

DETERMINAÇÃO DOS ESTÁDIOS LARVAIS E INFORMAÇÕES BIONÔMICAS DE *Goeldichironomus holoprasinus* (GOELDI, 1905) (DIPTERA: CHIRONOMIDAE) PARA O ESTADO DO AMAZONAS

Andréia da Costa PAZ¹; Neusa HAMADA²; Gizelle AMORA³

¹Bolsista PIBIC/CNPq-INPA; ²Orientadora CBIO/INPA; ³Coorientadora CBIO/INPA

1. Introdução

Goeldichironomus (Goeldi, 1905) é um gênero Neotropical com 11 espécies registradas para o Brasil; na região Norte ocorre oito espécies, sete delas no Amazonas (Mendes e Pinho 2007). As larvas são encontradas principalmente em ambientes lênticos, podendo ocorrer em sedimentos, plantas e em tapetes flutuantes de vegetação e madeira, sob condições que variam de oligotrófica a hipereutrófica (Epler 2001).

As larvas são vermelhas, pela presença de hemoglobina, característica observada em alguns outros gêneros (e.g. *Chironomus*, *Fissimetum*) de Chironomidae (Trivinho-Strixino 2011). A presença dessa molécula na hemolinfa permite que as larvas habitem ambientes eutrofizados (Armitage *et al.* 1995), assim, com essa característica fisiológica torna algumas espécies desse gênero importantes indicadores de impacto ambiental. Adicionalmente, essa característica fisiológica torna esses organismos interessantes para estudos toxicológicos, para isso, no entanto, é necessário conhecimento sobre o tempo de desenvolvimento de cada estágio. Essas informações são de difícil obtenção na natureza, mas podem ser obtidas em condições de laboratório (Corbi e Trivinho-Strixino 2006).

Estudos sobre a biologia de espécies de *Goeldichironomus* foram realizados na Argentina por Zilli *et al.* (2009), com *G. holoprasinus* (Goeldi, 1905) e no Brasil por Corbi e Trivinho-Strixino (2006) com *G. maculatus* Strixino e Strixino, 1991 e *G. luridus* Trivinho-Strixino e Strixino, 2005. Esses estudos abordaram apenas o tempo de desenvolvimento do ovo e do estágio larval, no entanto, informações sobre o tempo de desenvolvimento do estágio de pupa e longevidade dos adultos, assim como informações comportamentais sobre a oviposição e cópula não foram fornecidas.

Devido aos poucos estudos sobre a biologia de Chironomidae realizados no Brasil e pela ausência de informações na literatura para a região Amazônica sobre este gênero, este trabalho tem como objetivos determinar o tempo de duração de cada estágio de vida, o tempo de desenvolvimento de cada estágio larval e observar os aspectos comportamentais relacionados à reprodução de *G. holoprasinus*, no estado do Amazonas.

2. Material e Métodos

Massas de ovos de *G. holoprasinus* foram coletadas em 26 de janeiro de 2012, no Conjunto 31 de Março, bairro Japiim II (S 3°06'50,17" W 59°58'30,99") na área urbana da cidade de Manaus, Amazonas, Brasil, em recipiente plástico com capacidade de 10 litros (27 x 25cm). Essas foram individualizadas em potes plásticos de 80 mL (06 x 05 cm), identificadas, cobertas com tela e observadas diariamente até a eclosão das larvas e abandono destas da massa gelatinosa. As larvas foram transferidas para bandejas plásticas brancas (19,5 x 31 x 6,5cm), contendo areia calcinada como substrato e 1,5 L de água. As bandejas foram cobertas com uma estrutura de madeira (43,5cm x 39,5cm x 39,5) com tela (2 mm), seguindo modelo modificado de Fonseca e Rocha (2004) para retenção dos adultos e observações comportamentais. As larvas foram alimentadas com ração para peixes TETRAMIM® a cada 48 horas. A colônia estabelecida a partir desse material coletado foi mantida no laboratório de criação de insetos localizado no Campus II, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Esse laboratório é coberto e tem parte de suas paredes aberta, coberta com tela de nylon, com malha de 1mm, portanto, as condições ambientais de temperatura (28°C ±1,4), umidade do ar (75,14% ±7,9) (INMET) e fotoperíodo (12/12 horas) foram similares ao do ambiente durante o período dos experimentos, entre os meses de agosto de 2012 a fevereiro de 2013. Os espécimes analisados no presente estudo foram oriundos dessa colônia estabelecida.

Dez massas de ovos foram isoladas e observadas para determinar o tempo de duração do estágio de ovo, estas foram coletadas logo após a postura e observadas, de hora em hora, até a eclosão das larvas.

