



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
NÚCLEO DE SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA EXPERIMENTAL-
PGBIOEXP/MESTRADO**

CARLA RIBEIRO FIGUEIREDO ZANIN

**NUTRIÇÃO DE LARVAS E ADULTOS DE *ANOPHELES DARLINGI* (DIPTERA:
CULICIDAE) EM LABORATÓRIO.**

Porto Velho-RO
2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
NÚCLEO DE SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA EXPERIMENTAL-
PGBIOEXP/MESTRADO**

CARLA RIBEIRO FIGUEIREDO ZANIN

**NUTRIÇÃO DE LARVAS E ADULTOS DE *ANOPHELES DARLINGI* (DIPTERA:
CULICIDAE) EM LABORATÓRIO.**

Orientador: Alexandre de Almeida e Silva

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Biologia Experimental do Departamento de Medicina da Universidade Federal de Rondônia como requisito para a obtenção do título de Mestre em Biologia Experimental.

Porto Velho-RO
2015

FICHA CATALOGRÁFICA
BIBLIOTECA PROF. ROBERTO DUARTE PIRES

Z31n

Zanin, Carla Ribeiro Figueiredo.

Nutrição de larvas e adultos de *anopheles darlingi* (diptera: *culicidae*) em laboratório / Carla Ribeiro Figueiredo Zanin. - Porto Velho, Rondônia, 2015.

43 f.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre de Almeida e Silva
Dissertação (Mestrado em Biologia) - Fundação Universidade Federal de Rondônia – UNIR.

1. Malária. 2. Alimentação larval. 3. Anofelinos. I. Silva, Alexandre de Almeida e. II. Fundação Universidade Federal de Rondônia – UNIR. III. Título.

CDU: 595.77

Bibliotecária Responsável: Edoneia Sampaio CRB 11/947

CARLA RIBEIRO FIGUEIREDO ZANIN

**NUTRIÇÃO DE LARVAS E ADULTOS DE *ANOPHELES DARLINGI*
(DIPTERA: CULICIDAE) EM LABORATÓRIO.**

Comissão Examinadora:

Porto Velho, _____ de _____ de _____

Resultado _____

AGRADECIMENTOS

A Deus, por proporcionar bênçãos e grandes oportunidades em minha vida.

Ao Professor Dr. Alexandre de Almeida e Silva pela oportunidade concedida e por todo aprendizado e paciência durante esse percurso.

A minha família e meu marido que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos.

A equipe do Laboratório de Bioecologia de Insetos da Universidade Federal de Rondônia, por disponibilizar o material necessário e principalmente pelo apoio e companhia de todos os dias.

A CAPES pela bolsa de estudos.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Estágios do ciclo de vida dos mosquitos. A) ovo; b) larva; c) pupa e d) adulto. Pág. 7
- Figura 2:** Distribuição de anofelinos no mundo. Pág. 9
- Figura 3:** Criadouro de anofelinos em Porto Velho, RO. Pág. 10
- Figura 4:** Locais de coleta de fêmeas de *An. darlingi* em Porto Velho, Rondônia. - Sítio D. Marcília. Pág. 17
- Figura 5:** Armadilha BG-Sentinel que utiliza como fonte de atrativos o gás carbônico. Pág. 18
- Figura 6:** Criação de larvas de *Anopheles darlingi* em laboratório. Pág. 18
- Figura 7:** Preparação do alimento para larvas de *An. darlingi*. A – ração de peixe sendo macerada; B – peneira para ração. Pág. 19
- Figura 8:** Mortalidade larval (média +/- desvio padrão) em vários estádios de *An. darlingi* criados com diferentes fontes de alimento. Pág. 21
- Figura 9:** Tempo de desenvolvimento (média +/- desvio padrão) das larvas de *An. darlingi* criadas com diferentes alimentos. Pág. 22
- Figura 10:** Produção de pupas por dia (média +/- desvio padrão) de *An. darlingi* oriundas de larvas criadas com diferentes alimentos. Pág. 23
- Figura 11:** Número de dias com produção de pupas (média +/- desvio padrão) de *An. darlingi* oriundas de larvas criadas com diferentes alimentos. Pág. 24
- Figura 12:** Produção de pupas total (média +/- desvio padrão) de *An. darlingi* oriundas de larvas criadas com diferentes alimentos. Pág. 25
- Figura 13:** Taxa de emergência de adultos de *An. darlingi* oriundos de larvas criadas com diferentes tipos de alimentos. Pág. 26
- Figura 14:** Longevidade (média +/- desvio padrão) de adultos Pág. 27

machos e fêmeas de *An. darlingi* oriundos de larvas criadas com diferentes alimentos.

