

## ESTUDOS BIOLÓGICOS PARA FORMAÇÃO DE COLÔNIA DE *Culex* sp.

David Silva NOGUEIRA<sup>1</sup>; Iléa Brandão RODRIGUES<sup>2</sup>; Wanderli Pedro TADEI<sup>3</sup>; Sirlei Antunes MORAES<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PAIC/FAPEAM-INPA; <sup>2</sup>Orientadora CSAS/INPA; <sup>3</sup>Co-Orientador CSAS/INPA; <sup>4</sup>Colaboradora USP. email: david.sn.med@gmail.com

### 1. Introdução

O estudo com vetores transmissores de doenças é de grande importância para o meio científico, assim como para a sociedade. Não somente pela veiculação de doenças, mas também pelos transtornos que causam a população. Entre esses mosquitos estão os do gênero *Culex*, que devido a sua atividade hematofágica, ou seja, alimentação sanguínea, ser preferencialmente pela noite, causam incômodos aos habitantes (Forattini 2002).

O *Culex quinquefasciatus* é o principal objeto do estudo devido a sua eficiência na transmissão da Filariose Bancrofti ao homem (Forattini 2002). Em Manaus a incidência de *Culex* infectados é muito baixa, porém em outras regiões o índice é maior como, Belém, Recife, Maceió e demais localidades (Deane 1951 e Rachou 1956).

O ciclo de vida é holometábolo começando pelos ovos que são postos na água em conjunto denominado jangada. A seguir eclodem as larvas que passam por quatro estádios. A seguinte fase é a pupal, que é marcada pela diapausa, ou seja, estado em que não há alimentação. E a última fase do ciclo é o adulto, com hábitos essencialmente noturnos e são encontrados dentro das casas, onde as fêmeas fazem a hematofagia (Forattini 2002).

Outra importância no estudo desses insetos é a busca de novas alternativas de controle de vetores, como larvicidas, que auxiliam nas campanhas de controle. Os testes necessitam de números significativos de espécimes, daí a importância de se manter colônias de vetores em condições laboratoriais.

A maior dificuldade na criação desses mosquitos é a cópula, por eles serem eurígamos e fazerem a cópula em nuvem e em pleno voo (Forattini 2002). A característica desses mosquitos na natureza é a necessidade de bastante espaço para se reproduzirem. Característica essa que não pode ser fielmente reproduzida em laboratório.

Mesmo com inúmeras informações sobre esse vetor, ainda há a necessidade de aprofundamento em sua biologia em ambiente laboratorial nas condições da Amazônia. O projeto relacionou a alimentação, índice populacional e tamanho de gaiolas, tendo em vista uma colônia permanente. Em geral o objetivo foi avaliar esses aspectos biológicos, para manutenção de *Culex* sp. em condições de laboratório. No entanto, foi iniciada uma colônia a partir dos aspectos estudados, do *Culex quinquefasciatus*, mantendo-os no laboratório em condições mais próximo às encontradas na natureza.

### 2. Material e Métodos

Por meio de coletas foram obtidos espécimes de *Culex* sp. em tanques de piscicultura no Puraquequara (zona leste) e no Igarapé do 40 (zona sul). Locais onde há presença de pessoas e poluição das águas são ideais para desenvolvimento da larva, devido à preferência do mosquito (Forattini 2002). A coleta de imaturos foi feita com auxílio de conchas, pipetas, tubo falcon.

As larvas depois de coletadas eram colocadas em bacias e alimentadas diariamente com ração para gatos, macerada (Friskies) seguindo o método desenvolvido no Laboratório de Malária e Dengue (Scarpassa e Tadei 1990). Além desses cuidados, houve a introdução da aeração da água nas bacias e oxigenação da água antes de colocar nas bacias. A manutenção das bacias de larvas era feita até a fase pupal onde eram colocadas nas gaiolas de adultos.

Foram colocadas armadilhas de oviposição em residências no bairro da Praça 14 para obtenção de jangadas (ovos colocados de forma unida característica da espécie) de *Culex* e após cinco dias as armadilhas foram retiradas e trazidas para o laboratório de Malária e Dengue. Os espécimes adultos foram capturados no bairro do Coroado com aspirador elétrico, contendo um copo acoplado, para o armazenamento dos mosquitos nas residências, no período noturno. Depois os mesmos eram transportados para o insetário do laboratório de Malária e Dengue do INPA, onde os indivíduos adultos eram triados e identificados por espécie seguindo-se a chave taxonômica de Consoli e Lourenço-de-Oliveira (1994).

