,28**		
F _{4;70}	4,67**			35,01**		
pré-tratado						
C	96,3 $\pm$ 1,1	-		94,6 $\pm$ 1,3	-	
S	94,9 $\pm$ 0,7	1,14	-	90,2 $\pm$ 0,8	2,78*	-
D ₂₀	97,9 $\pm$ 0,5	1,27	3,44**	94,7 $\pm$ 1,6	0,09	2,50
D ₄₀	95,8 $\pm$ 1,5	0,28	0,56	90,5 $\pm$ 3,9	0,99	0,06
D ₆₀	96,9 $\pm$ 0,7	0,41	2,02	94,0 $\pm$ 0,9	0,37	3,10
D ₈₀	96,2 $\pm$ 0,8	0,10	1,25	94,3 $\pm$ 0,9	0,21	3,44
F _{5;84}	1,13			1,22		
F _{4;70}	1,51			1,20		

Tabela IX. Número diário de larvas que completaram o desenvolvimento, em 15 garrafas para cada tratamento, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado).

dia	tratado					pré-tratado					
	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀	C	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀
4º						382				344	
5º	35	169				879	1054	630	318	954	792
6º	695	385	200			141	340	748	731	132	609
7º	660	463	495			15	29	82	314	23	38
8º	30	133	305	270	116	20		8	59		4
9º	9	83	150	415	172	2			15		
10º		39	96	218	155	4					
11º		25	72	173	143	2					
12º		39	27	61	93						
13º		19	8	49	65						
14º		8	0	59	62						
15º		3	2	32	19						
16º				14	45						
17º				7	10						
18º					6						
Total	1429	1366	1355	1298	886	1445	1423	1468	1437	1453	1443

Tabela X. Número diário de pupas que completaram o desenvolvimento, em 15 garrafas para cada tratamento, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado).

dia	tratado					pré-tratado					
	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀	C	S	D ₂₀	D ₄₀	D ₆₀	D ₈₀
7º						288					
8º						783	2	211	240	249	106
9º	380	35				295	936	915	727	1038	1095
10º	834	227	128			40	371	280	325	99	208
11º	165	564	348			11	44	11	51	21	4
12º	11	325	383	69	22	2		2	9	3	1
13º		80	209	339	123			0	3		
14º		37	82	344	157			0	0		
15º		22	31	180	128			0	0		
16º		2	20	106	115			2	2		
17º		7	10	47	88						
18º			2	29	49						
19º				32	27						
20º				9	17						
Total	1390	1299	1213	1152	726	1419	1353	1421	1357	1410	1414

quanto o tempo de desenvolvimento de larvas e de pupas apresentam números e padrões semelhantes que são evidenciados nas figuras 9 para larvas e 10 para pupas. Na tabela XI são apresentadas, para os grupos tratados e pré-tratados, as viabilidades larva-pupa, pupa-imago e larva-imago. Observa-se o efeito do composto nos grupos tratados, com a viabilidade larva-imago variando de 48% (D_{80}) a 87% (D_{20}). Contudo, o composto parece não ter efeito quando as moscas F_1 tratadas na fase larvária são colocadas em meio padrão (grupos pré-tratados), apresentando todos os grupos, viabilidades próximas a do controle.

As correlações entre as fases de larva e de pupa que completaram o desenvolvimento (tabela XII), mostraram r significativo em todos os grupos tratados e, nos pré-tratados em C e D_{60} . A figura 11 mostra os diagramas de dispersão representando estas correlações. Verifica-se uma clara diferença na viabilidade de larvas e de pupas desenvolvidas no meio com Dicofol e com solvente e no meio padrão, sendo que neste último praticamente todas as pupas produziram imagos.

Na figura 12 estão as distribuições dos valores de larvas e de pupas que completaram o desenvolvimento, representados sob a forma de ramo-e-folhas. Observa-se que nos grupos tratados, à medida em que se aumenta a concentração do composto ocorre maior variação de valores, enquanto que nos pré-tratados, estes valores concentram-se em uma mesma faixa e são todos altos. Os diagramas esquemáticos correspondentes são apresentados nas figuras 13, à esquerda para larva e à direita para pupa, onde se evidencia a ação do composto mostrando uma relação dose-efeito sobre a viabilidade nas duas fases.

Ainda com os dados ordenados, fez-se uma análise de regressão dos mesmos de forma a verificar se o composto agiu sobre a variabilidade natural das réplicas. Os valores de a e b , bem como os de F para a significância de b estão nas tabelas XIII e XIV. Em todos os



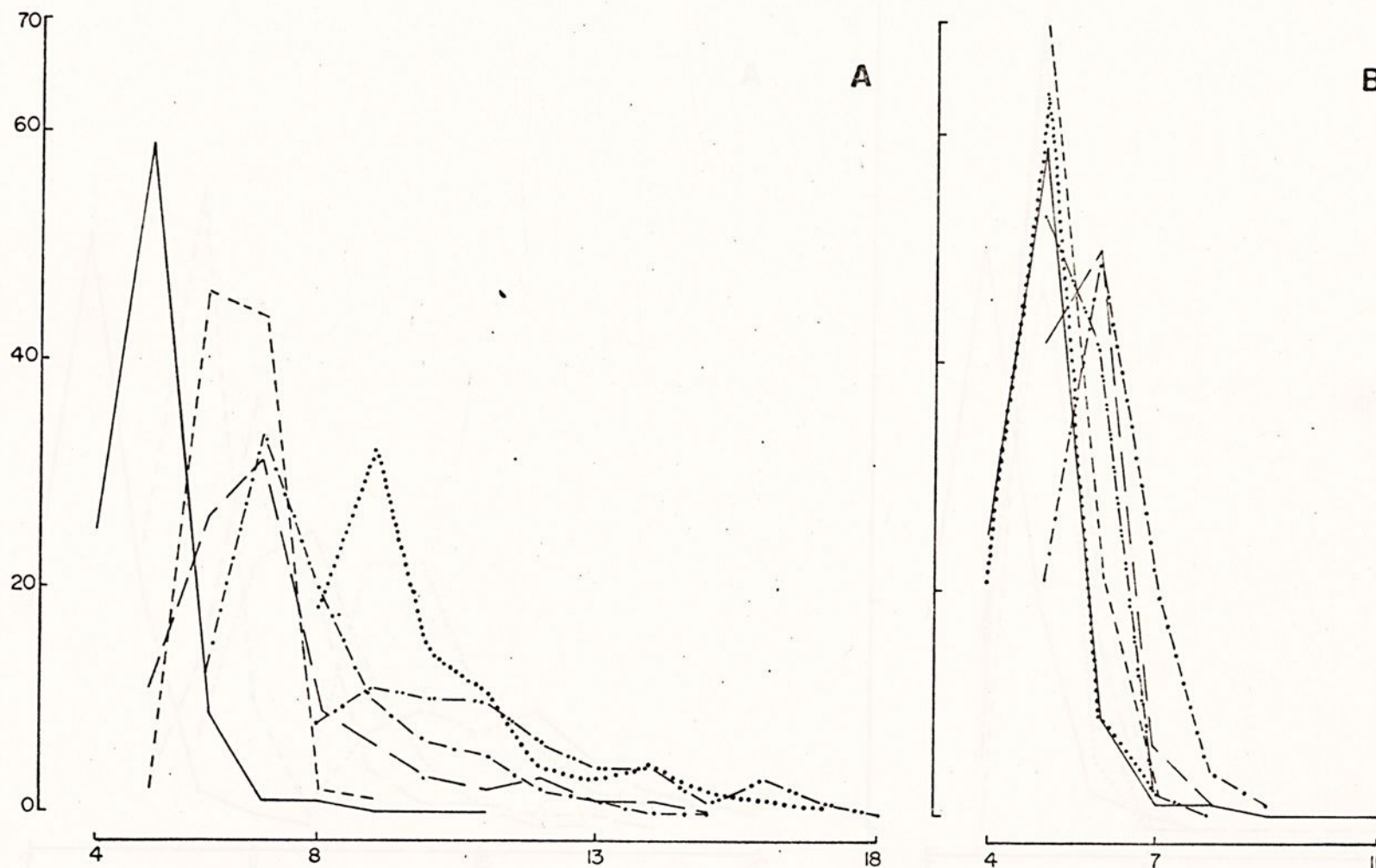


Figura 9. Número médio diário de larvas. (ordenada) que completaram o desenvolvimento, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (A) e em meio de cultura padrão (B). Abscissa: dias. Controle: —; solvente ----; D₂₀ - - -; D₄₀; D₆₀ e D₈₀

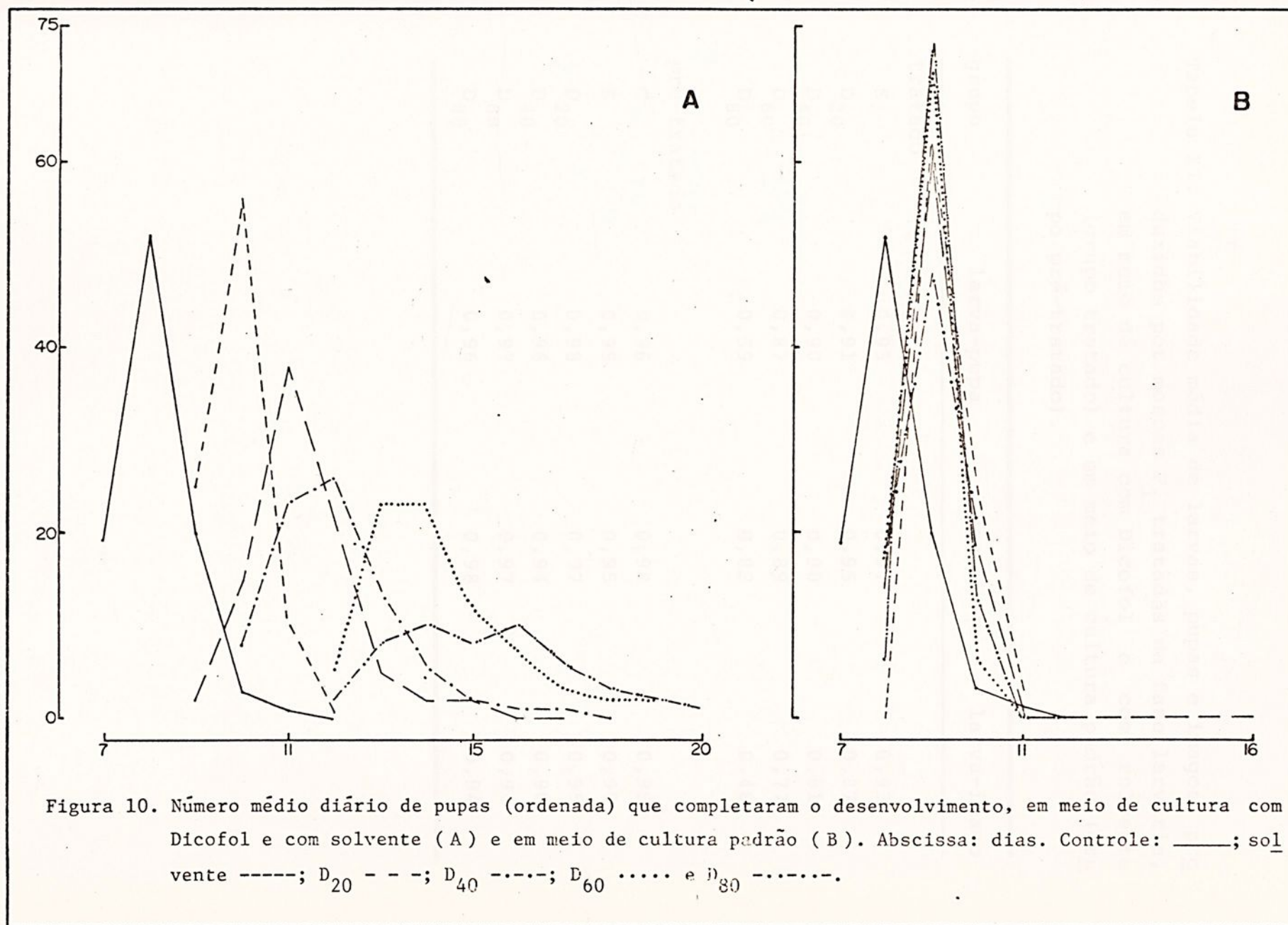


Tabela XI. Viabilidade média de larvas, pupas e imagos, produzidos por moscas F_1 tratadas na fase larvária, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado).

grupo	larva-pupa	pupa-imago	larva-imago
tratado			
S	0,95	0,97	0,93
D ₂₀	0,91	0,95	0,87
D ₄₀	0,90	0,90	0,81
D ₆₀	0,87	0,89	0,77
D ₈₀	0,59	0,82	0,48
pré-tratado			
C	0,96	0,98	0,95
S	0,95	0,95	0,90
D ₂₀	0,98	0,97	0,95
D ₄₀	0,96	0,94	0,90
D ₆₀	0,97	0,97	0,94
D ₈₀	0,96	0,98	0,94

Tabela XII. Correlação entre as fases de larva e de pupa que completaram o desenvolvimento, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). t de Student para a significância de r. *= $P < 0,05$; **= $P < 0,01$; ***= $P < 0,001$

grupo	r	t
tratado		
S	0,609	2,770*
D ₂₀	0,722	3,767**
D ₄₀	0,620	2,847*
D ₆₀	0,623	2,872*
D ₈₀	0,920	8,492***
pré-tratado		
C	0,902	7,546***
S	0,011	0,041
D ₂₀	0,136	0,496
D ₄₀	0,326	1,246
D ₆₀	0,606	2,750*
D ₈₀	0,480	1,975

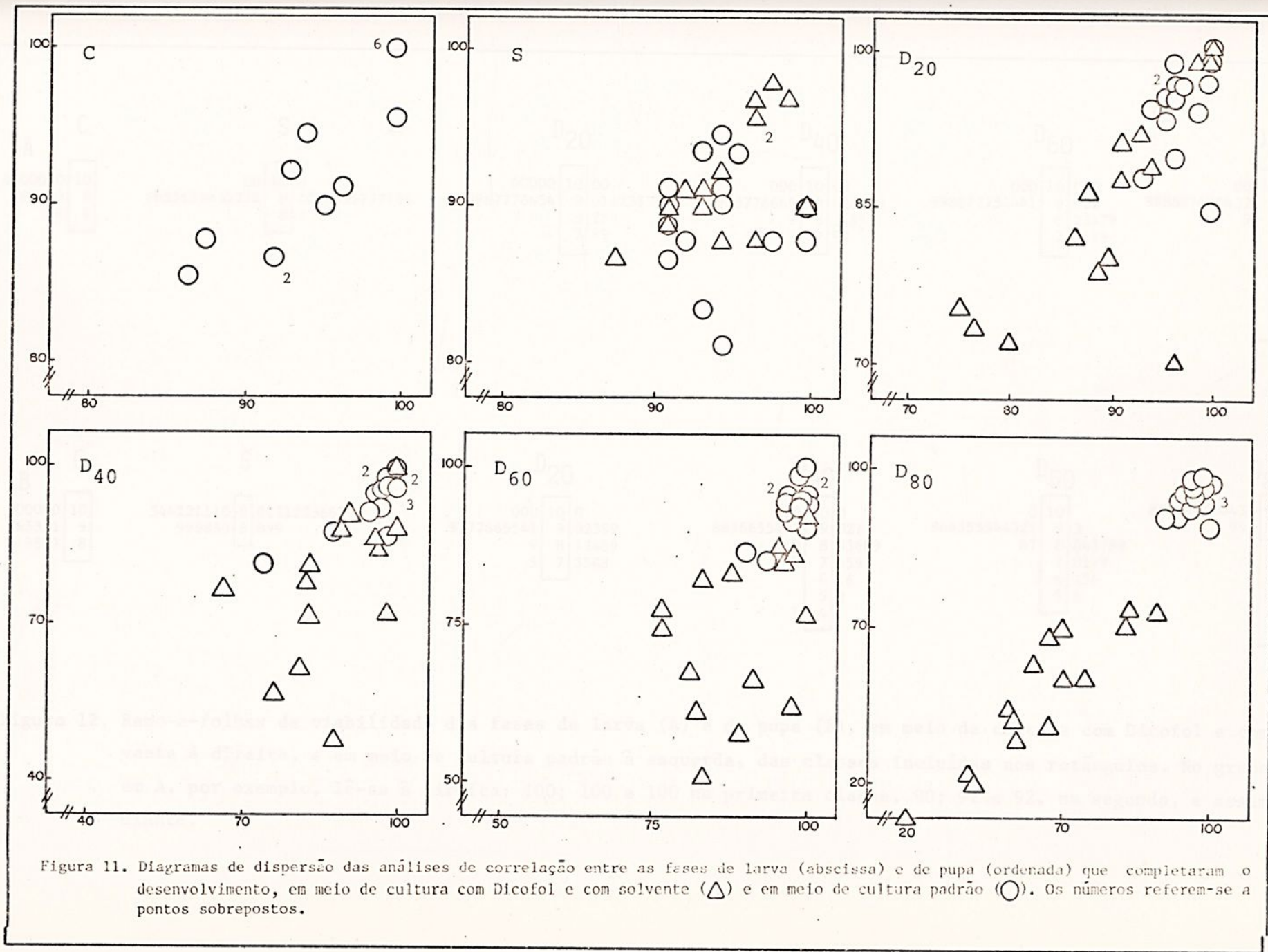


Figura 11. Diagramas de dispersão das análises de correlação entre as fases de larva (abscissa) e de pupa (ordenada) que completaram o desenvolvimento, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (Δ) e em meio de cultura padrão ($\circ$). Os números referem-se a pontos sobrepostos.