Figura 15: Longevidade (média +/- desvio padrão) de machos e fêmeas adultos de *An. darlingi* alimentados com diferentes fontes de açúcar a 10% (mel, melado e sacarose). Pág. 28

RESUMO

A malária é uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Plasmodium*. Ela é transmitida pela picada da fêmea de *Anopheles darlingi*, o principal vetor da doença na Amazônia. Por ser o principal vetor na região, muitos estudos sobre a ecologia e comportamento têm sido realizados. No entanto, há poucos estudos sobre as condições de criação de imaturos e adultos. A alimentação para larvas de mosquito em laboratório é algo que já vem sendo estudado e que é muito importante quando se tem a intenção de criar esses insetos, pois a nutrição larval interfere diretamente no adulto. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes alimentos na biologia larval e também da concentração e fonte de carboidratos para adultos de *Anopheles darlingi*. As larvas de primeiro estágio foram separadas em bacias contendo um litro de água e foram alimentadas diariamente de acordo com o estágio larval. O tempo de desenvolvimento larval foi estimado como o tempo necessário para 50% das larvas atingirem o último estágio larval. A taxa de pupação foi obtida dividindo-se o número de pupas pelo número de larvas L4 vivas e a taxa de emergência foi obtida pela razão entre o número de adultos e o número de pupas. Os adultos foram alimentados com diferentes soluções açucaradas, mel 10%, sacarose 10% e melado de cana 10%. Todos os dias era trocado os algodões umedecidos e foi acompanhada a longevidade dos mosquitos. Verificou-se que as larvas de mosquito alimentadas com ração de peixe tiveram um desenvolvimento mais rápido em relação as demais comidas. A média de produção de pupas diárias foi significativamente maior nos tratamentos utilizando comida de peixe do que as demais. O número de adultos total foi maior nas larvas criadas com comida de peixe. Em relação aos adultos oriundos de larvas alimentadas com diferentes alimentos constatou-se que o mel 10% prolongou o tempo de vida desses mosquitos, independente da alimentação das larvas. Com isso, verificou-se que o tratamento com ração de peixe e mel 10% foi melhor do que os demais tratamentos.

Palavras chave: Malária, Alimentação larval, *Anopheles darlingi*

ABSTRACT

Malaria is an infectious disease caused by protozoa of the genus Plasmodium. It is transmitted by the bite of the female *Anopheles darlingi*, the main vector of the disease in the Amazon. As the main vector in the region, many studies have been performed to control this vector and mainly in an attempt to colonize this mosquito. Power to mosquito larvae in the laboratory is something that is already being studied and that is very important when it intends to create these insects because the larval nutrition will directly interfere in adults. In the quest to improve the creation of *Anopheles darlingi* was performed tests with different diets: TetraMin Tropical Flakes, Royal Canin Canine Hepatic, Nutricon Pet and macapó. Larvae were divided into bowls containing 1 liter of water and were fed daily according to larval stage. After the emergence of adults, separate copies of all treatments for food with different sugar solutions, honey, 10%, 10% sucrose and 10% molasses. Every day was exchanged moistened cotton and was accompanied longevity of mosquitoes. It was found that mosquito larvae fed with fish feed had a more rapid development when compared with other foods, for the adults from larvae fed different foods it was found that 10% honey prolonged the life span of these insects. As a result, it was found that treatment with fish feed and 10% honey was better than the other treatments.

Keywords: Malaria, Larval feeding, *Anopheles darlingi*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
1.1 CULICÍDEOS	
1.2 ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO DE INSETOS	
1.3 ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO DE IMATUROS	
1.4 ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO DE MOSQUITOS ADULTOS	
2. OBJETIVOS.....	16
2.1 OBJETIVO GERAL	
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1 CAPTURA E CRIAÇÃO DE <i>Anopheles darlingi</i>	
3.2 TIPOS DE ALIMENTO	
3.3 ANÁLISE DOS DADOS	
4. RESULTADOS.....	21
4.1 MORTALIDADE E TEMPO DE DESENVOLVIMENTO LARVAL	
4.2 PRODUÇÃO DE PUPAS E EMERSÃO DE ADULTOS	
4.3 LONGEVIDADE DOS ADULTOS	
5. DISCUSSÃO.....	29
5.1 EFEITOS DO ALIMENTO NA BIOLOGIA LARVAL	
5.2 EFEITO DA ALIMENTAÇÃO NA LONGEVIDADE DOS ADULTOS	
6. CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS.....	36
ANEXOS.....	41
1. COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DAS RAÇÕES TESTADAS	

1 INTRODUÇÃO

1.1 CULICÍDEOS

Os mosquitos, pernilongos ou carapanãs são insetos da ordem Diptera e da família Culicidae. Essa família se divide em três subfamílias: Toxorhynchitinae, Anophelinae e Culicinae. As famílias Anophelinae e Culicinae possuem espécies de importância médica (CARRERA, 1991), sendo assim, têm atraído a atenção da saúde pública por estarem envolvidos na transmissão de múltiplas infecções ao homem e aos animais domésticos. Acresce-se que, em situações frequentes, atuam como insetos particular e persistentemente irritantes (FORATTINI, 2002).

A distribuição desses insetos é mundial, sendo encontrados entre altitudes acima de 5.500 m a 1.250 m abaixo do nível do mar. A ausência é notada somente na Antártida e em algumas ilhas. Estão presentes em habitats florestais, rurais e urbanos (MARCONDES, 2001).

Os insetos da ordem Diptera são alados, possuem pernas e antenas e na maioria das espécies as fêmeas são hematófagas. Durante o desenvolvimento larval vivem em ambiente aquático até a emergência dos adultos (CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994) (Figura 1).

Figura 1. Estágios do ciclo de vida dos mosquitos. A) ovo; b) larva; c) pupa e d) adulto.