Foram realizados três experimentos a começar com a alimentação. Foram testados três tipos de alimentação: Gaiola 1 - um repasto sanguíneo + solução açucarada (açúcar 10%), Gaiola 2 - Dois repastos sanguíneos + solução açucarada e Gaiola 3 - dois repastos sanguíneos + solução açucarada e maçã. O repasto sanguíneo consiste em expor um hamster anestesiado com Xilasina na dose de 7,6mg/Kg e Cetamina na dose de 50mg/Kg aos mosquitos para alimentação das fêmeas. O projeto foi submetido ao conselho de Ética Animal – CEUA do INPA e foi aprovado com o número 069/2012.

Cada alimentação foi testada em três diferentes gaiolas, contendo 60 espécimes de *Culex quinquefasciatus* em cada. Ao total foram utilizados nos testes 540 indivíduos. As fêmeas do gênero *Culex* além de se alimentarem de açúcares encontrados nas plantas se alimentam também de sangue (Forattini 2002). Em condições laboratoriais o sangue utilizado foi o do hamsters. Para substituir a seiva das plantas usa-se solução açucarada. Antes de colocar o hamster anestesiado, retirava-se a solução

açucarada algumas horas antes para que as fêmeas não estivessem totalmente alimentadas e pudessem se alimentar o máximo com sangue, atingindo a repleção e maturação dos ovos.

Ao descobrir a melhor forma de alimentação seguiu-se para a próxima etapa. Número de indivíduos ideal, ou seja, índice populacional, para obtenção da cópula e maior número de ovos. Foram utilizadas três gaiolas contendo 50, 70 e 90 espécimes de *Culex quinquefasciatus*. Esse experimento foi repetido por três vezes (semanas).

Ao término da observação do índice populacional foi feito o último experimento, referente ao tamanho de gaiolas. Observação da quantidade de ovos foi feita em gaiolas com as seguintes dimensões, 40x36x40 cm e 20x20x20 cm contendo 70 espécimes de *Culex quinquefasciatus* em cada gaiola. Esse experimento foi repetido por três vezes (semanas). O indicador de sucesso do experimento foi o maior número de ovos obtidos durante o desenvolvimento biológico desses mosquitos.

### 3. Resultados e Discussão

A primeira resposta do experimento consistiu em avaliar a alimentação mais adequada. No processo de alimentação dos mosquitos através de hamster, foi observado que, eles não se alimentavam. Esse problema poderia ser solucionado de duas maneiras: (1) alimentando-os no período noturno ou (2) invertendo a luminosidade do insetário. Ambas as maneiras foram testadas e mostraram resultados positivos. No entanto, preferiu-se fazer a adequação do insetário, separando um local específico para o *Culex* sp. e colocando equipamento controlador da luminosidade que foi programada para fotoperíodo de 14 horas de ausência de luz e 10 horas luz (Lane 1953).

A avaliação da alimentação mais adequada na rotina de colônia de *Culex quinquefasciatus* nas condições da Amazônia pôde então ser observada que de um total de 540 adultos para iniciar a colônia foram geradas 10 jangadas contendo 874 ovos (Tabela 1). Pôde ser constatado ainda que a alimentação oferecida na Gaiola 2, que era de dois repastos sanguíneos (hamster) e solução açucarada obteve a maior quantidade de ovos, representando quase o dobro (417 ovos) do que foi observado na demais dietas (236 e 221 ovos).

Tabela 1. Avaliação de diferentes dietas para formação de colônia de *Culex quinquefasciatus* em condições de laboratório.

	Repetições	Adultos utilizados	Jangadas obtidas	Ovos obtidos
Gaiola 01	R1	60	01	79
	R2	60	01	93
	R3	60	01	64
Gaiola 02	R1	60	01	130
	R2	60	02	182
	R3	60	01	95
Gaiola 03	R1	60	01	76
	R2	60	01	84
	R3	60	01	62
TOTAL	09	540	10	865

R1, 2 e 3= repetições 1,2 e 3 gaiola1= um repastos sanguíneo + solução açucarada, gaiola 2 = Dois repastos sanguíneos + solução açucarada e gaiola 3 = Dois repastos sanguíneos + solução açucarada + maçã.

A segunda resposta consistiu em saber o número ideal de indivíduos em uma gaiola para obtenção do maior número de jangadas (ovos). Observa-se na tabela 2 que na primeira semana do teste a menor média de ovos foi constatada na gaiola com 90 mosquitos. Na segunda semana praticamente não houve diferença e na última observação a gaiola com 90 mosquitos foi a melhor (com mais ovos). No entanto, a média total demonstrou que a gaiola com 70 mosquitos apresentou maior média (97,8).

