

CONTROLE QUÍMICO

Avaliação da Susceptibilidade ao Temephos de Populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) dos Municípios de Maracaju e Naviraí, MS, Brasil

EDNILSON LOPES DA SILVA¹, EDUARDO JOSE DE ARRUDA¹, CARLOS FERNANDO SALGUEIROSA DE ANDRADE², MAGDA FREITAS FERNANDES³, TATIANE ZARATINI TEIXEIRA¹, CINTHIA GRANZOTTI DA SILVA SCUDELER¹, ISAIAS CABRINI^{1,2}

¹Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia, UFGD - Universidade Federal da Grande Dourados.
E-mail: dhenyss@gmail.com;

²Instituto de Biologia, IB-UNICAMP.

³Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, UFGD.

BioAssay 10:1 (2015)

Susceptibility evaluation to temephos of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from the Municipalities of Maracaju and Naviraí, Mato Grosso do Sul State, Brazil

ABSTRACT - Dengue is one of the most important arboviral diseases in the world today, whose transmission occurs by the mosquito *Aedes aegypti*. The vector control with biological or chemical is still the main form of control and pesticides are an important tool in integrated management programs. However, this strategy is threatened by the selection of resistance, especially to organophosphates. The aim with this study was to evaluate the status of susceptibility/resistance of *Ae. aegypti* to the organophosphate Temephos® in two municipalities where there is continuous use of this insecticide. It was used the diagnostic concentrations 0.008 and 0.012 mg L⁻¹ as recommended, respectively, by Superintendence of Endemic Disease Control of the State of São Paulo (SUCEN) and the World Health Organization (WHO). The results showed the mortality rate of below 80% in the two concentrations tested, demonstrating resistance of populations to the insecticide. This fact points to the need for monitoring of resistance in populations of *Ae. aegypti* in the region.

KEY WORDS - Dengue, vectors, bioassay.

RESUMO - Dengue é uma das arboviroses mais importante no mundo atualmente, cuja transmissão se dá pela picada do mosquito *Aedes aegypti*. O controle do vetor, com produtos biológicos ou químicos, ainda é a principal forma de controle, sendo os inseticidas uma importante ferramenta nos programas de manejo integrado. Porém, esta estratégia encontra-se ameaçada pela seleção de resistência, especialmente aos organofosforados. O objetivo com o presente trabalho foi avaliar o *status* de susceptibilidade/resistência de populações de *Ae. aegypti* ao organofosforado Temephos® em dois municípios onde ocorre uso contínuo desse inseticida. Utilizou-se as concentrações diagnóstico 0,008 e 0,012 mg L⁻¹ como preconizado, respectivamente, pela Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo (SUCEN) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Os resultados apresentaram percentual de mortalidade abaixo de 80% nas duas concentrações avaliadas, demonstrando resistência das populações ao inseticida. Este fato aponta para a necessidade de monitoramento da resistência nas populações de *Ae. aegypti* da região.

PALAVRAS-CHAVE - Dengue, vetores, bioensaios.

A dengue é uma das arboviroses de maior incidência no mundo sendo notificada em todos os continentes, exceto em algumas partes da Europa (Claro *et al.* 2004). O vírus possui quatro sorotipos distintos (DENV 1, DENV 2, DENV 3 e DENV 4), com a notificação de um novo sorotipo (DENV 5) na Malásia em 2013. A doença é transmitida pela picada das fêmeas do mosquito urbano *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). No Brasil, epidemias constantes têm sido notificadas, sendo que em Maracaju e Naviraí, MS, em 2013, a incidência até a 17ª semana, somava mais de 57.000 casos suspeitos e 23 óbitos confirmados caracterizando esses municípios como de Alta Incidência (> 300 casos/100.000 habitantes). Nesse mesmo ano registraram-se 439 óbitos por dengue hemorrágica no Brasil (Estado 2013; Brasil 2014).