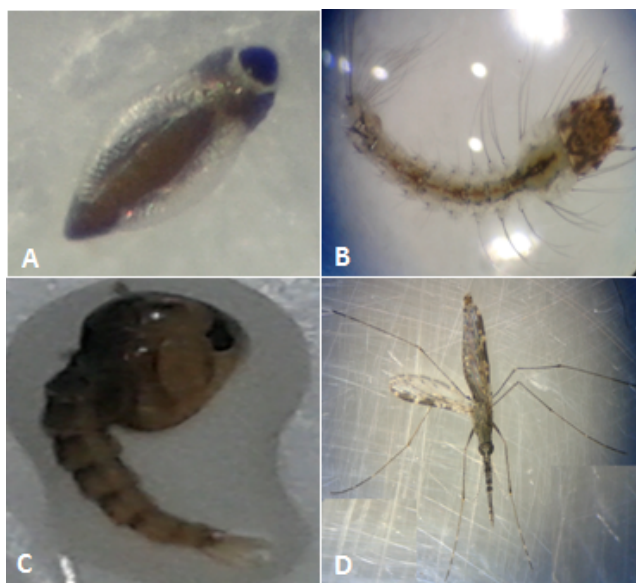


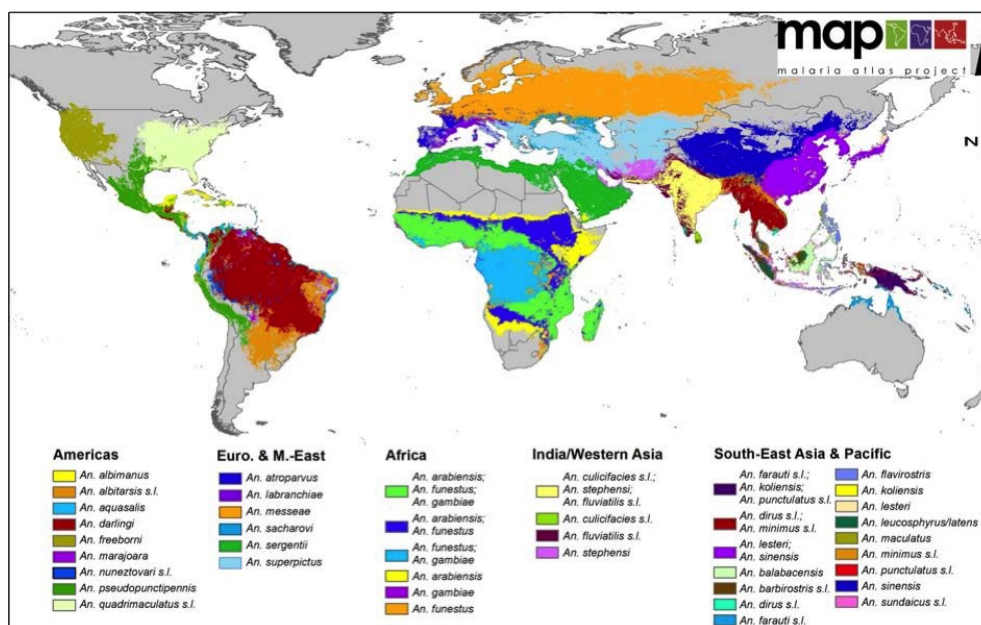
Foto: Alyne Dias

A fase larvária com quatro estádios e a fase de pupa são essencialmente aquáticas e possuem grande mobilidade. Quando adultos, medem em geral menos de um centímetro de envergadura, apresentam corpo delgado e pernas longas. As fêmeas após serem fecundadas, o que ocorre geralmente uma única vez, iniciam um ciclo que é mantido durante o resto de sua vida entre a obtenção do repasto sanguíneo e a oviposição em ambientes aquáticos. O metabolismo energético da grande maioria dos mosquitos adultos, machos e fêmeas, depende da ingestão de carboidratos, normalmente provenientes de seivas de flores e frutos, enquanto o repasto sanguíneo das fêmeas está relacionado primordialmente com o desenvolvimento dos ovos (FORATTINI, 2002).

A demonstração do papel dos mosquitos na transmissão de doenças, entre elas a malária coube a Ronald Ross em 1897, que mostrou a transmissão de malária aviária por mosquitos do gênero *Aedes*. Grassi, em 1898, mostrou que a malária humana era transmitida por mosquitos do gênero *Anopheles* (REY, 2006). Desde então, o número de estudos e pesquisas sobre esses dípteros têm aumentado consideravelmente. Devido a busca de informações, puderam-se relacionar esses insetos a ocorrência de diversos problemas de saúde pública, em especial, no que concerne à malária, arboviroses e filarioses (FORATTINI, 2002).

Há mais de 400 espécies de anofelinos distribuídas pelo mundo, mas apenas 30 a 50 são capazes de transmitir os plasmódios humanos. Várias espécies apresentam importância local como vetores primários e secundários (CONSOLI e LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002) (Figura 2).

Figura 2: Distribuição de anofelinos no mundo.



Fonte: Sinka, 2012.

Uma das principais espécies transmissoras encontradas na região Amazônica Brasileira é o mosquito *Anopheles darlingi*, sendo considerado o vetor primário da malária (GIL, 2003). Em altas densidades, o *Anopheles deaneorum*, tem sua importância epidemiológica, tornando-se um dos vetores secundários da malária, devido a sua suscetibilidade aos plasmódios humanos (KLEIN et al., 1991a; 1991b).

