



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz
Curso de Especialização em Entomologia Médica

**Aspectos bionômicos de *Sabethes (Peytonulus) identicus* Dyar & Knab,
1907 (Diptera: Culicidae) em laboratório**

Maria Ignez Lima Bersot

Orientadores
Monique Albuquerque Motta
Ricardo Lourenço de Oliveira

Rio de Janeiro

2014

Maria Ignez Lima Bersot

**Aspectos bionômicos de *Sabethes (Peytonulus) identicus* Dyar & Knab,
1907 (Diptera: Culicidae) em laboratório**

Monografia submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de especialista em
Entomologia Médica, Curso de Especialização
em Entomologia Médica, pelo Instituto
Oswaldo Cruz/FIOCRUZ.

Laboratório de Transmissores de Hematozoários

Data: ___/___/___

Assinatura do Aluno

Assinatura do Orientador

Assinatura do 2º Orientador (opcional)

Agradecimentos

Aos meus orientadores Monique de Albuquerque Motta e Ricardo Lourenço de Oliveira, por terem confiado em mim e propiciado esta importante experiência de aprendizado que adquiri ao longo deste trabalho;

Aos coordenadores do curso de Especialização em Entomologia Médica, professores Anthony Érico da Gama Guimarães e Rubens de Pinto Mello, e aos demais professores pelos ensinamentos ao longo do curso;

À toda a equipe do LATHEMA por toda ajuda, apoio e compreensão nos momentos mais difíceis, em especial ao Glauber Rocha, pelo seu empenho nos trabalhos de campo e laboratório e a Cristiane Vicente pelo apoio com o insetário;

A todos os amigos que fiz desde quando iniciei na área da Entomologia, colegas de trabalho e de curso que de alguma forma, mesmo sem saber me ajudaram a chegar até aqui;

À minha família pelo carinho, paciência e apoio em todos os momentos.

SUMÁRIO

Os mosquitos incluídos no gênero *Sabethes* Robineau-Desvoidy possuem hábito diurno e silvestre. Ocorrem exclusivamente na América Central e na América do Sul, onde estão envolvidos no ciclo silvestre da febre amarela. No Brasil, diferentes espécies já foram encontradas naturalmente infectadas com o vírus amarílico, além de outros arbovírus, entretanto, pouco se sabe sobre a biologia e a competência vetorial das espécies envolvidas. Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar aspectos bionômicos, de *Sabethes identicus* Dyar & Knab tais como, tempo de desenvolvimento, atração para oviposição, produtividade de ovos, canibalismo e longevidade, em condições de laboratório visando à implantação de uma colônia. A espécie estudada foi proveniente da Reserva Biológica do Tinguá. Foram realizadas coletas de adulto e formas imaturas. Os imaturos foram criados até a obtenção de adulto e as fêmeas foram postas a desovar em tubos umedecidos. As larvas provenientes das desovas foram criadas até a obtenção dos adultos, que foram transferidos para uma gaiola e mantidos com solução de mel e oferta de sangue em dias alternados. Uma vez estabelecida a colônia de *Sa. identicus*, pupas com um dia de vida foram separadas em quatro gaiolas para acompanhamento diário de seu desenvolvimento. Quando adultos, fêmeas e machos foram contados e transferidos para gaiolas secundárias, as quais continham três internódios de bambu para oviposição. Bambus com diferentes espessuras e nº de furos e diferentes conteúdos líquidos, de mesmo volume, entre água ambientada, água de criação e água com levedo foram postos nas quatro gaiolas para avaliar a preferência por tipo de criadouro. Ovos foram retirados dos bambus em dias alternados e contados ao longo da vida da fêmea. Foi analisada a taxa de eclosão dos ovos ao longo dos dias por contagem e separação diária das larvas. Larvas eclodidas foram separadas no 1º dia de vida e criadas em diferentes densidades, 30, 60 e 90 larvas por bacia, colocadas em situação de presença e abrigo da luz, a fim de se avaliar o canibalismo e o tempo de desenvolvimento. Os resultados mostraram que os ovos completaram seu desenvolvimento em cerca de 3 dias com 79% de eclosão, enquanto as larvas levaram cerca de 18 dias e as pupas 9 dias em sua maioria. As fêmeas adultas foram mais longevas que os machos chegando a viver por 71 dias e colocaram em média 88 ovos ao longo da vida. Os números de ovos obtidos nos três diferentes conteúdos líquidos dos bambus foram muito heterogêneos não mostrando exata relação com o conteúdo. O percentual de larvas predadas nas bacias mantidas no claro e com 30, 60 e 90 larvas e, foi respectivamente, 13,33%; 15,00% e 7,77% enquanto que nas bacias mantidas no escuro houve uma inversão, esses valores foram respectivamente 6,00%; 9,16% e 14,44%. Em conclusão, o ciclo de vida de *Sa. identicus* se completa em aproximadamente 30 dias; os ovos eclodem em 2 a 4 dias, as larvas se desenvolvem entre 17 a 19 dias e as pupas entre 8 a 9 dias, sendo semelhante entre machos e fêmeas; o pico de avidez por sangue ocorre já na primeira semana de vida e a fêmea pode colocar em média 88 ovos ao longo de sua vida, 79% deles viáveis. As fêmeas de *Sa. identicus* são mais longevas que os machos podendo chegar a 71 dias de vida. O conteúdo líquido do bambu parece não influenciar na sua escolha para oviposição, talvez a característica do bambu (número de furos e diâmetro) seja um fator mais importante; o canibalismo parece sofrer mais influência pela combinação dos fatores densidade e luminosidade do que por estes isoladamente.

Palavras-chave: Sabethini, colonização, mosquitos silvestres.

ÍNDICE

1. Introdução	1
1.1. Família Culicidae	1
1.2. Tribo Sabethini	1
1.3. Gênero <i>Sabethes</i> Robineau-Desvoidy, 1827	2
1.4. Importância médica	4
2. Objetivos	8
2.1 Objetivo Geral	8
2.2 Objetivos específicos	8
3. Metodologia	9
3.1. Obtenção dos espécimes no campo para estabelecimento de colônia.....	9
3.1.1. Coleta de sabetíneos adultos	10
3.1.2. Coleta de formas imaturas de mosquitos	11
3.2. Avaliação de aspectos bionômicos de <i>Sabethes identicus</i> Dyar & Knab	12
3.2.1. Duração do período pupal	12
3.2.2. Avaliação dos hábitos alimentares, produtividade de ovos ao longo da vida e longevidade	12
3.2.3. Avaliação dos diferentes tipos de conteúdo dos bambus utilizados para oviposição das fêmeas de <i>Sabethes identicus</i> Dyar & Knab	14
3.2.4. Tempo de desenvolvimento embrionário e viabilidade dos ovos	15
3.2.5. Desenvolvimento larval e canibalismo	15
4. Resultados	17
4.1. Obtenção dos espécimes no campo para estabelecimento de colônia	17
4.1.1. Coleta de sabetíneos adultos	17
4.1.2. Coleta de formas imaturas de mosquitos.....	17
4.2. Avaliação de aspectos bionômicos de <i>Sabethes identicus</i> Dyar & Knab.....	18

4.2.1. Duração do período pupal	18
4.2.2. Avaliação dos hábitos alimentares, produtividade de ovos ao longo da vida e longevidade	19
4.2.2.1. Atividade hematofágica	19
4.2.2.2. Produtividade de ovos e taxa de eclosão	21
4.2.2.3. Longevidade	22
4.2.3. Avaliação dos diferentes tipos de conteúdo dos bambus utilizados para oviposição das fêmeas de <i>Sa. identicus</i>	23
4.2.4. Tempo de desenvolvimento embrionário, quantidade e viabilidade dos ovos de <i>Sabethes identicus</i>	24
4.2.5. Desenvolvimento larval e canibalismo.....	26
4.2.5.1. Influência da densidade e da luminosidade no tempo de desenvolvimento larval	26
4.2.5.2. Influência da densidade e da luminosidade no canibalismo das larvas	27
5. Discussão	29
6. Conclusões	34
7. Referências Bibliográficas	35

1. INTRODUÇÃO

1.1. Família Culicidae

Os culicídeos apresentam ciclo de vida completo, holometabólico, passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto, tendo as larvas quatro estádios de desenvolvimento. As formas imaturas são aquáticas e os adultos são alados, somente as fêmeas são hematófagas, em sua maioria (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). Os mosquitos sabetíneos pertencem ao Filo Arthropoda>Classe Insecta>Ordem Diptera>Família Culicidae>Tribo Sabethini. Os membros da família Culicidae formam um grupo diverso e abundante distribuído por todo o mundo, exceto nas regiões constantemente congeladas (Forattini 2002).

Atualmente são conhecidas, no mundo, 3541 espécies de culicídeos. A diversidade de espécies de mosquitos varia nas diferentes regiões biogeográficas, sendo a maior riqueza encontrada na região Neotropical, com 31% das espécies conhecidas, seguidas da região Oriental (30%), Afrotropical e Australásia (22%), Neártica (5%) e a Paleártica (3%). Para o Brasil já foram registradas 371 espécies representando 40,8% das ocorrências neotropicais, sendo o ambiente de florestas tropicais o mais diverso e menos conhecido (Forattini 2002).

As 3541 espécies estão incluídas em 112 gêneros (Harbach 2014) distribuídos em 11 tribos, dentre essas, a tribo Sabethini é uma das mais bem representadas no meio silvestre de toda região neotropical.

1.2 Tribo Sabethini

Conhecidos por seu colorido metálico, os representantes da tribo Sabethini são considerados os mosquitos mais diversos morfológica e biologicamente (Judd 1996). Atualmente a tribo Sabethini está composta por 427 espécies, distribuídas por 14 gêneros,

sendo nove destes, neotropicais, são eles: *Isostomyia* Coquillett, *Johnbelkinia* Zavortink, *Limatus* Theobald, *Onirion* Harbach & Peyton, *Runchomyia* Theobald, *Shannoniana* Theobald, *Trichoprosopon* Theobald, *Wyeomyia* Theobald com o maior em número de espécies, e *Sabethes* Robineau-Desvoidy (Harbach 2014).

