

DANIEL ALBENY SIMÕES

OCORRÊNCIA DE *Toxorhynchites* (DIPTERA, CULICIDAE)
EM MATA ATLÂNTICA, VIÇOSA, MG, E PREDAÇÃO DE *T.*
violaceus SOBRE LARVAS DE *Aedes aegypti*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

DANIEL ALBENY SIMÕES

OCORRÊNCIA DE *Toxorhynchites* (DIPTERA, CULICIDAE)
EM MATA ATLÂNTICA, VIÇOSA, MG, E PREDAÇÃO DE *T.*
violaceus SOBRE LARVAS DE *Aedes aegypti*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 07 de Março de 2008.

Prof. Rodrigo Ferreira Krüger
(Co-orientador)

Prof. Eraldo Rodrigues de Lima
(Co-orientador)

Prof. Álvaro Eduardo Eiras

Prof. Magno Augusto Zazá
Borges

Prof. Evaldo Ferreira Vilela
Orientador

Dedicatória

Em primeiro lugar
dedico esta vitória à Deus.
Á meu Pai.
Dedico também à Tia Adélia
e à minha mãe Milene
que nunca duvidaram do meu potencial

.

Agradecimentos

Novamente agradeço a Deus

À minha família, Mãe, irmã, primos e primas e a todos aqueles que de certa forma acreditam em mim.

Ao Bicudo (Cassiano) pela amizade e apoio na vida acadêmica, principalmente nas análises.

À Livia minha eterna companheira, meu exemplo de vida e fonte de inspiração.

Aos grandes amigos Wagão (o podre), Ivam (de Deus), Super (o Costela), Fernandão (o rude), Zaca (o rias), Testa (o bom), Cota (o todo poderoso), Ceará (o gentil), Chat (o chato), Thiago (o pança), Anuro (o Sapo) e todos os outros que por momento me fogem a lembrança.

Ao Fernando e a Carol, meus irmãos, pelo apoio e amizade

Agradeço aos meus conselheiros.

Em especial ao Rodrigo e ao Magoo pelo apoio e força.

Ao professor Evaldo por sua tremenda visão científica, pela oportunidade de cursar o mestrado em Biologia Animal e por ter acreditado no estudo dos *Toxorhynchites* quando muitos duvidaram.

Ao CNPQ pelo financiamento, ao editor de texto LATEX e ao programa estatístico R.

Ao laboratório de Ecologia Química de Vetores, Depto. Parasitologia UFMG

Agradeço a vida por ser tão gentil e me proporcionar momentos de verdadeiro prazer

Obrigado a todos!

Conteúdo

	Página
Lista de Figuras	vi
Lista de Tabelas	viii
Resumo	ix
Abstract	xi
1 Introdução	1
2 Justificativa	5
3 Objetivo	6
4 Material e Métodos	7
4.1 Levantamento das espécies	7
4.1.1 Identificação das espécies coletadas	9
4.2 Avaliação da capacidade predatória	11
4.2.1 Coleta e identificação	11
4.2.2 Experimento I: Capacidade predatória de <i>T. violaceus</i> em função da densidade de <i>A. aegypti</i>	14
4.2.3 Experimento II: Capacidade predatória de larvas de <i>T. violaceus</i> sobre larvas de <i>A. aegypti</i> em função da altura da coluna de água e área superficial utilizada para de respiração.	15

5 Resultados	17
5.1 Levantamento das espécies	17
5.2 Avaliação da capacidade predatória	20
5.2.1 Coleta e identificação	20
5.2.2 Experimento I	20
5.2.3 Experimento II	20
6 Discussão	25
6.1 O levantamento das espécies	25
6.2 Avaliação da capacidade predatória	28
6.2.1 Coleta e identificação	28
6.2.2 Experimento I	28
6.2.3 Experimento II	30
7 Conclusões	34
8 Referências	36

Lista de Figuras

	Página
1 Larva de <i>Toxorhynchites violaceus</i> (lado esquerdo) predando larva de <i>A. aegypti</i> (lado direito).	3
2 Armadilha de poliestireno utilizada para oviposição de <i>Toxorhynchites</i> em campo, tamanho 7x8 cm.	8
3 Recipientes plásticos onde foram acondicionadas as larvas coletadas até a emergência dos adultos, tamanho 7 x 8, capacidade 250 mL.	9
4 Larva de <i>T. violaceus</i> (lado esquerdo) sendo alimentada com larvas de <i>A. aegypti</i> (lado direito).	10
5 Vista frontal da Serra da Piedade (19°49'S; 43°40'O), município de Caeté (19°52'S; 43°40'O) MG, Brasil	12
6 Afloramento de bromélias em rocha, Serra da Piedade (19°49'S; 43°40'O), município de Caeté (19°52'S; 43°40'O) MG, Brasil.	13
7 Coletor utilizado para remoção da água do copo central das bromélias, tamanho 5 x 10 cm, volume 500 mL.	13
8 Garrafas tipo PET 2 L utilizadas no experimento II, acondicionadas em B.O.D.	16
9 Percentagem de armadilhas positivas para a presença de larvas de <i>T. teobaldi</i> e <i>T. pussilus</i> por fragmento amostrado no município de Viçosa MG, Brasil.	19

- 10 Taxa de predação de larvas de *A. aegypti* por larvas de *T. violaceus* em função da densidade de presas. A curva descrita no gráfico obedece ao modelo ($Dens_{Pred} = e^{(3.2474734 + 0.0027748x)}$). Experimento conduzido sob a temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, fotostase 12:12, (gl=1;23 p=7,662x10⁻¹²). 21
- 11 Taxa de predação de larvas de *A. aegypti* por larvas de *T. violaceus* em função da variação da superfície de respiração. As curvas plotadas no gráfico correspondem aos valores máximo, médio e mínimo para a variável altura da coluna de água e medem 13,4; 4,0 e 1,8cm, respectivamente. O experimento foi conduzido à temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotostase 12:12 hs. A análise dos dados mostrou haver diferença significativa entre a variável superfície de respiração (gl=1;39, p=0,003035) e também entre a interação altura de coluna de água e superfície de respiração (gl=1;38, p=0,01). 23
- 12 Taxa de predação de larvas de *A. aegypti* por larvas de *T. violaceus* em função da variação da altura da coluna de água. As curvas plotadas no gráfico correspondem aos valores máximo, médio e mínimo para variável superfície de respiração e medem 351,75; 223,30 e 70,88cm², respectivamente. O experimento foi conduzido à temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotostase 12:12 hs. A análise dos dados mostrou haver diferença significativa entre a variável altura da coluna de água (gl=1;40, p=0,001720) e também entre a interação altura de coluna de água e superfície de respiração (gl=1;38, p=0,01). 24

Lista de Tabelas

	Página	
1	Percentagem de armadilhas positivas, por semana de visita, para a presença de larvas de <i>T. theobaldi</i> e <i>T. pusillus</i> nos pontos amostrados no município de Viçosa MG, Brasil.	18
2	Modelos utilizados para calcular a diferentes curvas de superfície de respiração que influenciam na quantidade de larvas de <i>A. aegypti</i> predadas em função da altura de coluna de água.	22
3	Modelos utilizados para calcular a diferentes curvas de altura da coluna de água que influenciam na quantidade de larvas de <i>A. aegypti</i> predadas em função da superfície de respiração.	22
4	Sinonímias, autor, país, local de coleta e museus onde estão depositados as sinonímias para a espécie <i>Toxorhynchites theobaldi</i> : SNG (Natur-Museum und Forschungs-Institut Senckenberg, Senckenberg- Anlage 25, 6 Frankfurt 1); NMW (Naturhistorisches Museum, Burgring 7, Wien 1); LU (Location unknown); USNM (U. S. National Museum, Washington, D. C.); IOC (Instituto Osvaldo Cruz); ITH (Instituut voor Tropische Hygiene, Mauritskade 57, Amsterdam-O) *País não localizado, **Cidade não localizada.	27

Resumo

ALBENY SIMÕES, Daniel., M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Março de 2008. **Ocorrência de *Toxorhynchites* (Diptera, Culicidae) em Mata Atlântica, Viçosa, MG, e predação de *T. violaceus* sobre larvas de *Aedes aegypti*** Orientador: Evaldo Ferreira Vilela. Co-orientadores: Rodrigo Ferreira Krüger e Eraldo Rodrigues de Lima

Os dípteros do gênero *Toxorhynchites* (culicidae), são grandes pernilongos. Suas larvas são aquáticas e predadoras, alimentando-se de formas imaturas de outros invertebrados, principalmente de larvas de mosquitos. Habitam ambientes naturais e artificiais que acumulam água, locais que também são utilizados com sucesso para o desenvolvimento larval de espécies de mosquitos veiculadores de doenças. Os adultos do gênero alimentam-se exclusivamente de carboidratos, o que os tornam incapazes de veicular patógenos aos seres humanos. Várias espécies do gênero são candidatas a serem utilizadas no controle biológico de mosquitos dentre eles o *Aedes aegypti* responsável pela veiculação do vírus da dengue e da febre amarela. O presente estudo teve por objetivo levantar a ocorrência de espécies do gênero *Toxorhynchites* em fragmentos de mata atlântica na região de Viçosa, Minas Gerais e a avaliação do potencial predatório de larvas de *Toxorhynchites violaceus* coletadas na

Serra da Piedade Caeté, Minas Gerais. Para verificar a ocorrência do gênero *Toxorhynchites* na região de Viçosa foram espalhadas 500 armadilhas de oviposição divididas igualmente em 5 diferentes áreas. As larvas coletadas nas armadilhas foram criadas em laboratório até a emergência dos adultos. Os espécimes foram identificados como pertencendo as espécies *Toxorhynchites theobaldi* e *Toxorhynchites pusillus*. A avaliação do potencial predatório foi dividida em duas partes. Na primeira parte foram oferecidas diferentes densidades de presas (*A. aegypti*) às larvas predadoras (*T. violaceus*) onde o número de presas mortas pelos predadores aumentou significativamente (gl=1;23 p=7,662x10⁻¹²) com o aumento do número de presas oferecidas. Na segunda parte da análise foi mantido o número de presas e variou-se altura da coluna de água e a superfície utilizada para respiração pelas presas e pelo predador. Os dados mostraram uma tendência à diminuição no número presas mortas pelo predador ao se aumentar a altura da coluna de água (gl=1;40 p=0,001720) e a superfície utilizada para respiração (gl=1;39 p=0,003035).