Estudos feitos por Deane e colaboradores em 1949, mostraram o quanto o *An. darlingi* é antropofílico, mesmo em condições onde há outras fontes de repasto, enquanto que outros anofelinos, como o *An. aquasalis* podem optar por outras fontes, somente optando pelo sangue humano quando não encontra outro animal.

As larvas desses anofelinos são encontradas em criadouros de terra firme, em coleções grandes de águas profundas e límpidas e com vegetação superficial, bem expostas a luz solar ou parcialmente sombreada. Em trabalho realizado por Deane (1948), foram encontradas em Porto Velho larvas de *An. darlingi* em barreiros ensolarados e em pequenas lagoas na estação chuvosa, enquanto que

na estação seca estas larvas estavam restritas aos igarapés, ou seja, as larvas necessitam de um equilíbrio nas condições físicas e químicas dos criadouros, por isso a diversidade nos tipos de criadouros da espécie. (Figura 3)

Figura 3: Criadouro de anofelinos em Porto Velho, RO



Foto: Carla Zanin

Geralmente, as larvas de *An. darlingi* ficam longe das margens quando encontradas em criadouros fundos e largos, em torno de vegetação e detritos flutuantes (DEANE, 1948) e, geralmente, se alimentam de microrganismos presentes em seu habitat como algas, fungos, bactérias, protozoários e detritos orgânicos de origem animal ou vegetal. Por ficarem na superfície da água, as larvas de anofelinos estão adaptadas à alimentação nessa camada superficial denominada de bacterionêustica (CLEMENTS, 1992; FORATTINI, 2002).

1.2 ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO DE INSETOS

Os seres vivos, no geral, são reflexo daquilo que consomem para sua sobrevivência, ou seja, a qualidade do alimento assim como os nutrientes essenciais tem sua importância para os organismos. Muitos aspectos da biologia de insetos, como o comportamento, a fisiologia e a ecologia estão inseridos dentro de um contexto nutricional. A quantidade e a qualidade, assim como os nutrientes presentes no alimento, afetam a biologia dos insetos, alterando ou não

a sua capacidade reprodutiva para a próxima geração (PANIZZI E PARRA, 1991) e, embora, a nutrição de insetos possa ser definida de diferentes formas, House (1969) considera que pode ser enfocada considerando a conversão do alimento em performance do inseto, sendo mensurado pelo crescimento, desenvolvimento, sobrevivência, reprodução e outras funções vitais.

Segundo House (1969), o requerimento nutricional qualitativo dos insetos é bastante similar e uma vez que todos os nutrientes essenciais estejam presentes, suas proporções no alimento contribuem mais do que a quantidade absoluta presente.

De forma geral, dentre os diversos componentes nutricionais necessários para os insetos, estão os aminoácidos: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina, diversas vitaminas, RNA. A deficiência de ácidos graxos é mais aparente após considerável crescimento. Além disso, quantias razoáveis de potássio, fosfato e magnésio são requeridas por todos insetos, enquanto, pouco cálcio, sódio e cloreto são necessários. Traços de metais como: ferro, zinco, manganês e cobre são essenciais para várias espécies (DADD, 1973).

Nas décadas de 30 e 40, começaram a ser utilizadas dietas sintéticas e alguns testes foram feitos para larvas criadas em laboratório. Em um dos testes realizados foi utilizado ácido araquidônico e ácidos poliinsaturados, cuja adição levou ao aumento da viabilidade dos adultos (CLEMENTS, 1992).

Em trabalho realizado com besouros do gênero *Tribolium* e *Ptinus*, Fraenkel & Blewett, (1943) demonstraram como essenciais para o desenvolvimento e crescimento desses insetos algumas vitaminas do complexo B que são aneurina, riboflavina, ácido nicotínico, e pantotênico e piridoxina.

Em testes com larvas de *Musca vicina*, Silverman e Levinson (1954) observaram que o sitosterol encontrado na dieta de farelo de trigo tem papel importante no crescimento e na pupação dessas larvas, assim como na prevenção a infecções bacterianas. Eles notaram também que a temperatura constante acelerava o crescimento e a pupação.

A nutrição de insetos também tem sido explorada dentro de um universo multivariado incluindo seu efeito na variação fenotípica do tamanho (CHOW e GASTON, 2010) e funções do sistema imune constitutiva e induzível (PONTON et al. 2013).

1.3 ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO DE IMATUROS

De forma geral, grande parte do conhecimento referente as necessidades nutricionais de mosquitos, sobretudo de imaturos, foi desenvolvido nas décadas de 50 e 70 (GOLBERG et al., 1944; GOLBERG e MEILLON, 1948a; GOLBERG e MEILLON, 1948b, SINGH e BROWN, 1957; AKOV, 1962), quando se relatou que larvas de *Ae. aegypti* podiam ser criadas em dietas quimicamente definidas. Uma das dietas incluía uma mistura de glicose, sais, lipídeos, RNA, 17 aminoácidos, glutatona e 12 vitaminas. Dentre os componentes, e.g., valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, histidina, arginina, triptofano, treonina, metionina e lisina eram essenciais para pupação (SINGH e BROWN, 1957).