O desenvolvimento larvário dos sabetíneos geralmente é lento, mais longo do que a maioria dos culicídeos e algumas espécies apresentam hábitos predatórios, até mesmo canibais. As formas imaturas dos mosquitos possuem características morfológicas muito variáveis e frequentemente incomuns, por isso as características das larvas são importantes na identificação e organização das espécies. O contrário é observado na morfologia dos adultos fêmea. As fêmeas adultas apresentam características morfológicas pouco variáveis, principalmente as espécies do gênero *Wyeomyia*. As fêmeas adultas do gênero *Sabethes* apresentam alta heterogeneidade intraespecífica no padrão de cores, o que dificulta a identificação de muitas espécies. A pouca variação das fêmeas adultas dos mosquitos sabetíneos torna-se um obstáculo ao avanço do conhecimento dos aspectos ecológicos e epidemiológicos do grupo.

Atualmente o gênero *Sabethes* está composto por 40 espécies válidas distribuídas em 5 subgêneros: *Davismyia* Lane & Cerqueira; *Peytonulus* Harbach; *Sabethes* Robineau-Desvoidy; *Sabethinus* Lutz e *Sabethoides* Theobald. (Harbach 2014).

1.3 Gênero *Sabethes* Robineau-Desvoidy, 1827

As espécies incluídas no gênero *Sabethes*, assim como os demais sabetíneos, são restritas à Região Neotropical, habitam os ambientes florestados e possuem hábitos exclusivamente diurnos, geralmente zoofílicos, mas também sugam o homem na floresta e arredores; alguns são acrodendrófilos, isto é, habitam preferencialmente a copa das árvores. Os mosquitos sabetíneos são considerados “tímidos”, pois sobrevoam o

hospedeiro vertebrado várias vezes antes de pousar e picar e quando se sentem ameaçados afastam-se voando de ré. O voo dos sabetíneos é lento, e voam com as pernas posteriores voltadas para cima e para frente, uma posição característica (Fig 1). As fêmeas têm preferência pela região do rosto, próxima ao nariz (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). As formas imaturas dos sabetíneos se desenvolvem quase que exclusivamente em plantas que acumulam água em seu interior, fitotelmatas, recipientes naturais tais como bromélias, bambus, axilas de folhas e ocós de árvores. (Forattini 2002).



Figura 1. Adulto de *Sabethes identicus*. Foto: Raquel Portugal / Fiocruzimagens

Os ovos dos sabetíneos não são resistentes à dessecação e são lançados diretamente na água. As fêmeas dos sabetíneos apresentam um comportamento de desova

peculiar, onde as fêmeas grávidas ejetam do seu ovipositor um ou dois ovos por vez em pequenos e estreitos orifícios de recipientes, como bambus contendo água em seu interior. A fêmea flutua no ar e chegando a pouca distância de 1 a 2 cm projeta o abdome na direção do orifício e lança os ovos que com precisão entram no orifício. Após o lançamento dos ovos ocorre o movimento de retropulsão em que a fêmea se afasta para então recomeçar o procedimento de oviposição (Forattini 2002). Desse modo, a densidade populacional dos sabetíneos se mantém mesmo com a diminuição das chuvas o que não ocorre com os outros culicídeos que precisam de volumes de água pois ovipõem diretamente na água, já que uma vez parcialmente tapados, seus criadouros tornam-se menos sujeitos a evaporação (Lane & Cerqueira 1942).

Em relação à sistemática, os estudos envolvem sobretudo a descrição de espécies novas de *Sabethes*. (Harbach 1991, 1994, 1995; Hall, Howard & Harbach 1999; Moses, Howard, Harbach 2000).

Em relação à bionomia, foram realizados alguns estudos visando o entendimento de aspectos da cópula de *Sabethes cyaneus* (Fabricius) (Hancock et al 1990, Foster & Taylor 1991, South & Arnqvist 2011) e de *Sabethes chloropterus* (Zsemlye et al 2005) mostrando que machos dessas espécies apresentam um comportamento diferenciado de corte para atrair as fêmeas realizando movimentos rítmicos com pernas e corpo como uma dança para o acasalamento. Também foi verificado, em laboratório, o tempo de desenvolvimento de cada estágio larval e da pupa de *Sabethes aurescens* (Muller et al 2009) e *Sabethes chloropterus* (Galindo 1958).

1.4. Importância médica dos mosquitos do gênero *Sabethes*

Até quase o final do século XIX os mosquitos eram conhecidos principalmente pelo incômodo que sua picada causava ao homem (Forattini 2002). A partir de 1898 com

as descobertas de Ross e Grassi ficou estabelecido que muitas espécies de mosquitos são vetoras de parasitos protozoários, helmintos e vírus, muitos deles causadores de agravos à saúde humana. Dentre esses agravos, a febre amarela é considerada de relevante impacto em países da África e das Américas (SVS 2014). No Brasil, são descritos dois ciclos epidemiológicos da febre amarela: o ciclo urbano, sem ocorrência desde 1942, e o ciclo silvestre, em cujos ciclos há envolvimento de diferentes espécies de mosquitos. No Brasil, registram-se anualmente casos isolados da febre amarela silvestre em 19 estados (Fig. 2), porém esses casos oscilam em número e distribuição geográfica. Recentemente, no período de 2000 a 2009 foram registrados 320 casos com 152 óbitos (SVS 2014).

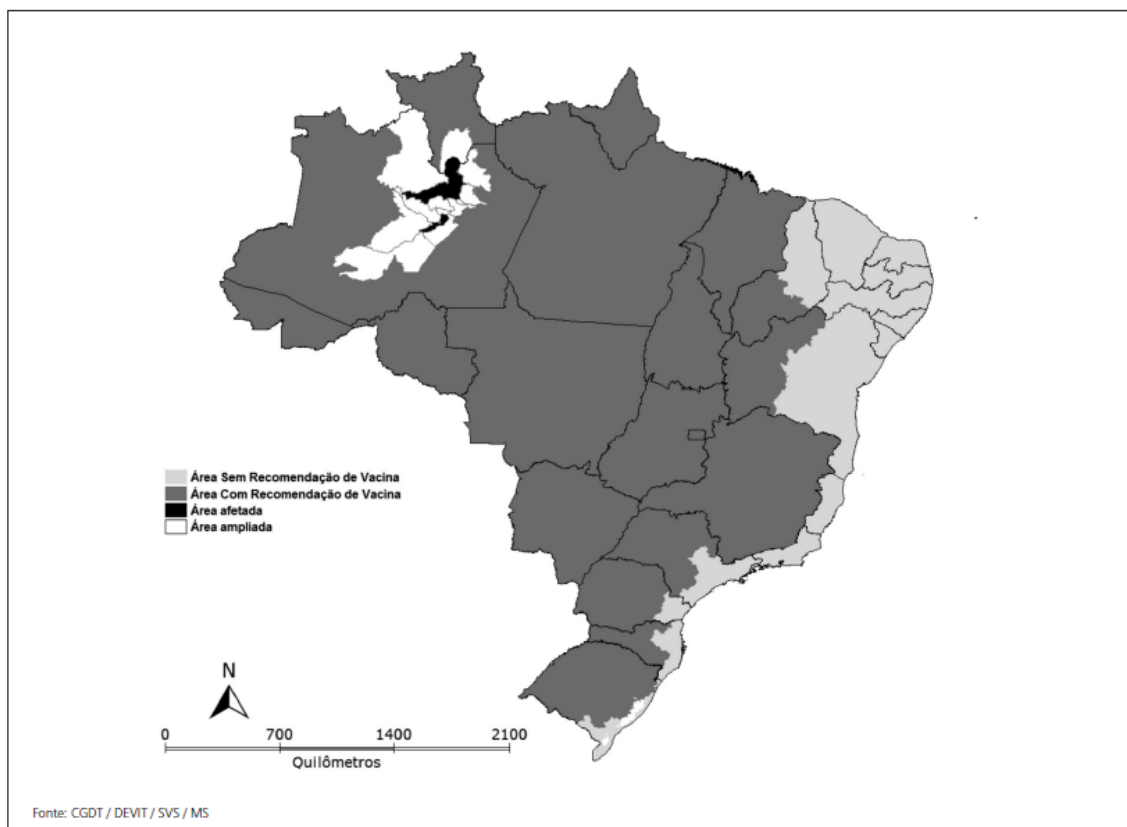


Figura 2. Situação epidemiológica da febre amarela no Brasil. Área afetada durante o período de 2012 / 2013. Área ampliada ao redor da área afetada para intensificação das ações de vigilância, prevenção e controle da febre amarela.

No Brasil, a espécie de maior importância médica do gênero *Sabethes* é *Sabethes (Sabethoides) chloropterus* Humboldt, 1819, considerada vetor secundário da febre amarela silvestre, tendo sido encontrada naturalmente infectada pelo vírus amarelo (Vasconcelos et al 1997, 1998). Além disso, outros arbovírus já foram detectados em *Sa. chloropterus* coletados na natureza, como por exemplo, os vírus da encefalite Saint. Louis e Ilhéus (Forattini, 1965; Hervé et al., 1986). A biologia e a competência vetorial de *Sa. chloropterus* foi extensamente estudada na década de 1950 com populações de mosquitos do Panamá (Galindo et al 1950, 1951, 1956, 1957).

Embora o enfoque dos estudos seja na maioria das vezes para a espécie *Sa. chloropterus*, outras espécies já foram encontradas naturalmente infectadas com o vírus da febre amarela no Brasil, como *Sabethes albiprivus* Lutz, 1903, *Sabethes belisarioi* Neiva, 1908, *Sabethes cyaneus* (Fabricius), 1805, *Sabethes glaucodaemon* (Dyar & Shannon), 1925 e *Sabethes soperi* Lane & Cerqueira, 1942 (Degallier et al. 1992; Vasconcelos et al. 1998; Goenaga et al. 2012). Da mesma forma, mosquitos do gênero *Sabethes* também já foram encontrados infectados, na natureza, com outros arbovírus, como os vírus Mayaro, Buniavírus, Ilhéus, Wyeomyia e encefalite de Saint Louis (Forattini 1965, Vasconcelos et al. 1998). Além disso, *Sabethes soperi* e *Sabethes intermedius* Lutz, 1904, têm demonstrado envolvimento na veiculação de arboviroses como Tucunduba e Macaua. (Hervé et al. 1986).