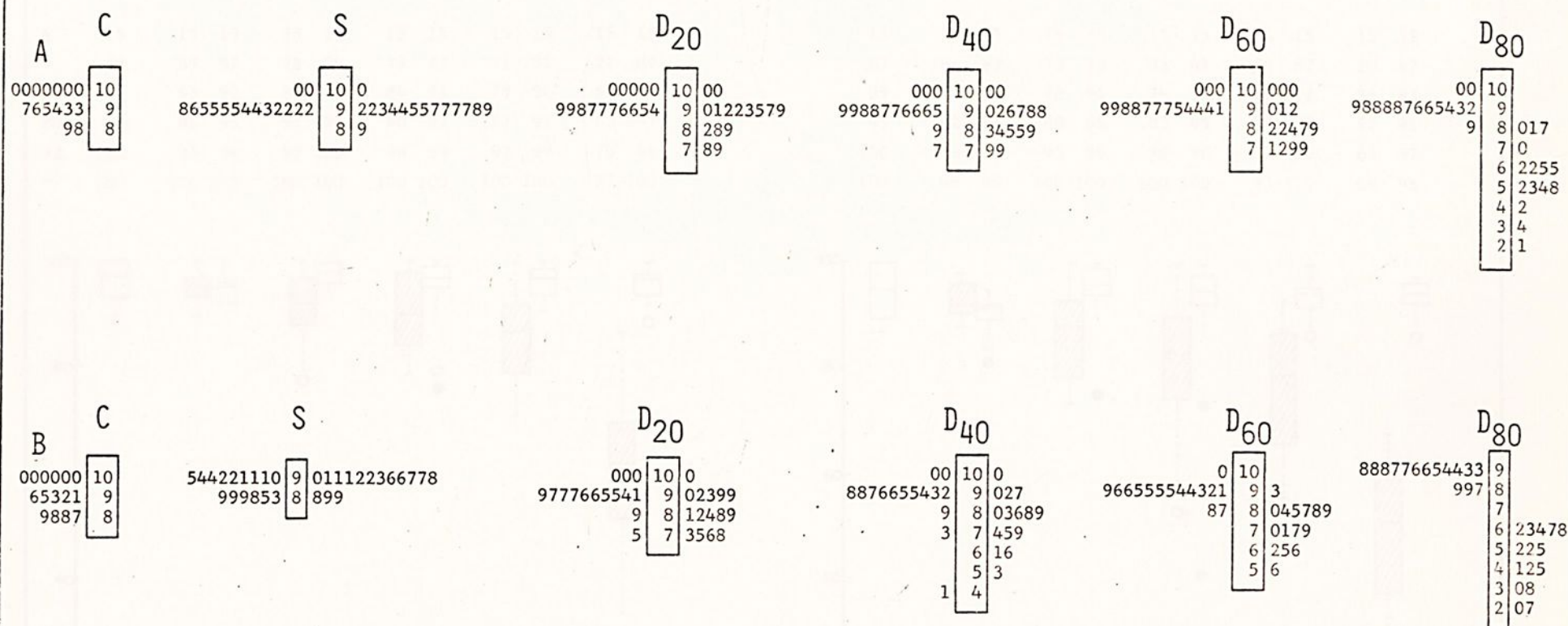


Figura 12. Ramo-e-folhas da viabilidade das fases de larva (A) e de pupa (B), em meio de cultura com Dicofol e com sol-
vente à direita, e em meio de cultura padrão à esquerda, das classes incluídas nos retângulos. No grupo D₆₀
em A, por exemplo, lê-se à direita: 100; 100 e 100 na primeira classe, 90; 91 e 92, na segunda, e assim por
diante.

ϕ	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
*	88	89	92	78	94	79	77	71	91	21	89
J1	93	93	92	88	96	84	95	79	94	52	94
MD	97	95	95	92	98	90	97	87	97	62	97
J2	100	97	96	97	100	98	99	92	99	70	98
*	100	100	100	100	100	100	100	100	100	87	100

15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
87	88	83	73	75	33	41	56	87	20	87	
89	90	89	78	94	74	92	66	92	38	93	
95	92	91	88	96	83	95	79	95	52	95	
100	96	92	93	99	90	98	87	96	63	97	
100	98	95	100	100	100	100	93	100	68	98	

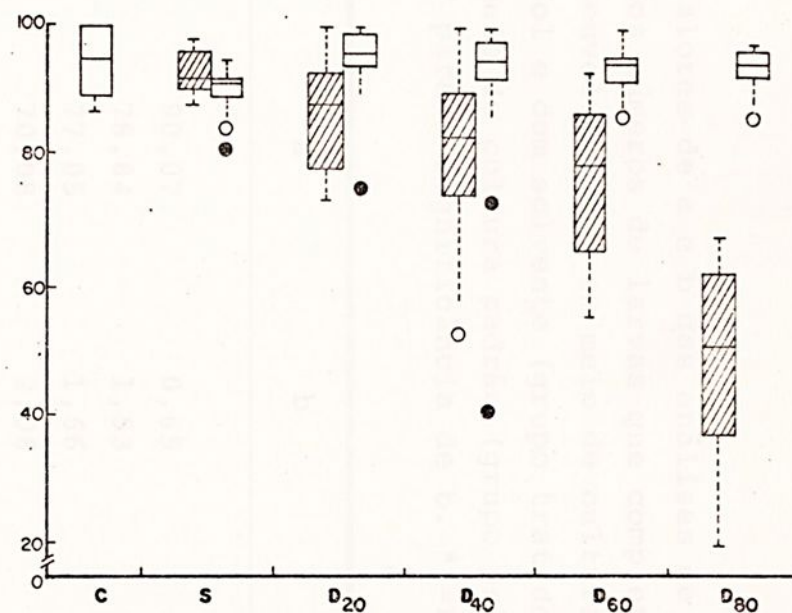
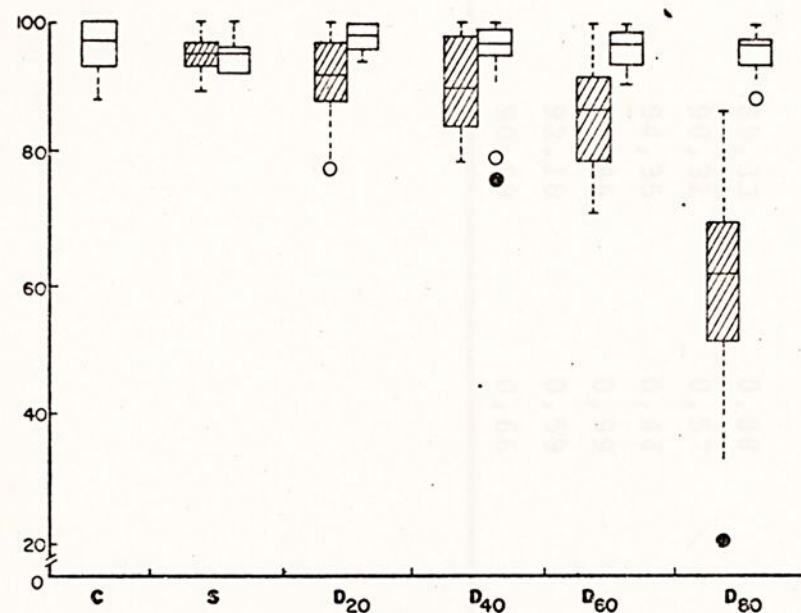


Figura 13. Diagramas esquemáticos representando a viabilidade de larva (esquerda) e de pupa (direita) em meio de cultura com Dicofol e com solvente (▨) e em meio de cultura padrão (□). Em cima os esquemas de cinco números: ϕ = número de observações; * = valor máximo ou mínimo; J1 = junta 1; MD = mediana; J2 = junta 2.

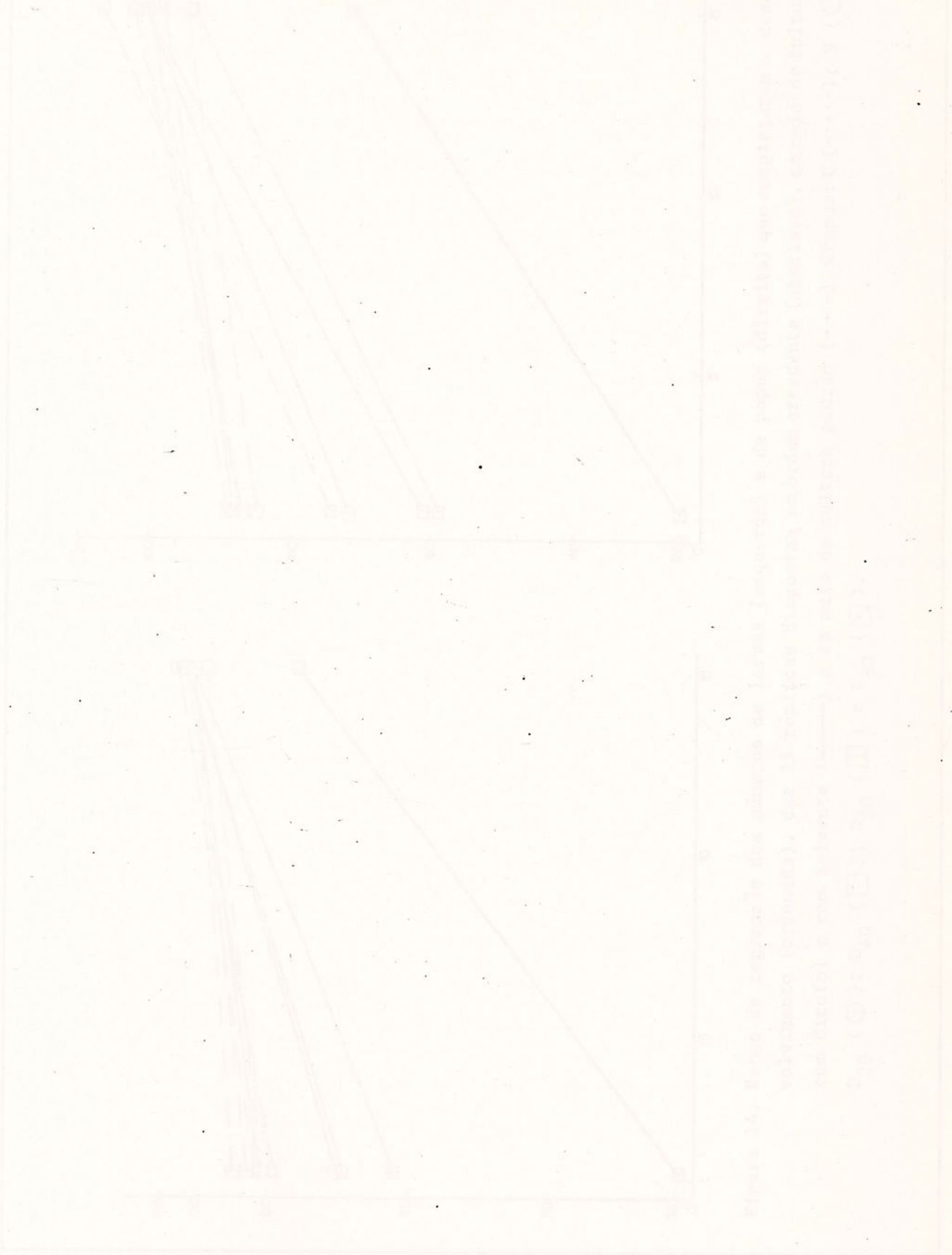
Tabela XIII. Valores de a e b das análises de regressão dos números de larvas que completaram o desenvolvimento, em meio de cultura com Dico fol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). F para a significância de b. $^{**}=P < 0,01$

grupo	a	b	F
tratado			
S	90,07	0,65	231,96**
D ₂₀	78,84	1,53	199,46**
D ₄₀	77,05	1,66	476,68**
D ₆₀	70,08	2,06	382,23**
D ₈₀	28,55	3,81	167,64**
pré-tratado			
C	89,33	0,88	84,40**
S	90,32	0,57	102,60**
D ₂₀	94,35	0,44	189,59**
D ₄₀	87,86	0,99	17,06**
D ₆₀	92,18	0,59	162,81**
D ₈₀	90,89	0,66	124,81**

Tabela XIV. Valores de a e b das análises de regressão dos números de pupas, que completaram o desenvolvimento, em meio de cultura com *Di*cofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). F para a significância de b. **= $P < 0,01$

grupo	a	b	F
tratado			
S	86,90	0,72	13,25**
D ₂₀	70,54	2,01	1128,00**
D ₄₀	57,87	2,88	206,64**
D ₆₀	56,97	2,48	521,24**
D ₈₀	21,49	3,46	452,74**
pré-tratado			
C	85,66	1,12	176,71**
S	84,66	0,69	124,45**
D ₂₀	85,68	1,13	23,56**
D ₄₀	71,58	2,36	12,26**
D ₆₀	88,09	0,74	104,82**
D ₈₀	88,27	0,75	117,54**

casos F foi significativo. As retas obtidas são apresentadas na figura 14, à esquerda para larvas e à direita para pupas.



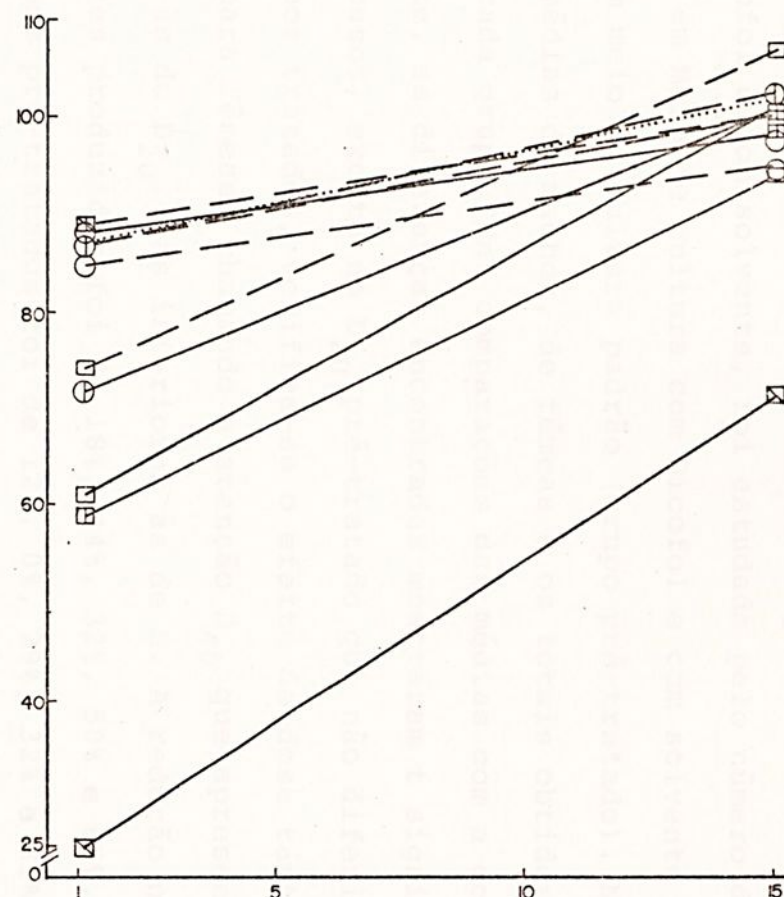
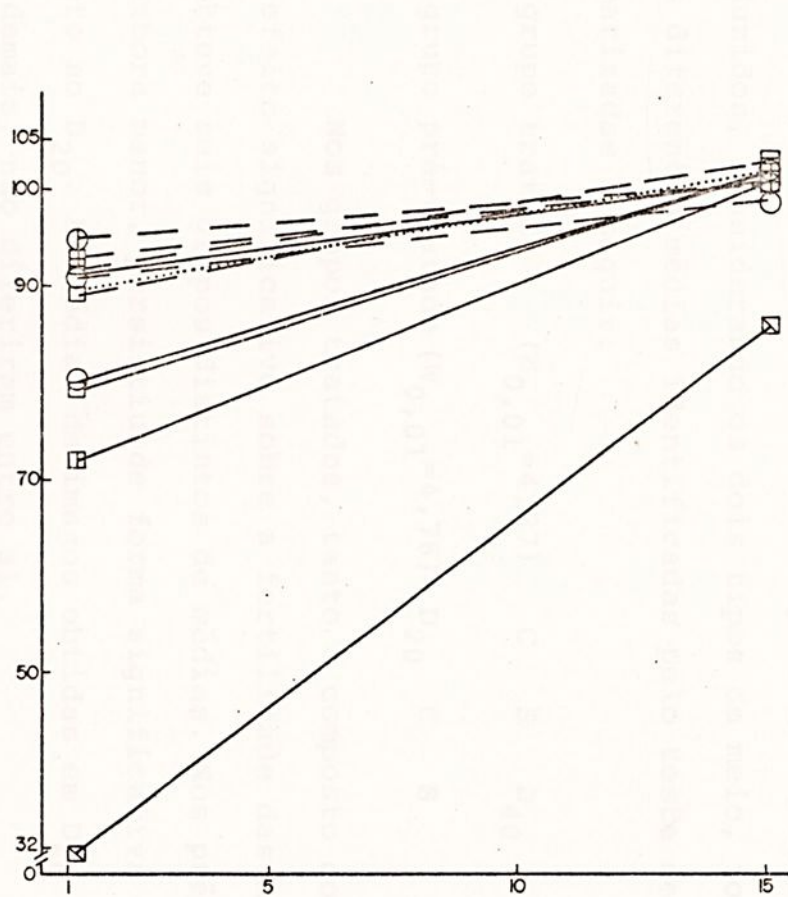


Figura 14. Retas de regressão dos números de larvas (esquerda) e de pupas (direita) que completaram o desenvolvimento (ordenada), das 15 réplicas dispostas em ordem crescente (abscissa), em meio de cultura com Dicofol e com solvente (—) e em meio de cultura padrão (---). Grupos: C (.....); S (○); D_{20} (⊙); D_{40} (□); D_{60} (◻) e D_{80} (◻).

