

NOTAS SÔBRE *CULICIDÆ* (DIPTERA) 5 OBSERVAÇÕES
SÔBRE A EVOLUÇÃO DE CINCO ESPÉCIES, EM
CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO, COM A DESCRIÇÃO
DE ALGUNS OVOS ♀

O. P. FORATTINI*
N. R. BIANCHINI**
J. P. DE BIANCHINI**
E. X. RABELLO ***

Como atividades paralelas às investigações sôbre ecologia de mosquitos silvestres, levamos a efeito a coleta de exemplares adultos fêmea, numa tentativa de obter oviposições e subseqüentes evoluções no laboratório. Com isso, almejamos dois objetivos. Um deles, a possibilidade de dispôr de material, tanto de forma imaturas como de exemplares adultos de ambos os sexos, em número suficiente para o contrôle da identificação dos espécimens coletados regularmente nas estações de captura. O outro seria a oportunidade de observar o ciclo evolutivo, de ovo a adulto, das várias espécies e com isso, obter dados que pudessem auxiliar a interpretação daquêles conseguidos em condições naturais. Assim sendo, apresentamos agora os primeiros resultados.

Métodos utilizados — As coletas foram efetuadas nas localidades do Boracéia, no Município de Salesópolis; de Itaguaré, Bertioga, no Município de Santos; e de Cotia, no Município de mesmo nome. Tôdas elas situadas no Estado de São Paulo, Brasil. Os exemplares foram capturados em isca humana e em armadilha tipo Shannon. Cuidou-se especialmente em obter indivíduos engurgitados, isto é, que tivessem levado a efeito refeição sanguínea completa.

Para o transporte ao laboratório foram usados dois tipos de recipientes. Um deles constituído por vaso de cartão parafinado, de mesmo modelo empregado como copo em bebedouros ou para servir bebidas diversas. O fundo dêsse copo era forrado com camada de algodão humidecido, sôbre a qual se colocava rodela de papel de filtro enquanto que a boca era fechada com pedaço de tule ou gaze. No centro desta, praticava-se uma perfuração que serviu para a introdução dos mosquitos. O outro tipo de recipiente era constituído por vasos de vidro, internamente revestidos por camada de gesso e com a boca tampada de maneira análoga à dos copos de cartão. Teve-se o cuidado de

Recebido para publicação em 8-8-62.

♀ Trabalho da Cadeira de Parasitologia (Prof. José de Oliveira Coutinho) da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo, realizado com o auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas.

* Prof. adjunto da Cadeira.

** Bolsistas da Fundação Rockefeller.

*** Biologista do Departamento de Zoologia da Secretaria de Agricultura do Est. de S. Paulo.

não colocar grande número de exemplares em cada recipiente, afim de evitar ao máximo a agitação dos mesmos e com isso, a conseqüente danificação e perda de vitalidade. Para transporte ao laboratório, tais dispositivos eram colocados em caixa de papelão ou de madeira, dotada de revestimento de serragem ou algodão no fundo, para reduzir ao mínimo a trepidação, e portanto, a traumatização dos mosquitos.

Uma vez no laboratório, cada exemplar era individualmente colocado em copos de cartão com as mesmas características supracitadas. Logo após era-lhe oferecida alimentação açucarada, mediante o emprêgo de mecha de algodão embebida em solução de açúcar e colocada sobre a tela que tampava o recipiente. Tentava-se, outrossim, conseguir novos repastos sanguíneos, principalmente com isca humana. Os exemplares eram, em seguida, deixados em ambiente escuro, exmainando-se diàriamente o recipiente afim de verificar as possívis posturas. Uma vez obtidas estas, procedia-se à contagem dos ovos e a transferência dos mesmos para uma vasilha com água destilada, cuja superfície interna era recoberta por meio de tira de papel de filtro. Tinha êste a finalidade de evitar a aderência dos ovos às paredes e a subseqüente dessecação dos mesmos.

As larvas foram alimentadas com biscoitos para cães, finamente pulverizados. Tal alimentação era ministrada uma vez por semana, em pequenas quantidades, para evitar a excessiva fermentação e suas indesejáveis conseqüências. Periòdicamente procedia-se à retirada dos resíduos. Nos casos em que se verificava a formação de película superficial, era a mesma retirada diàriamente ou mesmo passava-se à renovação de toda a água quando a turbidez da mesma era muito acentuada.