Também em estudos de campo, foi avaliada a distribuição vertical e temporal de *Sa. chloropterus* na Venezuela (Navarro e Machado-Allison 1995). No Brasil, nas florestas do estado do Pará, um dos raros estudos avaliando comportamento de espécies de *Sabethes*, revelou que *Sabethes chloropterus*, *Sa. belisarioi*, *Sa. cyaneus* e *Sa. glaucodaemon* são normalmente encontrados na copa das árvores, acima de 16m (Pinto

et al 2009). Também em regiões florestadas do estado do Pará, experimentos de marcação-soltura-recaptura revelaram que os adultos são longevos, recapturando-se espécimes até após 44 dias de soltura (Dégallier et al. 1998).

Vê-se assim que existem lacunas no conhecimento das populações dos mosquitos sabetíneos tão diversos e importantes do Brasil.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar aspectos bionômicos de *Sabethes identicus* em laboratório visando à implantação de uma colônia em insetário.

2.2. Objetivos específicos

- ✚ Verificar a duração do período pupal, larval e embrionário de *Sabethes identicus*;
- ✚ Avaliar o perfil de atividade hematofágica;
- ✚ Registrar a produção e a taxa de eclosão dos ovos;
- ✚ Registrar a longevidade dos adultos;
- ✚ Avaliar os diferentes atrativos do criadouro bambu;
- ✚ Comparar o índice de canibalismo frente a diferentes densidades larvais e diferente iluminação claro e escuro.

3. METODOLOGIA

3.1. Obtenção dos espécimes no campo para estabelecimento de colônia

Os mosquitos estudados foram coletados na Reserva Biológica do Tinguá (REBIO - Tinguá) (Fig. 3). A REBIO – Tinguá foi escolhida por ser uma área preservada e por já existirem dados sobre a fauna de mosquitos, de estudos anteriores (Lopes et al 1999).

Situada em sua maior parte no município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, a REBIO - Tinguá possui cobertura vegetal formada por floresta ombrófila densa (IBGE 2014), com grande variação estrutural devido à declividade formada pela Mata Atlântica, atingindo em sua região mais alta, 1600m de altitude.



Figura 3. Mapa mostrando a área da Reserva Biológica do Tinguá – Nova Iguaçu - RJ. Fonte: www.ecopreservar.org.br

O clima na REBIO – Tinguá é quente e úmido, com estação seca curta e pouco definida em julho e agosto, média anual de 21,6°C e máxima de 40,0°C em janeiro, mês

mais quente. A precipitação anual é de 2099,3 mm, sendo dezembro e janeiro os meses mais chuvosos (Lima 2002).

As coletas de sabetíneos foram realizadas semanalmente, das 9:00h às 14:00h, durante o período de janeiro a julho de 2013. Em cada coleta foi registrada a temperatura e a umidade relativa do ar, utilizando-se um termohigrômetro da marca Incoterm. As coletas foram realizadas com o objetivo de se capturar espécies de *Sabethes*, preferencialmente aquelas espécies com relato na literatura de encontro de infecção natural pelo vírus da febre amarela.

3.1.1. Coleta de sabetíneos adultos

As fêmeas foram coletadas através da atração humana, utilizando-se um aparelho de sucção manual (capturador de Castro) e mantidas em gaiolas de cloreto de polivinil etiquetadas com a data e o local da coleta. Ao final da coleta as gaiolas foram armazenadas em caixa térmica e levadas ao Laboratório de Transmissores de Hematozoários (LATHEMA), Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ - RJ. No insetário, com temperatura média entre 27 e 28°C e umidade relativa do ar - UR entre 70-80%, as fêmeas foram adormecidas em congelador e tiveram suas asas arrancadas. Após despertarem, as fêmeas foram postas a desovar individualmente em tubos Borrel numerados e contendo uma pequena camada de algodão e papel de filtro umedecidos. A desova de cada fêmea foi contada e posta em vasilhas plásticas retangulares medindo 285 mm de largura x 214 mm de comprimento x 57 mm de profundidade contendo água desclorada, ou seja, armazenada em galões por no mínimo 24 horas. A partir da eclosão, as larvas foram criadas até o estágio adulto. Os adultos de cada desova foram identificados a partir das características da fêmea e da genitália masculina. Na tentativa de se reproduzir em laboratório um ambiente silvestre, os adultos da mesma espécie foram transferidos para gaiolas de madeira medindo 40cm x 40 cm, teladas na face anterior e posterior e

envidraçadas nas faces laterais e superior. Nessas gaiolas foi introduzida uma placa de Petri contendo uma esponja embebida em água, três galhos de árvore secos presos ao nível do teto que funciona como suporte de repouso, um frasco contendo alguns galhos frescos de bambu e um internódio de bambu com sua extremidade apical tapada por um chumaço de gaze. Esse internódio de bambu foi coletado na natureza com a atenção de já ter orifício produzido por besouros curculíneos para oviposição. Além disso, com o objetivo de aumentar a umidade relativa do ar dentro da gaiola, foi colocado uma tira de toalha de espuma comumente utilizada na limpeza doméstica com as extremidades mergulhadas em bandejas com água atrás de cada gaiola (Fig. 4).



Figura 4. Gaiola utilizada nos estudos dos mosquitos sabetíneos.

3.1.2. Coleta de formas imaturas de mosquitos

Os ovos e larvas de *Sabethes identicus* foram coletadas através do uso de armadilhas feitas com sapucaia *Lecythis pisonis* Cambess (Motta et al em preparação) na tentativa de simular um oco de árvore, as cascas também chamadas de ouriços foram perfuradas deixando um pequeno orifício para ser usado pelas fêmeas para oviposição.

Foram instaladas 12 armadilhas, distribuídas em uma área de cobertura vegetal densa à margem de um riacho na REBIO - Tinguá em diferentes alturas, de 4 a 14m.

Quinzenalmente, o conteúdo dos ouriços foi coletado e transferido para sacos plásticos próprios para o transporte de formas imaturas, devidamente identificados e acondicionados em uma caixa térmica, e levados ao laboratório. No insetário, ovos e larvas foram criados até o estágio de adulto e após a identificação da espécie, transferidos para gaiolas de madeira anteriormente descritas (item 3.1.1. e Fig. 4).

3.2. Avaliação de aspectos bionômicos de *Sabethes identicus* Dyar & Knab

3.2.1. Duração do período pupal

Após o estabelecimento da colônia de *Sabethes identicus*, foram separados dois grupos de 40 pupas macho e 40 pupas fêmea cada, e dois grupos com 35 pupas macho e 35 pupas fêmea cada. Todas as pupas tinham 1 dia de formação e foram acompanhadas até a emergência dos adultos. Diariamente, o número e o sexo dos indivíduos adultos nascidos foi registrado. A determinação do sexo também foi confirmada através da observação da exúvia da pupa na lupa.

3.2.2. Avaliação dos hábitos alimentares, produtividade de ovos ao longo da vida e longevidade

Na avaliação dos hábitos alimentares, produtividade dos ovos e longevidade foram selecionadas duas gaiolas de madeira (item 3.1.1), posicionadas lado a lado e denominadas gaiola 1 - G1 e gaiola 2 - G2 a primeira observação e G3 e G4 para as réplicas. Dentro dessas gaiolas foram introduzidos três internódios de bambu naturalmente perfurados por besouros, trazidos do campo e preenchidos com diferentes conteúdos (especificado no item 3.2.3). Os mesmos adultos provenientes da observação da duração do período pupal, foram transferidos para as gaiolas G1 a G4, 35 adultos

macho e 35 fêmeas em cada gaiola. A partir do 3º dia de vida da maioria dos adultos foi iniciada a alimentação sanguínea que foi mantida em dias alternados, até a morte de todas as fêmeas. A solução de mel era retirada cerca de 4 horas antes do repasto sanguíneo, que era realizado das 12 às 14h. Como fonte de sangue foi utilizado um cobaio, anestesiado e introduzido nas gaiolas G1 a G4 simultaneamente de acordo com o protocolo LW-32/14 licenciado pela Comissão de Ética em Uso de Animais – CEUA. Para minimizar interferências, após 1 hora de alimentação os cobaios eram trocados entre as gaiolas e semanalmente as gaiolas tinham sua posição invertida. Durante o repasto sanguíneo, foi registrado o número de fêmeas que se alimentaram com sangue em cada gaiola. Imediatamente após o término do repasto, novas soluções de mel foram repostas nas gaiolas.

A partir do segundo repasto sanguíneo, nos mesmos dias alternados em que foi oferecido o cobaio, os três bambus de cada gaiola eram retirados para contagem dos ovos ali depositados. Para a contagem dos ovos todo líquido era filtrado em peneiras forradas com papel de filtro onde foi feito um desenho quadriculado para facilitar a contagem do número de ovos em lupa (Fig. 5).

Diariamente pela manhã eram retirados e registrados o número e o sexo dos mosquitos adultos mortos nas gaiolas. Os procedimentos foram realizados até a morte de todos os mosquitos adultos nas 4 gaiolas.