Abstract

ALBENY SIMÕES, Daniel., M. Sc., Federal University of Viçosa, March, 2008. **Occurrence of *Toxorhynchites* (Diptera: Culicidae) in the Atlantic Forest at Viçosa, MG, and predation of *T. violaceus* on *Aedes aegypti* larvae** Adviser: Evaldo Ferreira Vilela . Co-Advisers: Rodrigo Ferreira Krüger and Eraldo Rodrigues de Lima

Toxorhynchites are long legs Culicidae. Their larvae are aquatic predators that feed on invertebrate immatures, mainly mosquito larvae, in natural or artificial water reservoirs or ponds, where larvae of mosquito disease vectors develop. *Toxorhynchites* adults feed exclusively on carbohydrates, what make them incapables of transmitting pathogens to human beings. Species of *Toxorhynchites* are potential agents for biological control of mosquitoes as *Aedes aegypti*, that are responsible for dengue and yellow fever diseases. The aims of the present study were: (i) survey the occurrence of *Toxorhynchites* species in fragments of Atlantic Forest, and (ii) evaluate the predation potential of *Toxorhynchites violaceus* larvae from Serra da Piedade at Caeté, Minas Gerais State. Five hundred oviposition traps were spread out in five different areas to sample the possible occurrence of *Toxorhynchites* species in Viçosa region. Larvae obtained from traps were then reared in laboratory until adults, which were sent for identification. *Toxorhynchites theobaldi* and *Toxorhynchites pusillus* were then identified from Viçosa, Minas Gerais. The

predation potential was verified through out two experiments. First, different densities of the prey *A. aegypti* were offered to larvae of *T. violaceus*. Results has showed that the number of prey killed by the predator increased significantly ($p=7,662 \times 10^{-12}$) with the increase of the number of offered prey. In the second experiment, the number of prey was the same, but the water column height and the surface used for prey and predator respiration varied. Data showed a clear tendency to diminish the number of preys killed as the water column height increased ($p=0,001720$) as well as the surface used for breathing ($p=0,003035$).

1 Introdução

A maioria das espécies de mosquitos hematófagos pertence a Culicidae (Insecta: Diptera), onde apenas as fêmeas são hematófagas. Os culicídeos apresentam grande adaptabilidade, variabilidade genética e ampla valência ecológica tendo uma ampla distribuição mundial (Eiras, 2005). Várias espécies de mosquitos (Diptera: Culicidae) são responsáveis pela veiculação de diversas doenças ao homem (Collins & Blackwell, 2000), como viroses (dengue, febre amarela e encefalites), protozooses (malária) e helmintos (elefantíase) (Eiras, 2005). Estas doenças tropicais sempre foram motivo de preocupação mundial.

Os dípteros do gênero *Toxorhynchites* (Theobaldi) (Culicidae) são únicos na tribo Toxorhynchitini. Suas larvas são aquáticas, habitando ambientes naturais e artificiais que acumulam água, como ocos de árvore, entrenós de bambu, sementes de sapucaia, bromélias, floreiros de cemitérios, pneus, descartáveis em geral etc., sendo os ambientes naturais chamados de *fitotelmicos*. As larvas apresentam coloração marrom ou avermelhada, dotadas de poderosas mandíbulas. Apresentam vários pêlos no abdome, sua cabeça apresenta uma cápsula dura, esclerotizada e o quarto ínstar pode chegar a medir cerca de 2 cm de comprimento (Jones & Schreiber, 1994).

Atualmente, as espécies se subdividem em quatro subgêneros: *Ankylorhynchus* Lutz (4 espécies); *Lynchiella* Lahille (16 espécies); *Toxorhynchites* Theobald (55 espécies) e *Afrorhynchus* Ribeiro (10 espécies). Aproximadamente, 85 espécies se encontram distribuídas em florestas tropicais de todo o mundo, e poucas espécies são encontradas em regiões temperadas (Schreiber, 2007).

As larvas de *Toxorhynchites* são predadoras naturais de estágios imaturos de outros artrópodes, principalmente de outras espécies de mosquitos, alimentam-se de outros macroinvertebrados aquáticos ou de indivíduos da própria espécie. O comportamento canibal, no entanto, é observado mesmo em criadouros que possuem espaço e recursos suficientes para mais de uma larva (Steffan & Evenhuis, 1981). As larvas do gênero são predadoras vorazes de larvas de outros mosquitos em todos os estádios de desenvolvimento (Jones & Schreiber, 1994).

No 4º ínstar é comum larvas de *Toxorhynchites* matarem suas presas, sem consumí-las inteiramente. Este comportamento pode ser explicado pela vulnerabilidade das pupas, o que leva as larvas a destruírem todo o alimento para evitar possíveis predadores no mesmo ambiente, o que pode evitar a predação das próprias pupas. Este comportamento é observado e descrito por vários autores como Corbet & Gritfiths (1963); Rubio *et al.* (1980); Machado-Allison (1981); Steffan & Evenhuis (1981); Hutchings (1993); Albeny Simões & Rosa (2006).

Os adultos chegam a medir até 12 mm de envergadura, possuem coloração metálica e apresentam uma probóscide com uma curva descendente de, aproximadamente, 90 graus. Alimentam-se exclusivamente de néctar e outras fontes naturais de carboidratos (Jones & Schreiber, 1994). Para a postura inicial de ovos as fêmeas utilizam proteínas retiradas de reservas acumuladas na fase larval. Algumas fêmeas podem, ainda, utilizar pequena quantidade de alguns aminoácidos presentes em néctar (Campos & Lounibos, 2000). Estes culicídeos apresentam um vôo incômodo aos ouvidos humanos e são vistos, com certa frequência, pousados em ocos de árvores, ou ainda realizando um característico vôo nupcial elíptico. Não se tem conhecimento de oviposição de *Toxorhynchites* em lagoas, rios ou piscinas (Jones & Schreiber, 1994). O fato de os adultos não serem hematófagos e das larvas terem hábito predador, fazem com que as espécies deste gênero sejam promissoras candidatas a agentes de controle biológico de outros mosquitos (Steffan, 1975; Steffan & Evenhuis, 1981).

A



Figura 1: Larva de *Toxorhynchites violaceus* (lado esquerdo) predando larva de *A. aegypti* (lado direito).

As larvas de *Toxorhynchites* são conhecidas pelo controle e manutenção populacional de ambientes *fitotelmicos*. Estes ambientes são também utilizados com excelência para o desenvolvimento larval de espécies de mosquitos veiculadores de doenças como a dengue, a febre amarela, a malária e outras (Jones & Schreiber, 1994). A maioria das espécies são encontradas em regiões tropicais e em ambientes arborizados, em várias partes do mundo (Edwards, 1932). Segundo Collins & Blackwell (2000) esta ampla distribuição pode ter sido facilitada pelo transporte de larvas para novos locais em água armazenada em contêineres de navios.

A criação e liberação de espécies de *Toxorhynchites* para o controle populacional de artrópodos vetores de doenças, como o *Aedes aegypti* (Linnaeus) e espécies de *Culex* Linnaeus, têm sido estudada e praticada nos Estados Unidos e Japão, como uma solução alternativa, desde os anos de 1970 (Steffan & Evenhuis, 1981; Gerberg, 1985). *Toxorhynchites* tem sido estudado como

agente de controle biológico desde 1930, sendo o *A. aegypti* candidato a ser controlado pela utilização das espécies deste gênero (Swezey, 1930; Pemberton, 1931; Steffan, 1975; Gerberg & Visser, 1978; Steffan & Evenhuis, 1981; Bailey *et al.*, 1983; Gerberg, 1985; Focks *et al.*, 1986; Tikasingh, 1992; Schreiber, 2007). As ilhas do Pacífico têm sido importantes locais para testes de introdução de *Toxorhynchites* como agentes de biocontrole, sendo que as primeiras tentativas foram conduzidas no Havaí, em 1929 (Swezey, 1930; Pemberton, 1931), seguidas por liberações de *Toxorhynchites brevivalpis* (Theobald) na África, em 1950 (Bonnet & Hu, 1951), *Toxorhynchites theobaldi* (Dyar & Knab) no Panamá, em 1953, e *Toxorhynchites amboinensis* (Dolechall) nas Filipinas, em 1953 (Steffan, 1975). Experimentos realizados por Peterson (1956) e Engber *et al.* (1978) descreveram um grande sucesso no controle biológico de *Aedes polynesiensis* Marks utilizando-se *T. brevivalpis* e *T. amboniensis*, liberados na Samoa Americana, em 1955, onde publicaram que a seguida espécie tinha estabelecido sua população e controlado efetivamente os mosquitos-alvo.

Tentativas para controlar mosquitos que veiculam agentes patogênicos que causam doenças, dentre eles o *A. aegypti*, usando espécies de *Toxorhynchites* têm sido realizadas em várias regiões do mundo (Bonnet & Hu, 1951; Sempala, 1983; Miyagi *et al.*, 1992; Collins & Blackwell, 2000; Lounibos & Campos, 2002; Schreiber, 2007). O controle químico de *A. aegypti* é difícil devido ao fato das larvas da espécie usarem uma grande variedade de recipientes para o desenvolvimento larval (Funasa, 2002; Donalísio & Glasser, 2002). Testes que avaliam os efeitos da introdução direta de larvas do gênero *Toxorhynchites* em recipientes onde vivem larvas do mosquito *A. aegypti* tem se mostrado satisfatórios (Focks *et al.*, 1982; Gerberg & Visser, 1978; Rawlins *et al.*, 1991; Tikasingh, 1992). No entanto, Sunahara *et al.* (2002) sugerem que em populações de mosquitos, a intensidade da predação pode variar entre diferentes tipos de habitats. Variações no volume de recipientes podem gerar habitats estruturalmente complexos (Alto & Griswold, 2005).

O controle químico é assim economicamente questionável e pouco efetivo em áreas onde há picos de infestação do vetor e da doença (Schreiber, 2007). Além do mais sociedades resistem em ter seus reservatórios de água doméstica tratados com qualquer tipo de substância química (Focks, 2007). No Brasil, o possível uso de *Toxorhynchites* como controlador biológico de mosquitos vetores de doenças na região amazônica já foi discutido, mas não colocado em prática, por Hutchings (1991). Em Minas Gerais, o potencial predatório de larvas de *Toxorhynchites* (Figura 1) foi aventado por Albeny Simões & Rosa (2006).

2 Justificativa

Para fins de controle biológico, a introdução direta de larvas de *Toxorhynchites* provenientes de criadouros artificiais destinados a este fim, tem se mostrado muito mais eficaz do que a liberação de fêmeas adultas de *Toxorhynchites*. Diversos trabalhos descrevem a redução da população larval de *A. aegypti*, em até 100%, com a introdução direta de larvas do gênero *Toxorhynchites* (Rogers, 1972; Gerberg & Visser, 1978; Focks *et al.*, 1982; Bailey *et al.*, 1983; Vongtangswad *et al.*, 1983; Gerberg, 1985; Rawlins *et al.*, 1991; Tikasingh, 1992; Tikasingh & Eustace, 1992).