A medida que se obtinham as formas pupais, eram elas colocadas em pequenos recipientes com água destilada, aguardando-se a saída dos adultos.

Todas as criações foram feitas à temperatura ambiente do laboratório, que oscilou ao redor da faixa de 20 a 25°C.

No que concerne ao preparo e montagem do cório dos ovos, com objetivo de observar as esculturas alí existentes, utilizou-se a técnica descrita por Craig (1955)².

ANOPHELES (KERTESZIA) CRUZII (Fig. n. 1, a, a').

Quanto à oviposição, o número de ovos obtidos por fêmea, foi bastante variável. É claro que, nêsse sentido, influiu de maneira relevante o volume e o número de repastos sanguíneos. Aos exemplare por nós observados eram oferecidas alimentações sanguíneas diàrias, durante vários dias consecutivos à captura. Assim sendo, o número de repastos variou de um a quatro, o que naturalmente deve ter influido na produção individual de ovos. De

qualquer forma, nas fêmeas observadas isoladamente, obtivemos posturas variáveis em número, de uma a três, com 6 a 92 ovos em cada uma. A média da produção total por exemplar foi de 42,4.

Foram observados os seguintes períodos de evolução (em dias):

	Mínimo	Máximo	Média
Incubação dos ovos	4	6	5
Período larvário	22	39	31,4
Período pupal	3	5	3,6
TOTAL	29	50	40

Verificou-se pois, considerável variação nos tempos empregados nas diversas fases da evolução. No que concerne à incubação, em um caso não incluído na relação acima, observamos demora de 16 dias para a eclosão. A não inclusão deste exemplar deveu-se ao fato de que sua presença no cômputo total, iria desviar sensivelmente o valor da média, dando assim idéia errônea daquilo que foi comumente verificado nestas observações. Em linhas gerais, nota-se que os períodos obtidos por nós são acentuadamente maiores do que os conseguidos por Corrêa (1943)¹, para este mesmo mosquito. Segundo esse autor, os resultados para os tempos mínimos, foram os seguintes (em dias):

	Dias
Incubação dos ovos	3
Período larvário	15
Período pupal	2
TOTAL	20

Tais diferenças podem ser atribuídas a múltiplos fatores. No nosso caso poderíamos invocar, de início, a diferença na alimentação larval, constituída de coalhada lavada, nas experiências de Corrêa (1943)¹ e de alimento para cães, nas nossas. O fator temperatura, possivelmente possa explicar também alguns desses resultados, tendo em vista que os valores médios usados por nós foram um tanto mais baixos do que os empregados pelo citado autor, o qual obteve oscilações de 20 a 30°C. De qualquer forma trata-se, evidentemente, de mosquito que evolui lentamente em laboratório se comparado, nesse sentido, com outros anofelinos. Nêstes, os tempos observados para a realização do ciclo completo tem variado ao redor de 15 dias, muito menores portanto, daqueles verificados para esta espécie.

Ovo — A forma geral é a mesma encontrada na maioria dos anofelinos, ou seja, contorno em naveta, com a face dorsal convexa e a ventral ligeiramente concava. A extremidade anterior mais dilatada e a coloração geral escura. O comprimento varia de 351 a 405 microns, com valor médio de 391,5. O diâmetro maior oscila de 108 a 135 microns, com 116,4 de média.

O exocório é translúcido e transparente, de espessura regular e mame-lonado, emprestando assim aspecto granuloso à superfície do ovo, quando vis-ta com luz incidente. Os flutuadores acham-se presentes e dotados de 12 a 16 gomos de cada lado. A franja é contínua, extendendo-se de um polo a outro ininterruptamente.

O cório, visto com luz incidente, mostra-se brilhante e escuro. Exami-nado por transluminação, apresenta-se liso, sem rugosidade ou escultura re-levante, a não ser fino e reduzido reticulado, não característico e dificilmente visível.

PSOROPHORA (JANTHINOSOMA) FEROX (Figs, n. 1, b, b', 2, a).