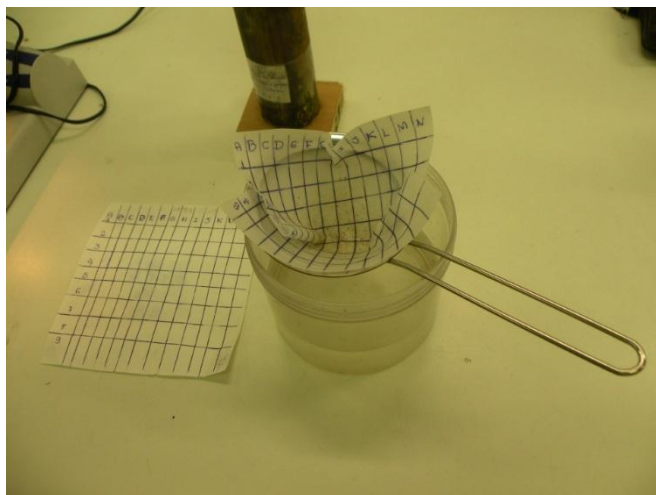


Figura 5. Material utilizado na filtragem do conteúdo dos bambus e na contagem dos ovos.

3.2.3. Avaliação dos diferentes tipos de conteúdo dos bambus utilizados para oviposição das fêmeas de *Sa. identicus*

Para avaliar a atração por oviposição e a influência das características do criadouro na oviposição, diferentes soluções foram usadas. Cada bambu foi numerado e preenchido com uma solução diferente (Fig. 6).

Bambu 1: 65 ml de água da criação das larvas com exúvias de larva e pupa (AC);

Bambu 2: 65 ml de água desclorada com 0,1g de levedo em pó marca Lev life (AL);

Bambu 3: 65ml de água desclorada (AA).

Na seleção dos bambus foram uniformizadas as características de espessura, número e disposição dos furos, nas duas gaiolas de madeira, G1 e G2. Em cada gaiola de madeira foram colocados 3 bambus cada um com uma solução diferente. Cada par de bambus com as mesmas características recebeu solução diferente entre as duas gaiolas, ou seja, bambus similares em nº de furos e espessura receberam conteúdos diferentes em cada gaiola. Conforme descrito no item anterior, o conteúdo dos bambus foi retirado em dias alternados para a realização da contagem dos ovos, posteriormente lavado e escovado

e a água foi reposta, respeitando a característica de cada bambu. Os bambus foram devolvidos às respectivas gaiolas, tendo suas posições ocupadas dentro das gaiolas alternadas a cada troca. Na análise das réplicas, os bambus da gaiola 1 foram utilizados na gaiola 3 e os bambus da gaiola 2 foram utilizados na gaiola 4.



Figura 6. Bambus instalados nas gaiolas dos experimentos e utilizados como criadouro com diferentes conteúdos.

3.2.4. Tempo de desenvolvimento embrionário e viabilidade dos ovos

Os ovos provenientes do experimento anterior, depois de contados, foram transferidos para bacias com 1000ml de água desclorada e identificadas com a data, o número do bambu e o número da gaiola. As desovas foram observadas diariamente na lupa e as larvas eclodidas, contadas. Diariamente, as larvas recém - eclodidas e contadas, eram retiradas da bacia com auxílio de uma pipeta.

3.2.5. Desenvolvimento larval e canibalismo

Ovos de *Sabethes identicus* foram postos para eclodir em bacias contendo 1000ml de água desclorada. Foram realizadas trélicas. As larvas eclodidas em um único dia foram assim separadas:

- a) 3 bacias com 30 larvas e 0,1g de levedo em pó marca Lev life numeradas de 1 a 3;
- b) 3 bacias com 60 larvas e 0,2g de levedo em pó e numeradas de 4 a 6
- c) 3 bacias com 90 larvas e 0,3g de levedo em pó e numeradas de 7 a 9

Cada grupo de larvas de diferentes densidades foi submetido à uma condição de luminosidade (claro/escuro). As bacias foram teladas e as larvas foram contadas em dias alternados a partir do 5º dia de eclosão das larvas, uma vez que a observação das larvas de primeiro estágio era difícil. Nos dias de contagem das larvas a solução de criação era trocada e as mesmas quantidades de levedo eram repostas.

As comparações foram feitas entre bacias com a mesma densidade larval e diferente condição de luminosidade.

4. RESULTADOS

4.1. Obtenção dos espécimes no campo para estabelecimento de colônia

4.1.1. Coleta de sabetíneos adultos

Foram obtidas apenas 99 fêmeas de *Sabethes* spp nas coletas de mosquitos sabetíneos adultos realizadas através da atração humana ao nível do solo, de janeiro a julho de 2013. De fato, foi baixo o número médio de fêmeas pertencentes a uma mesma espécie por coleta. Em sua maioria, as fêmeas não realizavam postura ou ovipunham de 1 a 10 ovos. Dessa forma, somente 25 fêmeas de *Sabethes* efetuaram desova em laboratório, correspondendo às seguintes espécies: *Sa. soperi* Lane & Cerqueira, *Sa. chloropterus* (Von Humboldt) e *Sa. identicus*. *Sa. identicus* foi a espécie coletada em maior número e que desovou com maior frequência.

Em diversas tentativas o baixo número de sabetíneos adultos gerados a partir das desovas era frequentemente baixo, impossibilitando a colonização. Somente após aproximadamente seis meses, foi obtido um número suficiente de adultos de apenas uma das espécies: *Sa. identicus*.

A colônia de *Sa. identicus* foi iniciada em julho de 2013 com 33 adultos, 18 fêmeas e 15 machos, provenientes de desovas de cinco fêmeas coletadas na REBIO - Tinguá.

4.1.2. Coleta de formas imaturas de mosquitos

Foram coletados ovos, larvas e pupas de *Sabethes albiprivus* Theobald, *Wyeomyia nigrifubus* Galindo, Carpenter & Trapido, *Limatus pseudomethysticus* (Bonnewepster and Bonne), *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shannon), *Culex* sp. e *Ochlerotatus terreus* (Walker) nas coletas de formas imaturas realizadas com sapucaia

parcialmente preenchidos com água, entre janeiro e julho de 2013. As coletas resultaram em pequeno número de formas imaturas de cada uma das espécies anteriormente citadas, embora aquelas de *Sa. albiprivus* tenham sido ligeiramente mais frequentes. Com isso, não se conseguiu obter espécimes suficientes de uma mesma espécie para se estabelecer uma colônia de imediato a partir de formas imaturas.

4.2. Avaliação de aspectos bionômicos do adulto de *Sabethes identicus* Dyar & Knab

4.2.1. Duração do período pupal

As pupas de *Sabethes identicus* se transformavam em adultos entre 8 a 9 dias, sendo 39% em 8 dias e 61% em 9 dias, em condições de laboratório à 25-26°C (Tabela D).

Pupas machos e fêmeas tiveram tempo de desenvolvimento essencialmente semelhante entre 8 e 9 dias (38% e 62% dos machos e 40% e 60% das fêmeas respectivamente).

Tabela I.

Número de dias decorridos no desenvolvimento pupal e adultos de *Sabethes identicus* emergidos nas gaiolas G1, G2, G3 e G4, de acordo com o sexo.

Adultos	G1 ♂	G1 ♀	G2 ♂	G2 ♀	G3 ♂	G3 ♀	G4 ♂	G4 ♀	Σ Adultos ♂	% ♂	Σ Adultos ♀	% ♀	Σ Adultos	% Σ Adultos
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	8	14	15	10	18	19	16	18	57	38%	61	41%	118	39%
9	32	26	25	30	17	16	19	17	93	62%	89	59%	182	61%
Total	40	40	40	40	35	35	35	35	150	100%	150	100%	300	100%

4.2.2. Avaliação dos hábitos alimentares, produtividade de ovos ao longo da vida e longevidade

4.2.2.1. Atividade hematofágica

A primeira oferta de alimentação sanguínea foi realizada no terceiro dia após a emergência dos adultos, considerando como primeiro dia aquele em que a maioria dos adultos emergiu. O perfil de atividade hematofágica obtido em cada gaiola foi semelhante (Figura 7). Ao longo de todo o experimento, a alimentação sanguínea, consistindo num cobaio anestesiado, foi oferecida 33 vezes na gaiola 1, 31 vezes na gaiola 2, 34 na gaiola 3 e 35 vezes na gaiola 4.

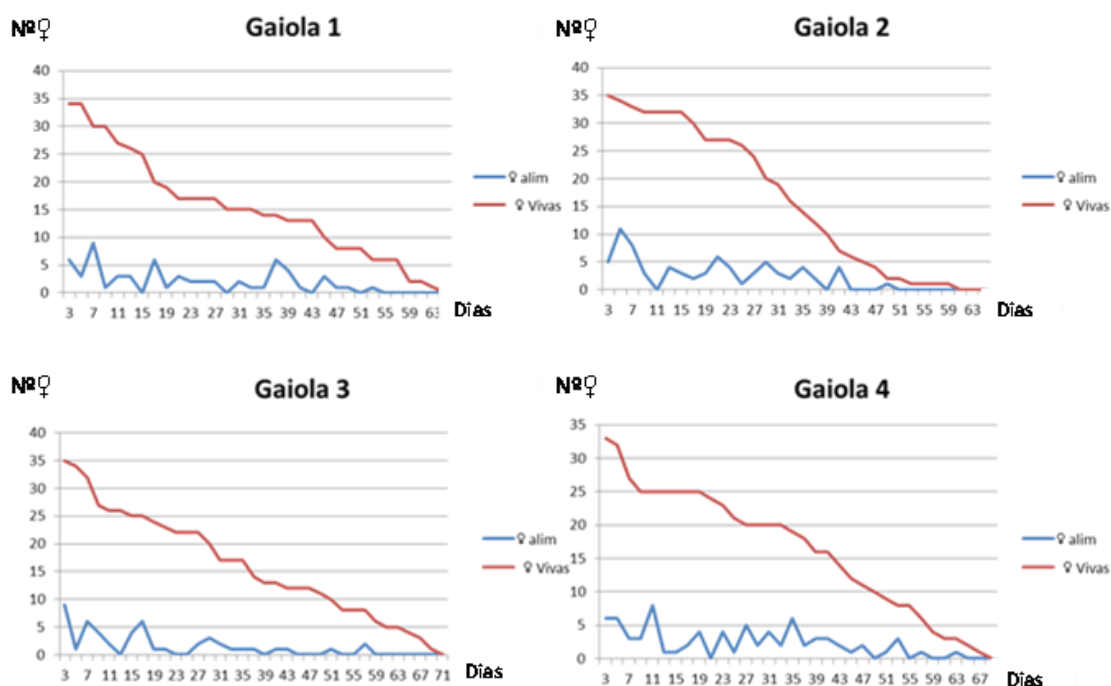


Figura 7. Número de fêmeas de *Sabethes identicus* vivas e alimentadas com sangue, em quatro gaiolas, em dias de vida.