Golberg e Meillon (1948a) relataram que em dietas artificiais que não continham proteínas ou aminoácidos, mas continham os demais ingredientes, as larvas de *Ae. aegypti* não conseguiam atingir o 2º estágio e que 1% de caseinato de sódio eram suficientes para nutrir larvas e manter o meio de criação adequado, similar ao observado por Akov (1962) utilizando caseína sólida.

Em outro trabalho, Golberg e Meillon (1948b) relataram que dietas livres de lipídeos não afetaram o crescimento e sobrevivência de *Ae. aegypti*, mas que levavam a produção de poucas pupas, o que podia ser revertido com a adição de colesterol ou lecitina. Moribayashi et al., (2004) relataram que a presença do ácido eicosapentanóico era essencial para a pupação de *Anopheles sargentii*.

Diversas vitaminas, e.g., tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, ácido pantotênico e biotina são essenciais para o crescimento larval de *Ae. aegypti* para se atingir o quarto estágio (GOLBERG et al., 1944; TRAGER, 1948), sendo que algumas como ácido fólico e piridoxina são essenciais também para a pupação. Relatos mais específicos feitos por Akov e Guggenheim (1963) ressaltam que a

falta de tiamina aumenta muito a mortalidade de pupas e causa emergência incompleta dos adultos; a falta de riboflavina leva a mortalidade larval e a de pantotenato de cálcio retarda o desenvolvimento larval. Por outro lado, os adultos dessa espécie não apresentaram requerimentos vitamínicos (Singh e Brown, 1957).

Estudos sobre a nutrição de anofelinos utilizando dietas com composição química definida não foram encontrados. Coluzzi (1964) relatou que a padronização do alimento é um dos aspectos mais difíceis na criação de anofelinos, dada a falta de informações sobre os requerimentos nutricionais dos anofelinos e dessa forma o uso de dietas desenvolvidas para outros animais é bastante utilizado. Kivuyo et al., (2014), mostraram que a dieta alimentar tem grande impacto na sobrevivência, na pupação e no sexo dos adultos emergentes de *Anopheles gambiae* e destacou que a qualidade nutricional e a disponibilidade são essenciais para uma boa manutenção da colônia.

Apesar disso, o uso de misturas de diferentes itens alimentares (e.g., BURALLI e BERGO, 1988; BERGO et al., 1990, DAMIENS et al., 2012) ou mesmo rações animais (GAHAN e SMITH, 1964; KIVUYO et al., 2014) para a alimentar imaturos de anofelinos não permite a comparação precisa entre o valor nutricional ou de ingredientes específicos mesmo em trabalhos com foco na nutrição.

Buralli e Bergo (1988) na tentativa de colonizar *An. darlingi* utilizaram partes iguais de farinha de milho, ração para aves de corte, ração para pássaros e fermento para biscoito de polvilho e fermento Fleischmann na criação de imaturos. Bergo et al., (1990) relataram que uma dieta composta por uma parte de farinha de peixe, duas de pão torrado moído e duas partes de gérmen de trigo propiciaram bom desenvolvimento de *An. darlingi*, além de uma mortalidade larval muito baixa. Mais recentemente, Moreno et al., (2014) utilizaram, com bons resultados, uma mistura de farinha de peixe, farinha de trigo, farinha de soja, farinha de maca, amido de milho e fubá para essa espécie e Villarreal-Treviño

(2015) obtiveram sucesso na colonização de *An. darlingi* utilizando ração de roedores contendo 23% de proteína, 4,5% de gordura e 6,0% de fibras.

1.4 ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO DE MOSQUITOS ADULTOS

Os açúcares são o alimento básico dos mosquitos adultos, sendo a única fonte para os machos, além de ser comum para fêmeas. Os açúcares naturais utilizados pelos mosquitos incluem a glicose, frutose, sacarose, maltose e melitose que são ingeridos poucas horas após sua emergência e em regiões temperadas e subtropicais, diversas espécies ingerem açúcares a cada dois a cinco dias. Além disso, em condições de campo é provável que adultos que não se alimentam raramente se reproduzam (FOSTER, 1995).

A alimentação açucarada tem diversos efeitos na biologia geral e reprodutiva dos mosquitos, sendo que a associação entre a alimentação sanguínea e açucarada pode estender sua longevidade (GARY e FOSTER, 2001). Muitas fêmeas utilizam a alimentação açucarada antes do repasto sanguíneo e em fêmeas de pequeno tamanho o açúcar é necessário para ultrapassar o estágio dois do desenvolvimento previtelogênico, além de aumentar o número de ovos supostamente por aumentar as reservas energéticas disponíveis (FOSTER, 1995)

Gu et al., (2011) encontraram maiores populações, taxas de sobrevivência, menor tempo para o ciclo gonotrófico para *Anopheles sargentii* em locais com rica disponibilidade de fontes naturais de açúcar. Além disso, a capacidade vetorial estimada era 250 vezes maior que em ambientes pobres em fontes açucaradas.

A associação entre a alimentação açucarada e o alimentação sanguínea também pode aumentar a capacidade de melanizar beads inoculadas em *Anopheles stephensi* (KOELLA e SORENSEN, 2002) ou diminuir os número de oocistos de *Plasmodium yoelii* em *Anopheles stephensi* (LAMBRECHS et al. 2006).