Muito pouco se conhece sobre a capacidade predatória das espécies existentes no Brasil, particularmente em Minas Gerais. com exceção dos trabalhos pioneiros de Lane (1939, 1944, 1953) e Costa Lima (1931) que descreveram o comportamento predador de larvas de *Toxorhynchites* coletadas em campo em outras regiões do país. Seria relevante avaliar a eficácia de larvas de espécies de *Toxorhynchites* na redução populacional de mosquitos veiculadores de doenças (Mercer *et al.*, 2005). Para isto, torna-se crucial entender os efeitos da complexidade de habitat e densidade sobre as interações predador-presa. Variações no volume de recipientes podem gerar habitats estrutu-

ralmente complexos (Alto & Griswold, 2005). Comunidades que habitam recipientes que acumulam água, natural ou artificial, têm sido relativamente bem estudadas, mas os efeitos da variação e complexidade de habitats sobre as interações predador-presa têm recebido pouca atenção (Alto & Griswold, 2005). Esforços devem ser feitos para monitorar todas as fases da pesquisa de campo, que envolve a liberação de adultos ou larvas de *Toxorhynchites*. Isto inclui tamanho e variação dos diferentes tipos de recipientes naturais e artificiais onde larvas de *Toxorhynchites* possivelmente poderiam habitar (Focks, 2007). A análise destes dados permite determinar que taxas de liberação são necessárias, número e frequência, para se ter maior sucesso no controle de mosquitos em cada diferente tipo de reservatório. Além do mais, informações desta natureza possibilitam avaliações sobre custos e benefícios destes procedimentos (Focks, 2007).

3 Objetivo

Identificar e registrar a ocorrência de espécies do gênero *Toxorhynchites* presentes em cinco fragmentos de Mata Atlântica, da região de Viçosa, MG, Brasil, e avaliar o potencial predatório de larvas de *Toxorhynchites violaceus* sobre larvas do mosquito *A. aegypti*. As seguintes hipóteses foram testadas:

1. O aumento do número de presas oferecidas aumenta a taxa de consumo de *T. violaceus*?
 - (a) H0 - Não, porque a taxa de consumo individual independe da quantidade de alimento.
 - (b) H1 - Sim, porque com o aumento do número de presas facilita o encontro pelo predador.
2. Altura da coluna de água e superfície de respiração influenciam a taxa de consumo de *T. violaceus*?

- (a) H0 - Não, porque *T. violaceus* caçam suas presas.
- (b) H1 - Sim, porque *T. violaceus* localizam suas presas pelo movimento.

4 Material e Métodos

4.1 Levantamento das espécies

Foram colocadas 500 armadilhas em cinco diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região de Viçosa, sendo 100 armadilhas em cada fragmento, assim denominados: Mata da Biologia (área 1) (20°45'S, 42°51'O), Mata do seu Nico (área 2) (20°47'S, 42°20'O), Silvicultura (área 3) (20°46'S, 42°52'O), Mata do Chaves (área 4) (20°43'S, 42°51'O) e Mata do Aeroporto (área 5) (20°44'S, 42°50'O). As armadilhas foram confeccionadas utilizando-se recipientes plásticos de poliestireno com 7 cm de altura por 4 cm de raio, com uma tampa de 8 cm de diâmetro, possuindo em seu centro um orifício de 3 cm de diâmetro (Figura 2).

As armadilhas foram pintadas de preto-fosco utilizando tinta spray comum e continham, cada uma delas, um recipiente com capacidade para 250mL, que recebeu a adição de 100mL de água. Em cada área, as 100 armadilhas foram dispostas ao longo de quatro transectos de 50 metros cada um, sendo as 25 armadilhas de cada transecto posicionadas a uma distância de 2 metros uma das outras, guardando-se uma distância de 5 metros entre um transecto e outro. As armadilhas permaneceram no campo por 30 dias, de fevereiro a março de 2007, antes da primeira observação. A partir daí, foram visitadas a cada 15 dias para verificação da presença de larvas de *Toxorhynchites*. As visitas ocorreram durante o mês de março e primeira quinzena de abril de 2007, totalizando três visitas em cada área (Tabela 1).



Figura 2: Armadilha de poliestireno utilizada para oviposição de *Toxorhynchites* em campo, tamanho 7x8 cm.

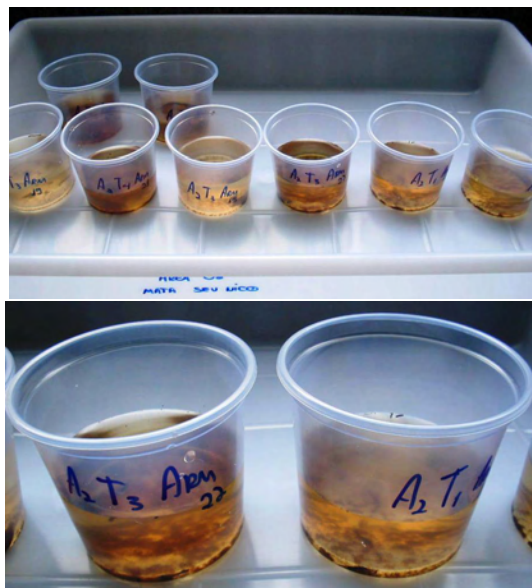


Figura 3: Recipientes plásticos onde foram acondicionadas as larvas coletadas até a emergência dos adultos, tamanho 7 x 8, capacidade 250 mL.

Para verificar a presença de larvas de *Toxorhynchites*, o conteúdo de cada armadilha foi despejado em uma bandeja plástica de 20 x 15 x 08cm, e as larvas encontradas foram acondicionadas individualmente em sacos plásticos transparentes de 30 cm de largura x 40 cm de comprimento e levadas ao laboratório. Todas as armadilhas foram reabastecidas com água e colocadas novamente em campo.

As larvas de *Toxorhynchites* foram criadas individualmente em recipientes plásticos transparentes de 250 mL (Figura 3), identificados com o auxílio de pincel azul ou vermelho próprio para retro-projetor, de acordo com a área onde o inseto foi coletado, o número do transecto e o número da armadilha.

4.1.1 Identificação das espécies coletadas

As larvas de *Toxorhynchites* foram alimentadas com larvas de 4º ínstar do mosquito *A. aegypti* (Figura 4) provenientes da criação massal do Laboratório de Ecologia Química de Vetores (Departamento de Parasitologia UFMG). As



Figura 4: Larva de *T. violaceus* (lado esquerdo) sendo alimentada com larvas de *A. aegypti* (lado direito).

larvas de *A. aegypti* quando atingiram o ínstar pupal foram sacrificadas em álcool 90%, para evitar a emergência de adultos.

Recipientes de poliestireno (7x8cm) contendo 100 mL de água destilada com as pupas foram acondicionados em gaiolas de madeira teladas, medindo 60cm de comprimento x 60cm de largura x 60cm de altura até a emergência dos adultos. As gaiolas receberam o nome e o número da área onde a larva foi coletada. Os adultos emergidos foram sacrificados em câmara mortífera e montados em triângulos entomológicos sendo posteriormente enviados para identificação. Os adultos foram identificados pelo Dr. Mário Antônio Navarro da Silva (Universidade Federal do Paraná).

4.2 Avaliação da capacidade predatória

4.2.1 Coleta e identificação

Para os experimentos de predação foram utilizados espécimes coletados na Serra da Piedade (19°49'S; 43°40'O), Caeté (19°52'S; 43°40'O), Estado de Minas Gerais, Brasil, entre setembro de 2007 e janeiro de 2008.

A Serra da Piedade está localizada na Cadeia do Espinhaço e seu pico atinge a altitude de 1744 metros, sendo a mencionada Cadeia um importante complexo de montanhas que abriga ecossistemas de campo rupestre, mata atlântica, cerrado e caatinga, indo do centro-sul de Minas Gerais até a Chapada Diamantina, no estado da Bahia (Figura 5) (Martinelli, 1996). Acima de 1200 metros predomina uma vegetação chamada de campo rupestre ou pradarias de altitude, composta por ervas, arbustos e afloramentos rochosos (Bueno, 1992). A serra da piedade é limitada externamente por domínio de floresta tropical Atlântica, cerrado, plantações de *Eucalyptus* e área urbana.

Os espécimes do gênero *Toxorhynchites* foram coletados nas bromélias situadas no domínio de campo rupestre da Serra da Piedade. As bromélias são facilmente encontradas sobre as rochas em grupos que variam de 3 a 20 plantas (Figura 6). As coletas foram realizadas através da remoção de todo o líquido presente no copo central e nas axilas laterais das plantas. Para remoção do líquido foi utilizado um sugador, constituído por um recipiente plástico com 10 cm de comprimento e 5 cm de raio com volume igual a 500 mL com uma tampa com dois orifícios de 2 cm, por onde saem dois tubos de PVC maleáveis e transparentes medindo 40 cm de comprimento por 3 cm de largura (Figura 7). O líquido retirado de cada bromélia foi analisado no próprio local; e as larvas do gênero *Toxorhynchites* foram acondicionadas individualmente em recipientes plásticos de poliestireno de 250 mL e conduzidas ao laboratório. Após a verificação de presença ou ausência de larvas, a água foi novamente colocada no interior das bromélias a fim de se preservar a fauna ali presente. Todas as larvas coletadas na Serra da Piedade situavam-se a uma altura de aproximadamente 1680m.



Figura 5: Vista frontal da Serra da Piedade ($19^{\circ}49'S$; $43^{\circ}40'O$), município de Caeté ($19^{\circ}52'S$; $43^{\circ}40'O$) MG, Brasil

No laboratório, as larvas foram acondicionadas em recipientes plásticos de poliestireno de 250 mL contendo 150 mL de água destilada (Figura 3). As larvas que se encontravam no terceiro e quarto ínstares permaneceram sem receber nenhum tipo de alimento por um período de 96 horas. As larvas que se encontravam no primeiro e segundo ínstares foram alimentadas com 20 larvas de *A. aegypti* por dia, até que atingissem o terceiro ínstar e pudessem ser usadas nos experimentos.

Após serem utilizadas nos experimentos as larvas de *Toxorhynchites* foram colocadas em recipientes de plásticos de 250 mL e identificadas com códigos até a emergência adultos. Os espécimes adultos foram montados em triângulos entomológicos e enviados para identificação. A identificação foi realizada pelo Dr. Tom Zavorthink (Bohart Museum of Entomology, University of California, Davis, USA).



Figura 6: Afloramento de bromélias em rocha, Serra da Piedade ($19^{\circ}49'S$; $43^{\circ}40'O$), município de Caeté ($19^{\circ}52'S$; $43^{\circ}40'O$) MG, Brasil.