Tabela 2. Avaliação do Índice populacional para formação de colônia de *Culex quinquefasciatus* em condições de laboratório.

N amostral	Observações semanais								
	1ª		2ª		3ª		Total		
	Jangadas	×	Jangadas	×	Jangadas	×	Jangadas	×	
Gaiola 1	50	04	119,5	07	98,6	03	75,3	14	97,8
Gaiola 2	70	11	108,2	17	80,4	04	72,8	32	87,1
Gaiola 3	90	01	84	04	80,7	02	103,5	07	89,4
Total	210	16	104	28	86,6	09	84	53	91,3

Segundo estudos desenvolvidos por Oliveira e Oliveira (2011) foi observado que populações encontradas na natureza expostas à inseticidas de maneira constante podem alterar o desempenho biológico. Os autores estudaram a capacidade hematofágica (alimentação sanguínea) de populações resistentes ao *Bacillus sphaericus* e observaram que a repleção nas fêmeas ocorre em 30 minutos, enquanto as populações resistentes em 90 minutos. Outro aspecto estudado foi a fertilidade (número de ovos) que também apresentou diferença estatística quanto à taxa de fertilidade demonstrando que a resistência de *Culex quinquefasciatus* a cepa 2362 de *B. sphaericus* apresenta alterações no desempenho biológico do mosquito.

Estudos mais detalhados devem ser realizados para confirmar ou não se a quantidade de ovos obtidos através desse experimento estão relacionados a capacidade hematofágica dos indivíduos, ou a outros parâmetros da população que originou a colônia, e que possam interferir no desempenho biológico de *Culex quinquefasciatus*.

A terceira resposta estava relacionada ao tamanho das gaiolas para o desenvolvimento de colônia de *Culex quinquefasciatus* nas condições da Amazônia. Os resultados que constam na tabela 3, demonstrou que nas gaiolas pequenas (20x20x20 cm) não foi obtido nenhuma jangada, enquanto as gaiolas grandes (40x36x40 cm) obtiveram resultados positivos.

Tabela 3. Avaliação do tamanho de gaiola para a formação de colônia de *Culex quinquefasciatus* em condições de laboratório.

Gaiolas	Nº amostral	Repetição/Jangadas			Total
		01	02	03	
Pequena	70	00	00	00	00
Grande	70	11	17	04	32

#### 4. Conclusão

O presente estudo para formação de colônia de *Culex quinquefasciatus* leva a conclusões relevantes para a adaptação do inseto nas condições de laboratório no que se refere à dieta alimentar, índice de população e espaço em gaiolas.

A alimentação mais adequada foi o repasto sanguíneo duas vezes por semana e solução açucarada. Esta alimentação mostrou um resultado significativo em relação às demais dietas. O teste envolvendo o número de insetos nas gaiolas, índice populacional, apresentou maior quantidade de ovos na gaiola que continha 70 indivíduos. Em relação ao tamanho das gaiolas, a que apresentou resultado significativo foi a gaiola grande (40 cm x 36cm x 36 cm). A gaiola pequena durante o processo de testes não apresentou nenhuma postura.

#### 5. Referências Bibliográficas

- Consoli, R.A.G.B.; Lourenço de Oliveira, R. 1994. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. Fiocruz, Rio de Janeiro, 228p.
- Deane, L.M. *Observações sobre alguns hábitos dos adultos de Culex fatigans, o principal transmissor da filariose em Belém, Pará. Revista do Serviço Especial de Saúde Pública*, 4, 423 – 464.
- Foratini, O. P. 2002. *Culicidologia Médica*. Universidade de São Paulo, São Paulo Brasil. 880pp.
- LANE. J. 1953. Neotropical Culicidae. Desanae, Chaoborinae and Culicionae, tribes Anophelini, Toxorhynchitini and Culicini (genus *Culex* only) Volume 1 *Published by University of São Paulo, Brazil*
- Oliveira, M.F.; Oliveira, C.M.F. 2011. Alteração no desempenho biológico de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) resistente ao biolarvicida *Bacillus sphaericus*. 12 Sinconbiol.
- Rachou, R.G. 1956. Transmissores da filariose braçoftiana no Brasil. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 8: 267-279.
- Scarpassa, V. M.; Tadei, W.P. 1990. *Biologia de Anofelinos Amazônicos. XIII. Estudo do ciclo biológico de Anopheles nuneztovari Gabaldón. 1940 (Diptera, Culicidae). Acta Amazonica*.