Foi observado que um número pequeno de fêmeas se alimentavam sobre o cobaio (preferencialmente próximo ao focinho) a cada oferta de alimentação sanguínea.

Algumas fêmeas se alimentaram de sangue apenas três dias após a emergência. Ligeiros picos no número de fêmeas ingurgitadas com sangue (~10) foram detectados principalmente nos primeiros dias de observação em cada gaiola, embora este aumento na taxa de hematofagia seja melhor visualizado na figura 8, onde é apresentado o somatório do observado nas quatro gaiolas. Nota-se um pico de avidez por sangue já nas três primeiras alimentações, que ocorreram entre o 3º e 7º dias de vida, seguida de uma diminuição que se manteve relativamente estável até o 40º dia e tendeu ao decréscimo após este período (Fig 8).

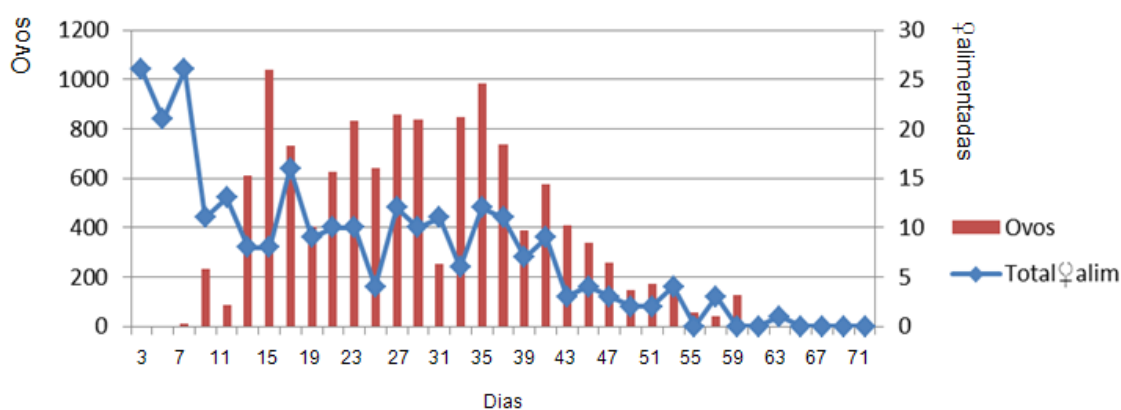


Figura 8. Somatório do número de ovos e de fêmeas de *Sabethes identicus* alimentadas com sangue em dias de vida.

Ao longo de todo experimento, houve registro de 262 fêmeas ingurgitadas com sangue. Como as fêmeas alimentadas e não alimentadas permaneciam misturadas nas respectivas gaiolas (G1 a G4), não podemos assegurar o número exato de repastos sanguíneos realizados por cada fêmea, contudo, considerando-se que o total de fêmeas observadas durante o experimento era de 140, sugere-se que, em média, cada fêmea realizou cerca de dois repastos sanguíneos ao longo de sua vida ($262/140 = 1,9$).

4.2.2.2. Produtividade de ovos ao longo da vida

A produtividade de ovos recuperados a cada dois dias nos internódios de bambu oferecidos como local de desova foi contrastante entre as gaiolas. Assim, durante o período de vida das fêmeas observadas, foram recolhidos 1.284, 2.435, 3.261 e 5.404 ovos nas gaiolas G3, G4, G1 e G2, respectivamente.

A produtividade de ovos variou entre as quatro gaiolas de observação ao longo do tempo. Essencialmente, observou-se pico mais precoce de produtividade de ovos nas gaiolas G2 e G3, e mais tardio nas gaiolas G1 e G4 (Fig. 9). O período de maior produtividade de ovos foi do 13° ao 41° dia de vida, quando considerado o somatório diário de ovos recolhidos nas quatro gaiolas. Nesse período, ocorreu um aumento na oviposição no 15° dia pós emergência e um segundo incremento no 35° dia pós emergência (Fig. 8).

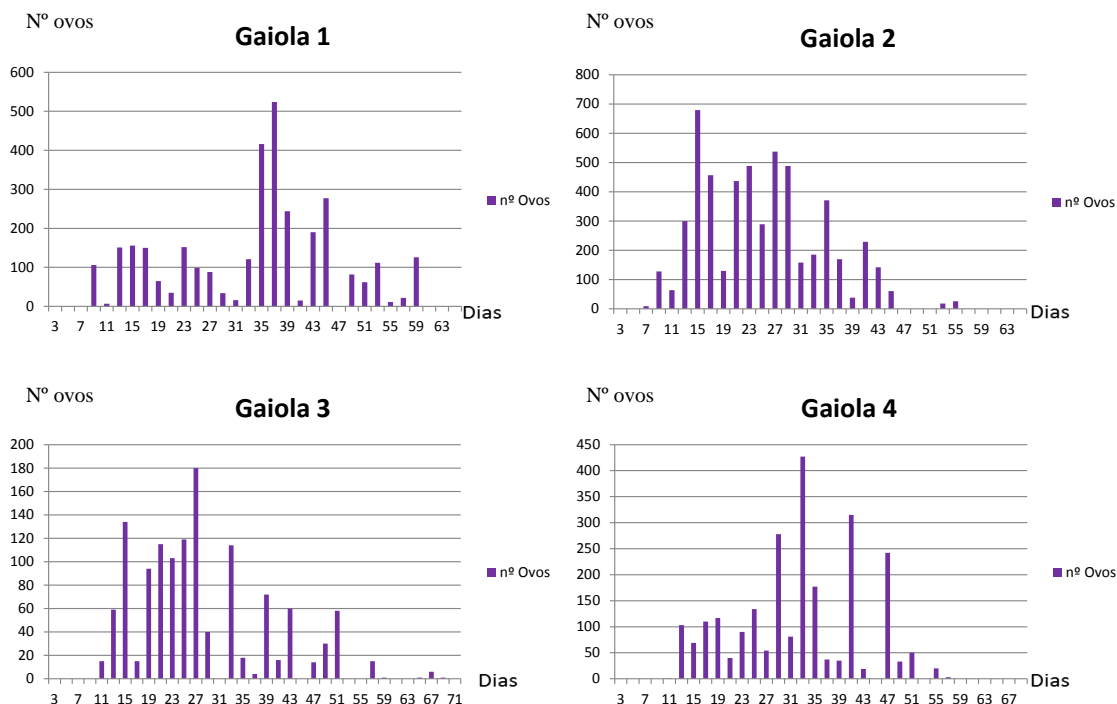


Figura 9. Número de ovos de *Sabethes identicus* recolhidos em quatro gaiolas durante 70 dias em condições de laboratório. Alimentações sanguíneas em cobaios foram oferecidas a cada dois dias.

Considerando-se que o número máximo de fêmeas que poderiam ter se alimentado foi de 140 (total de fêmeas observadas nas quatro gaiolas) e que se recolheu um total de 12.384 ovos, o número médio de ovos postos por fêmea ao longo da vida foi de 88,5.

Os primeiros ovos foram detectados no 4º. dia após 1ª alimentação sanguínea (Fig. 8). Sugere-se assim que a duração do ciclo gonotrófico em *Sa. identicus* seja em torno de 4 dias.

4.2.2.3. Longevidade

Os adultos de *Sa. identicus* viveram no máximo 71 dias à 25-26° C em condições de laboratório, sendo as fêmeas mais longevas que os machos. No entanto, observou-se ligeira variação no perfil de mortalidade entre as gaiolas, embora os perfis de mortalidade de fêmeas nas gaiolas G1, G3 e G4 tenham sido similares ao longo do experimento. A maioria (80%) das fêmeas sobreviveu até cerca de 11 dias na gaiola 1, 18 dias na gaiola 2, 9 dias na gaiola 3 e 7 dias na gaiola 4, uma média total de 10 dias. 80% dos machos sobreviveu até cerca de 7 dias nas gaiolas 1 e 2, 6 dias na gaiola 3 e 5 dias na gaiola 4, uma média de 6 dias. (Fig. 10). Quando se considera 50% de adultos sobreviventes após a emergência as fêmeas sobreviveram até cerca de 37 dias, enquanto 50% dos machos sobreviveu até cerca de 24 dias.

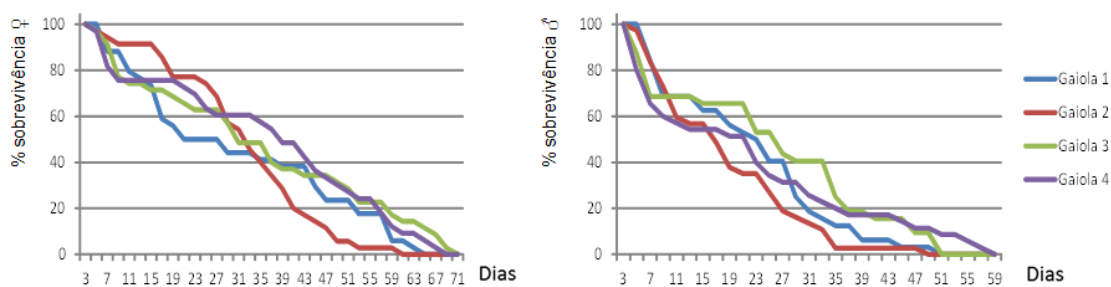


Figura 10. Número máximo de dias de vida dos adultos de *Sabethes identicus* em cada gaiola pelo percentual de sobrevivência.