Dez massas de ovos foram isoladas para determinar o tempo de duração dos quatro estádios larvais; a partir do momento da eclosão, três larvas foram fixadas (em álcool 80%) diariamente, até que a última larva da postura entrasse no estágio de pupa. Para identificar em que estágio essas larvas fixadas se encontravam elas foram montadas entre lâmina e lamínula, utilizando Hoyer como meio de montagem para mensurar o comprimento ventral da cápsula cefálica, tomadas entre o ápice do dente mediano até a margem pós-occipital e posterior. Essas medidas foram utilizadas para classificar as larvas em um dos quatro estádios larvais por meio de uma análise de distribuição de frequência (Strixino 1973), utilizando o programa BioEstat 5.0 (Ayres *et al.* 2007).

O tempo de duração de cada estágio larval foi determinado por meio da combinação das informações obtidas no gráfico de distribuição de frequência com as medidas do comprimento da cápsula cefálica das larvas coletadas diariamente de cada massa ovígera, logo após a eclosão.

Para a estimativa do tempo de duração do estágio de pupa foram realizadas observações diárias, sobre 50 pupas, a partir do momento da pupação até a emergência dos adultos. A longevidade dos adultos foi estimada utilizando 48 adultos emergidos no laboratório, no mesmo dia; esses foram isolados aos pares (macho e fêmea) em gaiolas confeccionadas com garrafas PET e observados até que não houvesse sobrevivente.

A razão de crescimento (r) foi estimada utilizando a regra de Dyar (1980), utilizando o comprimento da cápsula cefálica. Segundo esta regra, r_1 é a média do comprimento do segundo estágio dividida pela média do comprimento do primeiro; r_2 é a média do comprimento do terceiro estágio dividida pela média do comprimento do segundo e r_3 é a média do comprimento do quarto estágio dividida pela média do comprimento do terceiro estágio. Foi calculada a razão sexual (rs) da espécie utilizando a fórmula, proposta por Fischer (1930) ($rs = \text{total de fêmeas} / \text{total de fêmeas} + \text{total de machos}$).

As medidas e imagens apresentadas nesse estudo foram obtidas por meio de um microscópio óptico Olympus e uma câmera fotográfica digital, para aquisição de imagem, modelo Olympus DP72, utilizando o software Cell D (Olympus) e em microscópio estereoscópio Leica M165C, com o programa auto montagem Leica, Aplicativo Suite V3.

O material testemunho do presente estudo será depositado na Coleção de Invertebrados do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brasil.

3. Resultados e Discussão

O ciclo de *G. holoprasinus* tem duração de 18 dias. Nessa espécie não foi observado o enxameamento, antes da cópula, embora esse comportamento seja comum entre espécies de Chironomidae, com relatos de sua ausência em determinadas espécies (Martin e Porter 1977). A cópula ocorre no período noturno, com duração de poucos segundos, em seguida, a fêmea deposita seus ovos na superfície da água.

Os ovos de *G. holoprasinus* são colocados em uma matriz gelatinosa que se expande na água (Oliver 1971). A massa ovígera tem formato de corda, similar à outras espécies do mesmo gênero, como *G. maculatus* e *G. luridus* (Corbi e Trivinho-Strixino 2006), e contem, em média 276,2 ovos ($\pm 57,7$, $n=10$), na Argentina essa espécie apresentou uma média de ovos (382) um pouco maior (Zilli *et al.* 2009). A média de ovos de *G. holoprasinus* foi inferior, quando comparada com a de outras espécies do mesmo gênero, como, por exemplo, *G. maculatus*, com cerca de 780 ovos e *G. luridus* com cerca de 600 ovos (Corbi e Trivinho-Strixino 2006). A diferença no número de ovos entre as espécies pode ser consequência de estratégias adaptativas. Nolte (1993) evidenciou que fatores como nutrição e tempo de desenvolvimento das larvas podem influenciar na quantidade de ovos produzida pela fêmea.

O tempo de duração do estágio de ovo de *G. holoprasinus* foi de 34hs ($\pm 3,0$, $n=60$). As larvas de primeiro estágio permanecem na interior da massa gelatinosa, alimentando-se dela, por 5,5 horas ($\pm 1,3$, $n=6$).

O tempo médio de desenvolvimento larval em condições de laboratório foi de 11,5 dias ($\pm 1,8$, $n=342$), sob temperatura ambiente de 30,2°C, média próxima à observada para esta mesma espécie na Argentina, que sob temperaturas entre 18° e 33°C apresentou um tempo de desenvolvimento larval de 12 dias (Zilli *et al.* 2009); enquanto que esse tempo para *G. maculatus* e *G. luridus* foi de 28 e 20 dias, sob temperatura de 21° e 26°C, respectivamente (Corbi e Trivinho-Strixino 2006).