O número de ovos postos, por fêmea, variou desde um mínimo de 2 a um máximo de 70, com média de produção total, por exemplar, de 32,3. Todos os espécimens que se alimentaram somente uma vez, apresentaram postura única. Entre os que ingeriram vários repastos sanguíneos, observou-se duas a três posturas, intervaladas entre si por tempo variável de 4 a 19 dias.

Os períodos de evolução observados, em dias, foram os seguintes :

	Mínimo	Máximo	Média
Incubação dos ovos	10	17	12
Período larvário	5	14	9,8
Período pupal	2	4	2,7
TOTAL	17	35	24,5

Ovo — É de contorno fusiforme, alongado e irregular. A coloração é negra brilhante. Nas medidas foram obtidos, para o comprimento, valores va-riáveis de 810 a 1050 microns, com 926,1 de média e, para o diâmetro maior, 216 a 297 microns, com média de 263,3.

O exocório apresenta-se fino, transparente e granuloso. Possui nume-rosas saliências cônicas, pequenas, e cujo vértice acha-se voltado para a extre-midade anterior. Nesta, esse revestimento forma pequeno colarinho hialino, circundando a micrópila. Dessa maneira, quando o ovo é examinado à luz incidente, apresenta a superfície brilhante, granulosa, podendo-se observar a escultura do cório, nos exemplares bem conservados.

O exame do cório, por transluminação, revela a presença de reticulado evidente em ambas as extremidades e prolongando-se por certa extensão da superfície, tornando-se depois inaparente ou mesmo ausente na porção média do ovo. Esse reticulado é constituído por malhas predominantemente hexa-gonais, mais curtas nas extremidades anterior e posterior, alongando-se e aumen-tando de tamanho a medida que se afastam desses pontos.

Estas observações coincidem, em linhas gerais, com as de Horsfall, Miles e Sokatch (1952)⁵, para a mesma espécie. Os exemplares estudados por nós apresentaram medidas um tanto maiores, considerando os valores médios, em microns, de 723 para o comprimento e de 207 para o diâmetro, encontrados por aqueles autores. No que concerne à escultura do cório, ela é a mesma em ambas as observações.

PHONIOMYA PALMATA (Fig. n. 1, c, c').

As nossas observações sobre esta espécie baseiam-se somente em duas fêmeas as quais, após única alimentação sanguínea ovipuseram, de uma só vez, 20 e 50 ovos, respectivamente. Nesses dois casos, os tempos gastos na evolução até a fase adulta, para incubação dos ovos, o período larval e pupal, foram de 4, 29 e 5 dias no primeiro, e de 3, 31 e 4 dias no segundo. O que perfaz período total de 38 dias em ambas observações.

Ovo — De contorno losângico ou fusiforme, coloração negra e superfície granulosa brilhante, quando vista à luz incidente. No material examinado, as medidas, em microns, para o comprimento variaram de 270 a 324, com 297,8 de média, e para a largura máxima oscilaram de 189 a 216, com valor médio de 198,8.

O exocório é fino e transparente, dotado de numerosas granulações redondas e salientes que adquirem aspecto claro e brilhante quando se observa o ovo à luz incidente.

O cório é negro e lustroso. Ao exame por transiluminação, revela a presença de fino reticulado, constituído de malhas muito pequenas, arredondadas e irregulares. Essa escultura é mais evidente ao nível das extremidades do ovo.

PHONIOMYA DAVISI (Fig. n. 1, e).

As oviposições de duas fêmeas que ingeriram várias alimentações sanguíneas foram de 40 e de 35 ovos, respectivamente. Os primeiros foram obtidos de uma só postura, enquanto que os segundos constituem o resultado da soma de duas posturas, intervaladas entre si por 12 dias. Houve pouca variação nos dois lotes, no que concerne aos tempos mínimos gastos na evolução completa, até a fase de adulto. Considerando a incubação dos ovos e os períodos larval e pupal, observamos para o primeiro caso, 3, 16 e 4, totalizando 23, e no segundo, 3, 20 e 3, perfazendo 26 dias.