Figura 7: Coletor utilizado para remoção da água do copo central das bromélias, tamanho 5 x 10 cm, volume 500 mL.

4.2.2 Experimento I: Capacidade predatória de *T. violaceus* em função da densidade de *A. aegypti*.

O experimento foi conduzido com larvas de *T. violaceus* de 3° e 4° ínstaes, acondicionadas em recipientes plásticos de poliestireno de 250 mL contendo 200 mL de água destilada. As larvas de *T. violaceus* utilizadas no experimento não foram alimentadas por um período de 96 horas. Para testar o pressuposto de que quanto maior a densidade de presas, com a densidade de predadores fixa, maior a taxa de predação por indivíduo, foram determinados cinco tratamentos (densidades). Os tratamentos foram constituídos por 50, 100, 200, 400 e 800 larvas de *A. aegypti* para cada larva de *T. violaceus*. Estas densidades de presas constituíram-se em tratamentos, com quatro repetições cada (n=5).

O experimento foi conduzido em uma B.O.D com fotostase de 12:12 horas e temperatura média de $25^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$. As larvas de *A. aegypti* foram expostas ao predador por um período de 48 horas, ao final do qual foram contadas as larvas remanescentes e subtraídas da quantidade inicial, resultando assim no número de larvas consumidas por cada larva do predador.

As larvas de *A. aegypti* não consumidas durante o experimento foram sacrificadas, para que não houvesse a emergência de adultos.

A utilização de larvas de *T. violaceus* maduras pode oferecer um resultado mais satisfatório do que a utilização de larvas jovens, 1° e 2° ínstaes (Juliano, 2007). Como registrado em trabalhos recentes, a taxa de consumo geralmente aumenta com a idade do predador (Focks, 2007). De maneira geral, larvas maduras de *Toxorhynchites* têm se mostrado mais eficazes que os ínstaes mais jovens no consumo de larvas de *A. aegypti* (Trpis, 1972; Hubbard *et al.*, 1988; Sherratt & Tikasingh, 1989; Yasuda & Hagimori, 1998).

Outro motivo para utilização de larvas de *A. aegypti* de 3° e 4° ínstaes é decorrente do fato de que larvas do gênero *Toxorhynchites* geralmente têm preferência por presas do mesmo ínstar (Yasuda & Hagimori, 1998; Mercer *et al.*, 2005). Larvas de *Toxorhynchites* maduras gastam muita energia para

capturar presas jovens, logo preferem os ínstares finais de larvas de *A. aegypti* pois estes são energeticamente mais compensatórios (Sherratt & Tikasingh, 1989; Amalraj *et al.*, 2005).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com distribuição Quasipoisson, tendo como variável resposta o número de larvas de *A. aegypti* predadas por larvas de *T. violaceus* após um período de 48 horas. Como variável explicativa foi utilizada a densidade de presas oferecidas (50, 100, 200, 400, 800 larvas). A análise foi realizada no programa estatístico livre R (R Development Core Team, 2006) considerando como significativo $p < 0,05$.

4.2.3 Experimento II: Capacidade predatória de larvas de *T. violaceus* sobre larvas de *A. aegypti* em função da altura da coluna de água e área superficial utilizada para de respiração.

Este experimento tem como pressupostos de que quanto mais alta é a coluna de água e quanto maior a área de superfície para respiração, menor será a taxa de predação

Neste experimento, não houve variação no número de larvas de *A. aegypti* oferecidas a cada larva de *T. violaceus*. As larvas de *T. violaceus* de 3° e 4° ínstares utilizadas no experimento ficaram sem alimento por um período de 96 horas. O experimento foi conduzido com quatro diferentes volumes de água destilada (0,25; 0,5; 0,7 e 1 L) em garrafas tipo PET de 2 L. Trezentas larvas de 3° e 4° de *A. aegypti* foram acondicionadas nas respectivas garrafas, com variação do volume de água. Cada tratamento teve 6 repetições. As variáveis analisadas, foram a altura da coluna de água (em cm) e a área da superfície (em cm²) utilizada para a respiração das larvas. Como volumes iguais podem variar superfícies de respiração, esta variação foi obtida através da variação da posição das garrafas que foram classificadas como garrafas PET horizontal (GPH) e garrafas PET vertical (GPV) (Figura 8).



Figura 8: Garrafas tipo PET 2 L utilizadas no experimento II, acondicionadas em B.O.D.

No tratamento GPH os volumes de 0,25; 0,5; 0,7 e 1 L em relação à altura da coluna de água apresentaram as seguintes medidas: 1,8; 2,8; 3,5 e 4 cm, respectivamente. Para superfície de respiração, as medidas foram: 223,3; 293,3; 330,5 e 351,8 cm² respectivamente. No tratamento GPV, os volumes de 0,25; 0,5; 0,7 e 1 L apresentaram as respectivas medidas de 3,9; 6,9; 9,5 e 13,4 cm, para altura da coluna de água e 86,59; 81,71; 76,98 e 70,88 cm² para superfície de respiração. O experimento foi conduzido com fotostase de 12:12 horas e temperatura controlada em 25°C±3°C com duração de 48 horas. Para obtenção do número de larvas de *A. aegypti* consumidas, todas as larvas remanescentes foram contadas ao final do experimento e, então, subtraídas da quantidade inicial fornecida, resultando assim no número de larvas consumidas por cada larva de *T. violaceus*.

Os dados foram submetidos à análise com a distribuição Quasipoisson, tendo como variável resposta o número de larvas de *A. aegypti* predadas por uma larva de *T. violaceus* após um período de 48 horas. Como variáveis explicativas foram utilizadas a altura da coluna de água e a superfície utilizada pelas larvas para a respiração. A análise foi realizada no programa estatístico livre R (R Development Core Team, 2006) considerando como significativo $p < 0,05$.

5 Resultados

5.1 Levantamento das espécies

As 500 armadilhas observadas foram positivas para as seguintes áreas representadas na tabela (tabela 1). Embora, nas coletas, tenha sido reduzida a presença de larvas do gênero *Toxorhynchites* (Figura 9) a presença de larvas de outros dípteros como culicídeos, chironomídeos, psodídeos e sirfídeos foi observada em relativa abundância em quase todas as armadilhas analisadas.

Tabela 1: Percentagem de armadilhas positivas, por semana de visita, para a presença de larvas de *T. theobaldi* e *T. pusillus* nos pontos amostrados no município de Viçosa MG, Brasil.

Mês	Quinzena	Área	Armadilhas visitadas	Armadilhas positivas	(%)	Total
Março	1 ^a	Biologia	100	0	0%	
Março	2 ^a	Biologia	100	3	3%	8%
Abril	1 ^a	Biologia	100	5	5%	
Março	1 ^a	Seu Nico	100	8	8%	
Março	2 ^a	Seu Nico	100	5	5%	16%
Abril	1 ^a	Seu Nico	100	3	3%	
Março	1 ^a	Silvicultura	100	5	5%	
Março	2 ^a	Silvicultura	100	0	0%	5%
Abril	1 ^a	Silvicultura	100	0	0%	
Março	1 ^a	Chaves	100	3	3%	
Março	2 ^a	Chaves	100	2	2%	7%
Abril	1 ^a	Chaves	100	2	2%	
Março	1 ^a	Aeroporto	100	4	4%	
Março	2 ^a	Aeroporto	100	3	3%	9%
Abril	1 ^a	Aeroporto	100	2	2%	

Todas as áreas foram positivas para a presença do gênero *Toxorhynchites*, tendo sido coletadas 45 larvas de *Toxorhynchites*, das quais 23 chegaram à fase adulta. Foram identificadas duas espécies a partir deste material: *Toxorhynchites (Lynchiella) theobaldi* (Dyar & Knab, 1906), presente nas áreas 1, 2, 3, 4, e 5, totalizando sete espécimes, e *Toxorhynchites (Lynchiella) pusillus* (Costa Lima, 1913) distribuídos nas áreas 2, 4 e 5 num total de oito espécimes.

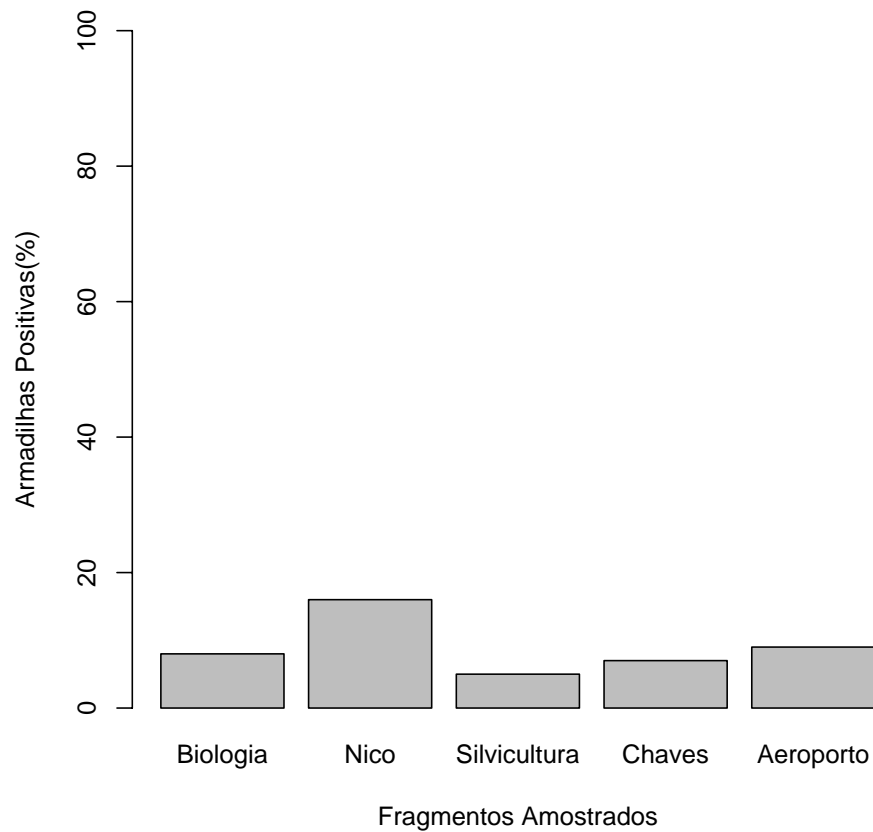


Figura 9: Percentagem de armadilhas positivas para a presença de larvas de *T. teobaldi* e *T. pusillus* por fragmento amostrado no município de Viçosa MG, Brasil.

5.2 Avaliação da capacidade predatória

5.2.1 Coleta e identificação

A idéia inicial descrita no projeto de dissertação era de que as larvas do gênero *Toxorhynchites* coletadas em Viçosa fossem criadas em laboratório e que fossem realizados experimentos de predação com a utilização destas larvas. Porém a frequência de larvas de *T. theobaldi* e *T. pusillus* foi muito baixa, (Figura 9) o que inviabilizou este procedimento, logo os espécimes utilizados no experimento foram coletados na Serra da Piedade, Caeté-MG, Brasil.

