
ESTUDO DO COMPORTAMENTO

DE OVIPOSIÇÃO NO CAMPO E O CICLO DE VIDA DE

***Aedes albopictus* (SKUSE, 1894) (Diptera: Culicidae)**

EM LABORATÓRIO

Ionizete Garcia da Silva, ^{1e2} *Leticia Camilo da Costa*, ² *Heloísa Helena Garcia da Silva*, ¹ *Viviany Pires Guimarães*² e *Carmeci Natalina Elias*¹

RESUMO

Procurou-se, neste trabalho, compreender a preferência de *Ae. albopictus* por substratos para a oviposição em áreas rurais e também o desenvolvimento de seu ciclo de vida em laboratório. Colocaram-se nove vasos pretos de plástico numa área rural, nas proximidades de um galinheiro, de um chiqueiro e de uma jabuticabeira. Foram colocados, simultaneamente, em cada um: papel filtro do tipo coador de café, um cone similar de papel embrulho e paletas de eucatex. As observações foram realizadas duas vezes por semana, durante 120 dias. Após a contagem, os ovos foram transferidos para copos plásticos descartáveis com capacidade para 500mL. Em laboratório, os copos foram preenchidos com cerca de 350mL de água para a eclosão das larvas. Cada copo foi devidamente identificado com a data e o tipo de substrato da postura, fazendo-se as observações diárias por um período de 60 dias. Foram observadas 29 posturas: 9 em papel embrulho, 9 em papel filtro e 11 em paletas. A média foi de 15,9 ovos por oviposição. A média de eclosão de larvas e emergência de adultos foi, respectivamente, de 11,2 e 9,9 por oviposição. A sexagem mostrou-se equilibrada, na razão aproximada de um para um. Não houve diferença significativa de oviposição do *Ae. albopictus* entre os substratos estudados e a oviposição mostrou-se independente do tipo de substrato. A primeira geração de mosquitos, a partir de ovos postos em laboratório, foi de 2,09 ovos por fêmea/dia. O período médio de incubação dos ovos foi de 4,0 dias. A duração média do 1º, 2º, 3º e 4º estádios larvais foi de 1,4; 1,2; 1,3 e 2,7 dias, respectivamente. O estágio de pupa teve a duração de 2,1 dias. A longevidade média para machos e fêmeas foi de 60 e 75 dias, respectivamente

DESCRIPTORIOS: *Aedes albopictus*, campo, laboratório, oviposição, ciclo.

-
- 1 Laboratório de Biologia e Fisiologia de Insetos e Xenodiagnóstico do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO.
 - 2 Pós-graduação em Medicina Tropical do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

Endereço para correspondência: Dr. Ionizete Garcia da Silva, Departamento Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia, IPTSP/UFG, Caixa Postal 131, 74001-970, Goiânia, Brasil. E-mail: ionizete@iptsp.ufg.br

Recebido para publicação em: 8/8/2008. Revisto em: 9/2/2009. Aceito em: 23/2/2009.

INTRODUÇÃO

O *Aedes albopictus* foi descrito originalmente na Índia e sua dispersão tem sido notificada em quase todos os países asiáticos de áreas temperadas e tropicais (12). Introduziu-se nas Américas, sendo notificado em 1985 no sul dos Estados Unidos (21, 27). No Brasil, foi descrito pela primeira vez em 1986, no município de Itaguaí (RJ), e, em 1998, já estava presente em 1.465 municípios de 13 estados, mostrando-se, assim, adaptado ao ambiente urbano (5, 22). Desses municípios o mosquito espalhou-se para o ambiente rural, periurbano e urbano em quase todas as regiões brasileiras. Ele apresenta hábito antropofílico e zoofilia pouco acentuada e sua atividade hematofágica é diurna. *Ae. albopictus* é um dos vetores da febre amarela silvestre e de encefalites, sendo de grande importância também na manutenção do dengue na Ásia (7, 18). Cria-se em recipientes naturais e artificiais, competindo, assim, com o *Ae. aegypti* (1, 8, 20). Quando ambos coexistem em uma mesma localidade, a densidade de *Ae. aegypti* tende a diminuir (10). O *Ae. albopictus* prefere depositar seus ovos em ocós de árvores, apesar de se adaptar facilmente ao ambiente antrópico.

A competência vetorial do *Ae. albopictus* para o vírus de dengue, febre amarela e encefalites tem sido investigada, pois ele pode servir de elo entre o ciclo silvestre e o urbano, uma vez que vive nesses dois ambientes (4, 15,16, 17).