Por outro lado, o papel da qualidade das fontes de açúcares na biologia de mosquitos parece pouco explorada em campo ou laboratório. Dietas açucaradas

para adultos com concentrações variando de 0,5 a 1%, embora possam aumentar a longevidade parecem criar um déficit energético crescente (FOSTER, 1995). Além disso, pode a concentração tem efeitos biológicos diversos como mencionado acima.

Apesar de poucos dados sobre a importância da composição qualitativa de diferentes fontes açucaradas já foi relatado que a adição de aminoácidos, presentes no néctar e outros alimentos açucarados como mel e melado, podem aumentar a sobrevivência geral de *Culex quinquefasciatus* (VRZAL et al., 2010). Além disso, o mel de diferentes fontes florais, e.g., silvestres e laranjeira, aumentou a fecundidade, longevidade e número de ovos do parasitoide, *Catolaccus grandis* em relação ao mel de abelhas jataí e mel de cana (WANDERLEI et al., 2004)

Fontes diversas de açúcar para manutenção de adultos em laboratório, como mel possui cerca de 80% de açúcares (38% de frutose, 31% de glicose, 1,31% de sacarose e 7,3% de maltose), além de pequenas quantidades de proteína e aminoácidos (<1%), colesterol, cálcio, ferro e sódio (VENTURINI et al., 2007), enquanto o melado de cana contém cerca de 46% de carboidratos, cerca de 3% de proteínas, além de cálcio, enxofre, potássio e algumas vitaminas, entre elas algumas do complexo B. No entanto, muitos laboratórios usam basicamente soluções de diferentes concentrações de sacarose.

Dessa forma, o estudo do aspecto qualitativo da nutrição de larvas e adultos de mosquitos pode ser importante para melhorar a criação massal, incluindo tentativas de colonização, a maximização da produção de larvas e adultos para experimentos em laboratório e em condições de semi-campo.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar os efeitos de diferentes alimentos na biologia de larvas e adultos de *Anopheles darlingi* em laboratório.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a sobrevivência, tempo de desenvolvimento larval, taxa de pupação e emergência de adultos submetidos a diferentes fontes de alimento;
- Determinar a longevidade de adultos alimentados com diferentes fontes de carboidrato e respectivas fontes de alimento larval.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CAPTURA E CRIAÇÃO DE *Anopheles darlingi*

As larvas utilizadas no experimento foram obtidas a partir de fêmeas de campo coletadas no Estado de Rondônia no Sítio D. Marcília (08°38'00.3"S, 63°55'51.9"W). (Figura 4)

Figura 4: Locais de coleta de fêmeas de *An. darlingi* em Porto Velho, Rondônia - Sítio D. Marcília.

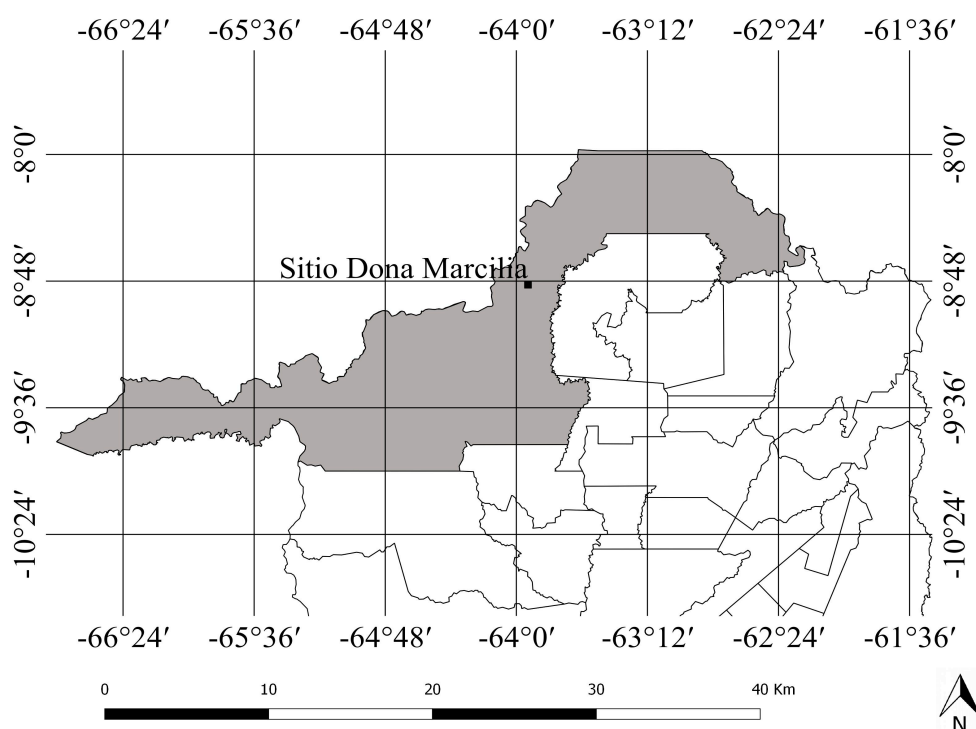


Imagem: Antonio Marques.

Foi utilizada a armadilha BG-Sentinela modificada (GAMA et al, 2013). As capturas tiveram duração de 3 horas (18:00 às 21:00) (Figura 5).