Ovo — Não verificamos diferenças apreciáveis quanto ao aspecto geral, que permitissem diferenciar estes ovos dos de *Phoniomya palmata*, descritos

atrás. A não ser a forma um tanto mais alongada e estreita. As medidas forneceram resultados ligeiramente diferentes daqueles conseguidos para essa espécie. O comprimento variou de 324 a 351 microns, com média de 346,5, e a largura oscilou entre 162 e 189 microns, com valor médio de 184,5.

O exocório é de aspecto idêntico ao de *P. palmata*. O exame, por transiluminação, do cório, revelou a presença de reticulado fino e irregular, com malhas hexagonais maiores que incluem numerosas outras menores, poligonais e arredondadas. Tal escultura é sempre mais evidente e nítida, ao nível de ambas as extremidades.

TRICHOPROSOPON (RHUNCHOMYA) PALLIDIVENTER (Fig. n. 1, d, d').

No que concerne a esta espécie, as nossas observações limitaram-se ao resultado obtido a partir de uma só fêmea. Esta, durante os 35 dias que permaneceu no laboratório, foi alimentada várias vezes com sangue e realizou seis posturas, interavaladas por 2 a 10 dias cada uma. Assim sendo, eliminou o total de 41 ovos. O tempo mínimo gasto na evolução de ovo e adulto, foi de 21 dias, dos quais 2 para a incubação dos ovos, 14 para o período larval e 5 para o pupal.

Ovo — De contorno fusiforme, alongado e irregular. A coloração é negra, com aspecto granuloso brilhante ao exame sob a luz incidente. Nas medidas, em microns, o comprimento variou de 540 a 648, com 577,1 de média, enquanto que a largura oscilou de 189 a 243, com valor médio de 202,5.

O exocório é fino e transparente, granuloso e dotado de saliências arredondadas e hialinas. Estas, à luz incidente, assumem aspecto de grânulos claros e brilhantes.

O cório é negro e lustroso. Examinado por transiluminação, revela a presença de fino reticulado, constituído por numerosas malhas pequenas e irregulares, mais evidente ao nível de ambas as extremidades.

As observações que se seguem, dizem respeito apenas à descrição de ovos, uma vez que o material obtido não nos permitiu, até o momento, conseguir a evolução completa da espécie, no laboratório.

PSOROPHORA (JANTHINOSOMA) ALBIPES (Fig. n. 1, f).

O aspecto geral dos ovos é o mesmo que o observado para os de *Psorophora ferox*. São negros, fusiformes e de contorno irregular. Vistos sob luz incidente, apresentam a superfície granulosa brilhante, devido principalmente ao exocório transparente, que apresenta numerosas saliências cônicas, voltadas

para a extremidade anterior. Nesta, verifica-se a existência de colarinho hialino circundando a micrópila. As dimensões são menores do que as registradas para aquela espécie. Em nosso material obtivemos, em microns, comprimentos variáveis de 675 a 756, com 712,8 de média, e larguras máximas de 162 a 216, com 183,6 de valor médio.

O cório é negro brilhante, apresentando reticulado visível à luz incidente ao nível de ambas as extremidades. Examinado por transiluminação, verifica-se escultura em todo semelhante à descrita para *P. ferox*. As malhas do retículo são hexagonais ou pentagonais e as bordas são simples e pouco salientes. Dentro das mesmas, nota-se série de depressões rasas, unidas por falsa margem interna que, à maneira de U, se interrompe na porção anterior. Essa escultura é bem evidente na extremidade anterior do ovo e também, em menor extensão, na posterior. Esse reticulado é menos extenso do que o análogo existente em *P. ferox*.

AEDES (OCHLEROTATUS) FULVUS (Fig. n. 1, h, h', 2, d).

Os ovos tem coloração negra e superfície granulosa brilhante. São alongados, com a extremidade anterior mais dilatada do que a posterior. As medidas, em microns, forneceram para o comprimento, valores entre 756 e 702, com 732 de média, e para a largura máxima, 162 a 216, com média de 186.

O exocório é fino, transparente e a de frente, apresentado-se fortemente granuloso. Ao redor da micrópila, forma colarinho hialino.

O cório é negro e brilhante. Ao exame sob transiluminação observa-se a presença de retículo formado por malhas, maiores na face superior e menores na inferior. O contorno dessas células é poligonal, a mais da vezes hexagonal e, menos comumente, penta ou quadrangular. As linhas que limitam essas áreas são sinuosas.