A entrada do vírus chikungunya, cuja transmissão também ocorre por meio do *Ae. aegypti*, no país aumenta a necessidade de controle do mosquito. Casos de febre por esse vírus tem ocorrido no Distrito Federal e Amapá (Gl, 2015).

O aumento nos casos dessas arboviroses, com agravos nas constantes epidemias vivenciadas pelas populações dos municípios de Mato Grosso do Sul sugerem ineficácia dos programas de prevenção, planejados pelas prefeituras, e dos inseticidas utilizados nos programas de controle do vetor, reforçando a necessidade de se monitorar a resistência das populações locais ao larvicida organofosforado Temephos® e perspectivas de pesquisas para prospecção de novos bioativos e/ou classes inseticidas (Arruda *et al.* 2011).

As ações de vigilância desenvolvidas no Brasil mostram um quadro bastante preocupante de resistência do *Ae. aegypti* ao Temephos®. Em 2001, foram avaliadas populações do vetor em 54 municípios, verificando-se resistência para 20 deles, distribuídos nas várias regiões brasileiras, com exceção da Região Sul. Considerando a situação epidêmica da dengue no Brasil e as informações já existentes sobre resistência dos vetores a inseticidas, fica evidente a necessidade de se avançar rapidamente na implementação de medidas para retardar os processos de resistência. Além disso, é fundamental tornar parte integrante do programa de controle vetorial o monitoramento sistematizado da resistência aos inseticidas em uso, pois as alternativas para o controle do *Ae. aegypti* em situações de emergência são poucas (Rose 2001; Bisset *et al.* 2013; Koou *et al.* 2014).

O organofosforado Temephos® foi introduzido no mercado em 1965 (Melo *et al.* 2008), sendo o único larvicida do grupo com uso generalizado no controle de larvas de mosquito, por mais de 40 anos. Foi aprovado pela OMS para o uso em água de consumo humano, por sua pouca persistência no ambiente e baixa toxicidade aguda (WHO 2007). Seu uso no Brasil teve início a partir de 1967 e foi intensificado após o surto de dengue de 1986 (Macoris *et al.* 2007), sendo estimado em 5 mil toneladas por ano o seu emprego em saúde pública (FUNASA 2001). A resistência de *Ae. aegypti* ao Temephos® foi pela primeira vez indicada no Brasil por Andrade & Modolo (1991) em testes feitos com uma população de Campinas, SP em 1987, e foi novamente confirmada depois do início da sua utilização com a implantação do Plano de Erradicação do *Ae. aegypti* no Brasil em 1997/1998 (Macoris *et al.* 1999; Braga *et al.* 2004; Carvalho *et al.* 2004). A partir desses relatos, o

monitoramento da resistência de populações de *Ae. aegypti* ao Temephos® tem sido amplamente registrado em várias localidades do Brasil, como para os Estados de Goiás, no Distrito Federal, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraíba, Alagoas, Goiás, Rio Grande do Norte, Sergipe, Rio Grande do Sul, Pará, São Paulo, Minas Gerais, Ceará e Pernambuco (Macoris *et al.* 1995; FUNASA 2002; Lima *et al.* 2003; Macoris *et al.* 2003; Carvalho *et al.* 2001; 2004; Beserra *et al.* 2007; Montella 2007; Horta *et al.* 2011; Lima *et al.* 2011; Araújo *et al.* 2013). E em consequência disto, o Ministério da Saúde substituiu o Temephos® por produtos à base de *Bacillus thuringiensis israelenses* (Bti) nas regiões onde havia sido detectada a resistência do *Ae. aegypti* (Lima 2003).

Avaliações de susceptibilidade de populações de *Ae. aegypti* a inseticidas tem permitido assim mudanças nos programas de controle e a troca de produtos, sendo prática corrente o uso de Concentrações Diagnósticas (CDs). As CDs são estimadas a partir de bioensaios de laboratório com linhagens susceptíveis de *Ae. aegypti*, sendo depois adotadas nos testes com populações de campo, CDs entre duas a três vezes maiores do que a concentração letal 99% (CL₉₉) para as linhagens susceptíveis. Assim, enquanto Brown (1986) indicava nos anos '80 como CD para o Temephos® 0,02 mg L⁻¹, a OMS (1992) indicou a partir da década de 90 como CD uma concentração menor (0,012 mg L⁻¹). A SUCEN, posteriormente, propôs uma CD local cerca de 50% menor ainda para o Temephos® (0,008 mg L⁻¹) (Macoris *et al.* 2005).