Foram demonstradas infecção natural do *Ae. albopictus* pelo vírus do dengue, alta taxa de infecção pelo vírus DEN-2 e transmissão transovariana (3, 11). Esses fatos chamam atenção pela possibilidade de surtos de dengue em áreas livres de *Ae. aegypti* (6, 23).

Sua adaptação a vários tipos de ambiente, incluindo temperaturas mais baixas, torna sua erradicação mais difícil que a do *Ae. aegypti* (14). É importante que se promovam levantamentos para detectar a presença do *Ae. albopictus* e estudos sobre seu *habitat*, de modo que sejam encontradas alternativas de controle (14, 21).

Procurou-se, neste trabalho, compreender a preferência de *Ae. albopictus* por substratos para a oviposição em áreas rurais, assim com seu desenvolvimento em laboratório com a finalidade de criá-lo em grande escala para futuros testes com inseticidas.

MATERIAL E MÉTODOS

Colocaram-se nove vasos pretos de plástico, medindo 15cm de diâmetro por 12cm de altura, com diferentes substratos de oviposição em área rural no município de Bonfinópolis, Goiás (Figura 1), nas proximidades de um galinheiro, de um chiqueiro e de uma jabuticabeira. Foram colocados, simultaneamente, em cada um: papel filtro do tipo coador de café, um cone similar de papel embrulho e paletas de eucatex. As observações foram realizadas em intervalos de três dias durante um período de quatro meses. Quando havia postura, os substratos eram substituídos e os ovos encaminhados ao laboratório para contagem e incubação.

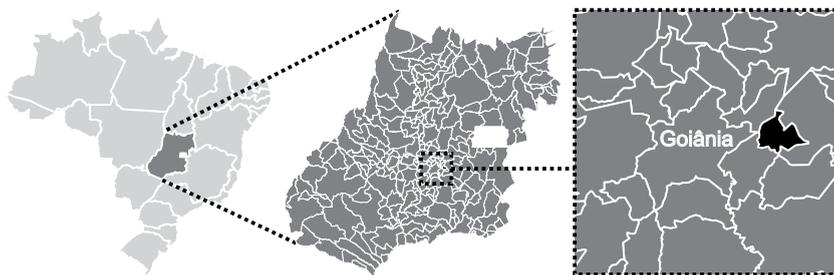


Figura 1. Mapa do Estado de Goiás e a localização de Bonfinópolis, onde foi o ponto de coleta.

Após a contagem dos ovos nos substratos, eles foram transferidos para copos plásticos descartáveis com capacidade para 500mL, nos quais foram colocados, aproximadamente, 350mL de água da rede pública de abastecimento do estado de Goiás para a eclosão das larvas.

Cada copo foi devidamente identificado com data e tipo de substrato da postura e as observações diárias foram feitas por um período de 60 dias. Após a eclosão, as larvas foram individualizadas em tubos de polietileno, transparentes, cilíndricos, medindo 4,0cm de diâmetro por 4,7cm de altura. Para a alimentação das larvas, usou-se ração para gatos triturada em gral com pistilo até se obterem finíssimas partículas, que, com o auxílio de uma espátula, foram colocadas em cada tubo. A reposição era feita quando se verificava diminuição. Na fase de pupa, prendeu-se ao tubo de polietileno, com fita crepe, outro tubo com as mesmas características até a emergência dos adultos (24). Após a emergência, fez-se a sexagem dos adultos e a confirmação da espécie. Os adultos foram mantidos em gaiolas de criação e acasalamento, segundo técnica já estabelecida (24). Para alimentação das fêmeas, utilizaram-se camundongos albinos em dias alternados, os quais eram antes imobilizados numa tela de náilon, com a cabeça recurvada para o ventre para que o animal não furasse a tela, e esta era grampeada de forma que impedisse o movimento. Assim os animais permaneciam por 30 minutos (25). Os machos alimentavam-se em algodão do tipo absorvente feminino embebido em água açucarada, que permanecia dentro da gaiola, sendo umedecido sempre que se apresentasse seco. Para a oviposição das fêmeas, colocou-se no interior da gaiola, um copo de vidro âmbar, com o seu interior revestido de papel filtro, contendo água até um terço de sua capacidade. Este copo foi recoberto com um cone de cartolina cortado no ápice. Desse modo, criou-se um microambiente propício à postura e impediu-se a morte de adultos por afogamento. Diariamente o copo era retirado da gaiola, contavam-se os ovos, substituíam-se o papel para oviposição e registrava-se a mortalidade. O protocolo dos experimentos foi aprovado pelo comitê de ética da FUNAPE, sob o nº 026/2006.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biologia e Fisiologia de Insetos, do IPTSP da Universidade Federal de Goiás, numa câmara biológica (24) climatizada a $28\pm 1^\circ\text{C}$, com umidade de $80\pm 5\%$ e fotofase aproximada de 12 horas.