AEDES (OCHLEROTATUS) FULVUS (Fig. n. 1, h, h', 2, d).

Para esta espécie, as nossas observações reduzem-se a um único ovo. Apresentou-se êle, com formato fusiforme, contorno losângico irregular, e de coloração negra e brilhante. Examinado sob luz incidente revelou aspecto granuloso da superfície, deixando entrever o reticulado do cório. As medidas forneceram 567 microns de comprimento e 216 de maior largura.

O exocório mostrou-se transparente, fino e granuloso, formando pequeno colarinho hialino ao redor da micrópila.

O cório apresentou-se negro e lustroso. Ao exame por transiluminação, revelou a presença de fino reticulado, extendendo-se por toda a superfície, e constituído de malhas poligonais de contorno sinuoso e irregular.

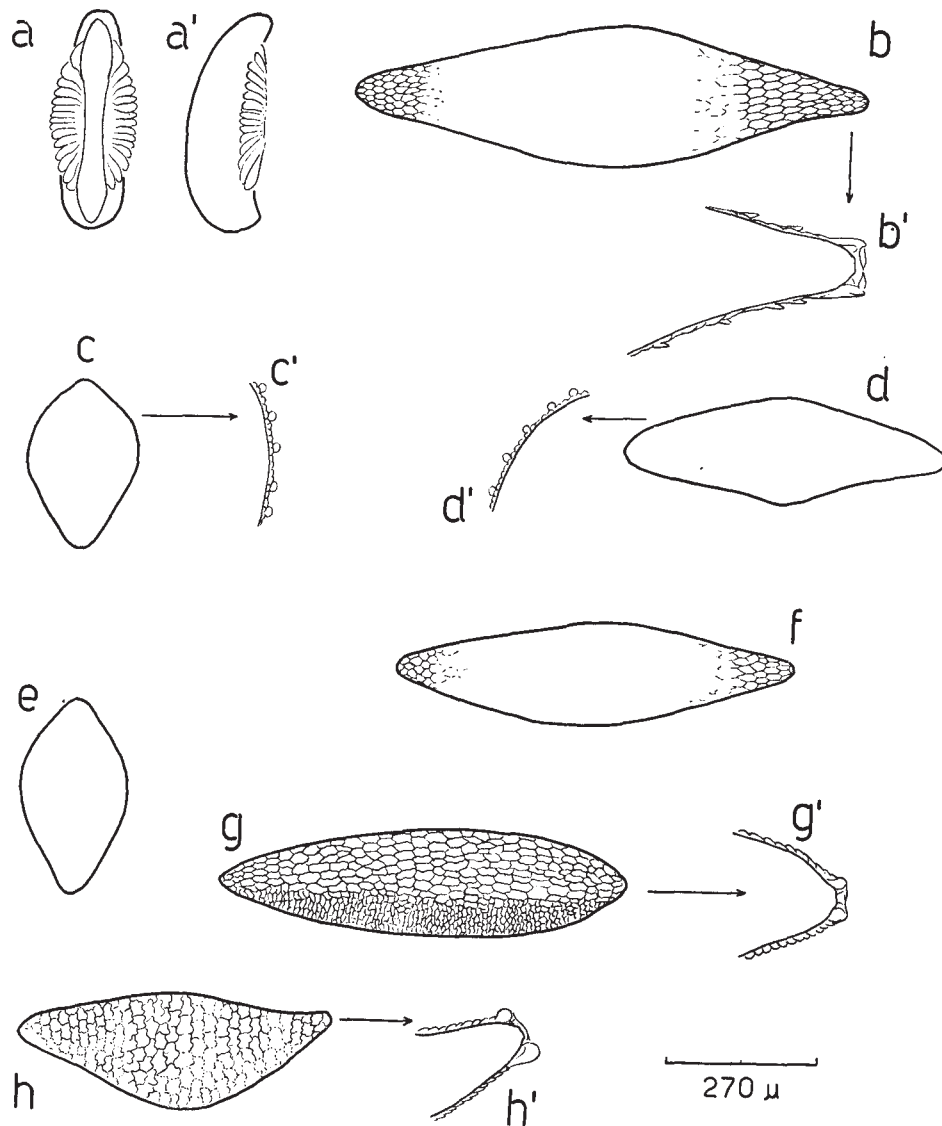


Fig. n. 1 — Contorno de ovos de culicídeos.