No Mato Grosso do Sul, para os municípios de Maracaju e Naviraí, não se conhece o estado de susceptibilidade das populações de *Ae. aegypti* ao Temephos®. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a susceptibilidade de duas populações de *Ae. aegypti* desses municípios às CDs propostas pela OMS e pela SUCEN, e discutir as recomendações e implicações.

Materiais e Métodos

Amostra Populacional e colônia de *Ae. aegypti*. Nos períodos de Março a Maio e Outubro a Dezembro de 2011, foram utilizadas para coleta de ovos de *Ae. aegypti* de 15 a 20 armadilhas de oviposição (Fay & Eliason 1966), instaladas em residências dos municípios de Maracaju e Naviraí-MS. As paletas com ovos foram trazidas para o laboratório de Entomologia Aplicada do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (IB-UNICAMP, Campinas-SP) para eclosão das larvas e realização dos bioensaios de susceptibilidade.

Os ovos foram mantidos em estufa BOD com temperatura 27±2°C, umidade relativa de 70±5% e fotoperíodo 12 h para obtenção das larvas da geração parental. Para obtenção das gerações F₁ e F₂ os mosquitos adultos foram permitidos se alimentar de sangue em codornas. Aproximadamente 1.000 larvas foram mantidas em recipientes plásticos com 2 L de água e alimentadas com ração de peixe Alcon Goldfish® (Alcon pet) até o 3º estágio de desenvolvimento, quando foram utilizadas nos bioensaios.

Bioensaios de susceptibilidade. Utilizou-se metodologia preconizada pela WHO (1981) avaliando-se a CD-SUCEN

de 0,008 mg L⁻¹ (Macoris et al. 2005) na geração F₁ e a CD-WHO de 0,012 mg L⁻¹ (WHO 1992) na geração F₂. As concentrações foram obtidas a partir de uma solução estoque (10.000 ppm i.a.) de Temephos® em álcool etílico e diluições em água destilada. Os bioensaios de susceptibilidade foram feitos com quatro repetições e 30 larvas entre o final de 3º e início do 4º estágio por repetição. As larvas foram colocadas em copos plásticos (250 mL) com 200 mL de solução. As avaliações foram feitas em quadruplicata, em diferentes dias. A mortalidade foi verificada após 24 horas de exposição, sendo consideradas mortas as larvas que não apresentaram movimentos ou que não responderam ao estímulo de um toque de uma pipeta Pasteur. Como referencial de população susceptível foram utilizadas larvas da linhagem Rockefeller (CDC, Atlanta, USA), submetidas as mesmas concentrações do inseticida, e como testemunhas larvas das duas populações em água destilada.

Para determinação de susceptibilidade ou resistência utilizou-se os critérios de Davidson & Zahar (1973), WHO (1998) e Macoris et al. (2005) onde uma população é considerada resistente a determinado inseticida quando apresenta mortalidade abaixo de 80% à uma CD. Os resultados foram analisados estatisticamente por meio do teste t de Student ($\alpha = 0,05$), comparando-se as populações alvos e a susceptível e utilizando-se o *software* Bioestat 5.0.

Resultados e Discussão

Os resultados dos experimentos não mostraram mortalidade entre as larvas mantidas como testemunhas. Os resultados com o Temephos® demonstraram que ambas as populações de *Ae. aegypti* estão com uma resistência bem estabelecida, uma vez que a porcentagem média de mortalidade foi sempre abaixo de 80% e variando entre 14,76 % (d.p. 2,18) e 67,91 % (5,83) (Tabela 1). Observa-se que a variação de mortalidade entre as duas concentrações (0,008 e 0,012 mg L⁻¹) foi de aproximadamente 1,5 vezes, para as duas populações, razão equivalente à relação entre as CDs.