Para determinar a eclosão das larvas, os períodos de incubação, larval e pupal, o ciclo evolutivo e a longevidade, foram calculadas as médias e os respectivos erros-padrão. Para determinar o número de ovos por armadilha, utilizou-se a variável transformada, uma vez que esta não tem a distribuição normal e sim a de Poisson. O teste do Qui-quadrado de heterogeneidade foi usado para determinar a sexagem.

RESULTADOS

Experimentos de campo

Durante quatro meses, foram observadas 29 posturas de *Ae. albopictus*, sendo 9 em papel embrulho, 9 em papel filtro e 11 em paletas de eucatex. Não se verificou diferença significativa de oviposição do *Ae. albopictus* entre os substratos estudados. A oviposição mostrou-se independente do tipo de substrato. As armadilhas de oviposição apresentaram rendimento estatisticamente igual. A média de ovos foi de 15,9 por oviposição, eclodindo em média 11,2 larvas, das quais emergiram 9,9 adultos, que apresentaram sexagem equilibrada, na razão aproximada de um para um.

Experimentos em Laboratório

O período de incubação dos ovos de *Ae. albopictus* em laboratório foi de 4,0 dias. A duração do 1º, 2º, 3º e 4º estádios larvais foi de 1,4; 1,2; 1,3 e 2,7 dias, respectivamente. O estágio de pupa teve a duração de 2,1 dias. O ciclo foi completado em 12,7 dias (Tabela 1).

Tabela 1. Ciclo de vida de *Ae. albopictus* (dias) em condições de laboratório

Incubação	Larva 1	Larva 2	Larva 3	Larva 4	Pupa	Ciclo Evolutivo
4,0±0,00	1,4±0,05	1,2±0,05	1,3±0,05	2,7±0,06	2,1±0,04	12,7±0,08

A proporção de emergência entre machos e fêmeas de *Ae. albopictus* foi de 1:1, idêntica aos experimentos de campo. O período médio de pré-postura foi de oito dias, e as posturas iniciaram-se somente após a segunda alimentação das fêmeas, que era feita, exclusivamente, em camundongos. O número médio de ovos por fêmea/dia foi de $2,09 \pm 0,31$. A longevidade observada foi de 75 dias para fêmeas e de 60 dias para machos. A taxa de mortalidade ao longo do ciclo foi de 5%.

DISCUSSÃO

A criação de *Ae. albopictus* em laboratório tem sido bastante limitada pelo alto grau de antropofilia das fêmeas, que recusam alimentação em qualquer fonte que não seja o ser humano (28). Neste trabalho, as dificuldades para se estabelecer a colônia foram idênticas. Outro fator limitante, já observado por outros autores, foi a umidade. Colônias mantidas a 60% de umidade apresentam uma longevidade bem menor do que as mantidas entre 80% e 90%. Isso parece ser próprio do comportamento dessa espécie, que na natureza tem sido mais abundante nos meses quentes e úmidos (19, 28).

As observações realizadas num período de quatro meses mostraram que as armadilhas ou ovitrampas, construídas com papel embrulho, papel filtro e paletas de eucatex, apresentaram rendimento estatisticamente igual como atrativo para oviposição de *Ae. albopictus*, quando se considerou os substratos estudados. Os recipientes escuros utilizados foram mais importantes do que os substratos neles colocados, pois a oviposição ocorreu independentemente do tipo de substrato. Assim, este trabalho amplia a possibilidade de se fazer modificações nessas armadilhas, no sentido de aperfeiçoar a coleta e a contagem de ovos. Foi muito mais fácil, prático e rápido o manejo com a utilização do frasco com o papel filtro do tipo coador de café para a coleta, o acondicionamento, a contagem e o armazenamento dos ovos de *Ae. albopictus* do que com papel embrulho e a paleta. Esta última tem sido a mais usada como instrumento de verificação de mosquitos (9, 14).

Os parâmetros de incubação dos ovos de *Ae. albopictus* obtidos neste trabalho foram muito menores do que os encontrados na literatura (2). Provavelmente, a temperatura de $28\pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $80\pm 5\%$ foram mais favoráveis à incubação dos ovos do que a 30°C e umidade relativa de 70% a 85%, utilizada por aqueles autores. Esta interferência não foi acentuada nas fases de larvas e pupas.