O estágio de pupa teve duração média de 1 dia ($\pm 0,2$, $n=50$), sob temperatura ambiente de 30,9°C, enquanto na Argentina, o tempo de duração foi de 4,5 dias, a 26°C (Zilli *et al.* 2009), sugerindo que a temperatura tem grande influência sobre a duração desse estágio de vida. De acordo com Strixino e Trivinho-Strixino (1985), o aumento da temperatura acelera não só as reações químicas como os processos fisiológicos em geral, notadamente no desenvolvimento e crescimento dos imaturos.

Os adultos sobreviveram, em média, 3 dias ($\pm 1,4$, $n=50$), tanto os machos (3,1 $\pm 0,9$) quanto as fêmeas (3 $\pm 0,8$), diferente do que foi observado para *Chironomus kiiensis* Tokunaga, 1936, que sob temperaturas controladas de 15° e 25°C e ausência de alimentação, os machos apresentam longevidade maior (6 a 14 dias) que as fêmeas (7 a 10 dias) (Maeda e Yano 1988).

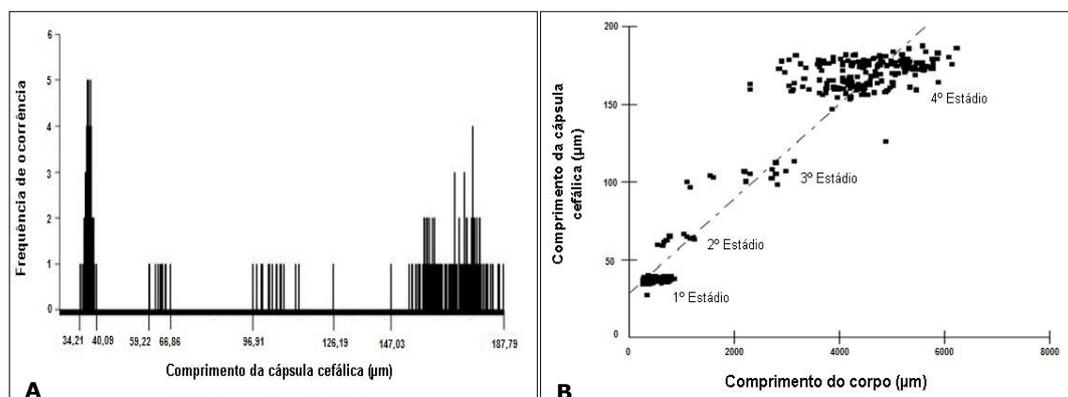


Figura 1. *Goeldichironomus holoprasinus* (Diptera: Chironomidae). A - Distribuição da frequência do comprimento ventral da cápsula cefálica (μm) da larva; B - Relação entre o comprimento ventral da cápsula cefálica (μm) e o comprimento do corpo (μm) da larva.

Como já é fato conhecido para Chironomidae (e.g. Corbi e Trivinho-Strixino 2006), *G. holoprasinus* apresentou quatro estádios larvais (Figura 1A), evidenciados pela relação das variáveis: comprimento da cápsula cefálica vs. comprimento do corpo (Figura 1B). O tempo médio de duração do 1º estágio foi de três dias, do 2º, quatro, do 3º, cinco e do 4º estágio, sete dias. A Regra de Dyar indicou uma razão de crescimento de 1,65.

O período de emergência do adulto teve início no 11º dia após a oviposição, com predominância de machos durante os três primeiros dias. O período de emergência teve duração de 3 a 16 dias ($9,4 \pm 4,47$) (Figura 2), em temperatura ambiente de 28,6°C. Na Argentina, foi observado que a emergência de *G. holoprasinus*, sob temperaturas entre 26° e 29°C, teve início no 13º dia e durou cerca de 4 dias (Zilli *et al.* 2009). A razão sexual (rs) da espécie foi de 0,50.