III.4. Fertilidade

A fertilidade de moscas F_1 tratadas na fase larvária com Dicofol e com solvente, foi estudada pelo número de imagos produzidos em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupos tratados) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). Na tabela XV estão as médias de machos, de fêmeas e os totais obtidos das nove contagens de cada grupo. Nas comparações das médias com a do controle e do solvente, as diferenças encontradas mostraram t significativo em todos os casos, exceto no D_{20} pré-tratado que não diferiu do controle. Nos grupos tratados, verifica-se o efeito de dose tanto para machos quanto para fêmeas, chamando a atenção D_{40} que apresentou médias superiores às de D_{20} , mas inferiores às de S. A redução no total de descendentes produzidos foi de 18%, 44%, 32%, 50% e 65%, enquanto que nos grupos pré-tratados foi de 12%, 0%, 29%, 32% e 31%, respectivamente, para S, D_{20} , D_{40} , D_{60} , e D_{80} .

As análises de variância para os totais de descendentes produzidos, considerando os dois tipos de meio, foram significativas, e as diferentes médias identificadas pelo teste de Tukey, estão esquematizadas a seguir:

grupo tratado	$(W_{0,01}=4,87)$	C	S	D_{40}	D_{20}	D_{60}	D_{80}
grupo pré-tratado	$(W_{0,01}=4,76)$	D_{20}	C	S	D_{40}	<u>D_{80}</u>	<u>D_{60}</u>

Nos grupos tratados, tanto o composto como o solvente tiveram efeito significativo sobre a fertilidade das moscas de forma que se obteve seis grupos distintos de médias. Nos pré-tratados, o efeito embora menor, persistiu de forma significativa em todos os casos, exceto no D_{20} . As médias de imagos obtidas em D_{60} e D_{80} , diferentes das demais, não diferiram entre si.

Tabela XV. Número médio de imagos ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$) produzidos por moscas F_1 tratadas na fase larvária, em 20 garrafas para cada tratamento (10 casais por garrafa), em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). t de Student para a comparação das médias do controle (tc) e do solvente (ts) com as de cada grupo experimental. F para a homogeneidade das médias. **= $P < 0,01$; ***= $P < 0,001$

grupo	machos	fêmeas	total	tc	ts
tratado					
S	141,2 $\pm$ 4,1	147,6 $\pm$ 3,7	288,8 $\pm$ 7,3	6,74***	-
D ₂₀	92,4 $\pm$ 4,0	105,5 $\pm$ 4,6	198,0 $\pm$ 8,2	15,40***	8,31***
D ₄₀	118,0 $\pm$ 3,6	121,6 $\pm$ 3,4	239,6 $\pm$ 5,9	13,56***	5,23***
D ₆₀	84,2 $\pm$ 2,5	90,5 $\pm$ 3,0	174,8 $\pm$ 5,1	23,09***	12,85***
D ₈₀	55,1 $\pm$ 2,6	66,6 $\pm$ 2,3	121,6 $\pm$ 4,1	32,52***	19,94***
F _{5;114}			177,72**		
F _{4;95}			102,20**		
pré-tratado					
C	175,6 $\pm$ 3,2	175,8 $\pm$ 3,8	351,4 $\pm$ 5,7	-	-
S	157,4 $\pm$ 3,9	153,4 $\pm$ 3,6	310,8 $\pm$ 6,6	4,66***	-
D ₂₀	178,6 $\pm$ 4,0	180,8 $\pm$ 4,9	359,4 $\pm$ 7,9	0,82	4,74***
D ₄₀	125,4 $\pm$ 5,7	125,7 $\pm$ 5,1	251,0 $\pm$ 10,2	8,55***	4,92***
D ₆₀	124,6 $\pm$ 5,9	115,4 $\pm$ 4,6	240,0 $\pm$ 9,6	9,93***	6,80***
D ₈₀	122,4 $\pm$ 5,6	120,2 $\pm$ 6,5	242,6 $\pm$ 11,6	8,42***	5,13***
F _{5;114}			38,92**		
F _{4;95}			31,70**		

A tabela XVI refere-se ao número diário de machos, de fêmeas e ao total de imagos produzidos. Verifica-se que em meio com Dicol e com solvente, em S e D_{20} a emergência teve início no 10º dia a contar da data do cruzamento, em D_{40} e D_{60} no 11º e em D_{80} no 12º dia, mostrando também efeito de dose sobre o início da emergência. Em meio de cultura padrão, o controle e todos os demais grupos iniciaram a emergência no 10º dia, com exceção de D_{20} que teve início no 11º dia. Estas diferenças quanto ao início, bem como quanto ao padrão de emergência, podem ser melhor observadas na figura 15, para o total de imagos e na figura 16 para machos e fêmeas separadamente.

Em relação a razão sexual, a proporção 1:1 foi encontrada em todos os casos e em ambos os meios, sendo os resultados dos testes t não significativos com exceção de D_{20} e D_{80} tratados. Os percentuais obtidos, 115% e 121% para D_{20} ($t_{38} = 2,15; P < 0,05$) e D_{80} ($t_{38} = 3,26; P < 0,01$) respectivamente, diferem do padrão encontrado para a espécie.

A ação sobre a variabilidade natural das réplicas, foi avaliada pela análise de regressão dos dados ordenados em ordem crescente. Na tabela XVII estão os valores de a e b encontrados e os respectivos valores das análises de variância, sendo as retas de regressão representadas na figura 17. Nesta figura as retas correspondentes aos grupos pré-tratados e controle, agrupam-se na parte superior, e aquelas correspondentes aos grupos tratados, na parte inferior. O grupo S tratado também se encontra na parte superior do gráfico, mostrando o pequeno efeito do solvente sobre a fertilidade. Entre os grupos tratados, chama atenção D_{20} , por apresentar a maior variação entre as réplicas.



Tabela XVI. Número diário de imagos (machos, fêmeas e total) descendentes da geração F_1 tratada na fase larvária, obtidos em 20 garrafas para cada tratamento (10 casais por garrafa), em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado).

DIA	Grupo																	
	C			S			D ₂₀			D ₄₀			D ₆₀			D ₈₀		
	M	F	T	M	F	T	M	F	T	M	F	T	M	F	T	M	F	T
tratado																		
100				54	61	115	38	60	98									
110				50	53	103	71	106	177	3	2	5	6	10	16			
120				160	167	327	133	146	279	19	48	67	17	8	25	4	1	5
130				256	243	499	285	287	572	113	108	221	33	56	89	1	3	4
140				383	358	741	400	407	807	436	510	946	173	202	375	6	6	12
150				382	394	776	326	335	661	483	424	907	277	316	593	33	55	88
160				636	610	1246	254	330	584	437	391	828	353	371	724	102	142	244
170				469	550	1019	195	226	421	336	374	710	287	263	550	240	294	534
180				435	516	951	147	213	360	319	330	649	372	377	749	264	305	569
190										214	246	460	167	207	374	269	289	558
200																183	236	419
Total				2825	2952	5777	1849	2110	3959	2360	2433	4793	1685	1810	3495	1102	1331	2433
pré-tratado																		
100	57	67	124	85	92	177				134	191	325	12	40	52	112	169	281
110	49	39	88	41	39	80	5	16	21	180	179	359	55	56	111	241	212	453
120	164	177	341	76	83	159	55	68	123	148	167	315	94	103	197	205	208	413
130	469	447	916	457	442	899	253	284	537	223	227	450	156	168	324	213	204	417
140	563	522	1085	622	614	1236	588	614	1202	286	286	572	232	213	445	223	244	467
150	480	514	994	580	566	1146	658	640	1298	359	365	724	346	324	670	273	257	530
160	643	678	1321	514	543	1057	502	493	995	432	357	789	495	450	945	371	371	742
170	610	602	1212	413	369	782	604	528	1132	420	384	804	510	462	972	394	361	755
180	478	470	948	361	320	681	492	525	1017	325	358	683	593	492	1085	416	377	793
190							415	448	863									
Total	3513	3516	7029	3149	3068	6217	3572	3616	7188	2507	2514	5021	2493	2308	4801	2448	2403	4851

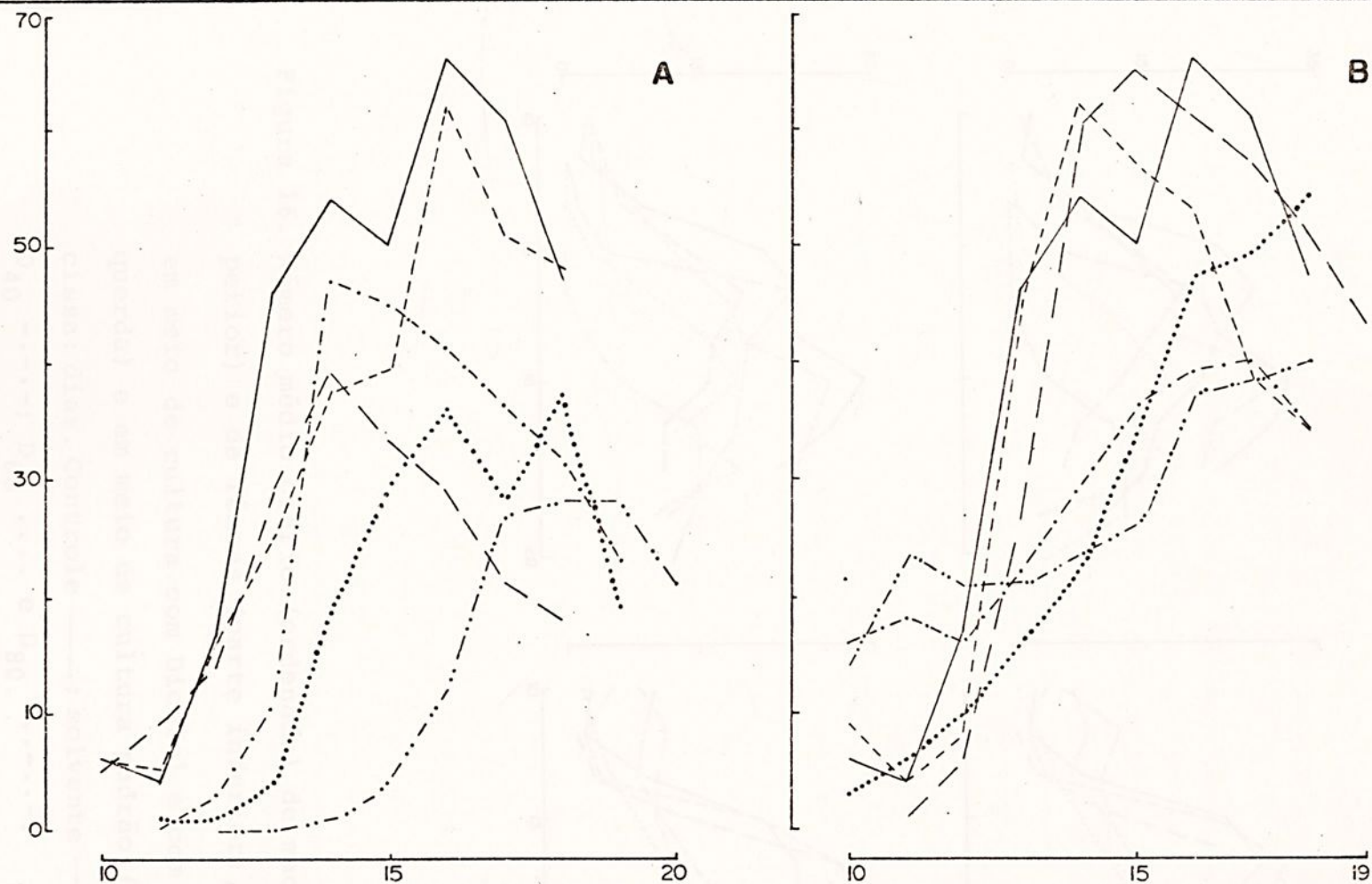


Figura 15. Número médio diário de imagens (ordenada) produzidos em meio de cultura com Dicofol e com solvente (A) e em meio de cultura padrão (B). Abscissa: dias. Controle —; solvente ----; D_{20} - - -; D_{40} - · - · -; D_{60} e D_{80} - - - - -.

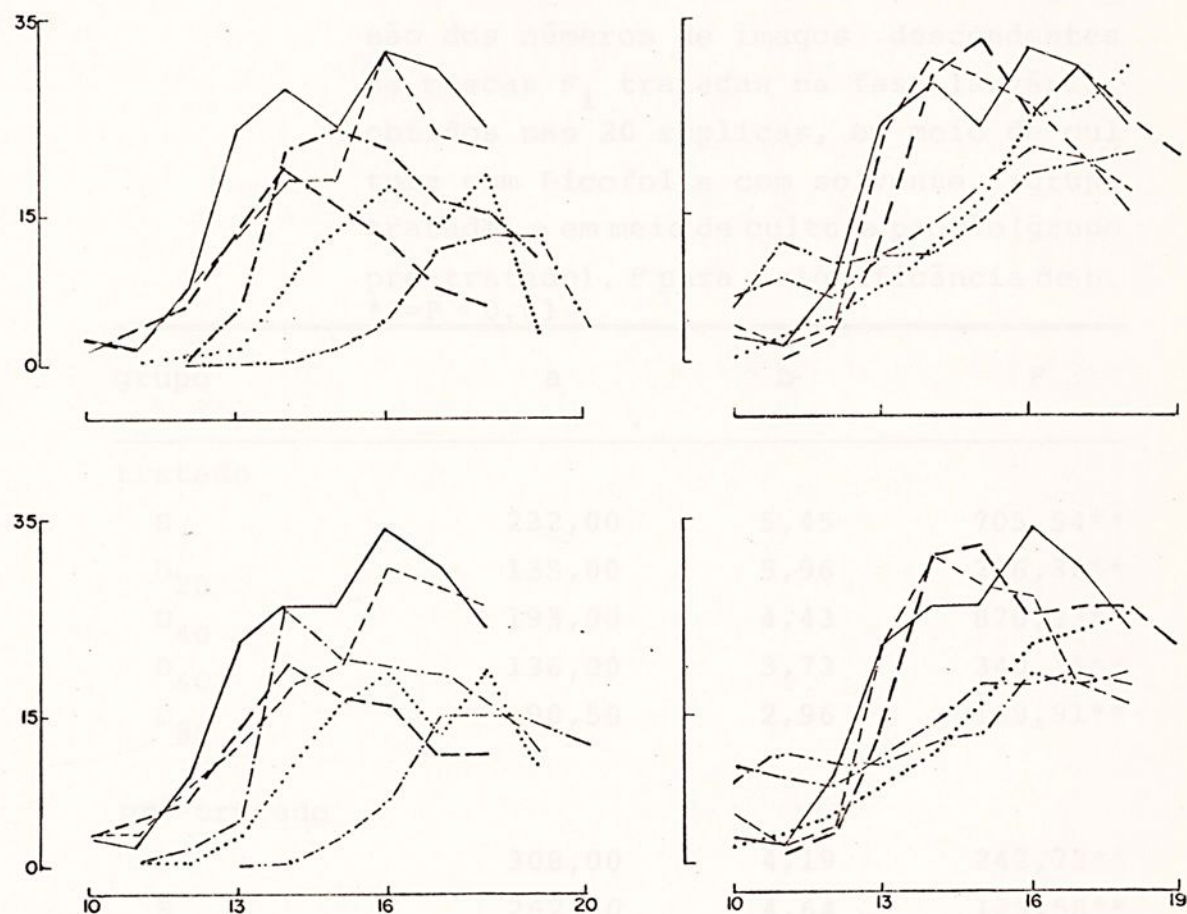


Figura 16. Número médio diário (ordenada) de machos (parte superior) e de fêmeas (parte inferior), produzidos em meio de cultura com Dicofol e com solvente (esquerda) e em meio de cultura padrão (direita). Abscissa: dias. Controle —; solvente ----; D₂₀ - - -; D₄₀ - . - . -; D₆₀ e D₈₀ - . - . - .