Na comparação estatística entre as populações houve diferença significativa para ambas as concentrações, tanto para a CD-SUCEN de 0,008 mg L⁻¹ (t = -13,863, GL = 6, p < 0,05) como para a CD-WHO de 0,012 mg L⁻¹ (t = -12,863, GL = 6, p < 0,05). Esses resultados indicam que a população de *Ae. aegypti* de Maracaju-MS sofreu maior pressão de

seleção, respondendo com porcentagens de mortalidade significativamente menores para ambas as CDs e atingindo, nível de resistência significativamente maior.

Pode-se indicar que as populações de *Ae. aegypti* avaliadas estão submetidas a pressão de seleção pelo tratamento com Temephos® nos criadouros domésticos, por parte das prefeituras/centro de zoonoses. Além disso, os dois municípios estão localizados em região de agricultura de soja e milho, que recebem tratamentos regulares de inseticidas de diferentes classes, sendo esse um clássico fator adicional para a pressão de seleção à resistência.

Avaliações de susceptibilidade de populações de *Ae. aegypti* não tem sido publicadas para os municípios de Maracaju ou Naviraí no Estado de Mato Grosso do Sul. Estes municípios distam num raio de aproximadamente 100 km de Dourados-MS. Os dados mais recentes para o Estado são de 1998 e 1999 quando Campos & Andrade (2001) indicaram um *status* de susceptibilidade para uma população de Campo Grande, usando, entretanto uma CD elevada, de 0,04 mg L⁻¹ de i.a.. Considerando-se que a linhagem susceptível padrão (Rockefeller, CDC Atlanta) apresentou nas avaliações da SUCEN (Macoris et al. 2005) uma CL₉₉ de 0,004 mg L⁻¹ de i.a., constata-se que Campos & Andrade (2001) usaram de fato uma CD pouco discriminativa e igual a dez vezes essa CL₉₉. Discute-se ainda que a WHO (1998) indica uma CD três vezes maior e, por sua vez, Macoris et al. (2005) recomendam uma CD apenas duas vezes maior que a CL₉₉, portanto mais discriminativa. As duas CDs empregadas no presente trabalho indicaram o mesmo *status* de resistência para as populações avaliadas.

Por ter sido verificada diferença significativa para as CDs e o não estabelecimento de CD local, recomenda-se que seja adotada a CD-SUCEM para avaliação da susceptibilidade das populações de *Ae. aegypti* da região da Grande Dourados.

Os resultados obtidos no presente trabalho alertam para a necessidade de maior abrangência na detecção de populações resistentes ao Temephos® e a urgente necessidade de aplicação de estratégias de controle integrado que restrinjam o máximo possível o uso de métodos químicos de controle vetorial. Além disso, há a necessidade do emprego de metodologias que retardem os processos de resistência, como o uso de sinergistas, aplicação de inseticidas em mosaico, uso de misturas, rotações ou sucessões ótimas de inseticidas e novos bioativos.

Tabela 1. Porcentagem média de mortalidade (desvio padrão) de larvas de *Ae. aegypti* de dois municípios do Mato Grosso do Sul expostas ao inseticida Temephos®.

População	Concentração Diagnóstica	
	0,008 mg L ⁻¹	0,012 mg L ⁻¹
Rockefeller	100	100
Maracaju-MS	14,76 (2,18)	25,20 (3,07)
Naviraí-MS	45,62 (4,04)	67,91 (5,83)