Todos os espécimes utilizados nos experimentos de predação foram identificados como sendo da espécie *Toxorhynchites (Lynchiella) violaceus* (Wiedemann, 1820).

5.2.2 Experimento I

De acordo com o modelo ($Dens_{Pred}=e^{(3.2474734+0.0027748x)}$), a taxa de predação de larvas de *T. violaceus* sobre as larvas de *A. aegypti* é maior conforme o aumento da densidade de presas (gl=1;23 p=7,662x10⁻¹²) (figura 10).

5.2.3 Experimento II

A análise dos dados mostrou haver diferença significativa entre a variável altura da coluna de água (gl=1;40 p=0,001720) e a superfície utilizada para respiração (gl=1;39 p=0,003035). Mostrou também haver diferença significativa entre a interação altura da coluna de água e superfície utilizada para respiração (gl=1;38 p=0,01).

Na figura 11, o eixo x corresponde à variável superfície de respiração; as curvas plotadas representam os valores máximo, médio e mínimo para a variável altura da coluna de água, e obedecem aos modelos mostrados na tabela 2. Os valores máximo, médio e mínimo correspondem as medidas 13,4; 4,0 e 1,8 cm, respectivamente. Pode-se observar duas diferentes tendências

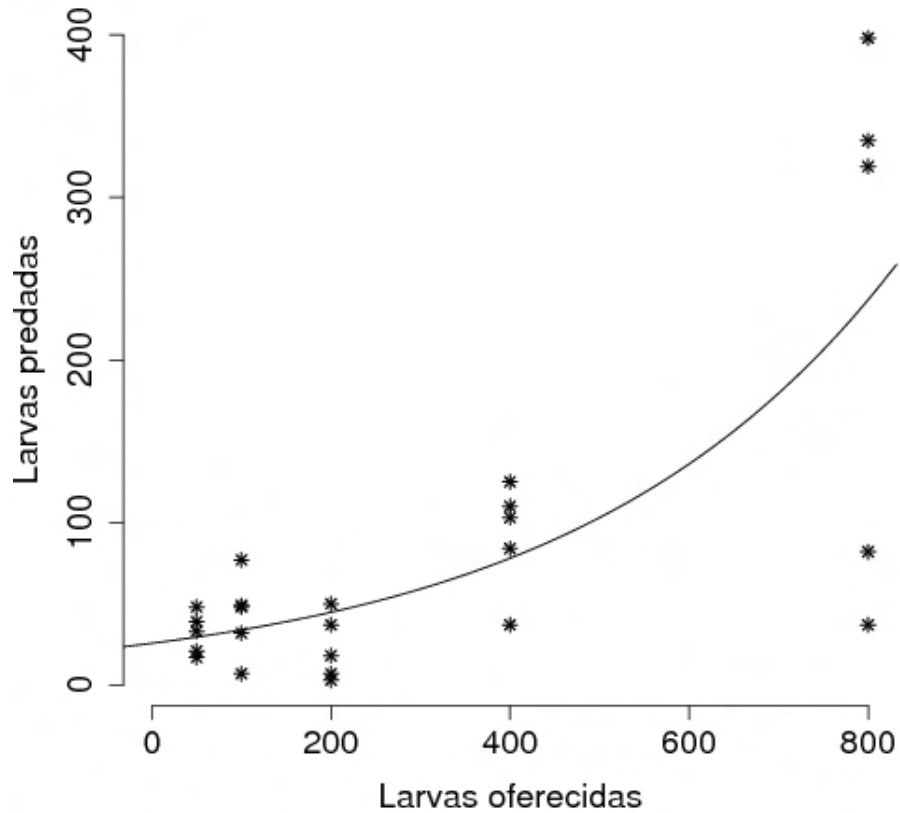


Figura 10: Taxa de predação de larvas de *A. aegypti* por larvas de *T. violaceus* em função da densidade de presas. A curva descrita no gráfico obedece ao modelo ($Dens_{Pred} = e^{(3.2474734 + 0.0027748x)}$). Experimento conduzido sob a temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, fotostase 12:12, ($gl=1;23$ $p=7,662 \times 10^{-12}$).

Tabela 2: Modelos utilizados para calcular a diferentes curvas de superfície de respiração que influenciam na quantidade de larvas de *A. aegypti* predadas em função da altura de coluna de água.

Superfície de respiração	Modelo
Curva Mínima	$\text{Super}_{pred} = e^{(4.392425 - 0.05174174x)}$
Curva Média	$\text{Super}_{pred} = e^{(5.4808438 - 0.03948387x)}$
Curva Máxima	$\text{Super}_{pred} = e^{(6.535238 - 0.7753471x)}$

Tabela 3: Modelos utilizados para calcular a diferentes curvas de altura da coluna de água que influenciam na quantidade de larvas de *A. aegypti* predadas em função da superfície de respiração.

Altura da coluna de água	Modelo
Curva Mínima	$\text{Coluna}_{Pred} = e^{(4.087226 + 0.00299186x)}$
Curva Média	$\text{Coluna}_{Pred} = e^{(4.634996 - 0.007791796x)}$
Curva Máxima	$\text{Coluna}_{Pred} = e^{(5.605277 - 0.02689322x)}$

das curvas. Na máxima e média altura de coluna de água do recipiente, o número de larvas predadas tende a diminuir com o aumento da superfície de respiração. Na menor altura de coluna de água, o número de larvas predadas tende a aumentar com o aumento da superfície de respiração (Figura 11).

Na figura 12, o eixo x corresponde a variável altura da coluna de água, as curvas plotadas obedecem aos modelos mostrados na tabela 3 e representam os valores máximo, médio e mínimo para a variável superfície de respiração, sendo estes valores 351,75; 223,30 e 70,88cm², respectivamente. Observa-se uma tendência única a diminuição do número de larvas predadas com o aumento da altura da coluna de água. Na curva que representa o valor mínimo para superfície de respiração esta tendência mostra-se menos acentuada que as demais curvas (Figura 12).

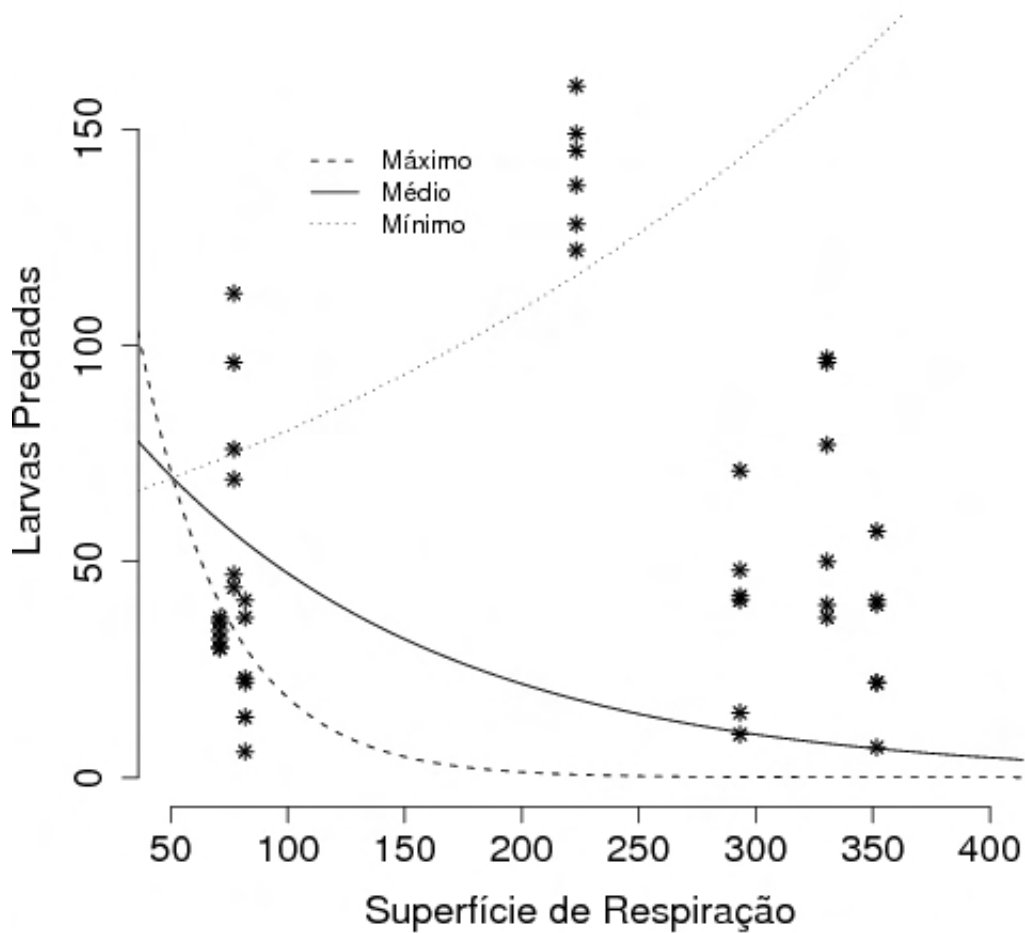


Figura 11: Taxa de predação de larvas de *A. aegypti* por larvas de *T. violaceus* em função da variação da superfície de respiração. As curvas plotadas no gráfico correspondem aos valores máximo, médio e mínimo para a variável altura da coluna de água e medem 13,4; 4,0 e 1,8cm, respectivamente. O experimento foi conduzido à temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotostase 12:12 hs. A análise dos dados mostrou haver diferença significativa entre a variável superfície de respiração ($gl=1;39$, $p=0,003035$) e também entre a interação altura de coluna de água e superfície de respiração ($gl=1;38$, $p=0,01$).