4.2.3. Avaliação dos diferentes tipos de conteúdo dos bambus utilizados para oviposição das fêmeas de *Sa. identicus*

Nas 4 gaiolas avaliadas, foram obtidos ovos nos 3 tipos de bambus utilizados: contendo água de criação, água contendo levedo de cerveja e água desclorada. O número de ovos obtidos em cada bambu variou (Tab 2). O resultado desta observação foi analisado aos pares, isto é, somando-se os valores (número de ovos recolhidos/bambu) das gaiolas onde foram usados os mesmos bambus. Nas gaiolas G1 e G3, o bambu com maior número de ovos ($N= 2592 = 57\%$) continha água com levedo de cerveja (AL) ao passo que o bambu com menor número de ovos ($N= 857 = 19\%$) continha água de criação (AC). Diferentemente, nas gaiolas G2 e G4 foi coletado o maior número de ovos ($N= 4545 = 58\%$) no bambu contendo água de criação (AC), enquanto que o bambu contendo água com levedo apresentou o menor número de ovos ($N= 924 = 12\%$). (Fig. 11)

O resultado obtido com o bambu 3 contendo água desclorada (AA) foi semelhante em todas as gaiolas, apresentando a segunda maior quantidade de ovos de todos os bambus avaliados (Tabela II e Fig. 11).

Tabela II.

Número absoluto e percentual de ovos obtidos nos diferentes bambus, mantidos nas 4 gaiolas de *Sa. identicus*. B1 AC= Bambu 1 com água da criação, B2 AL= Bambu 2 com água e levedo, B3 AA= Bambu 3 com água desclorada.

Gaiolas	Número de ovos / %			
	B1 AC	B2 AL	B3 AA	Total
G1 e G3	857 / 19%	2592 / 57%	1095 / 24%	4544 / 100%
G2 e G4	4545 / 58%	924 / 12%	2361 / 30%	7830 / 100%

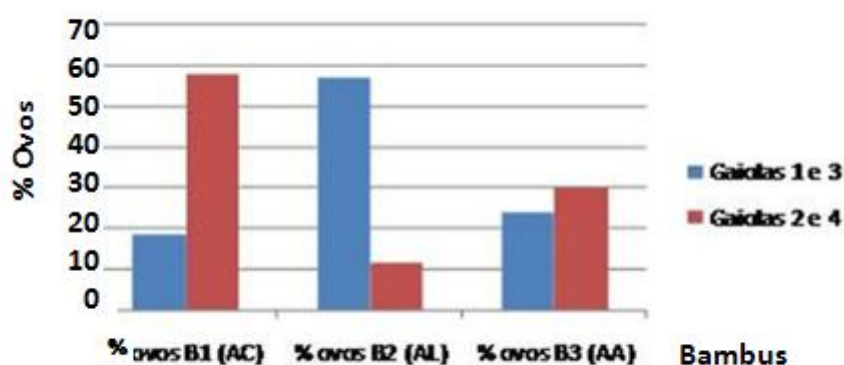


Figura 11. Percentual de ovos postos por *Sa. identicus* por tipo de solução e bambus em 4 gaiolas. B1 (AC)= Bambu 1 com água da criação, B2 (AL)= Bambu 2 com água e levedo, B3 (AA)= Bambu 3 com água desclorada

4.2.4. Tempo de desenvolvimento embrionário e viabilidade dos ovos de *Sabethes identicus*

Os ovos de *Sa. identicus* apresentaram alta taxa de eclosão. Com uma média de 80% dos ovos completando o desenvolvimento embrionário entre 2-4 dias à 25-26°C.

Acompanhando as posturas ao longo da vida, a taxa de viabilidade dos ovos variou entre cerca de 98% e 50%, havendo uma aumento da taxa no início da vida e um decréscimo ao final da vida.(Fig. 12).

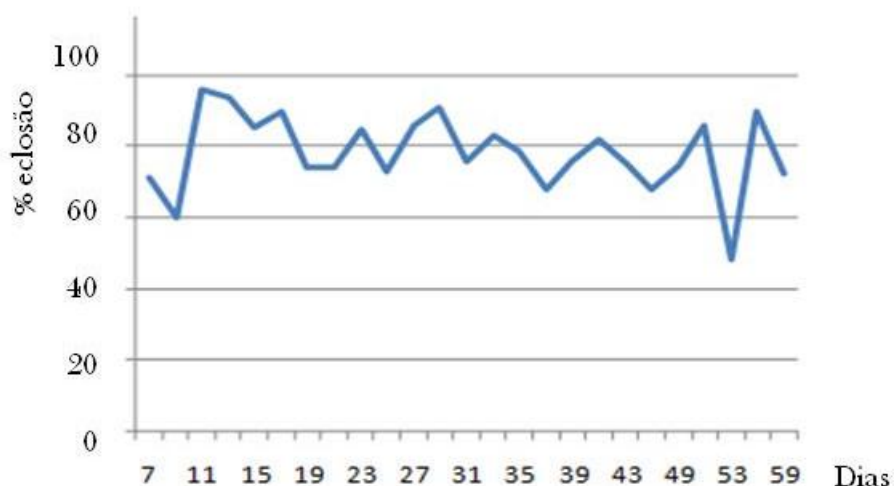


Figura 12. Percentual de ovos eclodidos ao longo da vida das fêmeas das 4 gaiolas de *Sa. identicus* avaliadas.

O tempo de desenvolvimento embrionário dos ovos de *Sa. identicus* foi semelhante nas gaiolas 1 e 2 (Tabelas III e IV).

Tabela III.

Número de larvas eclodidas de *Sa. identicus* em dias após a postura - dpp a partir de 3261 ovos em diferentes condições de criação, onde B1=AC= Bambu 1 com água da criação, B2=AL= Bambu 2 com água e levedo, B3=AA= Bambu 3 com água desclorada, na gaiola 1.

Gaiola 1	1 a 2	2 a 3	3 a 4	4 a 5	5 a 6	6 a 7	7 a 8	8 a 9dpp	Larvas eclodidas
Bambu 1	45	127	111	15	8	1	1	0	308
Bambu 2	52	448	669	159	30	10	4	5	1377
Bambu 3	114	359	106	16	1	1	1	1	599
Total	211	934	886	190	39	12	6	6	2284
%	9,2%	40,9%	38,8%	8,3%	1,7%	0,5%	0,3%	0,3%	70,2%

Tabela IV.

Número de larvas eclodidas de *Sa. identicus* em dias após a postura - dpp a partir de 5404 ovos em diferentes condições de criação, onde B1=AC= Bambu 1 com água da criação, B2=AL= Bambu 2 com água e levedo, B3=AA= Bambu 3 com água desclorada, na gaiola 2.

Gaiola 2	1 a 2	2 a 3	3 a 4	4 a 5	5 a 6	6 a 7	7 a 8	8 a 9dpp	Larvas eclodidas
Bambu 1	74	1521	881	95	20	4	6	1	2612

Bambu 2	9	191	193	99	70	19	10	5	596
Bambu 3	51	452	355	24	17	1	1	0	901
Total	134	2164	1429	218	107	24	17	6	4109
%	3,3%	52,7%	34,8%	5,3%	2,6%	0,6%	0,4%	0,2%	85,0%

4.2.5. Desenvolvimento larval e canibalismo

4.2.5.1. Influência da densidade e da luminosidade no tempo de desenvolvimento larval

Foi avaliado o desenvolvimento larval de 180 e 360 larvas de *Sa. identicus* mantidas na presença e ausência de luz respectivamente.

A maioria das pupas de *Sa. identicus* se formou entre o 17° e o 19° dia após a eclosão. Embora o tempo de duração do estágio larval tenha variado de acordo com as densidades larvais avaliadas. As larvas se transformaram em pupas entre 17 e 21 dias (90% das larvas). Cerca de 10% das larvas de *Sa. identicus* terminaram o desenvolvimento larval entre o 24° e o 30° dia. De fato, em 21 dias, 89% e 83% das pupas já haviam se formado nas bacias contendo 30 larvas, na presença ou na ausência de luz, respectivamente.

Nas bacias com 60 larvas as proporções de *Sa. identicus* que se transformaram em pupas foi de respectivamente 90% e 92%, e 96% e 96% nas bacias com 90 larvas. Vale destacar que as bacias contendo 90 larvas tiveram o maior percentual de pupas se formando no 17° (45%), enquanto que neste prazo, respectivamente, 29% e 19% das larvas mantidas em densidade de 60 e 30 larvas/bacia completaram o desenvolvimento larval. As bacias contendo 30 larvas estenderam seu desenvolvimento até o 30° dia de desenvolvimento larval (Tabela V).

O tempo de desenvolvimento larval foi semelhante para as larvas mantidas na presença e ausência de luz (Tabela V) com resultados semelhantes. Foi verificado o mesmo percentual total de transformação em pupas, em ambas as condições (Tabela V).

Tabela V.

Tempo de desenvolvimento larval e formação de pupas de *Sabethes identicus* em três diferentes densidades larvais, na presença e ausência de luz.

Dias do Desenv. Larval	Densidade larval					
	30L (n=30)	30L (n=60)	60L (n=60)	60L (n=120)	90L (n=90)	90L (n=180)
5°	0	0	0	0	0	0
7°	0	0	0	0	0	0
10°	0	0	0	0	0	0
12°	0	0	0	0	0	0
14°	0	0	0	0	0	0
17°	30,8%	13,3%	17,6%	34,9%	52,4%	40,5%
19°	30,8%	43,3%	45,1%	40,4%	33%	40,5%
21°	26,9%	26,7%	25,5%	16,5%	9,7%	15%
24°	0	7%	11,8%	8,2%	4,9%	3,2%
26°	0	1,7%	0	0	0	0
28°	7,7%	1,7%	0	0	0	0
30°	3,8%	0	0	0	0	0
32°	0	0	0	0	0	0
34°	0	0	0	0	0	1%
36°	0	0	0	0	0	0
38°	0	0	0	0	0	0
40°	0	0	0	0	0	0
Percentual de pupas formadas	86,7%	93,4%	85%	90,9%	91,1%	85%

As colunas sombreadas correspondem às bacias mantidas no escuro.