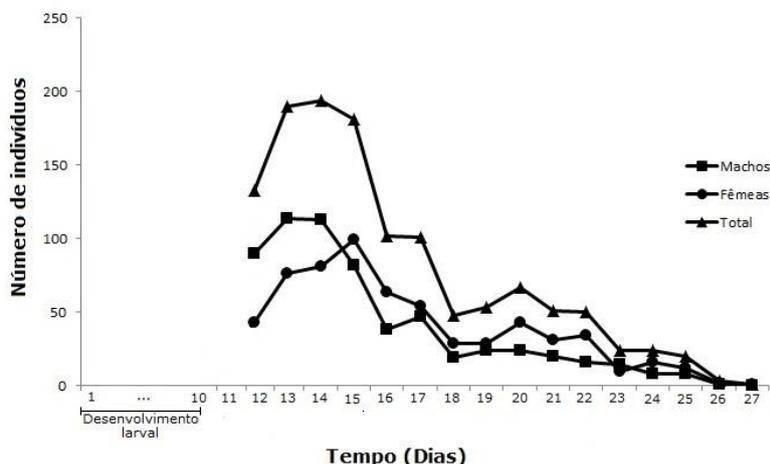


Figura 2. Dinâmica de emergência de machos, fêmeas e total de adultos de *Goeldichironomus holoprasinus* (Diptera: Chironomidae).

4. Conclusão

As informações biológicas obtidas e o fácil manuseio em condições de laboratório, demonstrado pela obtenção de várias gerações consecutivas, indicam o potencial de uso dessa espécie em futuros estudos de avaliação ambiental, incluindo estudos toxicológicos.

5. Referências Bibliográficas

- Armitage, P.D.; Cranston, P.S.; Pinder, L.C.V. 1995. *The Chironomidae: The Biology and Ecology of Non-Biting Midges*, Chapman & Hall, London. 538 pp.
- Ayres, M.; Ayres Júnior, M.; Ayres, D.L.; Santos, A.A. 2007. *BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas*. Ong Mamiraua. Belém, PA. 364 pp.
- Corbi, J.J.; Trivinho-Strixino, S. 2006. Ciclo de vida de duas espécies de *Goeldichironomus* (Diptera, Chironomidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 50: 72-75.
- Dyar, H.G. 1980. The number of molts lepidopterous larvae. *Psyche*, 5: 420-422.
- Epler, J.H. 2001. *Identification manual for the larval Chironomidae (Diptera) of North and South Carolina*. Department of Environmental and Natural Resources, Orlando, Raleigh NC. 526pp.
- Fisher, R. A. 1930. *The genetical theory of natural selection*. Oxford, Clarendon Press. 230pp.
- Fonseca, A.L.; Rocha, O. 2004. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus* Rempel, 1939 (Diptera-Chironomidae). *Acta Limnologica Brasiliensia*, 16(2): 153-161.
- Instituto Nacional de Meteorologia - INMET. Parâmetros Meteorológicos. (http://www.inmet.gov.br/sim/gera_graficos.php). Acesso em 26/06/2013
- Maeda, M.; Yano, K. 1988. Biology of *Chironomus kiiensis* Tokunaga (Diptera: Chironomidae). *Bulletin of the Faculty of Agriculture, Yamaguchi University*, 36: 37-47.
- Martin, J.; Porter, D. J. 1977. Laboratory biology of the rice midge, *Chironomus tepperi* Skuse (Diptera: Nematocera): mating behavior, productivity and attempts at hybridization. *Australian Journal of Entomology*, 16: 411-416.
- Mendes, H.F.; Pinho, L.C. 2007. Chironomidae: Lista de espécies registradas para o Brasil e estados com registro de pelo menos uma espécie. (<http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/chironomidae/chiroindex.htm>). Atualização: 09 de outubro de 2009. Acesso em 28/04/12.
- Nolte, U. 1993. Egg masses of Chironomidae (Diptera): a review, including new observations and a preliminary key. *Entomologica Scandinavica Supplement*, 43: 1-75.
- Oliver, D.R. 1971. Life history of the Chironomidae. *Annual Reviews of Entomology*, 16: 211-30.
- Strixino, S.T. 1973. *A largura da cabeça na determinação das fases larvais de Chironomidae na Represa do Lobo*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo (USP). 149 pp.
- Strixino, G.; Trivinho-Strixino, S. 1985. A temperatura e o desenvolvimento larval de *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 3(4): 177-180.

- Sæther, O.A. 1980. Glossary of chironomid morphology terminology (Diptera: Chironomidae). *Entomologica Scandinavica Supplement*, 14: 1-51.
- Trivinho-Strixino, S. 2011. *Larvas de Chironomidae. Guia de identificação*. Departamento de Hidrobiologia, Laboratório de Entomologia Aquática, UFSCar, São Carlos. 371pp.
- Zilli, F.; Marchese, M.; Paggi, A. 2009. Life cycle of *Goeldichironomus holoprasinus* Goeldi (Diptera: Chironomidae) in laboratory. *Neotropical Entomology*, 38(4): 472-476.