Figura 5: Armadilha BG-Sentinel que utiliza como fonte de atrativos o gás carbônico.



Fonte: Gama, 2009.

Os mosquitos foram trazidos para o Laboratório de Bioecologia de Insetos da Universidade Federal de Rondônia onde receberam o repasto sanguíneo em um galo por 15 minutos. Após 72 horas, as fêmeas foram submetidas a oviposição natural em copos telados contendo papel filtro úmido no fundo. Com três dias foram obtidos os ovos que foram colocados em bacias contendo 1L de água para eclosão das larvas (Figura 6).

Figura 6: Criação de larvas de *Anopheles darlingi* em laboratório.



Foto: Carla Zanin

3.2 TIPOS DE ALIMENTO

Foram divididos cinco grupos experimentais com 5 repetições de 100 larvas em bacias (25 x 15 x 6 cm) contendo 1 litro de água, totalizando um número de 2.500 larvas. As rações utilizadas foram: 1. ração de peixe TetraMin Tropical Flakes®; 2. ração de cachorro Royal Canin Canine Hepatic; 3. ração de répteis Nutricon Pet; 4. Farinha de peixe e maca pó, (Moreno et al, 2014) e 5. ração de gatos Whiskas Sabor Peixe (Anexo 1).

As rações foram maceradas em grãos bem pequenos e em seguida, passadas em uma peneira de 60µm (Figura 7). A ração de cachorro foi desengordurada, devido o seu teor de gordura (140 g/kg), em álcool durante 10 minutos e depois foi colocada na estufa para secar.

Figura 7: Preparação do alimento para larvas de *An. darlingi*. A – ração de peixe sendo macerada; B – peneira para ração.



Foto: Carla Zanin

As larvas L1 e L2 eram alimentadas com 2,0 mg duas vezes ao dia. A partir de L3 era fornecido 6,0 mg três vezes ao dia e no estágio de L4 foi fornecido 10 mg duas vezes ao dia. Diariamente, durante o desenvolvimento, as larvas mortas eram retiradas e contadas (mortalidade diária) e a troca de água das bacias era realizada quando necessário, dependendo da qualidade da água. O tempo de desenvolvimento larval foi estimado como o tempo necessário para 50% das larvas atingirem o último estágio larval (L4).

No estágio de pupa, elas foram retiradas e colocadas em copos de 50 ml dentro de gaiolas para a emergência dos adultos. A taxa de pupação foi obtida dividindo-se o número de pupas pelo número de larvas L4 vivas e a taxa de emergência foi obtida pela razão entre o número de adultos e o número de pupas.

Após a emergência, foram separados doze indivíduos, entre machos e fêmeas de cada bacia de cada tratamento, totalizando um número de sessenta mosquitos por tratamento. Estes foram separados em grupos de quatro e cada grupo recebeu um tipo de alimentação açucarada: sacarose 10%, mel 10% e melado de cana 10%. Foi utilizada uma balança para pesar 100g de cada alimento açucarado e em seguida foram diluídos em 1000 ml de água mineral. Estes foram armazenados na geladeira a 4°C.

Os adultos eram colocados individualmente em copos telados e sobre a tela era colocado um chumaço de algodão embebido em solução açucarada e trocado diariamente. Para manter a umidade era colocado um plástico por cima dos copos e um pano úmido. O insetário era mantido em uma temperatura de 29°C e umidade entre 70 a 80%. Acompanhou-se o tempo total de vida após a emergência dos adultos (longevidade).

3.3 ANÁLISE DOS DADOS

O efeito do estágio larval e o tipo de alimento na mortalidade larval (estágio larval e tipo de alimento); o efeito do tipo de alimento e do sexo na longevidade (alimento e sexo) e o efeito do tipo de alimentação açucarada e do sexo na longevidade (alimento adulto e sexo) de *An. darlingi* foram analisados por Anova de dois fatores e as diferenças entre os grupos foram analisadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 0,05. As demais variáveis foram analisadas por Anova de um fator e as diferenças entre os grupos foram analisadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 0,05. Todas as análises foram feitas no Prism 6 (GraphPad Inc)