Tabela XVII. Valores de a e b das análises de regressão dos números de imagos descendentes de moscas F_1 tratadas na fase larvária, obtidos nas 20 réplicas, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). F para a significância de b.
 $**=P < 0,01$

grupo	a	b	F
tratado			
S	232,00	5,45	705,54**
D ₂₀	135,00	5,96	256,38**
D ₄₀	193,00	4,43	870,93**
D ₆₀	136,00	3,73	340,16**
D ₈₀	90,50	2,96	169,91**
pré-tratado			
C	308,00	4,19	242,73**
S	262,00	4,64	125,58**
D ₂₀	299,00	5,71	212,88**
D ₄₀	172,00	7,55	354,37**
D ₆₀	167,00	6,95	179,20**
D ₈₀	158,00	8,08	102,28**



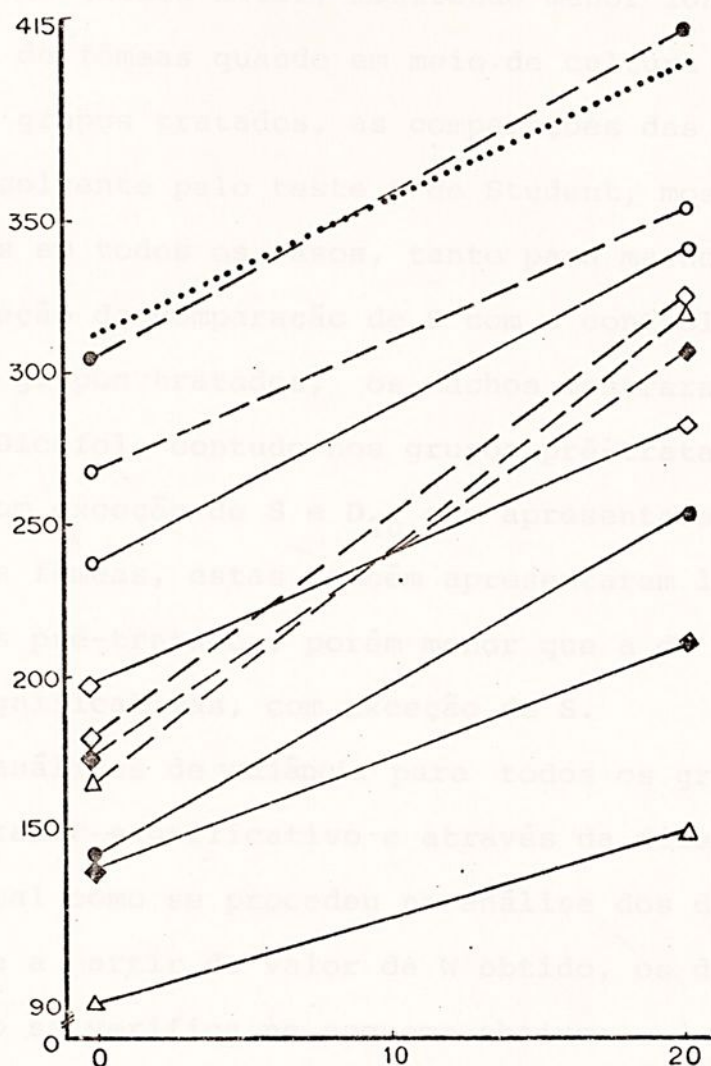


Figura 17. Retas de regressão dos números de imagos, descendentes de moscas F_1 tratadas na fase larvária, produzidos (ordenada) nas 20 réplicas dispostas em ordem crescente (abscissa), em meio de cultura com Difocol e com solvente (—) e em meio de cultura padrão (---). Grupos: C (·····); S (○); D_{20} (●); D_{40} (□); D_{60} (■) e D_{80} (△).

III.5. Longevidade

O tempo médio de sobrevivência das moscas F_1 de cada grupo é apresentado na tabela XVIII, mostrando menor longevidade tanto de machos quanto de fêmeas quando em meio de cultura com Dicofol e com solvente. Nos grupos tratados, as comparações das médias com a do controle e a do solvente pelo teste t de Student, mostraram diferenças significativas em todos os casos, tanto para machos quanto para fêmeas, com exceção da comparação de S com o controle, para machos.

Nos grupos tratados, os machos mostraram-se mais sensíveis ao efeito do Dicofol, contudo nos grupos pré-tratados, não diferiram do controle com exceção de S e D_{20} que apresentaram longevidades maiores. Quanto às fêmeas, estas também apresentaram longevidades maiores nos grupos pré-tratados, porém menor que a do controle, sendo as diferenças significativas, com exceção de S.

As análises de variância para todos os grupos em ambos os meios, indicaram F significativo e através da diferença significativa de Tukey, tal como se procedeu na análise dos demais componentes, identificou-se a partir do valor de W obtido, os diferentes grupos de médias como se verifica no esquema abaixo:

MACHOS

grupo tratado	$(W_{0,01} = 6,75)$	<u>C</u>	<u>S</u>	<u>D_{20}</u>	<u>D_{40}</u>	<u>D_{80}</u>	<u>D_{60}</u>
grupo pré-tratado	$(W_{0,01} = 7,98)$	<u>D_{20}</u>	<u>S</u>	<u>D_{40}</u>	<u>C</u>	<u>D_{80}</u>	<u>D_{60}</u>

FÊMAS

grupo tratado	$(W_{0,01} = 6,91)$	<u>C</u>	<u>S</u>	<u>D_{20}</u>	<u>D_{40}</u>	<u>D_{60}</u>	<u>D_{80}</u>
grupo pré-tratado	$(W_{0,01} = 8,33)$	<u>C</u>	<u>S</u>	<u>D_{40}</u>	<u>D_{20}</u>	<u>D_{80}</u>	<u>D_{60}</u>



Tabela XVIII. Longevidade média ($\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$), em dias, de 100 imagos de cada sexo da geração F_1 tratada na fase larvária, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (grupo tratado) e em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). t de Student para a comparação das médias do controle (tc) e do solvente (ts) com as de cada grupo experimental. F para a homogeneidade das médias. **= $P < 0,01$; ***= $P < 0,001$

grupo	machos			fêmeas		
	$\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$	tc	ts	$\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$	tc	ts
tratado						
S	59,4 $\pm$ 1,9	1,30	-	64,1 $\pm$ 1,9	2,29**	-
D ₂₀	42,3 $\pm$ 1,4	9,46***	7,21***	48,1 $\pm$ 1,6	9,06***	6,34***
D ₄₀	42,8 $\pm$ 1,2	10,00***	7,48***	50,1 $\pm$ 1,3	9,05***	6,06***
D ₆₀	35,6 $\pm$ 1,4	12,84***	10,20***	40,6 $\pm$ 1,1	13,91***	10,58***
D ₈₀	40,0 $\pm$ 1,2	11,54***	8,81***	40,8 $\pm$ 1,1	13,89***	10,54***
F _{5;594}		57,72**			66,45**	
F _{4;495}		39,85**			45,00**	
pré-tratado						
C	62,6 $\pm$ 1,6	-		70,2 $\pm$ 1,8	-	
S	68,5 $\pm$ 1,6	2,56**	-	68,5 $\pm$ 1,9	0,62	-
D ₂₀	70,4 $\pm$ 1,9	3,18**	0,77	58,2 $\pm$ 1,8	4,60***	3,91***
D ₄₀	63,9 $\pm$ 1,5	0,57	2,10**	61,5 $\pm$ 1,9	3,31***	2,64**
D ₆₀	58,8 $\pm$ 1,9	1,56	3,88***	55,5 $\pm$ 1,6	6,00***	5,24***
D ₈₀	61,8 $\pm$ 1,9	0,32	2,65**	59,7 $\pm$ 1,8	4,04***	3,36***
F _{5;594}		6,28**			10,39**	
F _{4;495}		7,32**			7,35**	

Nos grupos tratados, os machos, apresentaram três grupos de longevidades médias, controle e solvente, D_{20} , D_{40} e D_{80} , e D_{60} que não diferiu significativamente apenas de D_{80} . Nos grupos pré-tratados os machos apresentaram longevidades semelhantes a do controle, o que é evidenciado pelos três grupos identificados pelo teste de Tukey, D_{20} , S, D_{40} e C; S, D_{40} , C e D_{80} e; D_{40} , C, D_{80} e D_{60} .

As fêmeas, nos grupos tratados, também apresentaram três grupos de longevidades médias, tendo um mesmo efeito sobre a longevidade, as concentrações de 20 e 40 mg e as de 60 e 80 mg, como mostrado pelos grupos C e S, D_{20} e D_{40} , e D_{60} e D_{80} . Quando mantidas em meio padrão, as fêmeas mostraram persistência do efeito do Dicofol, embora em menor grau, pois nos quatro grupos pré-tratados as longevidades são significativamente menores que a do controle. Não diferiu do controle o grupo S, e este de D_{40} .

A observação diária acompanhada da anotação do número de mortos, possibilitou o traçado das curvas de sobrevivência (figura 18). Para as moscas mantidas em meio com Dicofol e com solvente, observa-se dois conjuntos, um constituído pelo controle e solvente e outro por D_{20} , D_{40} , D_{60} e D_{80} . Tanto para machos quanto para fêmeas, o solvente acompanha o controle com valores ligeiramente inferiores, e nos outros quatro grupos observa-se um mesmo padrão, sendo o efeito do Dicofol menos acentuado para as fêmeas. Para as moscas mantidas em meio de cultura padrão, os dois conjuntos não são tão distintos, mas são mais perceptíveis nas fêmeas evidenciando a persistência do efeito do Dicofol.

Os números de mortes ocorridas ao longo do tempo estão representados nos ramo-e-folhas apresentados na figura 19 para machos e 20 para fêmeas. As representações gráficas destas distribuições são mostradas nas figuras 21 e 22 para machos e fêmeas, respectiva-



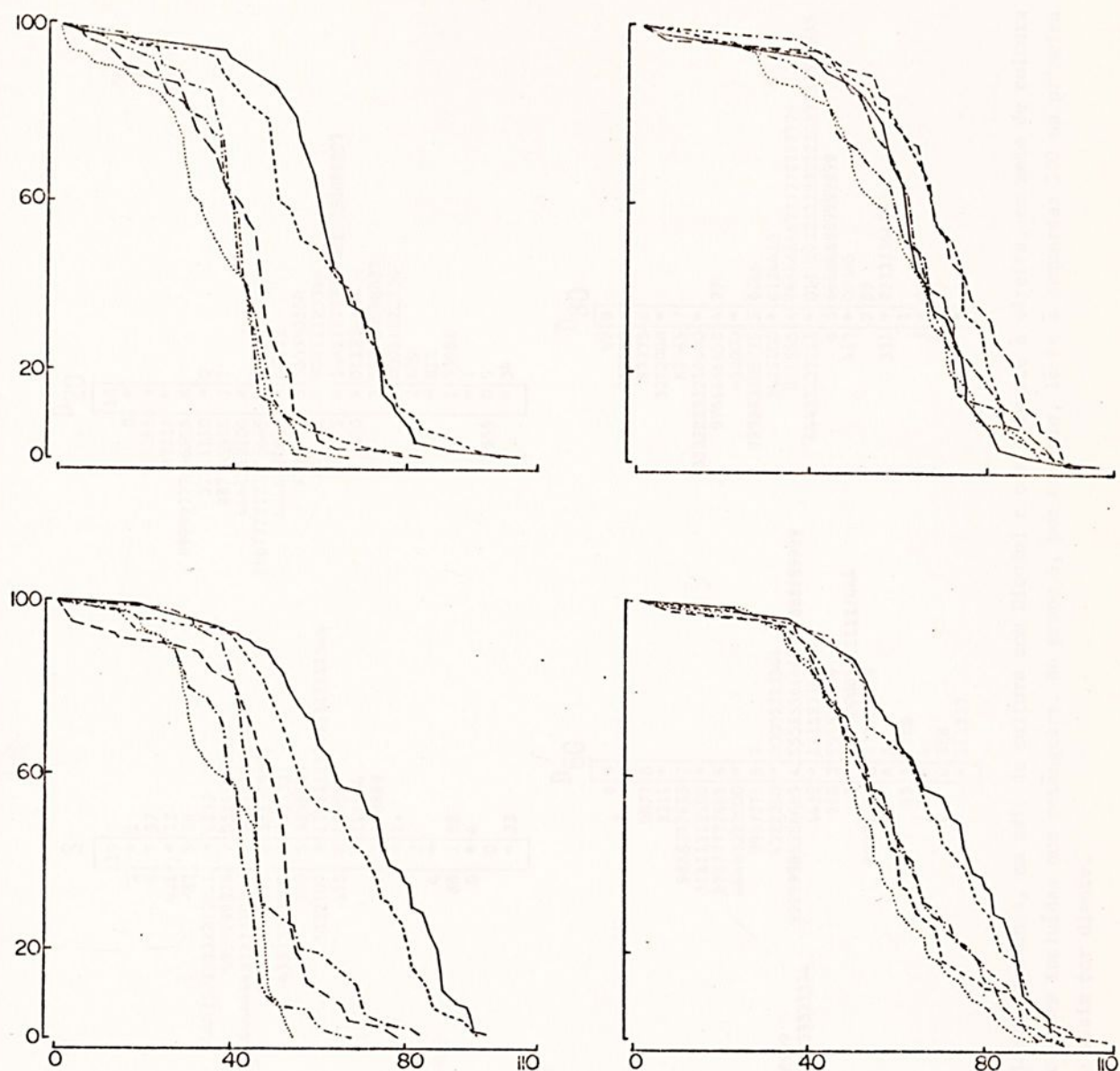


Figura 18. Longevidade em dias (abscissa) de machos (parte superior) e de fêmeas (parte inferior) da geração F_1 tratada na fase larvária, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (esquerda), e em meio de cultura padrão (direita). Ordenada: número de moscas. Controle —; S ----; D_{20} - - -; D_{40} - . - . -; D_{60} e D_{80} - . - . - . - .

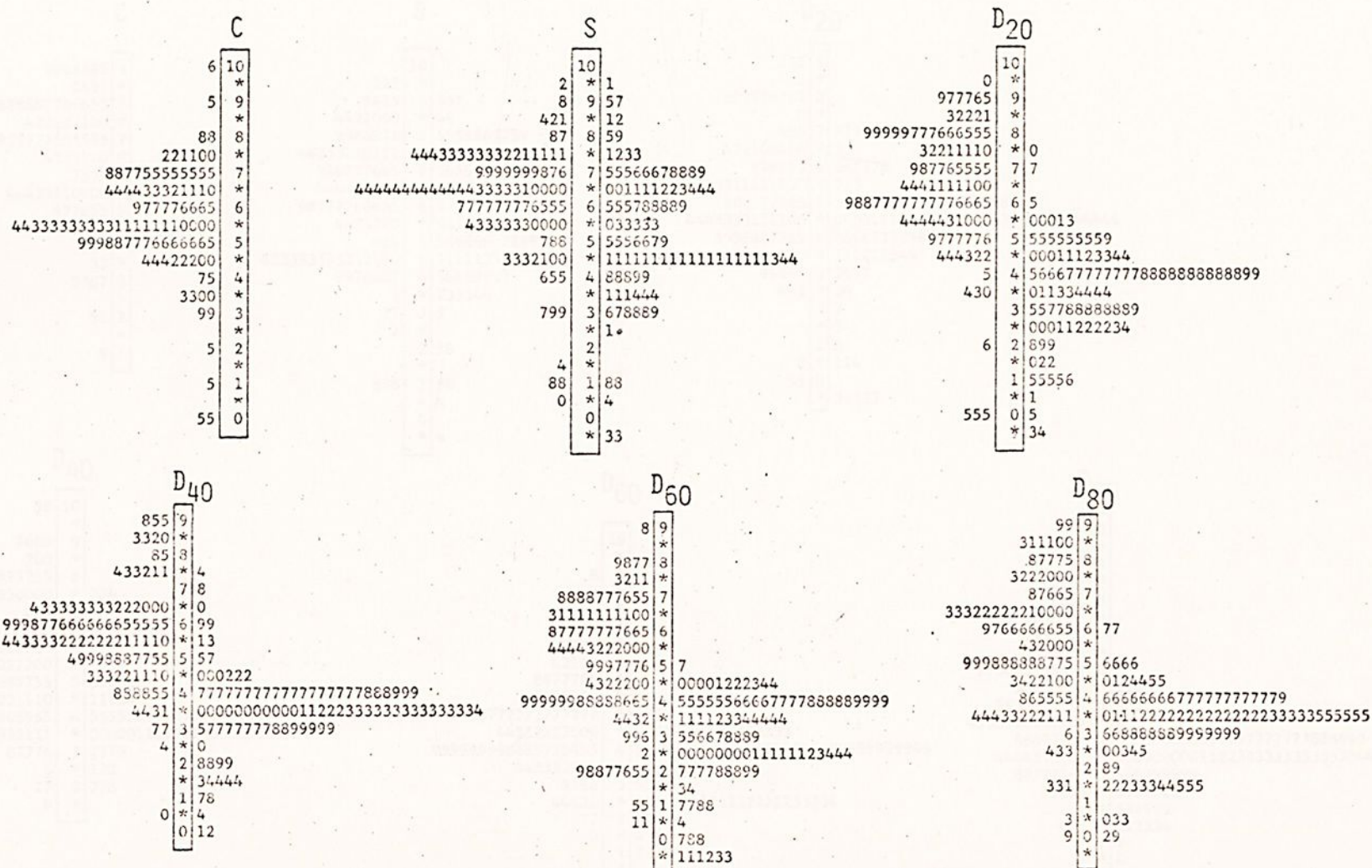


Figura 19. Ramo-e-folhas da longevidade de machos, em meio de cultura com Dicofol e com solvente à direita, em meio de cultura padrão à esquerda, das classes incluídas nos retângulos. No grupo S, por exemplo, lê-se à esquerda: 102 na primeira classe, 98 na segunda, e assim por diante.