- a — *Anopheles cruzii*; a' — vista de perfil.
b — *Psorophora ferox*; b' — extremidade anterior com detalhes do exocório.
c — *Phoniomyia palmata*; c' — detalhe do exocório.
d — *Trichoprosopon pallidiventer*; d' — detalhe do exocório.
e — *Phoniomyia davisi*.
f — *Psorophora albipes*.
g — *Aedes scapularis*; g' — extremidade anterior com detalhes do exocório.
h — *Aedes fulvus*; h' — extremidade anterior com detalhes do exocório.

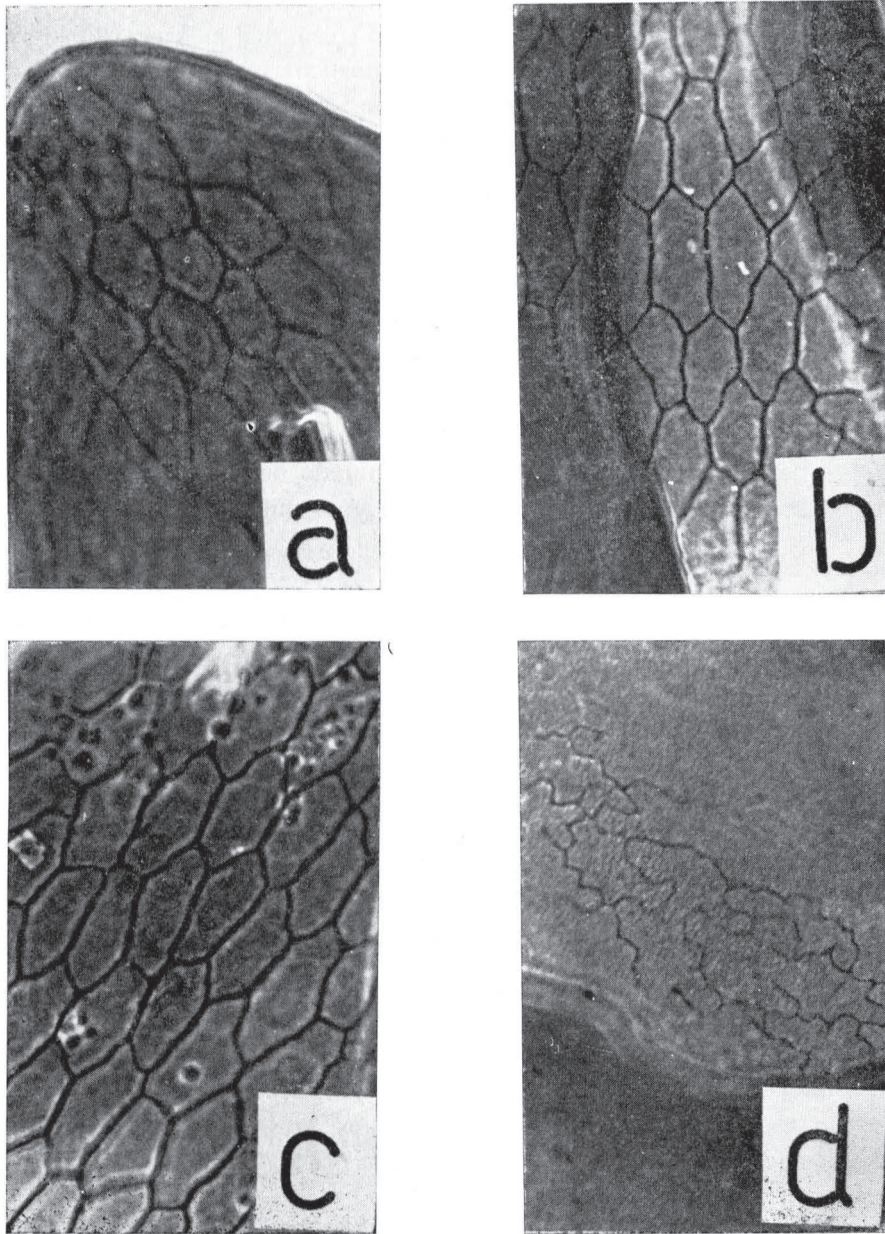


Fig. n. 2 — Esculturas do cório (800x).