Nas mesmas condições climáticas, a duração média do ciclo evolutivo de *Ae. albopictus*, a partir de fêmeas alimentadas exclusivamente em camundongos, foi similar à duração obtida por outra investigação (26) para a mesma espécie. Foi também idêntica à duração da espécie *Ae. aegypti* (24). Isso é um indicativo da possibilidade de se utilizar o mesmo ambiente para a criação das duas espécies, facilitando a manutenção das colônias para futuros ensaios com relação à sua suscetibilidade a inseticidas, uma vez que a presença desse mosquito nas cidades traz a possibilidade de transferência de arbovírus silvestres para o meio urbano.

Colônias mantidas exclusivamente por alimentação no braço de um voluntário (28), em ambiente climatizado a 25°C e umidade relativa entre 90% e 95%, completaram o ciclo evolutivo entre 7 e 19 dias. Esse ciclo pode ser considerado similar ao encontrado neste trabalho, tendo como fonte sanguínea o camundongo. Esse fato pode ser considerado positivo, pois a alimentação em camundongos poderá constituir-se numa boa solução para o estabelecimento e manutenção das colônias, principalmente por abolir a prática, já bastante criticada, da alimentação em humanos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação de Apoio a Pesquisa (FUNAPE) pelo apoio financeiro recebido.

ABSTRACT

Oviposition behaviour of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) in the field and its life cycle in the laboratory

The objective of this work was to show the substrates preference for oviposition of *Ae. albopictus* in the field, and its developmental cycle in laboratory. Insects were distributed in nine black plastic containers in the field, next to chicken coops, pigsties and jaboticaba trees. Paper coffee filters, wrapping paper cones and palettes of eucatex were, simultaneously, placed in every container. The observations were conducted twice a week for 120 days. After counting, eggs were transferred to disposable plastic cups, with 500mL capacity. Inside them, 350 mL of water were placed in order to propitiate the eclosion of larvae. Every plastic cup was properly identified with the date and type of substrate, and daily remarks were made for a 60 days period. We observed 29 postures in the field: nine in wrapping paper, nine in filter paper, and 11 in palettes. The average of eggs was 15.9 per oviposition. The larvae eclosion average was 11.2 and the adult development average was 9.9 per oviposition. The number of male and female insects was approximately one to one. There was no significant difference of oviposition of *Ae. albopictus* between the studied substrates. In the laboratory, the daily average of eggs per female was 2.09 ± 0.31 . The incubation of the eggs lasted for 4.0 days. The average duration of larval instars was 1.4, 1.2, 1.3 and 2.7 days, respectively to 1°, 2°, 3° and 4° instars. The pupae instar lasted for 2.1 days. The average life expectancy for males and females was 60 and 75 days, respectively.

KEYWORDS: *Aedes albopictus*. Field. Laboratory. Oviposition. Cycle.

REFERÊNCIAS

1. Barreira R. Competition and resistance to starvation in larvae of container-inhabiting *Aedes* mosquitoes. *Ecol Entomol* 21: 117-127, 1996.
2. Calado DC, Silva MAN. Avaliação da influência da temperatura sobre o desenvolvimento de *Aedes albopictus*. *Rev Saúde Pública* 36: 173-179, 2002.
3. Castro MG, Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Miagostovich MP, Lourenço-de-Oliveira R. Dengue virus detection by using reverse transcription polymerase chain reaction in saliva and progeny of experimentally infected *Aedes albopictus* from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 809-814, 2004.
4. Chiaravalloti Neto F, Dibo MR, Barbosa AAC, Battigaglia M. *Aedes albopictus* (S) na região de São José do Rio Preto, SP: estudo da sua infestação em área já ocupada pelo *Aedes aegypti* e discussão de seu papel como possível vetor de dengue e febre amarela. *Rev Soc Bras Med Trop* 35: 351-357, 2002.
5. Forattini OP. Identificação de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) no Brasil. *Rev Saúde Pública* 20: 244-245, 1986.
6. Ministério da Saúde - FUNASA. *Guia de Vigilância Epidemiológica*. 5ª. ed., Brasília, FUNASA, 2002.