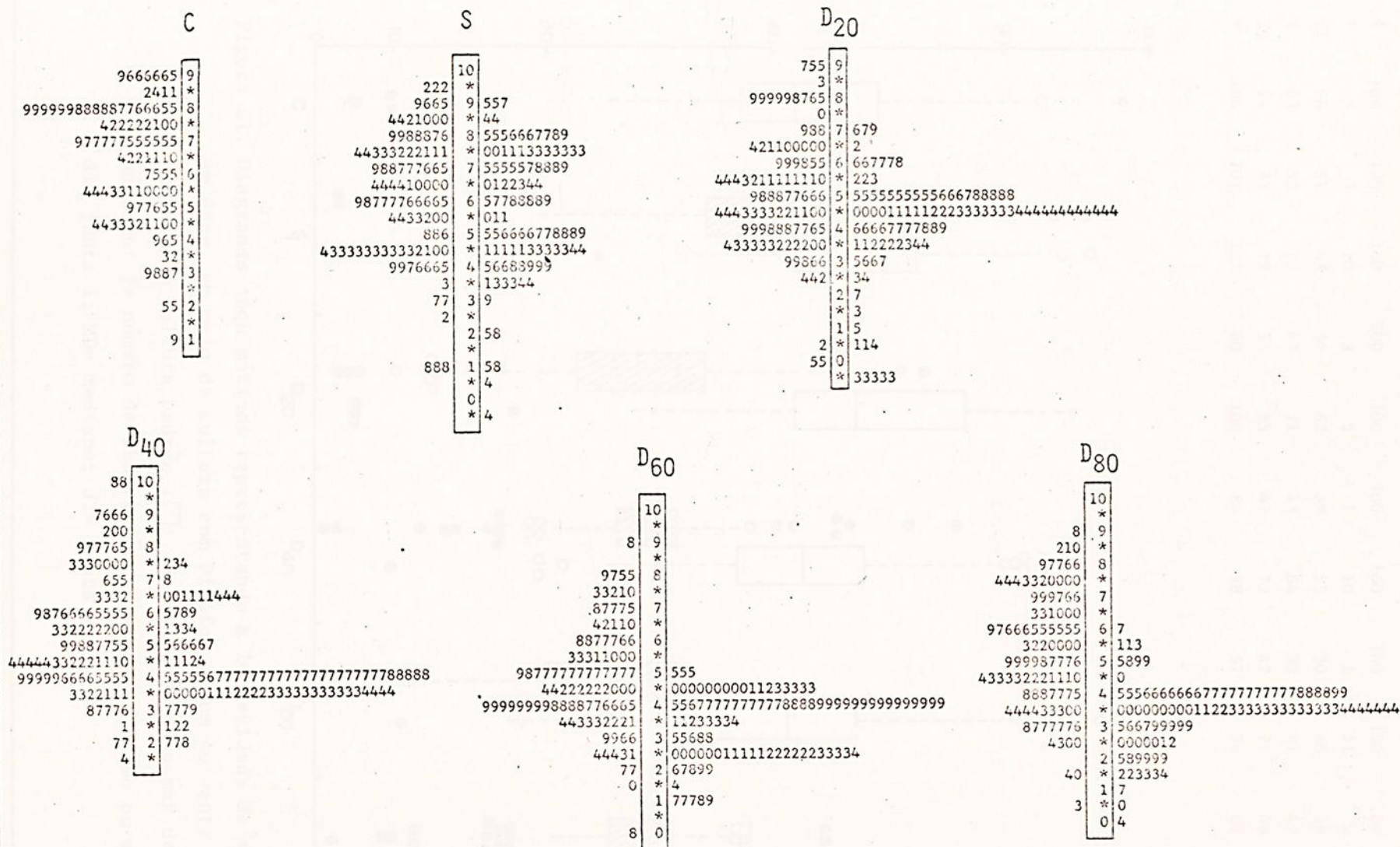


Figura 20. Ramo-e-folhas da longevidade de fêmeas, em meio de cultura com Dicofol e com solvente à direita, e em meio de cultura padrão à esquerda, das classes incluídas nos retângulos. No grupo D₄₀, por exemplo, lê-se à esquerda: 108 e 108, na primeira classe, 96; 96; 96 e 97 na segunda, e assim por diante.

ϕ	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
*	5	3	10	3	5	1	10	1	11	2	9
J1	56	51	63	34	62	39	55	30	48	38	47
M	63	58	73	47	71	43	64	38	61	42	64
J2	74	73	79	51	85	47	72	47	71	46	73
*	106	101	102	80	100	84	98	57	98	67	99

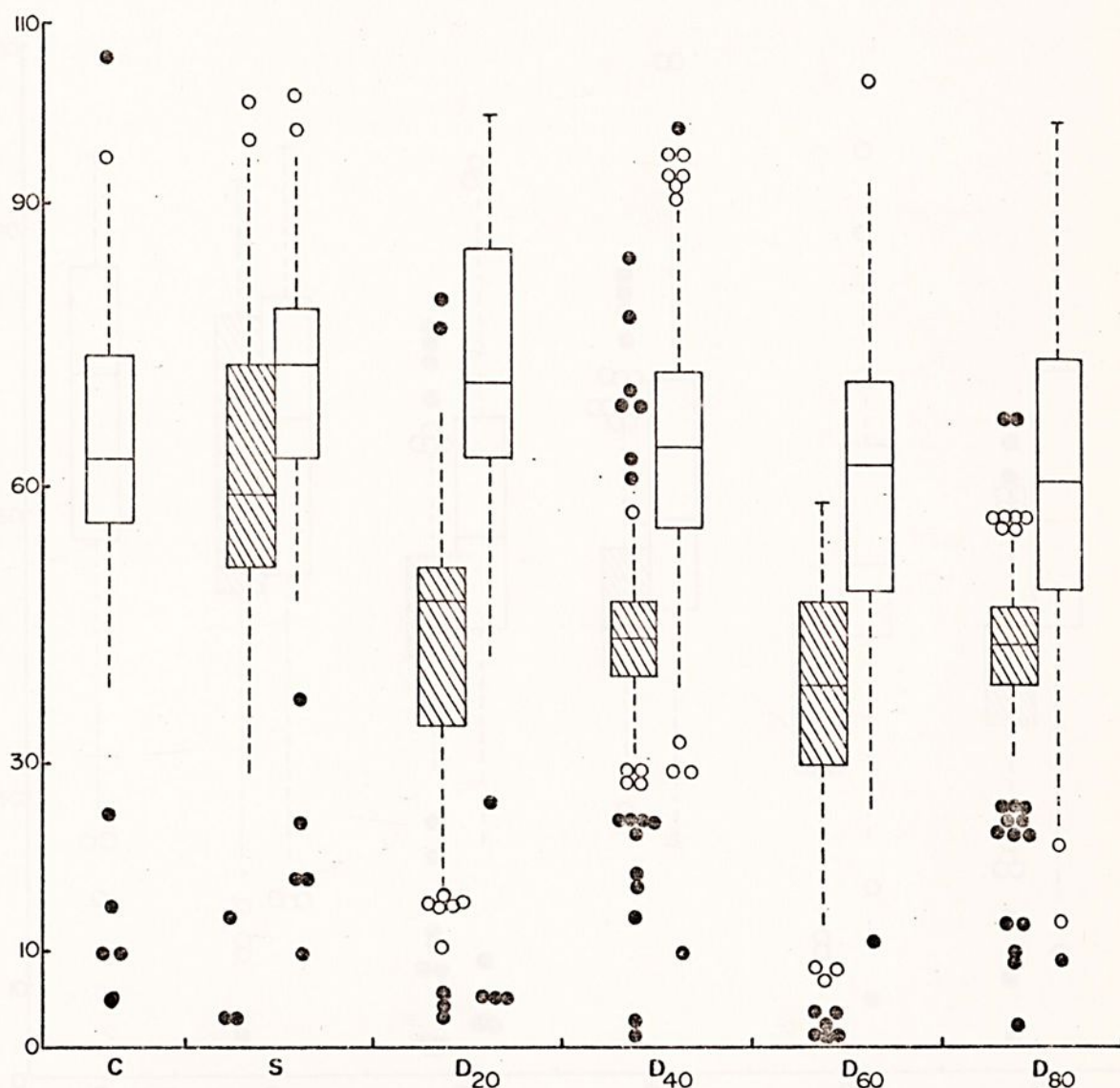


Figura 21. Diagramas esquemáticos representando a longevidade de machos, em dias, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (▨) e em meio de cultura padrão (□). Em cima, os esquemas de cinco números: ϕ = número de observações; *= valor máximo ou mínimo; J1= junta 1; MD= mediana; J2= junta 2.

ϕ	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
*	19	4	18	3	5	27	24	13	8	4	3
J1	57	51	53	44	47	43	49	32	46	37	47
MD	75	67	70	53	57	47	59	46	54	43	59
J2	86	81	83	55	70	56	74	49	67	47	75
*	99	97	102	79	97	84	108	55	98	67	98

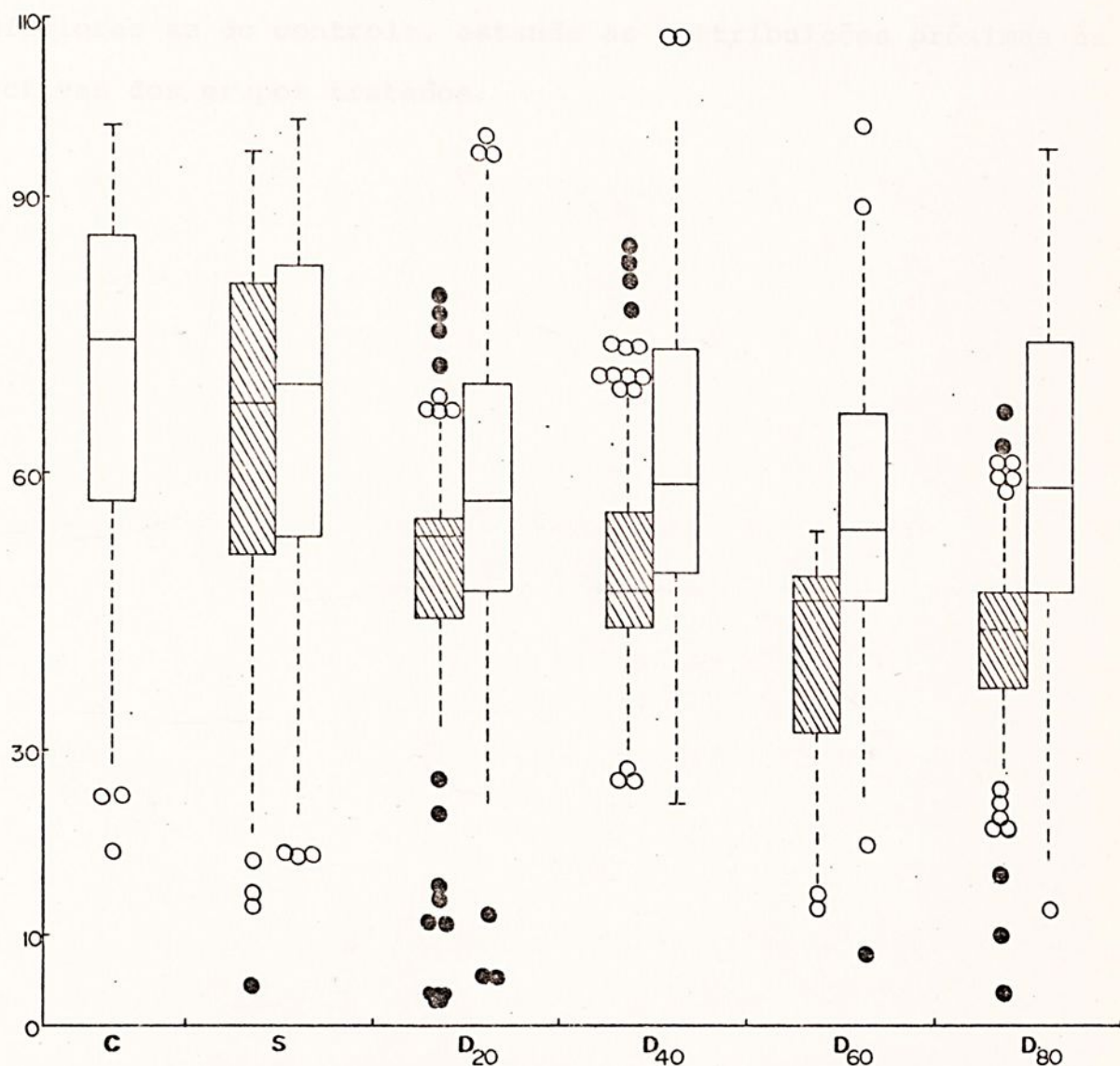


Figura 22. Diagramas esquemáticos representando a longevidade de fêmeas, em dias, em meio de cultura com Dicofol e com solvente (▨) e em meio de cultura padrão (□). Em cima, os esquemas de cinco números : ϕ = número de observações; *= valor máximo ou mínimo; J1= junta 1; MD= mediana; J2= junta 2.

mente. Chama a atenção, e em ambos os sexos, a grande quantidade de pontos desgarrados situados abaixo do primeiro quartil. Estes pontos ocorrem predominantemente nos grupos tratados, evidenciando o efeito do Dicofol sobre a longevidade. Pela comparação das duas figuras, verifica-se o maior efeito sobre a longevidade dos machos nos grupos tratados, contudo, nos pré-tratados, as longevidades das fêmeas são inferiores as do controle, estando as distribuições próximas às respectivas dos grupos tratados.



III.6. Determinação de resíduos

Através de cromatografia em fase gasosa, analisou-se amostras de larvas e de imagos desenvolvidos em meio de cultura com Dicofol e com solvente e em meio de cultura padrão. Com o objetivo de avaliar a quantidade mínima do composto retida no material experimental, foram montados cruzamentos visando a obtenção de larvas e de imagos, do mesmo modo que para os grupos D_{20} , D_{40} , D_{60} e D_{80} , também nas concentrações de 10 mg, 5 mg e 2,5 mg para cada 100 ml de meio de cultura.

Os resultados apresentados na tabela XIX indicam que foram detectadas quantidades elevadas do composto em ambas as fases do desenvolvimento. Desta tabela não constam os valores encontrados para os imagos desenvolvidos com 60 mg de Dicofol, em virtude da perda da amostra durante a análise e também das amostras provenientes do tratamento com 80 mg, devido a dificuldade para se conseguir quantidade suficiente do material para que se processasse a análise. Nos grupos controle e solvente, como era esperado, não foi detectado resíduo até o limite de detecção $< 0,01$. Na figura 23 são apresentados os cromatogramas para o padrão do Dicofol relativos a análise das amostras do controle do solvente e dos tratamentos. Verifica-se que o pico indicando a presença de resíduos, aparece em todos os grupos tratados com Dicofol. Para os mesmos grupos, a quantidade de resíduos detectada nas larvas é menor, o que sugere um efeito cumulativo do composto nos imagos (tabela XIX). Há uma relação direta, nas duas fases do desenvolvimento, entre as quantidades do composto detectadas nas amostras, com a concentração do Dicofol adicionado ao meio de cultura, exceto para imagos no grupo com 20 mg. Contudo, os valores de F para as análises de regressão (figura 24) só foram significativos para a fase larvária.



Tabela XIX. Níveis de Dicofol detectados em larvas e imagos desenvolvidos em meio de cultura com o composto. F para a significância da regressão e t para a da correlação. $**=P < 0,01$

concentração	larva	imago
2,5	24,22	36,35
5,0	40,43	81,00
10,0	66,33	103,17
20,0	99,51	400,82
40,0	123,13	223,88
60,0	320,13	-
regressão	$Y=9,2 + 4,5X$	$y=79,1 + 5,8X$
F	33,33**	1,70
r	0,944	0,602
t	5,727**	1,306

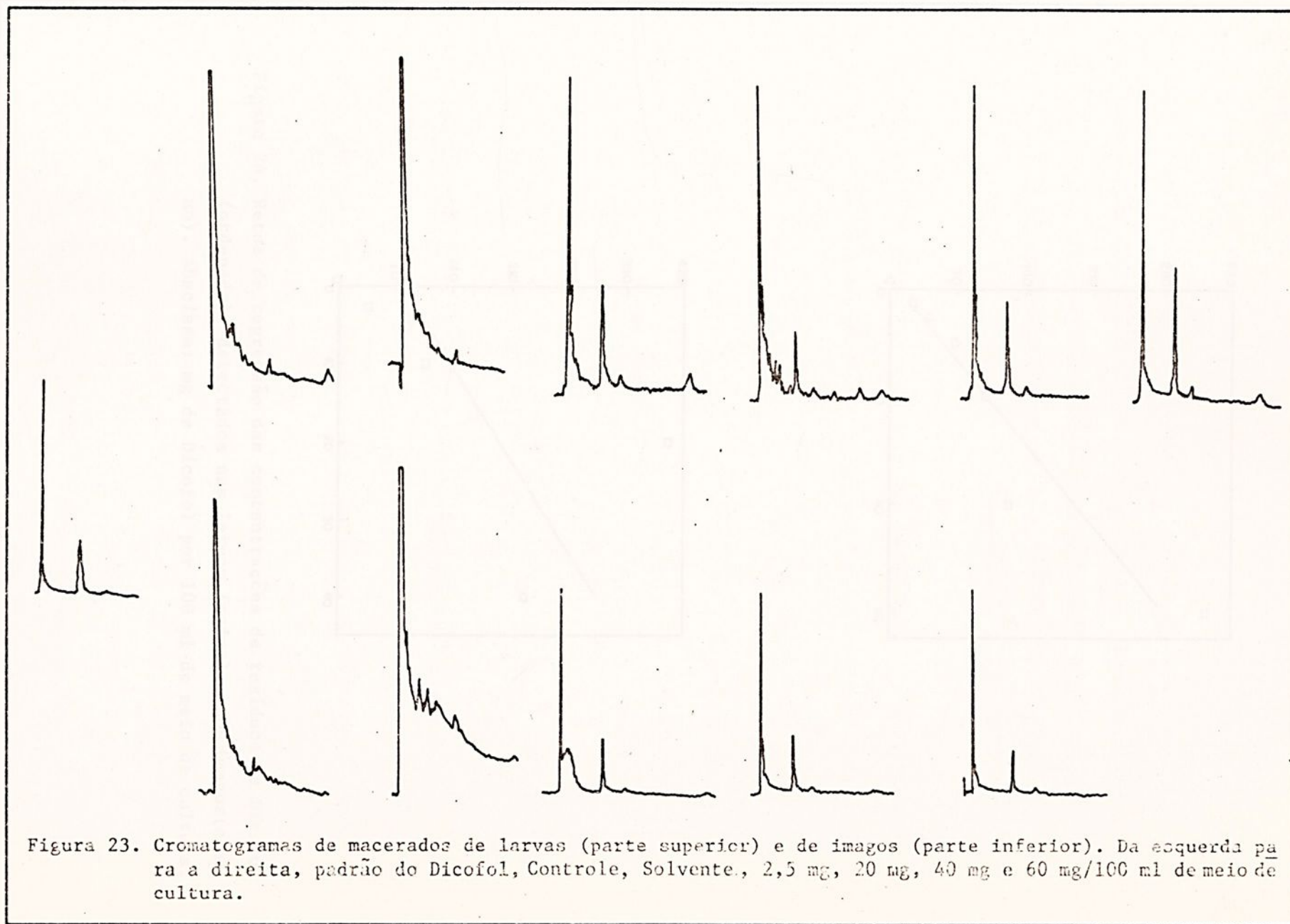


Figura 23. Cromatogramas de macerados de larvas (parte superior) e de imagos (parte inferior). Da esquerda para a direita, padrão do Dicofol, Controle, Solvente, 2,5 mg, 20 mg, 40 mg e 60 mg/100 ml de meio de cultura.