4.2.5.2. Influência da densidade e da luminosidade no canibalismo das larvas

Cerca de 9 e 12% das larvas de *Sa. identicus*. sofreram canibalismo, em três diferentes densidades larvais 30, 60, 90 larvas por bacia correspondendo respectivamente a 3 larvas/100ml, 6 larvas/100ml e 9 larvas/100ml de água. Assim, o número de larvas que sofreram canibalismo aumentou apenas ligeiramente de acordo com a densidade, isto é, nas bacias com 30 larvas o percentual foi de 9%, enquanto que nas bacias com 60 larvas esse percentual foi de 11% e nas bacias com 90 larvas 12% delas sofreram canibalismo (Tabela.VI). O período de maior atividade canibal se deu até o 5° dia nas densidades de 3

larvas/100ml e 9 larvas/100ml, quando as larvas se encontravam aproximadamente no 2º estágio de desenvolvimento.

A frequência de canibalismo foi maior nas bacias mantidas na presença de luz quando as densidades larvais eram menores (3 ou 6 larvas/100ml) ao passo que foi maior na ausência de luz quando haviam 9 larvas/100ml (Tabela VI).

Tabela VI.

Percentual de larvas de *Sabethes identicus* que sofreram canibalismo ao longo de 40 dias de desenvolvimento larval em diferentes densidades.

Dias do Desenv. Larval	Densidade larval					
	30L (n=30)	30L (n=60)	60L (n=60)	60L (n=120)	90L (n=90)	90L (n=180)
5°	10%	3,33%	0	2,50%	4,44%	8,33%
7°	0	0	0	0	0	0
10°	0	1,66%	3,33%	1,66%	2,22%	0,55%
12°	0	0	0	0,83%	0	2,22%
14°	0	0	1,66%	0	0	0,55%
17°	0	0	0	0	1,11%	0
19°	3,33%	0	0	0,83%	0	0
21°	0	1,66%	10,00%	0,83%	0	1,11%
24°	0	0	0	2,50%	0	1,66%
26°	0	0	0	0	0	0
28°	0	0	0	0	0	0
30°	0	0	0	0	0	0
32°	0	0	0	0	0	0
34°	0	0	0	0	0	0
36°	0	0	0	0	0	0
38°	0	0	0	0	0	0
40°	0	0	0	0	0	0
Percentual de pupas formadas	13,33%	6,66%	15%	9,16%	7,77%	14,44%

As colunas sombreadas correspondem às bacias mantidas no escuro.

5. DISCUSSÃO

Apesar da importância que espécies de *Sabethes* desempenham no ciclo silvestre da febre amarela no Brasil e, em se tratando de um grupo restrito à Região Neotropical, o conhecimento da biologia em laboratório e da competência vetorial desses mosquitos podem ser considerados incipientes. A parca literatura disponível trata somente de populações de mosquitos sabetíneos da América Central datados da década de 1950 (e.g., Galindo et al. 1950, Galindo 1958). Portanto, os resultados aqui apresentados poderão servir dentre outros, como base inicial para futuros estudos abordando não só o desenvolvimento de diversos arbovírus em mosquitos sabetíneos, mas também a influência dos arbovírus na performance, ou *fitness*, desses vetores.

O presente estudo gerou conhecimento original sobre a biologia de *Sabethes identicus*, espécie pertencente a um grupo de mosquitos com importante papel na veiculação do vírus amarílico na natureza e comum na Mata Atlântica. Embora nunca tenha sido relatado o encontro de *Sa. identicus* naturalmente infectado com o vírus amarílico, optamos por estudá-lo por se tratar de uma espécie relativamente comum e frequentemente atraída por humanos. Além disso, no Brasil, pouco se sabe sobre a biologia, em condições de campo ou laboratório, de qualquer espécie de mosquitos da Tribo Sabethini.

Nosso objetivo foi a produção de conhecimentos que permitam a colonização eficiente de mosquitos do gênero *Sabethes* em laboratório, de modo que se possa produzir espécimes para uso em estudos experimentais não só sobre a biologia como também sobre a capacidade vetorial para a transmissão de arbovírus, como para o vírus amarílico e outros arbovírus circulantes no Brasil. Nesse sentido, a tentativa de buscar conhecimentos biológicos para a colonização de uma espécie já incriminada como vetor natural de arbovírus infectantes para humanos é pertinente. Logo no início de nossos trabalhos, as

tentativas de coletas de *Sabethes* em Tinguá, em número suficiente foram infrutíferas. E esse insucesso perdurou nos seis primeiros meses de coletas. Entretanto, conseguiu-se montar a primeira colônia de *Sa. identicus* no Brasil. A partir das primeiras gerações em cativeiro, pôde-se realizar uma série de observações laboratoriais sobre a colonização e biologia desta espécie, que permitirão a sua aplicação em espécies congêneres. De fato, os nossos resultados já permitiram que uma colônia de *Sabethes albiprivus*, espécie já incriminada como vetor de febre amarela no Brasil, fosse estabelecida em nosso próprio laboratório. Hoje, as colônias de *Sa. identicus* e *Sa. albiprivus* acham-se na 16ª e 15ª geração, respectivamente.

Dois fatores foram importantes para o início da formação das colônias. Inicialmente tanto as larvas provenientes das desovas das fêmeas vindas do campo como as provenientes das sapucaias foram alimentadas exclusivamente com ração de peixe. Foi observado que com esse tipo de alimentação, as larvas levavam cerca de 30 dias para se transformarem em pupa, o que foi por nós considerado duradouro. Assim, modificamos a alimentação das larvas para levedo de cerveja. Após a utilização do levedo de cerveja o tempo do estágio larval foi reduzido a cerca de 15 dias, além da redução do canibalismo. O uso de levedo como alimentação preferencial para criação de espécies de *Sabethes* em laboratório tinha sido apontado em estudos anteriores (Galindo et al 1950). Além disso, a temperatura média do insetário foi reduzida em dois graus, passando a variar de 25 a 26 °C.

Sa. identicus teve duração do estágio pupal de 8-9 dias. Esse período é bem maior do que os 2 dias observados para espécies comumente colonizadas em laboratórios, como as pertencentes aos gêneros *Culex*, *Aedes* e *Anopheles*. De fato, excedeu os 5-6 dias (123hs a 160hs) relatados para *Sa. chloropterus* à 23°C a 30°C (Galindo 1958). Essas temperaturas de 23°C a 30°C foram maiores do que aquelas por nós utilizadas (25° a 26°C)

e possivelmente, a amplitude de temperatura usada nos experimentos de Galindo (1958) tenha acelerado o desenvolvimento pupal. De fato, em colônia mantida em laboratório à 27 ± 1 °C, *Sa. cyaneus* finalizou o estágio pupal em torno de 6 a 8 dias (Hancock et al 1990) e *Sa. aurescens* Lutz em 6 a 10 dias em temperatura ambiente não controlada (4-33°C) (Muller et al. 2009).

Fêmeas da colônia de *Sa. identicus* realizaram o primeiro repasto sanguíneo já no terceiro dia de vida. Anteriormente, fêmeas de uma colônia de *Sa. chloropterus* não se alimentavam com sangue antes do 5º dia de vida (Galindo 1958). O período de maior voracidade por sangue das fêmeas de *Sa. identicus* ocorreu na primeira semana, diferentemente do observado por Galindo (1958), que registrou maior proporção de fêmeas se alimentando nas 3ª e 4ª semanas após a emergência em *Sa. chloropterus*. Nesse mesmo estudo, Galindo (1958), a primeira alimentação sanguínea de *Sa. chloropterus* não necessariamente ocorre após a cópula, fato também observado por nós algumas vezes na colônia de *Sa. identicus*.

Cabe ressaltar que, independentemente das condições ambientais onde os estudos de Galindo (1958) e Hancock et al (1990) foram conduzidos, as diferenças biológicas detectadas entre seus estudos e as aqui apresentadas podem ser devidas ao fato de que as espécies observadas pertencem a diferentes subgêneros de *Sabethes*.

Quanto ao tempo de desenvolvimento embrionário e à eclosão dos ovos, os resultados com *Sa. identicus* obtidos no presente estudo com pico de eclosão em 2-4 dias, foi igual ao visto para *Sa. cyaneus* (Hancock et al.1990), e se assemelham aos de *Sa. chloropterus*, isto é, 3-4 dias (Galindo 1958).

A produtividade média de ovos por fêmea calculada no presente estudo foi de 88,5 para *Sa. identicus* alimentados em cobaios a cada dois dias, ligeiramente menor do que

os 138 ovos/fêmea observado para *Sa. chloropterus* alimentados em macacos rhesus ou cobaios diariamente (Galindo 1958).

A maioria das pupas se formou entre o 17º e o 19º dia após a eclosão. O pico de transformação em pupa em *Sa. chloropterus* se deu mais precocemente, entre o 12º e 16º dia (Galindo 1958). Ainda que a duração do estágio larval tenha variado de acordo com as densidades larvais avaliadas no presente estudo para *Sa. identicus*.

Quanto aos estádios adultos, a longevidade máxima das fêmeas e machos de *Sa. identicus* foi de 71 e 59 dias, respectivamente. Em *Sa. chloropterus*, (Galindo 1958) observou que, no somatório de seus experimentos, a longevidade máxima de fêmeas foi de 140 dias. Em *Sa. identicus* 50% das fêmeas sobreviveram cerca de 37 dias após a emergência, valor que se assemelha ao registrado em *Sa. chloropterus* onde a longevidade média variou de 32,5 a 47 entre quatro experimentos conduzidos por (Galindo 1958).

O tempo de desenvolvimento de *Sa. identicus* nas condições de laboratório empregadas no presente estudo pode durar de 27 até 49 dias desde a eclosão do ovo até a emergência dos adultos, dados semelhantes ao encontrado em estudos anteriores por (Galindo et al. 1955) com *Sa. chloropterus* (18-50dias) e *Sa. cyaneus* (20-55dias).