7. Gerhardt RR, Gottfried KL, Apperson CS, Davis BS, Erwin PC, Smith AB, Panella NA, Powell EE, Nasci RS. First isolation of La Crosse Virus from naturally infected *Aedes albopictus*. *Emerg Infect Dis* 7: 807-811, 2001.
8. Gomes AC, Forattini OP, Kakitani I, Marques GRAM, Marques CCA, Marucci D, Brito M. Microhabitats de *Aedes albopictus* (Skuse) na região do Vale do Paraíba, Estado de São Paulo. *Rev Saúde Pública* 26: 108-18, 1992.
9. Gomes AC, Souza JMP, Bergamaschi DP, Santos JLF, Andrade VR, Leite OF, Rangel O, Souza SSL, Guimarães NSN, Lima VLC. Atividade antropofílica de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em área sob controle e vigilância. *Rev Saúde Pública* 39: 206-210, 2005.
10. Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R. Freqüência de larvas e pupas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em armadilhas, Brasil. *Rev Saúde Pública* 35: 385-391, 2001.
11. Ibanez-Bernal S, Briseno B, Mutebi JP, Argot E, Rodriguez G, Martinez-Campos C, Paz R, De La Fuente-San Roman P, Tapia-Conyer R, Fliner A. First record in America of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus during the 1995 outbreak at Reynosa, Mexico. *Med Veter Entomol* 11: 305-309, 1997.
12. Knudsen AB. Global distribution and continuing spread of *Aedes albopictus*. Division of Control Tropical Diseases, World Health Organization, Geneva. *Parassitologia* 37: 91-97, 1995.
13. Marques CCA, Marques GRAM, Brito M, Santos Neto JG, Ishibashi VC, Gomes FA. Estudo comparativo de eficácia de larvitrapas e ovitrapas para vigilância de vetores de dengue e febre amarela. *Rev Saúde Pública* 27: 237-241, 1993.
14. Marques GRAM, Gomes AC. Comportamento antropofílico de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil. *Rev Saúde Pública* 31: 125-130, 1997.
15. Miller BR, Ballinger ME. *Aedes albopictus* mosquitoes introduced into Brazil: vector competence for yellow fever and dengue viruses. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 82: 476-477, 1988.
16. Mitchell CJ, Miller BR. Vertical transmission of Dengue Viruses by strains of *Aedes albopictus* recently introduced into Brazil. *J Am Mosq Control Assoc* 6: 251-253, 1990.
17. Mitchell C, Niebylski M, Smith G, Karabatsos N, Martin D, Mutebi JP, Craig GB, Mahler M. Isolation of Eastern equine encephalitis from *Ae. albopictus* in Florida. *Science* 257: 526-527, 1992.
18. Moore CG, Mitchell CJ. *Aedes albopictus* in the United State: ten-year presence and public health implications. *Emerg Infect Dis* 3: 1-8, 1997.
19. Neves DP, Silva RC. Aspectos da biologia do *Aedes albopictus* (Skuse 1894) (Diptera: Culicidae), a nível de campo. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 84: 403-404, 1989.
20. O'Meara GF, Evans LF, Gettman ADJ, Cuda JP. Spread of *Aedes albopictus* and decline of *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) in Florida. *J Med Entomol* 32: 554-562, 1995.
21. Rai KS. *Aedes albopictus* in the Americas. *Annu Rev Entomol* 36: 459-484, 1991.
22. Santos RLC. Atualização da distribuição de *Aedes albopictus* no Brasil (1997-2002). *Rev Saúde Pública* 37: 671-673, 2003.
23. Savage HM, Ezike VI, Nwankwo ACN, Spiegel R, Miller BR. First record of breeding populations of *Aedes albopictus* in Continental Africa: implications for arborviral transmission. *J Am Mosq Control Assoc* 8: 101-103, 1992.
24. Silva HHG, Silva IG, Lira KS. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. *Rev Patol Trop* 27: 51-63, 1998.
25. Silva IG, Ferreira IR. Influência da fonte sanguínea na multiplicação da cepa "Y" de *Trypanosoma cruzi* em *Triatoma infestans* (Klug 1834) e *Rhodnius neglectus* (Lent 1954). *Rev Goiana Med* 36: 41-48, 1990.
26. Silva MAN, Calado DC, Tissot AC, Chrestani M. Biologia de imaturos e adultos de *Aedes albopictus* sob condições de laboratório e ecologia de Culicidae em área de mata de Curitiba, PR. Informe Epidemiológico do SUS 10: 17-19, 2001.
27. Sprenger D, Wuithranyagool T. The discovery and distribution of *Aedes albopictus* in Harris Country, Texas. *J Am Mosq Control Assoc* 2: 217-219, 1986.
28. Xavier GV, Neves DP, Silva RF. Ciclo biológico do *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), em laboratório. *Rev Bras Biol* 51: 647-650, 1991.