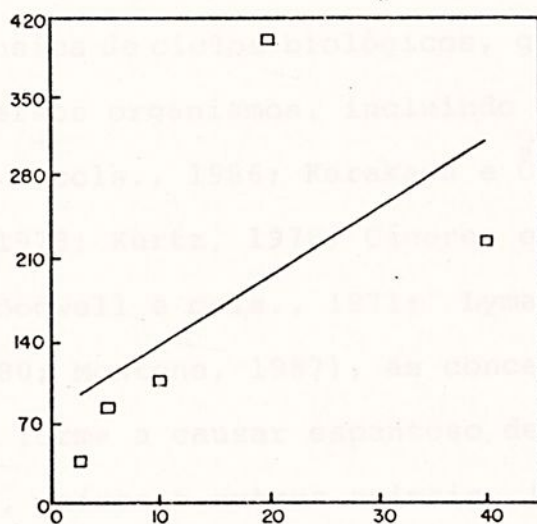
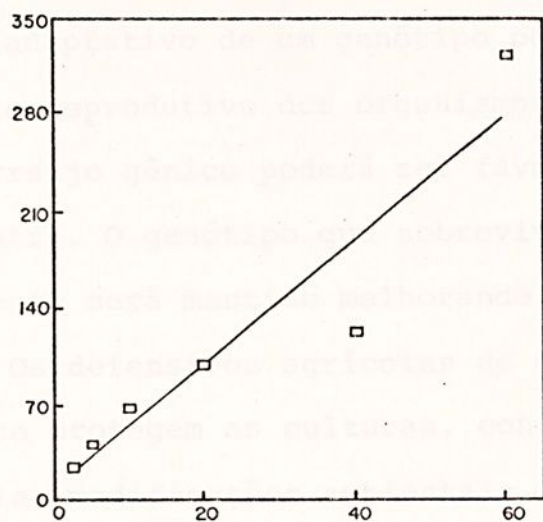


Figura 24. Retas de regressão das concentrações de resíduos de Dicofol (ordenada) detectados nas larvas (acima) e nos imagos (abaixo). Abscissa: mg de Dicofol por 100 ml de meio de cultura.

IV. DISCUSSÃO

O valor adaptativo de um genótipo pode variar nas diferentes etapas do ciclo reprodutivo dos organismos. Assim, numa etapa desse ciclo, um arranjo gênico poderá ser favorável, mostrando-se desfavorável em outra. O genótipo que sobreviver às várias forças seletivas do ambiente será mantido melhorando a adaptação e a aptidão da população. Os defensivos agrícolas de emprego altamente difundido, geralmente protegem as culturas, contudo, seu uso indiscriminado produz sérias modificações ambientais que, impondo forte pressão de seleção, podem alterar as frequências genotípicas das populações.

Compostos como os organoclorados que apresentam alto poder residual são, ainda que proibidos, bastante utilizados tornando-se parte intrínseca de ciclos biológicos, geológicos e químicos. Detectados em diversos organismos, incluindo o homem, (Lara e cols., 1981; To-Figueras e cols., 1986; Karakaya e Özalp, 1987), na água (Pearce e cols., 1978; Kurtz, 1978; Cáceres e cols., 1987), no solo e na atmosfera (Woodwell e cols., 1971; Lyman e Anderson, 1979; Moore e Loper, 1980; Montone, 1987), as concentrações têm alcançado níveis tóxicos de forma a causar espantoso declínio em populações de pássaros marinhos, peixes e outros animais (Veith e cols., 1981; Schick e cols., 1987, Barbera e cols., 1986; Martineau e cols., 1987) e de agravar o problema da poluição, aumentando significativamente a contaminação da cadeia alimentar.

Este trabalho possibilitou avaliar os efeitos do organoclorado Dicofol e do solvente sobre cinco componentes do valor adaptativo de *Drosophila melanogaster*. Os resultados mostram efeito sobre todos os parâmetros analisados, sendo em alguns casos mais mar



cante.

A fecundidade, medida pelo número de ovos depositados por fêmeas em um determinado período, pode ser alterada por fatores tais como temperatura, (Mackenzie, 1968; Ayala e Ayala, 1969; Lints e Lints, 1971 a,b; Cohet, 1973), por agrotóxicos (Gayathri e Krishnamurthy, 1980; Bortolozzi e cols., 1985) e outros. Os resultados apresentados na tabela I mostram que o Dicofol também alterou o grau fecundidade das moscas que continuaram recebendo tratamento (grupos tratados), não alterando contudo, quando a oviposição da F_1 desenvolvida em meio com o composto, ocorreu em meio padrão (grupos pré-tratados). As concentrações com 20 mg e 40 mg reduziram em 97% o número de ovos postos, 60 mg e 80 mg induziram redução de 98%. Embora se tenha utilizado quatro concentrações, não foi evidenciado nestes grupos o efeito de dose, o que se confirma pela igualdade das médias. Pode-se dizer que a presença do composto no meio de cultura, independente da concentração empregada, foi suficiente para que o efeito se manifestasse. Cessada a administração ou seja, considerando a oviposição em meio de cultura padrão (grupos pré-tratados), observa-se que o efeito desaparece e a postura iguala-se a do controle.

Em relação ao solvente, este mostrou-se bastante efetivo, agindo em ambas as situações, persistindo o tratamento induziu redução de 44% e cessando reduziu em 29%. O padrão de oviposição também foi alterado, o que leva a supor que a persistência de ambos os compostos no meio de cultura, pode alterar o comportamento das moscas quanto a postura. Enquanto a oviposição das moscas controle apresentou quedas e elevações ao longo dos 15 dias (figura 1), os grupos de moscas tratadas nas quatro concentrações com Dicofol, mantiveram-se praticamente juntos nos 10 últimos dias. O padrão apresentado pelas moscas alimentadas com o solvente, não só diferiu do controle como também dos demais grupos. Todavia, uma vez interrompido o tratamento (grupos pré-tratados), todos apresentaram um mesmo

padrão.

Gayathri e Krishnamurthy (1980) observaram alteração no padrão de oviposição e redução da fecundidade de *D. melanogaster* desenvolvida em meio de cultura contendo o fungicida Ceresan, sendo a postura realizada em meio padrão. Os resultados obtidos no presente estudo são discordantes, pois nestas condições não ocorreu alteração do padrão de oviposição e nem redução da fecundidade. Deve-se ressaltar que os resultados por eles obtidos, referem-se aos efeitos de um mercurial enquanto que os apresentados aqui são de um organoclorado e de um solvente orgânico. Estes autores discutem trabalhos mostrando que os compostos mercuriais causam danos aos cromossomos nas gônadas e células germinativas, podendo ser esta uma possível causa da alteração na reprodução de *Drosophila*.

Bortolozzi e cols. (1985) verificaram redução da fecundidade de *D. melanogaster*, estudando os efeitos do herbicida Roundup sobre os mutantes "yellow", "vestigial" e "taxi", observando que o efeito foi mais acentuado sobre os mutantes yellow. Ainda em *D. melanogaster*, Velázquez e cols. (1984) observaram que o organoclorado Endosulfan, mostrou-se mutagênico, porém sabe-se que nesta classe de compostos, os mecanismos de ação variam segundo o composto considerado. Em peixes, Singh e Singh (1980), analisando os efeitos do Hexadrin sobre diferentes fases do ciclo reprodutivo de *Heteropneustes fossilis*, verificaram que este pesticida parece interferir com a gonadotrofina e sua ação no ovário, de forma a diminuir a atividade ovariana em todas as fases do ciclo desta espécie. Desequilíbrio hormonal afetando a fisiologia reprodutiva de *Clarias batrachus*, foi observado também por Singh e Singh (1987), induzido por um outro organoclorado, o BHC.

Em se tratando do xileno, Wimolwattanapun e cols. (1987),



observaram que ratos expostos por longos períodos a 623 ppm, têm seu comportamento significativamente alterado, podendo também desenvolver tolerância quando em exposições diárias.

A presença do xileno no meio de cultura reduziu significativamente a fecundidade de *D. melanogaster*, sendo que o efeito persistiu, embora menos acentuadamente, quando as moscas foram colocadas em meio padrão. Tendo em vista ainda a persistência do efeito do Dicofol sobre o tempo de desenvolvimento, fertilidade e longevidade das fêmeas, quando em meio padrão, a não ocorrência deste efeito sobre a fecundidade enseja a realização de experimentos adicionais que venham possibilitar a explicação deste fato.

A alteração no meio de cultura, quer seja pela presença de compostos ou por um grande número de larvas, considerando um efeito do processo competitivo, tem forte influência sobre o tempo de desenvolvimento de *Drosophila*. Os resultados apresentados na tabela III mostram que o Dicofol bem como o solvente alteram o tempo médio de desenvolvimento de *D. melanogaster*, sendo o efeito mais acentuado sobre a fase larval, havendo uma relação direta com o aumento da concentração no meio de cultura. Nas concentrações com 40 mg, o tempo médio é o dobro do controle, enquanto que no grupo com 80 mg, é cerca de duas vezes e meia. Na fase de embrião há também um aumento do tempo médio de desenvolvimento para os ovos desenvolvidos no meio com o composto em todas as concentrações. A fase menos afetada foi a de pupa onde ocorreram as menores alterações no tempo de desenvolvimento, sendo contudo, maior que o controle em todas as concentrações. Em meio padrão, a persistência do efeito do Dicofol foi observada nas fases de embrião e larva, mas não na de pupa.

Cesário (1980) adicionando o herbicida Atrazine, ao meio de cultura, observou atraso no tempo de desenvolvimento total de *D. sí*



lans e *D. nebulosa*, verificando que o efeito foi mais acentuado nesta última espécie. O trabalho de Botella e cols. (1985) estudando os efeitos da uréia e ácido úrico sobre *D. melanogaster*, mostra que ambos os compostos são capazes de promover atraso no desenvolvimento e parada larval que, segundo os autores, é um fenômeno comum em condições de alta competição, reduzindo o número de imagos. Itoyama (1989), também observou um prolongamento do tempo médio de desenvolvimento de *D. prosaltans*, adicionando cafeína ao meio de cultura. De modo geral, seja por composto químico ou de origem orgânica, um meio tóxico interfere no tempo de desenvolvimento de *Drosophila*.

Entre os cinco componentes analisados, a fecundidade e a viabilidade foram os únicos que só foram alterados quando em presença do composto. A viabilidade larval foi a mais afetada visto que de 1500 larvas desenvolvidas em meio de cultura tratado com 80 mg de Dicolfol, apenas 886 desenvolveram-se em pupas emergindo 726 imagos, ou seja, foi verificada redução de 41% no número de larvas. Também foi observado efeito relacionado à dose e atraso no desenvolvimento tanto de larva como de pupa (figuras 9 e 10).

Beçak e Camargo (1959), adicionando penicilina G potássica e G sódica ao meio de cultura, verificaram sensível redução na viabilidade de *D. melanogaster* e *D. willistonii*. Tantawy e Vetukhiv (1960) medindo a viabilidade ovo-imago, verificaram que em *D. pseudoobscura*, o tamanho do corpo tem forte influência sobre a fecundidade e longevidade de fêmeas, não alterando contudo a viabilidade.

Sehgal e Simões (1976) em um estudo sobre efeitos de drogas neurotrópicas em *D. melanogaster*, verificaram que algumas induziam alta mortalidade larval. A cafeína, por exemplo, mostrou-se a mais tóxica sendo que na concentração de 1 mg/ml de meio, de 100 larvas de primeiro estágio, apenas 13 alcançaram a fase de pupa, emer

gindo 12 imagos que morreram uma semana após, não alterando porém, o tempo de desenvolvimento. Estes autores verificaram também que a mortalidade pupal foi inversamente proporcional à dose de cafeína administrada, o mesmo ocorrendo com a administração de barbiturato de sódio, outro composto por eles testado.

Moya e Botella (1985), considerando várias densidades larvais de *D. melanogaster*, verificaram que em densidades muito altas ou baixas, a viabilidade é bastante reduzida sendo a mortalidade pupal a principal causa da mortalidade total. Ainda nestas condições, Botella e cols., (1985) observaram redução na viabilidade de *D. melanogaster* suplementando o meio de cultura com uréia e ácido úrico. Em nosso trabalho também foi verificada redução da viabilidade descrito por Beçak e Camargo (1959), Sehgal e Simões (1976) e Botella e cols. (1985) no que se refere a viabilidade larva-imago. Contudo, considerando o trabalho de Moya e Botella (1985), nossos resultados são discordantes no que se refere a viabilidade larva-pupa, pois a redução nesta fase foi muito maior que na pupa-imago. Como excluimos as condições de competição por alimento, sendo a densidade larval tida como ótima, visto que para cada 100 larvas havia aproximadamente 40 ml de meio de cultura, a redução por nós observada, deve ser devida a ação do composto.

A fertilidade foi afetada pela ação do Dicofol mesmo quando moscas F_1 tratadas na fase larvária foram estudadas em meio padrão. Mantido o tratamento (grupos tratados), a redução no número de descendentes produzidos foi bastante acentuada, chegando até a 65% na concentração de 80 mg de Dicofol. O efeito do composto persistiu quando colocadas em meio padrão (grupos pré-tratados), pois as moscas desenvolvidas nessa mesma concentração, apresentaram redução na fertilidade de 31%.



Nos grupos tratados, observa-se um claro efeito de dose, tendo o solvente também efeito sobre a fertilidade (tabela XV). Quanto ao número de machos e de fêmeas produzidos, houve alteração da proporção 1:1, sendo o número de machos significativamente menor que o de fêmeas nos grupos tratados com 20 e 80 mg. Esta maior sensibilidade dos machos, também foi observada por Joseph e Knobel (1980), expondo *D. melanogaster* a diversos pesticidas organoclorados.

Redução no número de descendentes produzidos, devido à ação de compostos, também foi observada, entre outros, por Cesário (1980) ao tratar *D. simulans* e *D. nebulosa* com o herbicida Atrazine e Branco e Tadei (1986, 1987) que verificaram fertilidade reduzida de *D. melanogaster* quando machos e fêmeas foram tratados com dois derivados orgânicos da triamida fosfórica e um composto de cobalto e tripiperidino fosfinóxido.

De acordo com Anderson e Watanabe (1974), apesar de a fertilidade ter um importante papel na seleção, há um número reduzido de trabalhos que tratam deste componente. Além disso, há autores, como por exemplo MacMillan e cols. (1969), que fazem medidas da fertilidade considerando a produção de ovos. Itoyama (1989) avalia o efeito da cafeína sobre o número de descendentes, que chama produtividade. A redução observada utilizando o Dicofol e o solvente, é concorde com a verificada por Itoyama ao medir a produtividade de *D. prosaltans* tratada com cafeína.

A longevidade, da mesma forma que a fecundidade e a viabilidade, é um componente que tem recebido muita atenção dos pesquisadores. No presente trabalho, verificamos que os compostos também alteram o tempo de sobrevivência das moscas, apresentando as fêmeas mantidas em meio de cultura com Dicofol e com solvente (tabela XVIII), maior longevidade que os machos. Na literatura há

muitos trabalhos que mostram maior longevidade para fêmeas, mesmo alterando o ambiente das moscas. Lamb (1963) verificou que o período de vida de fêmeas de *D. subobscura* pode ser prolongado quando submetidas a radiações e sugere que o aumento está correlacionado com o decréscimo da produção de ovos após a irradiação. Considerando os resultados do estudo sobre a fecundidade onde se observa uma redução altamente significativa no número de ovos depositados pelas fêmeas em meio com Dicofol, pode-se sugerir, como Lamb (op. cit) que a maior longevidade destas quando o composto é adicionado ao meio, estaria também correlacionada com a diminuição da produção de ovos. Burcombe e Hollingsworth (1970), Gould e Clark (1976) e Bilewicz (1953, in Lamb, 1978), também observaram que machos vivem menos tempo que as fêmeas.

Muitos autores têm estudado o efeito de compostos sobre a longevidade de *Drosophila*. Hochschild (1971), considerando idade parental, estudou a influência de 38 compostos sobre o tempo de sobrevivência de *D. melanogaster*. Dos compostos empregados, a maioria era tida como estabilizadores de membranas celulares contra degradação "in vivo" e "in vitro", principalmente de membranas lisossômicas. Alguns produtos como por exemplo a aspirina, a cortisona e uma mistura a 3:1 de aspirina com ácido salicil-salicílico, aumentaram significativamente a longevidade tanto de machos como de fêmeas.