O número de ovos recolhidos em bambus contendo três diferentes tipos de solução para oviposição: água desclorada, água de criação e água contendo levedura de cerveja, variou consideravelmente entre os experimentos, não se podendo concluir quanto à atratividade dessas soluções. Mais ovos foram coletados nos bambus com internódios maiores e com mais furos por internódio, independentemente da solução que continham. Os bambus usados nas avaliações variaram ligeiramente quanto ao tamanho dos internódios e ao número de furos por internódio, uma vez que se tratavam de plantas colhidas no campo já perfuradas por besouros curculionídeos. Independentemente do

tamanho dos internódios, o volume de líquido de 65ml oferecido para a oviposição nos experimentos foi o mesmo.

A predação e o canibalismo são fenômenos frequentes no gênero *Sabethes*, seja na natureza ou em laboratório (Galindo et al. 1955, Galindo 1958, Gerber 1970, Forattini 2002). As larvas de *Sa.identicus* não fogem desta regra, atacando larvas co-específicas, fator importante a se considerar na sua colonização em laboratório. Por conta disso, neste estudo, avaliou-se a frequência do canibalismo em bacias mantidas na presença e na ausência de luz, com três diferentes densidades larvais de 3 larvas/100ml, 6 larvas/100ml e 9 larvas/100ml. As bacias mantidas na luz e contendo as menores densidades larvais (3 ou 6 larvas/100ml) registraram maior número de larvas que sofreram canibalismo, contrastando com o resultado verificado nas bacias com maior densidade (9 larvas/100ml) onde se obteve o maior número de larvas que sofreram canibalismo nas bacias mantidas sem luz. Ou seja, é possível que a combinação de fatores como a densidade e a luminosidade, tenha exercido influência maior no comportamento canibal do que a própria densidade ou a luminosidade separadamente. Com efeito, as proporções de larvas que sofreram canibalismo foi semelhante entre as diferentes densidades.

6. CONCLUSÕES

- O ciclo de vida de ovo a adulto em *Sa. identicus* é de aproximadamente 30 dias à 25-26°C. Os ovos eclodem entre 2 - 4 dias, as larvas se desenvolvem entre 17 - 19 dias e as pupas machos e fêmeas entre 8 - 9 dias;
- O pico de avidez por sangue em *Sa. identicus* ocorre já na primeira semana de vida;
- As fêmeas de *Sa. identicus* são mais longevas que os machos podendo chegar a 71 dias de vida;
- Uma fêmea de *Sabethes identicus* coloca em média 88 ovos ao longo de sua vida;
- Um total de quase 80% dos ovos colocados por uma fêmea de *Sa. identicus* eclodem;
- O conteúdo líquido do bambu parece não influenciar na escolha para oviposição e talvez o número de furos e o diâmetro do bambu sejam fatores mais importantes;
- Parece que o canibalismo é mais influenciado pela combinação dos fatores densidade e luminosidade do que por estes separadamente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Consoli RAG, Lourenço-de-Oliveira R 1994. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil, Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 225 pp

Dégallier N, Travassos da Rosa APA, Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa ES, Rodrigues SG, Sá Filho GC, Travassos da Rosa JFS 1992. New entomological and virological data on the vectors of sylvatic yellow fever in Brazil. *Brazilian J Assoc Adv Sci* 44:136-142

Dégallier N, Sá Filho GC, Monteiro HAO, Castro FC, Silva OV, Brandão RCF, Moyses M, Rosa APAT 1998. Release-recapture experiments with canopy mosquitoes in the genera *Haemagogus* and *Sabethes* (Diptera: Culicidae) in Brazilian Amazonia. *J Med Entomology* 35(6):931-936

Foster WA, Taylor RM 1991. The butterfly of mosquitoes. *Nat. History* 7:40-43

Forattini OP 1965. Entomologia Médica. III. Fac Saúde Pública. Univ São Paulo. 416pp.

Forattini OP 2002. Culicidologia médica. Identificação, biologia, epidemiologia, Vol.2, Edusp, São Paulo, 860 pp

Galindo P., Trapido H, Carpenter SJ. 1950. Observations on diurnal forest mosquitoes in relation to sylvan yellow fever in Panamá. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 30:533- 574

Galindo P, Carpenter SJ, Trapido H 1951. Ecological observations on forest mosquitoes of an endemic yellow fever area of Panama. *Am J Trop Med* 31:98–137

Galindo P, Carpenter SJ, Trapido H 1955. A contribution to the ecology and biology of tree hole breeding mosquitoes of Panama. *Ann Entomol Soc Am* 48:158–164

Galindo P, de Rodaniche E, Trapido H 1956. Experimental transmission of yellow fever by Central American species of *Haemagogus* and *Sabethes chloropterus*. *Am J Trop Med Hyg* 5:1022–1031

Galindo P, Trapido H 1957. Forest mosquitoes associated with sylvan yellow fever in Nicaragua. *J Trop Med Hyg* 6:145-152

Galindo P 1958. Bionomics of *Sabethes chloropterus* Humboldt, a vector of sylvan yellow fever in Middle America. *American. J Trop Med Hyg* 7:429–440

Gerber EJ 1970. Manual for mosquito rearing and experimental techniques, Mosquito News, Baltimore, 109pp

Goenaga S, Fabbri C, Duenãs J C R, Gardenal, N C, Rossi G C, Calderon G, Morales M A, Garcia J B, Enria D A, Levis S. 2012. Isolation of Yellow Fever Virus from Mosquitoes in Misiones Province, Argentina. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 12: 986-993

- Hall C R, Howard T M, Harbach R E 1999. *Sabethes (Peytonulus) luxodens*, a New Species of Sabethini (Diptera: Culicidae) from Ecuador. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 329-338
- Hancock RG, Foster WA, Yee WL 1990. Courtship Behavior of the Mosquito *Sabethes cyaneus* (Diptera: Culicidae) *Journal of Insect Behavior* 3(3):401–416
- Harbach R. E. 1991. A new subgenus of the genus *Sabethes* (Diptera: Culicidae). *Mosq. Syst.* 23:10-23
- Harbach, R. E. 1995. Two new species of the subgenus of *Sabethes* (Diptera: Culicidae) from Colombia *Mem Inst Oswaldo Cruz* 90:583-587
- Harbach R E 1994. The subgenus *Sabethinus* of *Sabethes* (Diptera: Culicidae). *Systematic Entomology*, 19:207-234
- Harbach RE 2014. Mosquito taxonomic inventory. Disponível em: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>. [Acessado em 4/10/14]
- Hervé JP, Dégallier N, Travassos da Rosa APA, Pinheiro FP, Sá Filho GC 1986. Arboviroses - Aspectos ecológicos, p: 409-437. In: *Instituto Evandro Chagas - 50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical*. Fund Serv Saúde Pública, Belém Vol I
- IBGE 2014. Sistematização das Informações sobre Recursos Naturais. Manual Técnico da Vegetação Brasileira. Disponível em http://ibge.gov.br/home/geociencias/recursosnaturais/vegetacao/manual_vegetacao.shtm Acessado em 10 novembro 2014
- Judd DD 1996. Review of the systematics and phylogenetic relationships of the Sabethini (Diptera: Culicidae). *Syst Ent* 21:129-150
- Lane J, Cerqueira NL 1942. Os Sabetíneos da América (Diptera, Culicidae). *Arch Zool S Paulo* 3:473-849
- Lima HC 2002. Paisagem e flora da Reserva Biológica do Tinguá: subsídios ao monitoramento da vegetação. Rio de Janeiro, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 45pp
- Lopes CM; Guimarães AE, Mello RP; Alencar JA 1999. Ecologia dos mosquitos (Diptera, Culicidae) em áreas da Reserva Biológica do Tinguá, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. i - Diversidade faunística. *Entomologia y Vectores*, Rio de Janeiro, RJ., v. 6, n.5, p. 563-576
- Moses D A, Howard T M, Harbach R E. 2000. A new species of subgenus *Sabethoides* of *Sabethes* (Diptera: Culicidae) from Venezuela and Brazil. *Proc Entomol Soc Wash* 102:991-1002

Muller GA, Navarro-Silva MA, Marcondes CB 2009. Developmental time of imature forms artificially perforated bamboo in the rain forest of southern Brazil. *Rev Bras Entomol* 53:649-652

Navarro J C, Machado-Allison C. 1995. Aspectos Ecologicos de *Sabethes chloropterus* (Humboldt) (Diptera: Culicidae) em um bosque humedo del edo. Miranda, Venezuela. *Bol Entomol Venez* 10:91-104

Pinto C S, Confalonieri U EC, Mascarenhas B M 2009. Ecology of *Haemagogus* sp. and *Sabethes* sp. (Diptera: Culicidae) in relation to the microclimates of the Caxiuanã National Forest, Pará, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 104:592-598

South SH, Arnqvist G 2011. Male, but not female, preference for an ornament expressed in both sexes of the polygynous mosquito *Sabethes cyaneus*. *Animal Behaviour* 81:645-651

SVS 2014. Boletim Epidemiológico Volume 45 n° 07 2014. Disponível em - <http://portalsaude.saude.gov.br> Acessado em 5/10/2014

Vasconcelos P F C, Rodrigues SG, Dégallier N, Moraes MAP, Travassos da Rosa JFS, Travassos da Rosa ES, Mondet B, Barros VLRS, Travassos da Rosa APA 1997. An epidemic of sylvatic yellow fever in the southeast region of Maranhão State, Brazil, 1993-1994: epidemiologic and entomologic findings. *Am J Trop Med Hyg* 57:132-137

Vasconcelos PFC, Rosa APAT, Pinheiro FP, Shope RE, Dégallier N, Rosa EST 1998. Arboviruses pathogenic for man in Brazil. In: Travassos da Rosa APA, Vasconcelos PFC & Travassos da Rosa JFS.. (Org.). An Overview of Arbovirology in Brazil and Neighbouring Countries. 1ed. Belém-Brasil: Instituto Evandro Chagas. Gráfica e Editora Santo Antônio, 1998 72-99

Zsemlye JL, Hancock RG, Foster WA 2005. Analysis of a complex vertical copulatory-courtship display in the yellow fever vector *Sabethes chloropterus*. *Med Vet Entomology* 19:276–285