Literatura Citada

- Andrade C.S.S. & M. Modolo. 1991. Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to temephos and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in integrated control. *Revista de Saúde Pública*. 25(3):184-187.
- Araújo, A.P., Diniz, D.F.A., Helvesio, E., Barros, R.A., Oliveira, C.M.F., Ayres, C.F.J. Santos, M.A.V.M., Regis, L.N. & Silva-Filho, M.H.N.L. 2013. The susceptibility of *Aedes aegypti* populations displaying temephos resistance to *Bacillus thuringiensis israelensis*: a basis for management. *Parasites & Vectors*. 6:297.
- Arruda, E.J., Rossi, A.P.L., Porto, K.R.A., Oliveira, L.C.S., Arakaki, A.H., Scheidt, G.N. & Roel, A.R. May/June 2011. Evaluation of toxic effects with metal ions, EDTA, SBTI and acrylic polymers on *Aedes aegypti* (L., 1762) (Culicidae) and *Artemia salina* (Artemidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 54(3):503-509.
- Beserra, E.B., Fernandes, C.R.M., Queiroga, M.F.C. & Castro, J.R.F.P. 2007. Resistência de populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado Temefós na Paraíba. *Neotropical Entomology*. 36:303-307.
- Bisset, J.A., Marín, R., Rodríguez, M.M., Severson, D.W., Ricardo, Y., French, L., Díaz, M., Pérez, O. March 2013. Insecticide resistance in two *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) strains from Costa Rica. *J Med Entomol*. 50(2):352-61.
- Braga, I.A., J.B.P. Lima, S.P., Cunha, S.S. Soares & Valle, D. 2004. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 several municipalities in Rio de Janeiro, Sergipe and Alagoa states, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 99:199-203.
- Brasil. Ministério da Saúde. Situação Epidemiológica/Dados. Óbitos por Dengue. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas 1990 a 2013. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/julho/31/obitos-por-casos-graves-at---2013.pdf>. Acesso em 16 de Set. 2014.
- Brown, A.W.A. 1986. Insecticide resistance in mosquitoes – a pragmatic review. *Journal American Mosquito Control Association*. 2:123-40.
- Campos, J. & Andrade, C.F.S. 2001. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. *Revista Saúde Pública*. 35:232-236.
- Carvalho, M.S.L., Caldas, E.D., Yoshizawa, N., Degallier, C & Oliveira, K.M.B. 2001. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* ao inseticida temephós no Distrito Federal, em 2000. *Informativo Epidemiológico SUS*. 10:41-43.
- Carvalho, M.S.L., Caldas, E.D. & Degalier, N. 2004. Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to the insecticide temephos in the Federal District, Brazil. *Revista de Saúde Pública*. 38: 623-629.
- Claro, L. B. L., H. B. C. Tomassini & M. L. G. Rosa. 2004. Prevenção e controle do dengue: uma revisão de estudos sobre conhecimentos, crenças e práticas da população. *Cadernos de Saúde Pública*, 20: 1447-57.
- Davidson, G.; Zahar, A. R. 1973. The practical implications of resistance of malaria vectors to insecticides. *Bulletin WHO*, 29: 475-483.
- Estado. Vigilância epidemiológica. Secretaria de Estado de Saúde. Boletim epidemiológico nº 16 – dengue – semana 17 de 2013. Disponível em <http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id_comp=544&id_reg=204044&voltar=lista&site_reg=116&id_comp_orig=544>. Acesso em 01 Mai. 2013.
- Fay, R.W. & Eliason, D.A. 1966. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosquito News*. 26:531-535.
- Fundação Nacional de Saúde – FUNASA. 2001. Dengue: Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor- Manual de Normas Técnicas. Brasília.
- Fundação Nacional de Saúde - FUNASA. 2002. Programa Nacional de Controle da Dengue. Brasília: Ministério da Saúde, Manual Técnico, 2002: pp.34.
- G1. Brasil registra primeiros casos de transmissão interna de chikungunya. Disponível em <<http://g1.globo.com/bemestar/noticia/2014/09/brasil-registra-primeiros-casos-de-transmissao-interna-de-chikungunya.html>> Acesso em 15 de Jan de 2015.
- Horta, M.A.P., Castro, F.I., Rosa, C.S., Daniel, M.C. & Melo, A.L. 2011. Resistance of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) to Temephos in Brazil: a revision and new data for Minas Gerais State. *BioAssay*. 6:7.
- Koou, S-Y., Chong, C-S., Vythilingam, I., Lee, C-Y., Ng, L-C. 2014. Insecticide resistance and its underlying mechanisms in field populations of *Aedes aegypti* adults (Diptera: Culicidae) in Singapore. *Parasit Vectors*. 7(1):471.
- Lima, J.B.P., Pereira da Cunha, M., Silva Junior, R.C.S., Galardo, A.K.R., Soares, S.S., Braga, I.A., Ramos, R.P., & Valle, D. 2003. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the states of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene*, 68:329-333b.
- Lima, E.P., Paiva, M.H.S., Araújo, A.P., Silva, É.V.G., Silva, U.M., Oliveira, L.N., Oliveira, Santana, A.E.G., Barbosa, C.N., Neto, C.C.P., Goulart, M.O.F., Wilding, C.S., Ayres, J., Santos, M.A.V.M. 2011. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. *Parasites & Vectors*. 4:5a.
- Macoris, M.L.G.; Camargo, M.F., Silva, I.G., Takaku, L. & Andrighetti, M.T. 1995. Modificação na suscetibilidade de *Aedes (Stegomyia) aegypti* ao Temephos. *Revista de Patologia Tropical*. 19:31-40.
- Macoris M.L.G., Andrighetti, M.T.M, Takaku, L., Glasser, C.M, Garbeloto, V.C. & Cirino, V.C.B.1999.