Massie e cols. (1985) testando compostos anti-inflamatórios também em *D. melanogaster*, observaram redução da longevidade. Mesmo o emprego do Buferin, promoveu redução, contrariando os resultados de Hochschild (op. cit.) encontrados para esta droga.

Enquanto alguns compostos reduzem a longevidade, como vimos pelos nossos resultados, os de Cesário (1980) e os de Itoyama (1989), outros são capazes de promover aumento, como mostram os tra



balhos de Stamer e cols. (1977), que suplementando o meio com 1%, 2% e 4% de etanol, verificaram aumento no período de sobrevivência de *D. mojavensis*, apresentando as fêmeas maior longevidade e retendo ovos maduros.

Em *D. pachea*, contudo, Jefferson e Aguirre (1980) verificaram que acima de 1% de etanol, a longevidade é reduzida e que dada uma situação de escolha, as fêmeas depositam mais ovos quando o meio contém quantidade mínima de etanol.

No presente trabalho, estudamos os efeitos do Dicofol e do solvente apenas sobre machos e fêmeas não acasalados. Nesta situação, nossos resultados também estão de acordo com os de Gowda e cols. (1973) que avaliaram a longevidade de machos e fêmeas de *D. melanogaster*, não acasalados, mostrando que quando virgens, apresentam tempo maior de sobrevivência. Verificamos também, observando as curvas de sobrevivência (figura 18), que o padrão de mortalidade em ambos os sexos foi mantido, e em ambos os meios. A quantidade de pontos desgarrados mostradas nas figuras 21 e 22 indicando mortes precoces, é mais uma indicação do efeito do composto sobre a longevidade das moscas.

Com relação aos resíduos, a análise cromatográfica revelou que as amostras retiveram grandes quantidades de Dicofol, o que comprova mais uma vez que o tecido animal é capaz de armazenar compostos organoclorados. O armazenamento do Dicofol, foi avaliado primeiramente por Smith e cols. (1959), utilizando ratos como organismo-teste e verificaram que as fêmeas retinham maior quantidade de resíduos. Nossos resultados são concordantes com os de outros autores trabalhando com diferentes organismos, tais como os de Barbera e cols. (1986) que detectaram também Dicofol em peixes, com os de Montone (1987) que encontrou resíduos de compostos organoclorados tanto em peixes como em mexilhões e ostras, com os de Schick

(1987) em pássaros marinhos e com os de To-Figueras e cols. (1986) e os de Karakaya e Özalp (1987), no homem. A concentração de resíduos detectados nos imagos, mostra um efeito cumulativo do composto ao longo do desenvolvimento, o que está de acordo com Karakaya e Özalp (op. cit.) que já haviam observado que níveis de organoclorados, aumenta vam de acordo com o tempo de exposição.

Neste trabalho verificamos que todos os componentes do va lor adaptativo estudados, foram alterados pelo efeito do Dicofol. Co mo se desconhece o mecanismo de ação deste organoclorado, embora se saiba que de modo geral estes compostos são neurotóxicos (Larine 1979; Zambrone, 1986), fica difícil fazer qualquer afirmação sobre o mecanismo que desencadeou tais alterações. Deve-se contudo ressaltar, que populações naturais dos mais variados organismos, são frequente- mente submetidas à ação de inúmeros compostos. Estes afetam diferen- temente as diferentes espécies, podendo ainda apresentar ação dife- rencial nas diversas fases do ciclo vital, como observado em *Drosophi* *la melanogaster* no presente trabalho. Desta forma, a forte pres são de seleção imposta pelo ambiente modificado, poderá alterar não só o equilíbrio populacional, mas também as densidades destas popula- ções.



V. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem-nos concluir que:

1. O Dicofol reduz a fecundidade alterando simultaneamente o padrão de oviposição de *Drosophila melanogaster*, quando desenvolvida e mantida em meio de cultura contendo o composto.
2. o efeito sobre a produção de ovos bem como sobre o padrão de postura, cessa quando as moscas F_1 que receberam o composto durante o desenvolvimento, são colocadas em meio padrão.
3. o tempo de desenvolvimento de descendentes de moscas F_1 desenvolvidas em meio de cultura contendo o Dicofol é alterado principalmente nas fases embrionária e larval, mesmo quando este desenvolvimento ocorre em meio padrão.
4. há relação direta entre concentração do Dicofol adicionado ao meio de cultura e aumento no tempo de desenvolvimento.
5. há redução na viabilidade larva-imago e aumento no tempo de desenvolvimento quando as moscas F_1 que se desenvolveram em meio com Dicofol são mantidas em meio de cultura com o composto na mesma concentração em que se desenvolveram.
6. há relação dose-efeito sobre a fertilidade de moscas F_1 desenvolvidas em meio de cultura com Dicofol, mesmo quando as moscas são colocadas em meio padrão.
7. a proporção sexual entre os descendentes é alterada pe



- la ação do composto, emergindo menor número de machos.
8. a longevidade dos machos F_1 só é afetada pelo Dicofol quando estes são mantidos em meio de cultura com o composto.
 9. as fêmeas F_1 têm sua longevidade reduzida em ambos os meios, porém a ação do Dicofol é menos acentuada quando estas são mantidas em meio de cultura padrão
 10. a curva de sobrevivência tanto de machos F_1 como de fêmeas F_1 não é afetada pela ação do composto.
 11. a quantidade de resíduos nas larvas e nos imagos está relacionada à concentração do composto adicionado ao meio de cultura, observando-se efeito cumulativo ao longo do desenvolvimento.



VI. RESUMO

O presente trabalho é um estudo dos efeitos do Dicofol sobre cinco componentes do valor adaptativo de *Drosophila melanogaster*. Moscas da geração F_1 que se desenvolveram em meio de cultura padrão (controle) e em meio de cultura ao qual se adicionou 0,4 ml do solvente em 100 ml de meio e o Dicofol nas concentrações de 20, 40, 60 e 80 mg por 100 ml de meio, foram separadas em dois lotes sendo um colocado em meio com o composto na mesma concentração em que se desenvolveram (grupo tratado) e o outro em meio de cultura padrão (grupo pré-tratado). Todos os componentes estudados; fecundidade, tempo de desenvolvimento, viabilidade, fertilidade e longevidade foram afetados nos grupos tratados e, na maioria dos casos, também nos grupos pré-tratados.

A fecundidade foi o componente mais afetado apresentando redução de 97% a 98% nos grupos tratados, contudo, cessado o tratamento (grupos pré-tratados), o efeito não se manifesta. Nos dois tipos de meio, a fecundidade também foi reduzida pela ação do solvente (xileno mais emulsificante). O padrão de oviposição foi alterado pela ação do Dicofol e do solvente, apenas quando as moscas F_1 foram mantidas em meio de cultura com os compostos.

A ação do Dicofol foi maior sobre o tempo de desenvolvimento das fases embrionária e larval sendo esta a mais afetada, pois quando em meio com 80 mg, o tempo de desenvolvimento das larvas foi duas vezes e meia maior que o do controle. Em meio padrão persistiram, embora de forma menos acentuada, não só o efeito do composto como também o do solvente. Quanto às pupas, verificou-se pequeno efeito apenas sobre as desenvolvidas em meio com o Dicofol e com o solvente.

A viabilidade larva-imago só foi afetada pelo Dicofol quanto



do se manteve o tratamento (grupos tratados). Mais uma vez o efeito foi maior sobre as larvas, induzindo redução de 41%. Verificou-se efeito relacionado à dose bem como atraso no tempo de desenvolvimento tanto da larva como da pupa.

A fertilidade das moscas F_1 foi alterada em ambos os meios, sendo a redução no número de descendentes maior nos grupos tratados, chegando até 65% na concentração máxima empregada. Moscas F_1 desenvolvidas nesta concentração, quando colocadas em meio padrão, (grupos pré-tratados), apresentaram fertilidade reduzida em cerca de um terço. Nos grupos tratados, observou-se também atraso no tempo de emergência e menor número de machos entre os descendentes.

A longevidade dos machos F_1 foi menor que a do controle somente quando em meio com o Dicofol e o solvente, contudo, as fêmeas F_1 tiveram o tempo médio de vida reduzido em ambos os meios. Não houve alteração do padrão de mortalidade dos dois sexos nos dois tipos de meio, observando-se, contudo, acentuado número de mortes precoces em alguns casos. O solvente só teve efeito sobre a longevidade das fêmeas e apenas no grupo tratado.

Através de cromatografia em fase gasosa, analisou-se amostras de larvas e de imagos desenvolvidos em meio de cultura com Dicofol. Houve retenção de quantidades elevadas do composto que variaram de 24,22 mg/kg a 320,13 mg/kg nas larvas, e de 36,35 mg/kg a 400,82 mg/kg nos imagos.

VII. SUMMARY

The present work is a study of the effects of Dicofol on five components of the fitness of *Drosophila melanogaster*. Flies of the F_1 generation which were grown on standard culture medium (control) and culture medium to which 0,4 ml of the solvent in 100 ml of medium and Dicofol in the concentrations of 20, 40, 60 and 80 mg per 100 ml of medium, were separated in two groups - one of which was placed on medium with of the compound the same concentration in which they were grown (treated group) and the other in standard culture medium (pre-treated group).

Fecundity was the component most affected, showing a reduction of 97% to 98%, however, interrupting the treatment (pre-treated group), the effect was not observed. On the two types of medium, fecundity was also reduced by the action of the solvent (xylene plus emulsifier). The pattern of oviposition was also altered by the action of Dicofol and the solvent only when the F_1 flies were kept on culture medium.

The action of Dicofol was greater on the time of development of the embryonic and larval phases, the latter being the most affected, since when on medium with 80 mg, the time of development of the larvae was two and one-half times greater than that of the control. In standard medium the effects of both the solvent and the compound persisted, although less strongly. As to the pupae, only small effects were noted on development in medium with Dicofol and with the solvent.

Larva-imago viability was affected by Dicofol only when the treatment was continued (treated group). Again, the effect was greater on the larvae, provoking a reduction of 41%. An effect to



dosage was observed as well as delayed development in both larva and pupa.

The fertility of the F_1 flies was altered in both mediums, the reduction in the number of descendents was greater in the treated groups, reaching 65% in the maximum concentration used. F_1 flies developed in this concentration, when placed in standard medium (pre-treated group) showed reduced fertility by about one-third. In the treated groups there was also observed a delay in the time of emergence and a smaller number of males in the descendents.

The longevity of the F_1 males was smaller than the control only when on medium with Dicofol and with solvent, however, the F_1 female had the mean life span reduced in both mediums. There was no alteration of the pattern of mortality of either sex in both types of medium, there was however a noted increase in precocious deaths in some cases. The solvent had effect on the longevity of the females only in the treated group.

Using gas chromatography samples of larvae and imago grown on medium with Dicofol were analysed. There occurred retention of elevated quantities of the compound which varied from 24.22 mg/kg to 320.13 mg/kg in the larvae and from 36.35 mg/kg to 400.82 mg/kg in the imago.



VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, N., Goulding, K.H., and Dobes, A.J. 1986. Effect of acetone on the toxicity of four chemicals to *Selenastrum capricornutum* Bull. Environ. Contam. and Toxicol. 36(2): 254-259.
- Alam, M.T., Corbeil, M., Chagnon, A., and Karatiya, S.S., 1974. Chromosomal anomalies induced by the organic phosphate pesticide Guthion in chinese hamster cells. Chromosoma (Bul.). 49:77-86.
- Allemand; R. 1977. Le potentiel reproducteur des adultes de *Drosophila melanogaster*: variations génétiques en réponse aux régimes lumineux. Genetica. 47(1): 1-7.
- Amer, S.M., and Farah, O.R. 1987. Cytological effect of pesticides VIII: Meiotic effects of the insecticide Methamidophos. Cytologia. 52: 303-307.
- Anderson, W.W. and Watanabe, T.K. 1974. Selection by fertility in *Drosophila pseudoobscura*. Genetics. 77: 559-564.
- Anxolabéhère, D. 1980. Sélection dépendant de la fréquence et durée de developpment embryonnaire chez *Drosophila melanogaster*. Genetica. 51(3): 161-165.
- Ayala, F.J. 1970. Dinamica de poblaciones. IV - Efectos de la cantidad de alimento y de espacio en la densidad de poblaciones experimentales de *Drosophila*. Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.). 68: 69-78.
- Ayala, F.J. and Ayala, M. 1969. Oviposition preferences in *Drosophila melanogaster*. D.I.S. 44: 120.
- Barbera, J.C., Lopes, F.J., Hernandez, F., Medina, J., and Pastor, A. 1986. Gas chromatographic determination of organochlorine



- pesticides; contamination of Dicofol, Fenson, and Tetradifon in fish and natural waters of a wet area beside the Mediterranean Sea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 36: 211-218.
- Barnes, P.T. 1983. Balancing selection, inversion polymorphism and adaptation in DDT - resistant populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 105: 87-104.
- Batiste-Alentorn, M., Xamena, N., Velázquez, A. Creus, A. and Marcos, R. 1986. Mutagenicity testing of the pyrethroid insecticide cypermethrin in *Drosophila*. *Mutagenesis* 1(5): 343-346.
- Beçak, W. e Camargo, M.L.P. 1959. Efeito da penicilina na viabilidade de *Drosophila melanogaster* e *Drosophila willistoni*. *Rev. Brasil. Biol.* 19(1): 99-107.
- Bortolozzi, J., Magalhães, L.E., Henry, R.F.F. and Pecora, I.L. 1975. Effect of pheromones on egg production in *Drosophila melanogaster*. *Egypt. J. Genet. Cytol.* 4: 425-429.
- Bortolozzi, J., Hirata, S., Curi, P.R. e Morbi, T.E. 1985. Efeito do herbicida Roundup na fecundidade de *Drosophila melanogaster*. *Salusvita*. 4(1): 10-18.
- Botella, L.M., Moya, A., Gonzalez, M.C. and Mensua, J.L. 1985. Larval stop, delayed development and survival in overcrowded cultures of *Drosophila melanogaster*: effect of urea and uric acid. *J. Insect. Physiol.* 31(3): 179-185.
- Branco, S. e Tadei, W.J. 1986. Efeitos da Hexametilfosforamida sobre a fertilidade de *Drosophila melanogaster*. *Anais do 13º Colóquio de Incentivo à Pesquisa (UNESP-São José do Rio Preto)*, 13:35.
- Branco, S. e Tadei, W.J. 1987. Efeitos do Tripiperidino fosfinóxido em *Drosophila melanogaster*. *Ciên. Cult. (Supl.)*, 39:750.



- Brusick, D.J. 1986. Genotoxicity of hexachlorobenzene and other chlorinated benzenes. In "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". (Morris, C.R. & Cabral, J.R.P. Eds.) pp. 293-397.
- Bryant, M.L. and Murnik, M.R. 1980. The mutagenicity of herbicide in *Drosophila melanogaster*. D.I.S. 55: 20-21.
- Burcombe, J.V. and Hollingsworth, M.J. 1970. The relationship between developmental temperature and longevity in *Drosophila*. *Gerontologia*. 16: 172-181.
- Cáceres, O., Tundisi, J.G. and Castellan, O.A.M. 1987. Residues of organochloric pesticides in reservoirs in São Paulo State. *Ciênc. e Cult.* 39(3): 259-264.
- Celeste, M.F. e Cáceres, O. 1988. Resíduos de praguicidas organoclorados no sedimento da represa do ribeirão do Lobo (Broa) - São Carlos, SP. *Ciênc. e Cult.* 40(9): 900-905.
- Cesario, M.D. 1980. Efeitos do herbicida Atrazine em alguns componentes do valor adaptativo de *Drosophila simulans* e *Drosophila nebulosa*. Dissertação de mestrado - Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Carlos-SP.
- Cid, M.G. and Matos, E. 1987. Chromosomal aberrations in cultured human lymphocytes treated with aldicarb, a carbamate pesticide. *Mutation Research*. 19: 99-103.
- Clark, A.M. 1982. The use of larval stages of *Drosophila* in screening for some naturally occurring mutagens. *Mutation Research*. 2: 89-97.
- Cohet, M.Y. 1973. Réduction de la fécondité et du potentiel



- reproducteur de la *Drosophila* adulte consécutive au développement larvaire à basse température. C.R. Acad. Sc. Paris. 277: 2227-2230.
- Dobzhansky, Th. 1968. On some fundamental concepts of Darwinian biology, pp. 1-34. In "Evolutionary Biology", vol II. (Dobzhansky, Th., Hecht, M.K. and Steere, W.C. Eds.) Appleton-Century - Crofts, New York.
- Finkelstein, Y., Wolff, M. and Biegon, A. 1988. Brain acetylcholinesterase after parathion poisoning: a comparative quantitative histochemical analysis post - mortem. Toxicology. 49: 165-169.
- Fishbein L. 1974. Chromatographic and biological aspects of DDT and its metabolites. J. Chromatog. 98: 177-251.
- Flickinger, E.L., White, D.H., Mitchell, C.A., and Lamont, G.T. 1984. Monocrotophos and Dicrotophos residues in birds as a result of misuse of organophosphates in Matagorda County, Texas, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 67(4): 827-828.
- Fontdevila, A. 1973., Interaccion genotipo - temperatura em *Drosophila melanogaster*. III. Tiempo de desarrollo. Genetica Iberica. 25: 1-15.
- Gayathri, M.V. and Krishnamurthy, N.B. 1980. Preliminary studies on the effects of a mercurial fungicide Ceresan on fecundity in *D. melanogaster*. D.I.S. 55: 48-49.
- Gould, A.B. and Clark, A.M. 1977. X-ray induced mutation causing adult life-shortening in *Drosophila melanogaster*. Exp. geront. 12: 107-112.
- Gowda, S.L., Ranganath, H.A. and Krisnamurthy N.B. 1973. D.I.S. 50: 49.