- a — *Psorophora ferox*
- b — *Aedes scapularis*
- c — *Aedes scapularis*
- d — *Aedes fulvus*

COMENTÁRIOS

O aspecto apresentado pela escultura do cório, tem sido investigado com o objetivo de encontrar elementos para o diagnóstico específico dos ovos. São nêsse sentido os trabalhos de Horsfall, Miles e Sokatch (1952)⁵, para o gênero *Psorophora* e de Horsfall e Craig (1956)⁴, Craig e Horsfall (1960)³, sôbre *Aedes*. Assim sendo, estas nossas observações constituem apenas elementos tentativos, para a verificação do aspecto e viabilidade dêsses caracteres, nas nossas espécies. Embora o material por nós utilizado diga respeito a mosquitos bem diferentes, sob o ponto de vista sistemático, revelou êle alguns aspectos dignos de nota.

Em primeiro lugar, verificou-se que nem todas as espécies apresentaram escultura relevante no cório. Nos nossos exemplares, sômente em *Psorophora* e *Aedes*, conseguimos observá-la com facilidade. Nos demais, notamos a presença de reticulado, ou muito pouco acentuado ou muito fino e pequeno, tornando-se assim elemento pouco valioso para a finalidade proposta.

Em segundo lugar, embora Horsfall, Miles e Sokatch (1952)⁵ tenham estabelecido diferenças específicas em *Psorophora*, a ponto de elaborar chave com êsses caracteres para as espécies norteamericanas, nós não conseguimos observar diferenças relevantes entre as esculturas coriais de *Psorophora ferox* e *P. albipes*. De qualquer forma, usando a supramencionada chave, verificamos a concordância de nosso material, em relação aos caracteres que levam ao subgênero *Janthinosoma*.

Finalmente, observamos acentuadas diferenças entre as duas espécies de *Aedes*. Contudo, o significado e a utilidade disso, está na dependência de observações mais numerosas e extensas.

RESUMO

Os autores relatam o resultado obtido na criação, de ovo a adulto, de *Anopheles cruzii*, *Psorophora ferox*, *Phoniomyia palmeta*, *P. davisi* e *Trichoprosopon pallidiventer*. Descrevem também os ovos dessas espécies, acrescidos dos de *Psorophora albipes*, *Aedes scapularis* e *A. fulvus*.

SUMMARY

The rearing, at laboratory conditions, of *Anopheles cruzii*, *Psorophora ferox*, *Phoniomyia palmeta*, *P. davisi* and *Trichoprosopon pallidiventer* are described. Besides this are made descriptions of the eggs of these species and of *Psorophora albipes*, *Aedes scapularis* and *Aedes fulvus*. A commentary of the results obtained is made.

REFERÊNCIAS

1. CORRÊA, R. R. Do ciclo evolutivo em condições experimentais do *Anopheles (Kertszia) cruzi*, Dyar and Knab, 1908. *Folia clin. biol.*, **15**: 64-68, 1943.
2. CRAIG Jr, G. B. Preparation of the chorion of eggs of Aedine mosquitoes for microscopy. *Mosquitos News*, **15**: 228--231, 1955.
3. ————— & HORSFALL, W. R. Eggs of floodwater mosquitoes. VII. Species of *Aedes* common in the Southern United States (*Diptera: culicidae*) *An. Entomol. Soc. Amer.* **53**: 11-18, 1960.
4. HORSFALL, W. R. & CRAIG Jr, G. B. Eggs of floodwater mosquitoes. IV. Species of *Aedes* common in Illinois (*Diptera: Culicidae*). *An. Entomol. Soc. Amer.*, **49**: 368-374, 1956.
5. —————; MILES, R. C. & SOKATCH, J. T. Eggs of floodwater mosquitoes. I. Species of *Psorophora* (*Diptera: Culicidae*). *An. Entomol. Soc. Amer.*, **45**: 618-624, 1952.