- Alteration in susceptibility response of *Aedes aegypti* to organophosphates in cities in the state of S. Paulo, Brazil. *Revista de Saúde Pública*. 33:521–522.
- Macoris, M. L. G., Andriguetti, M.T.M, Takaku, L., Glasser, C.M., Garbeloto, V.C. & Bracco, J.E. 2003. Resistência de *Aedes aegypti* do estado de São Paulo, Brasil, para inseticidas organofosforados. *Mem. Instituto Oswaldo Cruz*. 98:703-708.
- Macoris, M.L.G., Andriguetti, M.T.M., Nalon, K.C.R., Garbeloto, V.C. & Caldas Junior, A.L. 2005. Standardization of bioassays for monitoring resistance to insecticides in *Aedes aegypti*. *Dengue Bulletin*. 29:176-182.
- Macoris, M.L.G., Andriguetti, M.T.M., Garbeloto, V.C., Carvalho, L.R., Caldas Júnior, A.L. & Brogdon, W.G. 2007. Association of insecticide use and alteration on *Aedes aegypti* susceptibility status. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 102:895-900.
- Melo, M.E.B., Merlo, K.C., Fernandes, R.R.C., Luna, C.F., Diniz, G.T.N., Catanho, M.T.J.A. & Regis, L. 2008. Ação mutagênica do inseticida organofosforado temefós em células de medula óssea de camundongos. *Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo*. 67(3):196-201.
- Montella, I.R., Martins, A.J., Viana-Medeiros, P.F., Lima, J.B.P., Braga, I.A. & Valle, D. 2007. Insecticide resistance mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001 to 2004. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 77:467–477.
- Rose, R.I. 2001. Pesticides and Public Health: integrated methods of mosquito management emerging infectious diseases. 7:17-23.
- World Health Organization. 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides: WHO-VBC 81.807:1-6.
- World Health Organization. 1992. Vector resistance to pesticides: fifteenth report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. WHO - Technical Report Series. 818: 61.
- World Health Organization. 1998. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bioefficacy and persistence of insecticides on treated surfaces. Report of an informal consultation, 1998, WHO/CDS/CPC/MAL/98.12.
- WHO – World Health Organization. 2007. WHO Specifications and evaluations for public health pesticides: temephos. Disponível em <http://www.who.int/whopes/quality/Temephos_eval_June_2007_corr_aug160807.pdf> Acesso em 22 de Set. 2014.

Available online: www.bioassay.org.br/ojs/index.php/bioassay/article/view/141