- Herskowitz, I.H. 1955. The production of mutations in *Drosophila melanogaster* with chemical substances administered in sperm baths and vaginal douches. *Genetics*. 40: 76-89.
- Hochschild, R. 1971. Effect of membrane stabilizing drugs on mortality in *Drosophila melanogaster*. *Exp. Geront.* 6: 133-151.
- Itoyama, M.M. 1989. Efeito da cafeína sobre aspectos reprodutivos e do desenvolvimento em *Drosophila melanogaster*. Dissertação de mestrado- Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas-UNESP, São José do Rio Preto.
- Jain, A.K. and Sarbhoy, R.K. 1987. Cytogenetical studies on the effects of some chlorinated pesticides. I. Effect on meiotic chromosomes of *Lens* and *Pisum*. *Cytologia*, 52: 47-53.
- Jain, A.K. and Sarbhoy, R.K. 1987. Cytogenetical studies on the effects of some chlorinated pesticides. II. Effect on meiotic chromosomes of *Lens* and *Pisum*. *Cytologia*, 52: 55-61.
- Jamet, P. et Leroux, P. 1983. Classification et structure des pesticides. pp. 19-20. In "Les produits antiparasitaires à usage agricole". (Fournier, E. et Bonderf, J. Eds.) Technique & Documentation Lavoisier. Paris.
- Jefferson, M.C. and Aguirre, M. 1980. Methanol tolerances and the effects of methanol on longevity and oviposition behaviour in *Drosophila pachea*. *Physiological Entomology* 5(3): 265-269.
- Joseph, H. Jr. e Knobel, M.G. 1980. Estudo preliminar da sensibilidade de moscas *Drosophila melanogaster* a diversos pesticidas organoclorados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 40(1): 43-47.
- Karakaya, A.E. and Özalp, S. 1987. Organochlorine pesticides in human adipose tissue collected in Ankara (Turkey) 1984-1985.



- Bull. Environ. Contam. Toxicol. 38: 941-945.
- Koss, G., Reuter, A. & Karansky, W. 1986. Excretion of metabolites of hexachlorobenzene in the rat and in man. In "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium" (Morris, C.R. & Cabral, J.R.P. Eds) pp. 261-265.
- Kucinski, B. 1986. O veneno nosso de cada dia. Ciência Hoje. 4(22): 58-62.
- Kurtz, D.A. 1978. Residues in water. Residues of polychlorinated biphenyls, DDT and DDT metabolites in Pennsylvania Streams, community water supplies, and reservoirs, 1974-76. 11(4): 190-198.
- Lamb, M.J. 1964. The effects of radiation on the longevity of female *Drosophila subobscura*. F. Ins. Physiol. 10: 487-497.
- Lamb, M.J. 1978. Ageing. In "The Genetics and Biology of *Drosophila*" pp. 43-95 (Ashburner, M. and Wright, T.R.G. Eds). Academic Press, New York and London.
- Lara, W.H. & Barreto, H.H.C. 1972. Resíduos de pesticidas clorados em águas. Rev. Inst. Adolfo Lutz. 32: 69-74.
- Lara, W.H., Barreto, H.H.C. e Varella-Garcia, M. 1981. Níveis de Dieldrin em sangue de aplicadores de Aldrin na região de São José do Rio Preto, São Paulo, Rev. Inst. Adolfo Lutz. 41(1): 9-14.
- Larive, L. 1979. Toxicologia dos inseticidas. Ed. Sarvier. São Paulo.
- Leoni, V. Fabiani, L. & Marinelli, G. 1986. Spontaneous abortion in relation to the presence of hexachlorobenzene in the Italian environment. In "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". (Morris, C.R. & Cabral, J.R.P. Eds.) pp. 143-146.



- Lints, F.A. and Lints, C.V. 1971a. Influence of preimaginal environment of fecundity and aging in *Drosophila melanogaster*. hibrids II. Preimaginal Temperatura. Exp. Geront. 6: 417-426.
- Lints, F.A. and Lints, C.V. 1971b. Influence of preimaginal environment of fecundity and aging in *Drosophila melanogaster*. hibrids III. Development spread and life-span. Exp. Geront. 6: 427-445.
- Lints, F.A., Stoll, J. Gruwez, G. and Lints, C.V. 1979. An attempt to select for increasead longevity in *Drosophila melanogaster*. Gerontology. 25: 192-204.
- Lints, F.A. Bourgois, N., Delalieux, A., Stoll, J., Lints, C.V. 1983. Does the female life span exceed that of the male? A study in *Drosophila melanogaster*. Gerontology. 29: 336-352.
- Lints, F.A., Burgois, M. 1985. Aging and lifespan in insects with special regard to *Drosophila*. Review 1982-1984. Review of Biological Research in Aging. 2: 61-84.
- Lyman, W.R. and Anderson, R.J. 1979. Dicofol residues in United States soils having a know on history of its use a Miticides, 1974. Pesticides Monitoring Journal. 13(2): 72-74.
- MacKenzie, J.A. 1975. The influence of low temperature on survival and reproduction in populations of *Drosophila melanogaster*. Aust. J. Zool. 23: 237-247.
- Mainardi, M. 1968. Gregarious oviposition and pheromones in *D. melano*
gaster. Boll. Zool. 35: 135-136.
- Majumdar, S.K., Kopelman, H.A. and Schnitman, M.J. 1976. Dieldrin - induced chromosome damage in mousebone-marrow and WI-38 human lung cells. The Journal of Heredity. 67: 303-307.



- Mariconi, F.A.M. 1985. Insecticidas e seu emprego no combate às pragas. Editora Nobel S.A. São Paulo.
- Martineau, D., Béland, P. Desjardins, C., and Lagacé, A. 1987. Levels of Organochlorine Chemicals in Tissues of Beluga Whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence Estuary, Québec, Canada. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 16: 137-147.
- Massie, H.R., Williams, T.R., and Iodice, A.A. 1985. Influence of anti-inflammatory agents on the survival of *Drosophila* Journal of Gerontology. 40(3): 257-260.
- McMillan, M. Fitz-Earle, Butler, L. and Robson, D.S. 1969. Quantitative genetics of fertility II. Lifetime egg production of *Drosophila melanogaster* - Experimental. Genetics. 65: 355-369.
- Merck Index. 1983. An Encyclopedia of Chemical, Drugs and Biologicals. Merck & Co, 10 th Ed. Rahway, N.J., USA.
- Moore, D.G. and Loper, B.R. 1980. DDT residues in forest floors and soils of Western Oregon, september - november 1966. Pesticides Monitoring Journal. 14(3): 77-85.
- Montone, R.C. 1987. Hidrocarbonetos clorados no litoral do Estado de São Paulo. Dissertação de mestrado - Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. São Paulo.
- Moya, A. & Botella, L.M. 1985. Larva-to-adult and pupa-to-adult mortality dynamics in crowded cultures of *Drosophila*. Genetica. 67: 201-207.
- Njagi, G.D.E. and Gopalan, H.N.B. 1980. Mutagenicity testing of some selected food preservatives, herbicides and insecticides. II Ames test. Bangladesh J. Bot. 9(2): 141-146.

- Ohnishi, S. 1976a. Effects of population density and temperature condition of fitness in *Drosophila melanogaster*. . I. Developmental time and pre-adult viability. Japan J. Genetics. 51(1): 19-25.
- Pap, M. and Varga Cs. 1987. Sister-chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of workers occupationally exposed to xylenes. Mutation Research. 187: 223-225.
- Parasher, C.D., Özel, M. and Geike, F. 1978. Effect to hexachlorobenzene and acetone on algal growth: physiology and ultrastructure. Chem. Biol. Interactions. 20: 89-95.
- Parsons, P.A. 1966. The genotypic control of longevity in *Drosophila melanogaster* under two-environmental regimes. Aust. J. Biol. Sci. 19: 587-591.
- Pearce, P.A.P., Reynolds, L.M., and David, B.P. 1978. DDT residues in rainwater in New Brunswick and estimate of aerial transport of DDT into the gulf of St. Lawrence, 1967-68. Pesticides Monitoring Jornal. 11(4): 199-204.
- Pednecar, M.D., Gandhi, S.R. and Netrawali, M.S. 1987. Evaluation of mutagenic activities of Endosulfan, Phosalone, Malathion, and Permethrin, before and after metabolic activation, in the Ames *Salmonella* test. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 38: 925-933.
- Pluthero, F.G., Singh, R.S. and Threlkeld, S.F.H. 1982. The behavioral and physiological components of Malathion resistance in *Drosophila melanogaster*. Can. J. Genet. Cytol. 24: 807-815.
- Prout, T. 1965. The estimation of fitnesses from genotypic frequencies. Evolution. 19: 546-551.
- Rabello, N.M., Beçak, W., Almeida, F.W., Pigati, P., Ungaro, M.T., Murata, T. and Pereira, C.A.B. 1975. Cytogenetic study on



- individuals occupationally exposed to DDT. *Mutation Research*. 28: 449-454.
- Raftos, D.A. 1986. The biochemical basis of Malathion resistance in the sheep blowfly, *Lucila cuprina*. *Pest. Biochem. and Physiol.* 26: 302-309.
- Schick, C.T., Brennan, L.A., Buchanan, J.B., Finger, M.A., Johnson, T.M., and Herman, S.G. 1987. Organochlorine contamination in Shorebirds from Washington State and the significance for their falcon predators. 1987. *Environmental Monitoring and Assessment*. 9: 115-131.
- Sehgal, S.S. and Simões, L.C.G. 1976. Preliminary results on the effects of neurotropic drugs on *Drosophila melanogaster*. *Ciênc. e Cult.* 28(8): 917-920.
- Singh, H. and Singh, T.P. Effect of two pesticides on ovarian ^{32}P uptake and gonadotrophin concentration during different phases of annual reproductive cycle in the freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). 1980. *Environmental Research*. 22: 190-200.
- Singh, S. and Singh, T.P. 1987. Impact of Malathion and hexachlorocyclohexane on plasma profiles of three sex-hormones during different phases of the reproductive cycle in *Clarias batrachus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 27: 301-308.
- Smith, R.B. Jr., Larson, P.S., Finnegan, J.K., Haag, H.B. Hennigar, G.R., and Cobey Florapearl. 1959. Toxicology Studies on 2,2-bis-(chlorophenyl)-2,2,2-trichloroethanol (Kelthane). *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1: 119-134.
- Starmer, W.T., Heed, W.B., and Rockwood-Sluss, E.S. 1977. Extension



of longevity in *Drosophila mojavensis* by environmental ethanol: Differences between subraces. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 74 (1): 387-391.

Sterling, G.H. 1983. Poisoning by cholinesterase-inhibiting insecticides. Fam. Physician. 27(6): 159-162.

Tadei, W.J. 1975. Oscilações cíclicas em populações experimentais de *Drosophila*. Tese de Doutorado - Departamento de Genética e Matemática Aplicada à Biologia. Faculdade de Medicina da USP. Ribeirão Preto.

Tantawy, A.O. and Vetukhiv, M.O. 1960. Effects of size on fecundity, longevity and viability in populations of *Drosophila pseudoobscura*. The American Naturalist 44(879): 395-403.

To-Figueiras, J., Rodamilans, M., Gómez, J. & Corbella, J. 1986. Hexachlorobenzene residues in the general population of Barcelona (Spain). In "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". (Morris, C.R. & Cabral, J.R.P., (Eds.)). pp. 147-148.

Trout, W.G. and Kaplan, W.D. 1970. A relation between longevity metabolic rate, and activity in shaker mutants of *Drosophila melanogaster*. Exp. Geront. 5: 83-92.

Tukey, J.W. 1977. Exploratory Data Analysis. Addison-Wesley Publishing Company, London.

Uhnák, J., Veningerová, M. & Mdaric, A. 1986. Dynamics of hexachlorobenzene residues in the food chain. In "Hexachlorobenzene: Proceeding of an International Symposium (Morris, C.R. & Cabral, J.R.P., Eds) pp. 109-113.

Veith, G.D., Kuehl, D.W., Leonard, E.N., Welch, K., and Pratt, G. 1981. Fish, Wildlife, and Estuaries. Polychlorinated biphenyls and other organic chemical residues in fish from major United

- States watersheds near the Great Lakes, 1978. 1981. Pesticides Monitoring Journal. 15(1): 1-13.
- Velásquez, A., Creus, A., Xamena, N. and Marcos, R. 1984. Mutagenicity of the insecticide Endosulfan in *Drosophila melanogaster*. Mutation Research. 136: 115-118.
- Vogel, E.W., Blijleven, W.G.H, Kortselius, M.J.H. and Zijlstra, J.A. 1982. A search for some common characteristics of the effects of chemical mutagens in *Drosophila*. Mutation Research. 92: 69-87.
- Vogel, E.W., Zeeland, A.A. van, Verplanke, C.A.R. and Zijlstra, J. A. 1985. Analysis of hexamethylphosphoramide (HMPA) - induced genetic alterations in relation to DNA damage and DNA repair in *Drosophila melanogaster*. Mutation Research. 150: 241-260.
- Wimolwattanapun, S., Ghosh, T.K., Mookherjee, S., Copeland, R.L. and Pradhan, S.N. 1987. Effect of inhalation of xylene on intracranial self-stimulation behavior in rat. Neuropharmacology, 26(11): 1629-1632.
- Woodwell, G.M., Craig, P.P., and Johnson, H.A. 1971. DDT in the biosphere: Where Does it go? Science. 174: 1101-1110.
- Würgler, F.E., Sobels, F.H. and Vogel, E. 1977. *Drosophila* as assay system for detecting genetic changes. Handbook of mutagenicity test Procedures (Kilbey et al. Eds.) 335-373.
- Würgler, F.F., and Vogel, E. 1989. First EEMS training course on somatic genotoxicity assays with *Drosophila*. Mutation Research, 216: 89-90.
- Zambrone, F.A.D. 1986. Perigosa Família. Ciência Hoje, 4(22): 44-47.

IX. AGRADECIMENTOS

Ao término deste trabalho, agradeço a todos que de uma forma ou outra colaboraram para a sua realização. Em especial agradeço:

ao Professor Doutor Wlademir João Tadei pela orientação científica e confiança.

à Professora Doutora Catarina S. Takahashi pela revisão do texto e sugestões.

ao Professor Doutor Aluísio José Gallo, pela análise do trabalho, sugestões, pela amizade e colaboração em todos estes anos.

ao Professor Doutor Celso Abbade Mourão pelo apoio, incentivo e principalmente pela amizade e atenção.

à Professora Hermione Elly Melara de Campos Bicudo pelo incentivo e carinhoso apoio.

à Professora Dra. Adelina Buzini da Costa Silva, por ter propiciado como chefe do Departamento, condições para a finalização do trabalho, pela amizade e atenção constantes.

aos Professores do Departamento de Biologia, Dra. Marileila Varella Garcia, Dra. Maria Astride Saad Corradi, Dra. Eloiza Helena Tajara da Silva, Dr. Grigor Vartanian, Dr. Paulo Cesar Naoum, Maria Tercilia Vilela de Azeredo Oliveira, Ana Elizabete Silva, Sonia Oliani Vieira da Silva, pela amizade e incentivo.

à Dra. Heloisa Helena C. Barreto e aos funcionários do Departamento de Análise de Resíduos de Pesticidas do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, pela colaboração quanto à análise cromatográfica e pela amizade demonstrada.

ao Professor Doutor Antonio José Cordeiro, pelo auxílio quanto a análise estatística.

ao Professor Doutor James Robert Coleman, pela revisão do



Summary, amizade e interesse.

aos funcionários do Departamento de Biologia, pela colaboração, especialmente à Sra. Laura Nascimento Almeida Pinheiro, Sebastião Dias Barbosa e Paulo Antonio Maziero pelo zelo no preparo do meio de cultura.

aos funcionários do Departamento de Geociências, João Rodrigues dos Santos e Jorge Freytag Buchdid, pela colaboração no preparo das substâncias.

aos funcionários da biblioteca, em especial a Srta. Maria Helena Lima e Sra. Olinda Vacari Tezini Luchezi, pela atenção constante.

à amiga Cláudia Márcia Aparecida Carareto, pelo incentivo, amizade e carinho sempre presentes.

aos amigos do Curso de Pós-Graduação, especialmente à Lilian Madi Ravazzi e Ana Maria de Oliveira, pela amizade e convivência.

ao amigo Marcelo Ferreira Lourenço, pelo companherismo.

ao Sr. Theodomiro Zaffani, pelo serviço xerográfico.

à Sra. Yone Sass Dias, pela dedicação e paciência nos trabalhos datilográficos e pela amizade.

à Srta. Simone Rufino Carvalho pelo serviço datilográfico e amizade.

à Sra. Soraia Fernandes Rodrigues Soares, pelos serviços de reprodução das figuras.

à Fersol Indústria e Comércio, pelo fornecimento dos compostos.

à CAPES, pelo auxílio financeiro concedido.

à Dalva Maria Buzzato, Neuza Vendrame Rosan, aos colegas, funcionários e alunos da E.E.P.G. "Prof. Aristrides Pereira Filho",



pela amizade, paciência e colaboração.

à minha mãe e irmãos, pelo carinho e incentivo sempre pre
sentes.

ao Pai, pela força e presença constantes.