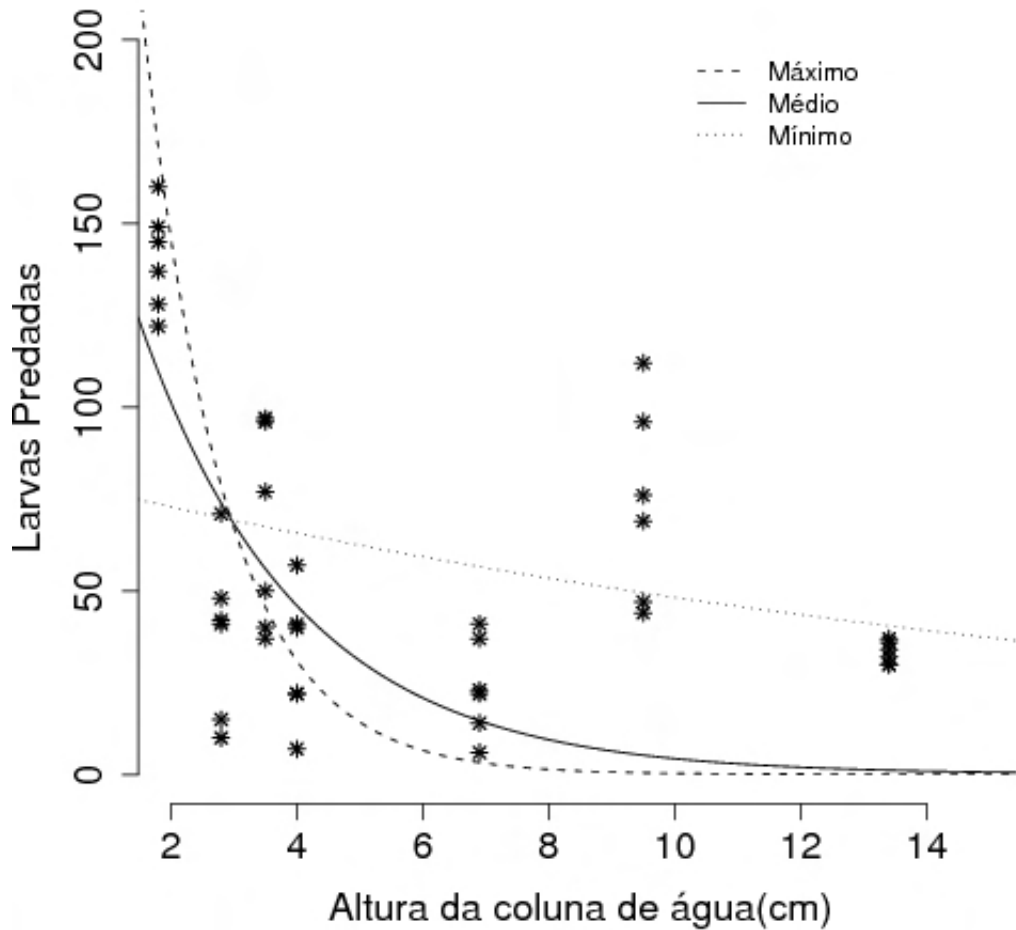


Figura 12: Taxa de predação de larvas de *A. aegypti* por larvas de *T. violaceus* em função da variação da altura da coluna de água. As curvas plotadas no gráfico correspondem aos valores máximo, médio e mínimo para variável superfície de respiração e medem 351,75; 223,30 e 70,88cm², respectivamente. O experimento foi conduzido à temperatura de 25°C±3°C e fotostase 12:12 hs. A análise dos dados mostrou haver diferença significativa entre a variável altura da coluna de água (gl=1;40, p=0,001720) e também entre a interação altura de coluna de água e superfície de respiração (gl=1;38, p=0,01).

6 Discussão

6.1 O levantamento das espécies

As armadilhas de oviposição foram pouco visitadas por fêmeas *T. pusillus* e *T. theobaldi* resultando, em todas as áreas, em uma pequena porcentagem de armadilhas com presença de larvas do culicídeo predador (Figura 9). Fato que pode ser explicado pelas armadilhas terem sido dispostas em transectos, entre a vegetação, resultando na cobertura de sua parte superficial por folhas que caíam das árvores, ou pela própria vegetação rasteira. Isto talvez tenha impedido o vôo elíptico das fêmeas e a ejeção dos ovos, acarretando os baixos números de armadilhas positivas.

Em relação ao comportamento de oviposição, fêmeas de *T. theobaldi* fazem uma série de vôos elípticos verticais e então ejetam o ovo em direção à água porém sem tocar a superfície do criadouro (Bernal & Villanueva, 1989). Este comportamento também é descrito por diversos autores para outras espécies do gênero (Collins & Blackwell, 2000; Linley, 1987b,a; Williams *et al.*, 1961; Trimble, 1979; Furumizo & Rudnick, 1978).

A espécie *T. pusillus* foi descrita em 1913 por Costa Lima com holótipos coletados no Alto da Boa Vista, Tijuca Rio de Janeiro, Brasil. É uma espécie originalmente descrita no Brasil não havendo descrição de ocorrência da mesma em outros países do mundo, não há sinonímia para a espécie (Costa Lima, 1931; Lane, 1944, 1953; Belkin *et al.*, 1971). Os holótipos estão depositados no Instituto Osvaldo Cruz (IOC). Não há também registros de ocorrência da espécie para outros estados do Brasil até o presente momento. No presente trabalho fica registrado a primeira ocorrência de *Toxorhynchites pusillus* no estado de Minas Gerais no município de Viçosa.

A espécie *T. theobaldi* foi descrita em 1906 por Harrison Dyar e Frederick Knab. A descrição foi baseada em dois espécimes, um macho e uma fêmea, coletados por Theobald no ano de 1901 na cidade de Bogotá, Colômbia e depositados no British Museum (BM) (Belkin, 1968). A espécie tem ampla distribuição na América do Sul e América Central sendo encontrada no Brasil, Argentina, Belize, Bolívia, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guatemala, Guiana, México, Nicarágua, Panamá, Suriname, Trinidad e Tobago, Uruguai e Venezuela (Lane, 1953; Pecor *et al.*, 2002). Provavelmente devido a sua ampla distribuição e a coleta de espécimes em diferentes áreas geográficas, a espécie apresenta varias sinonímias (Tabela 4).

Tabela 4: Sinonímias, autor, país, local de coleta e museus onde estão depositados as sinonímias para a espécie *Toxorhynchites theobaldi*: SNG (Natur-Museum und Forschungs-Institut Senckenberg, Senckenberg-Anlage 25, 6 Frankfurt 1); NMW (Naturhistorisches Museum, Burgring 7, Wien 1); LU (Location unknown); USNM (U. S. National Museum, Washington, D. C.); IOC (Instituto Osvaldo Cruz); ITH (Instituut voor Tropische Hygiene, Mauritskade 57, Amsterdam-O) *País não localizado, **Cidade não localizada.

Sinonímia	Autor	País	Local da Coleta	Deposidores	Referências
<i>Toxorhynchites ferox</i>	Wiedmann 1828	Brasil	Salvador, BA	SNG e NMW	BELKIN, 1968
<i>Toxorhynchites wiedemanni</i>	Dyar&Knab, 1906	*	**	LU e NMW	BELKIN, 1968
<i>Toxorhynchites ambiguus</i>	Dyar&Knab, 1907	Brasil	Salvador, BA	USNM	BELKIN, 1968; BELKIN, 1971
<i>Toxorhynchites moctezuma</i>	Dyar&Knab, 1908	Costa Rica	Puntarenas	USNM	LANE, 1953
<i>Toxorhynchites trinidadensis</i>	Dyar&Knab, 1909	Trinidade	**	USNM	COSTA LIMA, 1931
<i>Toxorhynchites hypoptes</i>	Knab, 1907	Nicarágua	Bluefields	USNM	LANE, 1951
<i>Toxorhynchites fluminensis</i>	Peryassú, 1908	Brasil	Rio de Janeiro	IOC	BELKIN, 1968;LANE, 1953
<i>Toxorhynchites posticatus</i>	Lutz&Neiva, 1913	Brasil	Petropolis, RJ	IOC	BELKIN, 1971
<i>Toxorhynchites moengoensis</i>	Bonne Wepster&Bonne, 1923	Suriname	Moengo	ITH	BELKIN, 1968; LANE, 1939

A constatação da presença do gênero *Toxorhynchites* na região de Viçosa, MG, e a identificação das espécies *T. theobaldi* e *T. pusillus* fornece oportunidades para futuros estudos, como o estabelecimento de uma criação massal na Universidade Federal de Viçosa para que testes de predação de lavas de *Toxorhynchites* sobre larvas de *A. aegypti* possam ser realizados.

6.2 Avaliação da capacidade predatória

6.2.1 Coleta e identificação

A espécie *T. violaceus* foi descrita no ano de 1820 por Wiedemann os holótipos estão depositados no Naturhistorisches Museum, Burgring 7, Wien 1 (NMW). O único registro de ocorrência para a espécie foi relatado no estado da Bahia, Brasil (Costa Lima, 1931; Lane, 1939, 1944, 1953; Belkin, 1968; Belkin *et al.*, 1971) No presente estudo fica registrada a primeira ocorrência de *T. violaceus* no estado de Minas Gerais em domínios de campo rupestre da Serra da Piedade, Caeté, Brasil.

6.2.2 Experimento I

Para explicar a variação dos dados descritos aceitou-se a Hipótese (H1): O aumento do número de presas facilita o encontro da presa pelo predador.

O comportamento predador das larvas do gênero *Toxorhynchites* é basicamente oportunista. As larvas não procuram diretamente pelas presas, mas, exibem um comportamento de emboscada típico de predadores de senta e espera, são aqueles que esperam pela passagem de suas presas para capturá-las. Provavelmente as localizam pelo uso de mecanorreceptores. Por serem predadoras de emboscada, larvas de *Toxorhynchites* localizam suas presas quando elas se movimentam (Alto & Griswold, 2005; Yasuda & Hagimori, 1998; Stefan & Evenhuis, 1981). O aumento da densidade de presas então, parece levar a uma maior proximidade entre predador e presa, isto pode ter facilitado

tado a captura da presa pelo predador e, conseqüentemente, ter aumentado a predação nas densidades de presa mais elevadas (Figura 10).

De acordo com a teoria relacionada a resposta funcional, era esperado que houvesse uma curva com tendência a assumir um platô, independente do alimento disponível (Begon *et al.*, 2006). A curva resultante da análise dos dados mostra uma tendência ao aumento da predação após o tratamento de 800 larvas oferecidas. Esta tendência provavelmente deve-se ao fato de que o limite ou platô onde se estabiliza a curva ocorre acima de 800 presas oferecidas. Outro importante fator que talvez tenha contribuído para a não estabilização da curva é o fato de que as presas mortas, mas não consumidas foram consideradas na análise como larvas predadas. Observamos que as larvas de *T. violaceus* de 4º estágio matam suas presas, porém, sem consumi-las ou consumindo-as parcialmente, corroborando com dados já publicados (Corbet & Gritfiths, 1963; Rubio *et al.*, 1980; Machado-Allison, 1981; Steffan & Evenhuis, 1981).

Este comportamento geralmente é iniciado de três a quatro dias antes da última muda (Steffan & Evenhuis, 1981) e provavelmente mediado por um aumento nos níveis do hormônio ecdisteróide (Russo & Westbrook, 1986). A teoria mais aceita para tal fato é que pupas tornam-se vulneráveis, pois não possuem nenhum tipo de defesa contra o ataque de outros predadores. (Collins & Blackwell, 2000; Steffan & Evenhuis, 1981; Corbet & Gritfiths, 1963).

Estudos laboratoriais, de maneira geral, podem dar uma figura exagerada a predação propriamente dita. No campo, larvas de *Toxorhynchites* geralmente coexistem com suas presas (Steffan & Evenhuis, 1981). Para fins de redução populacional de larvas do mosquito *A. aegypti* em condições controladas, larvas maduras de *T. violaceus* mostram-se bastante eficazes deixando relatado no presente experimento o seu potencial predatório como agente de controle como já observado para outras espécies do gênero (Collins & Blackwell, 2000; Schreiber, 2007).

6.2.3 Experimento II

Em predadores de emboscada, como as larvas do gênero *Toxorhynchites*, o encontro com suas presas parece ser uma função da área superficial do recipiente e sua altura da coluna de água (Yasuda & Hagimori, 1998). No presente estudo observa-se que em recipientes com pouca água (figura 11) o número de larvas de *A. aegypti* predadas tende a aumentar com o aumento da superfície de respiração do recipiente. Neste mesmo gráfico observa-se também uma tendência a diminuição do número de larvas predadas em recipientes com altura de coluna de água e superfície de respiração muito pequenos (mínimo), não corroborando com o estudos feitos por outros autores que afirmam que em recipientes pequenos a taxa de encontro, medida pela predação, entre o predador e suas presas é maior (Yasuda & Hagimori, 1998; Mercer *et al.*, 2005; Martinez & Castro, 2007; Alto & Griswold, 2005).

Porém, no experimento realizado, recipientes com superfície de respiração e altura da coluna de água muito pequenos são recipientes que apresentam pequeno volume de água e alta densidade de indivíduos o que provavelmente pode ter atrapalhado o predador, confundido-o ou até mesmo o impossibilitado de capturar e manipular suas presas. Logo, em recipientes muito pequenos onde a densidade de presas é alta, o número de larvas predadas tende a diminuir.

Ambientes com grandes e médias alturas de coluna de água possuem mais espaço para deslocamento das larvas. A elevação da altura da coluna de água pode gerar locais de refúgio para as presas, o que pode diminuir a taxa de encontro entre predadores e suas presas (Alto & Griswold, 2005). Logo, recipientes com grande altura de coluna de água e grande área superficial para respiração parecem dificultar a captura das presas pelo predador (Figura 11). Larvas de *T. violaceus* capturam suas presas por golpes que dependem da proximidade com a presa. As larvas usam o sifão como âncora e gopeiam as presas (Linley, 1995).

O aumento do ângulo ou da distância entre larvas de *T. brevipalpis* e *T. amboinensis* e suas presas diminui a taxa de captura (Linley, 1990, 1995). Este fato parece se aplicar à recipientes com altura de coluna de água média e máxima onde o número de larvas predadas tende a diminuir com o aumento da superfície para respiração (Figura 11). Porém, quando há uma diminuição da superfície utilizada para respiração parece haver um maior encontro entre larvas de *T. violaceus* e suas presas. Como todas as larvas precisam subir à superfície para respirar, no momento da respiração, se a superfície utilizada para tal é pequena, a proximidade entre predador e presa é maior possibilitando assim a captura e elevando o número de larvas de *A. aegypti* predadas. A posição do predador na coluna de água influencia diretamente na predação, se o predador está mais próximo de suas presas provavelmente a chance de predação será maior (Martinez & Castro, 2007).

O gráfico da figura 12 mostra diminuição do número de larvas predadas com o aumento da coluna de água, logo observa-se que em recipientes com coluna de água pequenas houve um maior encontro entre predador e presa. Em recipientes com superfícies de respiração pequenas (mínimo) (Figura 12) o número de larvas predadas tende a diminuir com o aumento da altura da coluna de água. Nas superfícies de respiração máxima e média figura 12, o número de larvas predadas tende também a diminuir com o aumento da altura da coluna de água. Porém, em pequenas alturas de coluna de água, superfícies de respiração maiores tendem a ter maiores números de larvas de *A. aegypti* predadas. Novamente não se corrobora com estudos publicados que afirmam ser maior a taxa de encontro entre o predador e suas presas em recipientes muito pequenos (Yasuda & Hagimori, 1998; Mercer *et al.*, 2005; Martinez & Castro, 2007; Alto & Griswold, 2005). Como já dito acima em recipientes com superfície de respiração e alturas de coluna de água muito pequenos a densidade de indivíduos é alta o que parece atrapalhar ou confundir o predador dificultando a captura e manipulação suas presas.

Com o aumento da altura de coluna de água superfícies de respiração maiores tendem a menores números de larvas de *A. aegypti* predadas do que

na superfície de respiração mínima figura 12. Com o aumento da altura da coluna de água o número de larvas de *A. aegypti* predadas tende a diminuir e esta tendência talvez, deva-se ao fato de que o aumento da coluna de água promove um maior refúgio para as presas dificultando o encontro com o predador, pois estes as localizam pelo movimento e provavelmente pelo uso de mecanorreceptores (Steffan & Evenhuis, 1981). Em grandes alturas de coluna de água, superfícies de respiração menores, como já dito no exemplo anterior, promovem um maior encontro entre larvas de *T. violaceus* e suas presas, e provavelmente este encontro ocorre no momento da respiração.

De maneira geral os gráficos representados pelas figuras 11 e 12 explicam uma tendência à diminuição no número de larvas de *A. aegypti* predadas por larvas de *T. violaceus* com o aumento da altura da coluna da água e da superfície de respiração de um determinado recipiente, a probabilidade de encontro entre predadores e presas parece ser mediado pela proximidade entre ambos, logo em recipientes com altura de coluna de água e superfície de respiração maiores parece ser mais difícil o encontro entre larvas de *T. violaceus* e larvas de *A. aegypti*.

Os resultados do presente estudo confirmam o que já foi descrito por autores que afirmam que em grandes áreas de forrageamento o predador leva mais tempo para capturar sua presa, conseqüentemente o número de larvas consumidas diminui (Amalraj & Das, 1998; Linley, 1990). Por serem predadoras de emboscada, larvas de *T. violaceus* localizam suas presas quando elas se movimentam (Alto & Griswold, 2005; Yasuda & Hagimori, 1998; Stefan & Evenhuis, 1981) Recipientes com altura de coluna de água e superfície de respiração pequenos geralmente se mostram melhores para a captura das presas pelo predador que recipientes com grandes superfícies de respiração e altura de coluna de água.

Exceções ocorrem em volumes muito pequenos de água onde a altura da coluna de água e superfície de respiração são muito pequenos, neste caso embora haja uma grande proximidade entre as larvas de *T. violaceus* e larvas de *A. aegypti*, a grande aglomeração de presas provocada pelo baixo volume de água parece confundir o predador ou ainda dificultar a captura e manipulação da presa pelo predador diminuindo assim o número de presas consumidas.

7 Conclusões

Larvas do gênero *Toxorhynchites* são encontradas em uma ampla variedade de recipientes naturais, e em alguns recipientes artificiais. Alguns destes recipientes possuem um grande tamanho como caixas de água, buracos em rochas ou até mesmo poços de água ou piscinas, porém muitos destes recipientes possuem pequenos tamanhos.

Em grandes recipientes como caixas de água, poços, piscinas, grandes latas de lixo etc., a introdução direta de uma larva de *T. violaceus* para redução populacional do mosquito *Aedes aegypti* é inadequada. Em criadouros naturais do mosquito *A. aegypti* como ocos de árvore, bromélias urbanas, axilas de plantas, ocos de bambu e criadouros artificiais, como floreiros de cemitério, latas de alumínio, descartáveis, regadores, vasos sanitários e pneus (Forattini & Marques, 2000), onde o volume de água acumulada é relativamente pequeno, a introdução direta de larvas de *Toxorhynchites* pode se caracterizar como mais uma ferramenta a ser utilizada no controle populacional do mosquito *A. aegypti*.

O presente estudo retrata o comportamento predatório das larvas de *T. violaceus*. Porém, o sucesso efetivo de um programa de controle biológico envolvendo o predador, requer um estudo detalhado dos mecanismos que compõe o relacionamento entre predador e presa, como também dos fatores que afetam este relacionamento.

Estes fatores incluem preferência ou seletividade da presa pelo predador, efeito da diversidade de espécies de mosquitos nos criadouros, estabilidade do sistema aquático, densidade larval, posição do predador na coluna de água, sincronismo e co-evolução entre predador e presa e refúgio. Para que se possa dar seqüência aos estudos envolvendo o referido predador, sugere-se

que esforços sejam somados para o estabelecimento de uma criação massal de *Toxorhynchites violaceus* o que possibilitará futuros estudos envolvendo a espécie principalmente aqueles que referem-se ao controle populacional do mosquito *Aedes aegypti*.

8 Referências

- Albeny Simões, D. & Rosa, C. S. (2006). Potencial predatório de larvas de *Toxorhynchites* (diptera: Culicidae) sobre larvas de *Aedes aegypti*. In: *XXI Congresso Brasileiro de Entomologia*. p. 40.
- Alto, B. W. & Griswold, M. W. (2005). Habitat complexity and sex-dependent predation of mosquito larvae in containers. *Oecologia*, 146, 300–310.
- Amalraj, D. & Das, P. K. (1998). Estimation of predation by the larvae of *Toxorhynchites splendens* on the aquatic stages of *Aedes aegypti*. *Southeast Asian Journal Tropical Medical Public Health*, 38, 56–60.
- Amalraj, D.; Sivagnaname, N. & Das, P. (2005). Effect of food on immature development, consumption rate, and relative growth rate of *Toxorhynchites splendens* (Diptera Culicidae), a predator of container breeding mosquitoes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol. 100(8), 893–902.
- Bailey, D.; Jones, R. G. & Simmonds, P. R. (1983). Effects of indigenous *Toxorhynchites rutilus rutilus* on *Aedes aegypti* breeding in tire dumps. *Mosquito News*, 43, 33–37.
- Begon, M.; Townsend, C. R. & Harper, J. L. (2006). *Ecology from individuals to ecosystems*. Blackwell Publishing, 4th ed.

- Belkin, J. (1968). The type specimens of new world mosquitoes in european museums. *Contribution of American Entomological Institute*, 3, 1–69.
- Belkin, J.; Schick, R. & Heinemann, S. (1971). Mosquitoes originally described from Brazil. *Contribution of American Entomological Institute*, 7 (5), 63.
- Bernal, H. C. A. & Villanueva, F. R. (1989). Diurnal patten and behaviour of oviposition of *Toxorhynchites theodaldi* in the field. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 5, 11.
- Bonnet, D. & Hu, S. M. K. (1951). The introduction of *Toxorhynchites brevipalpis* into the territory of Hawaii. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*, 14, 237–242.
- Bueno, M. E. (1992). *In Serra da Piedade*. Belo Horizonte.
- Campos, R. E. & Lounibos, L. P. (2000). Natural prey and digestion times of *Toxorhynchites rutilus* (Diptera Culicidae) in Southern Florida. *Annual Entomological Society of American*, 93, 1280–1287.
- Collins, L. E. & Blackwell, A. (2000). The biology of *Toxorhynchites* mosquitoes and their potential as biocontrol agents. *Biocontrol News and Information*, 21, 105 – 116.
- Corbet, P. S. & Gritfiths, A. (1963). Observations on the aquatic stages of two species of *Toxorhynchites* in uganda. *Procidings Research Entomological Societ of London*, A 38, 125–35.
- Costa Lima, A. M. (1931). Sobre as espécies de *Megarhinus* do Brasil (Diptera Culicidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 25, 307–316.
- Donalísio, M. & Glasser, C. (2002). Entomological surveillance and control of dengue fever vectors. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 5 (3), 259–272.

- Dyar, H. & Knab, F. (1906). The species of mosquitoes in the genus *Megarhinus*. *Smithsonian Miscellaneous Collections*, 48, 241–258.
- Edwards, F. (1932). Diptera. Fam. Culicidae. In: *Insects* (ed. Wystman, P.), Genera Insectorum. p. 258.
- Eiras, A. E. (2005). *Culicidae*, Neves, D. P. and Melo, A. L. and Linardi, P. M. and Vitor, R. W. A. *Parasitologia Humana*, chap. 43. 11th ed., pp. 355–368.
- Engber, B.; Sone, P. & Pillai, J. (1978). The occurrence of *Toxorhynchitesamboinensis* in Western Samoa. *Mosquito News*, 38, 295–296.
- Focks, D.; Sackett, S.; Kloter, K.; Dame, D. & Carmichael, G. (1986). The integrated use of *Toxorhynchitesamboinensis* and ground-level ULV insecticide application to suppress *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, Vol. 23, 13 – 519.
- Focks, D. A. (2007). *Toxorhynchites* as biocontrol agents. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23, 118–127.
- Focks, D. A.; Sackett, S. R. & Bailey, D. L. (1982). Field experiments on the control of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* by *Toxorhynchites rutilus rutilus* (Diptera Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 19, 336–339.
- Forattini, O. & Marques, G. (2000). Nota sobre o encontro de *Aedes aegypti* em bromélias. *Revista de Saúde Pública*, vol.34 (5, 543–44,.
- Funasa (2002). Fundação nacional de saúde. - programa nacional de controle da dengue.
- Furumizo, R. T. & Rudnick, A. (1978). Laboratory studies of *Toxorhynchites splendens* (Diptera: Culicidae): biological observations. *Annual Entomological Societ of American*, 71, 670–673.

- Gerberg, E. J. (1985). Sequential biocontrol application in the use of *Toxorhynchites* spp. In: *Integrated mosquito control methodologies* (eds. Laird, M. & Miles, J.), Academic Press, vol. 2. London ed.
- Gerberg, E. J. & Visser, W. M. (1978). Preliminary field trial for the biological control of *Aedes aegypti* by means of *Toxorhynchites brevipalpis*, a predatory mosquito larvae. *Mosquito News*, 38, 197–200.
- Hubbard, S.; Malley, S. & Russo, R. (1988). The functional response of *Toxorhynchites rutilus rutilus* to changes in the population density of its prey *Aedes aegypti*. *Medical and Veterinary Entomology*, 2, 279–283.
- Hutchings, R. (1993). Desenvolvimento, criação e comportamento de *Toxorhynchites (lynchiella) haemorrhoidalis haemorrhoidalis* (fabricius, 1794) (Diptera: Culicidae) no laboratório. *Acta Amazônica*, 23, 37–47.
- Hutchings, R. S. G. (1991). Possibilidades do uso de espécies do gênero *Toxorhynchites* Theobald, 1901 (Diptera culicidae) como controladores biológicos de culicidae na Amazônia. *Acta Científica Venezuelana*, 31, 345–351.
- Jones, C. & Schreiber, E. (1994). The carnivores, *Toxorhynchites*. *Wing Beats*, 5, 4–7.
- Juliano, S. A. (2007). Population Dynamics. *The American Mosquito Control Association*, 23, 265–275.
- Lane, J. (1939). *Catálogo dos Mosquitos Neotrópicos*. Boletim Biológico.
- Lane, J. (1944). A tribo megarhinini no Brasil Meridional. *Revista de Entomologia*, 15, 172–190.
- Lane, J. (1953). *Neotropical Culicidae*, vol. 1. Editora Gráfica Siqueira S.A.
- Linley, J. (1990). The predatory behavior of *Toxorhynchitesamboinensis* and *Tx. brevipalpis* larvae (Diptera culicidae) in response to subsurface prey. *Florida Entomologist March*, 73(1), 26.

- Linley, J. R. (1987a). Aerial oviposition flight of *Toxorhynchitesamboinensis* (Diptera; Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 6, 637–650.
- Linley, J. R. (1987b). Diel rhythm and lifetime course of oviposition in *Toxorhynchitesamboinensis* (Diptera; Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 1, 99–105.
- Linley, R. (1995). Behavior on approach to surface prey by larvae of *Toxorhynchitesamboinensis* and *T. brevipalpis* (Diptera Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 32(1), 53–65.
- Lounibos, P. & Campos, R. E. (2002). Investigaciones recientes sobre *Toxorhynchites rutilus* (Diptera Culicidae) con referencia al control biológico de mosquitos habitantes em recipientes. *Entomotropica*, 17(2), 146–156.
- Machado-Allison, C. (1981). Ecología de los mosquitos (culicidae).ii. larvas y pupas. *Acta Biologica Venezuelana*, 11, 51–59.
- Martinelli, G. (1996). *Campos de altitude: high mountain grasslands*. Belo Horizonte.
- Martinez, H. Q. & Castro, A. R. (2007). Aquatic insects as predators of mosquito larvae. *The American Mosquito Control Association*, 23, 110–117.
- Mercer, D.; Wettach, G. & Smith, J. (2005). Effects of larval density and predation by *Toxorhynchitesamboinensis* on *Aedes polynesiensis* (Diptera: Culicidae) developing in coconuts. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21 (4);, 425–431.
- Miyagi, I.; Toma, T. & Mogi, M. (1992). Biological control of container-breeding mosquitoes, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus*, in a Japanese island by release of *Toxorhynchites splendens* adults. *Medical and Veterinary Entomology*, 6, 290–300.

- Pecor, J.; Harbach, R.; Peyton, E.; Donald, T.; Robert, R.; Rejmankova, E.; Magnun, S. & Palanco, J. (2002). Mosquito studies in belize, central america: Records, taxonomic notes, and a checklist of species. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 18(4), 241–276.
- Pemberton, C. (1931). Notes and exhibitions. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*, 18, 360.
- Peterson, G. (1956). The introduction of megarhinus mosquitoes of the genus *Toxorhynchites* into american samoa. *Journal of Economical Entomology*, 49, 786–789.
- R Development Core Team (2006). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
URL <http://www.R-project.org>
- Rawlins, S. C.; Clark, G. G. & Martinez, R. (1991). Effects of a single introduction of *Toxorhynchites moctezuma* upon *Aedes aegypti* on a Caribbean Island. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 7, 7–10.
- Rogers, D. . (1972). Random search and insect population models. *Journal of Animal Ecology*, 41, 369–383.
- Rubio, Y.; Rodriguez, D.; Machado-Allison, C. E. & Lon, J. (1980). Algunos aspectos de lo comportamiento de *Toxorhynchites theobaldi* (diptera: Culicidae). *Acta Cientifica Venezuelana*, 31, 345–351.
- Russo, R. & Westbrook, A. (1986). *Ecdysteroid levels in eggs and larvae of Toxorhynchites amboinensis*. Insect neurochemistry and neurophysiology, Totowa, NJ, USA.
- Schreiber, E. T. (2007). *Toxorhynchites*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23, 129–132.

Sempala, S. D. K. (1983). Interactions between immature *Aedes africanus* (Theobald) and larvae of 2 predatory species of *Toxorhynchites* (Diptera, Culicidae) in Zika Forest, Uganda. *Bulletin of Entomological Research*, 73, 19–24.

Sherratt, T. & Tikasingh, E. (1989). A laboratory investigation of mosquito larval predation by *Toxorhynchites moctezuma* on *Aedes aegypti*. *Medical and Veterinary Entomology*, 3, 239–246.

Steffan, W. (1975). Systematics and biological control potential of *Toxorhynchites* (diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics*, 7, 59–67.

Steffan, W. A. & Evenhuis, N. L. (1981). Biology of *Toxorhynchites*. *Annual Reviews Entomology*, 26, 159–181.

Sunahara, T.; Ishizaka, K. & Mogi, M. (2002). Habitat size: a factor determining the opportunity for encounters between mosquito larvae and aquatic predators. *Journal of Vector Ecology*, 27(1), 8–20.

Swezey, O. (1930). Entomology. *Reports of communications to the Experimental Station of Hawaiian Sugar Plantation Association*, 1928-1929, 16–25.

Tikasingh, E. S. (1992). Effects of *Toxorhynchites moctezuma* larval predation on *Aedes aegypti* populations: experimental evaluation. *Medical and Veterinary Entomology*, 6, 266–271.

Tikasingh, E. S. & Eustace, A. (1992). Suppression of *Aedes aegypti* by predatory *Toxorhynchites moctezuma* in an island habitat. *Medical and Veterinary Entomology*, 6, 272–280.

Trimble, R. M. (1979). Laboratory observations oviposition by the predaceous tree-hole mosquito, *Toxorhynchites rutilus septentrionalis* (Diptera: Culicidae). *Canadian Journal Zoological*, 57, 1104–1108.

Trpis, M. (1972). Effect of temperature on development and predatory behavior of *Toxorhynchites brevivalpis*. *Congress Entomological*, 4, 14 – 268.

Vongtangswad, S.; Tirabutena, C. & Thongkum, B. (1983). The biological control of *Aedes aegypti* on Sa-Med Island, Rayong Province by means of *Toxorhynchites splendens*, a predatory mosquito larva. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 66 (1), 8 – 12.

Williams, R. E.; DeLong, D. M. & Venard, C. (1961). Observations on the *Toxorhynchites rutilus septentrionalis* (Dyar & Knab) in the field and laboratory. *Annual Entomological Societ of American*, 54, 669–671.

Yasuda, H. & Hagimori, K. (1998). Effects of prey density, prey instar, and patch size on the development of the predatory mosquito, *Toxorhynchites towadensis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 86, 189 – 195.