4. RESULTADOS

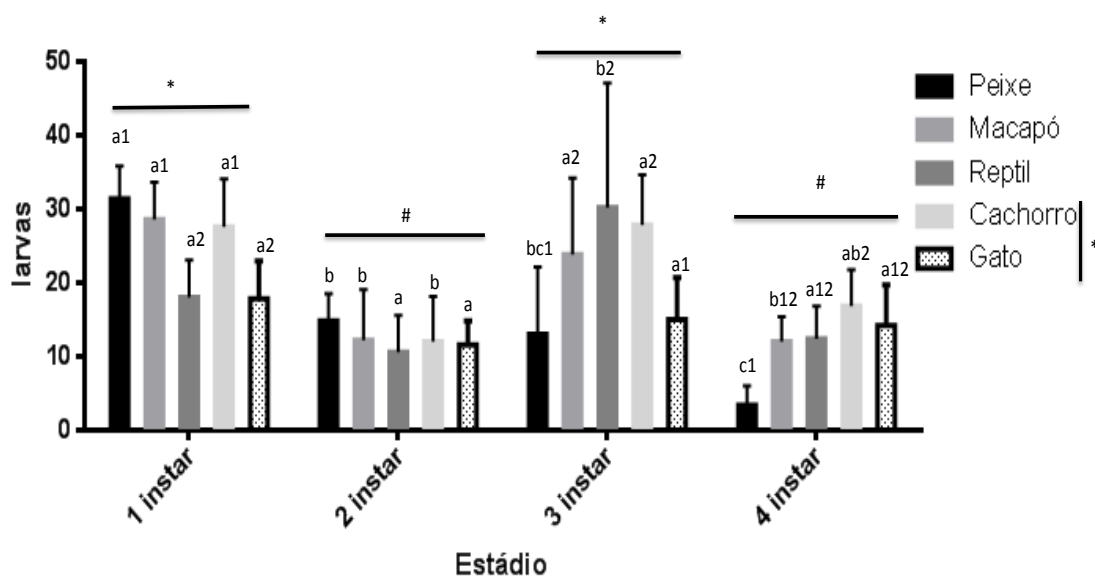
4.1 MORTALIDADE E TEMPO DE DESENVOLVIMENTO LARVAL

Houve uma interação significativa entre as variáveis estágio larval e alimento ($F=3,61$; $P=0,0002$), sendo a variável estágio significativa na mortalidade larval ($F=23,9$; $P<0,0001$), enquanto a variável alimento, analisada conjuntamente, apresentou diferença significativa ($F=2,91$; $P=0,026$) apenas entre a comida de gato e cachorro (Figura 8).

Em geral, o primeiro e terceiro instares foram os de maior mortalidade larval. Comparando-se a mortalidade para cada instar criados com diferentes alimentos, observou-se menor mortalidade entre as larvas alimentadas com comida de réptil e gato em relação aos demais alimentos durante o primeiro instar e peixe e gato e as demais para o terceiro estágio (Figura 8).

Não foram observadas diferenças na mortalidade das larvas de segundo instar em nenhum tratamento. As larvas do quarto estágio tiveram menor mortalidade quando alimentadas com comida de peixe em relação aquelas alimentadas com comida de cachorro (Figura 8).

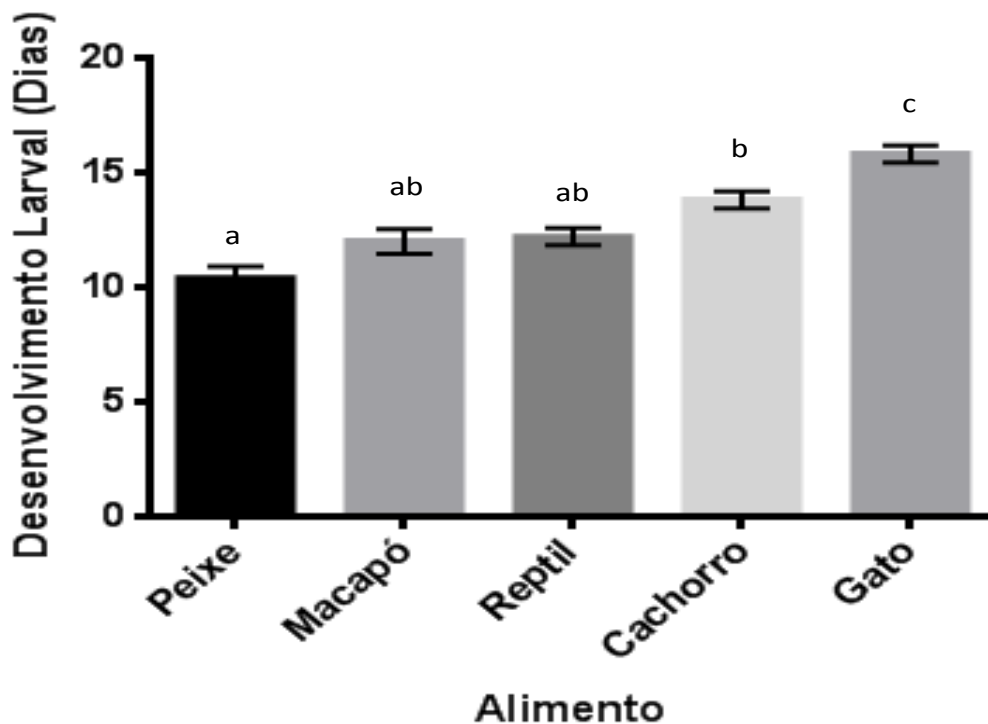
Figura 8: Mortalidade larval (média +/- desvio padrão) em vários estádios de *An. darlingi* criados com diferentes fontes de alimento.



Legenda: Peixe: Tetramin Tropical Flakes; Macapó: farinha de peixe, farinha de trigo, farinha de soja, farinha de maca, amido de milho e fubá (Moreno et al 2014); Réptil: Nutricon Pet; Cachorro: Royal Canin Canine Hepatic, Gato: Whiskas sabor peixe. Linhas com símbolos diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os instares; Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os instares para uma mesmo tipo de alimento; Números diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre diferentes alimentos para o mesmo instar.

O tempo de desenvolvimento larval tende a aumentar nas larvas alimentadas na seguinte sequência: comida de peixe < Macapó < comida de réptil < comida de cachorro < comida de gato. Observou-se diferenças significativas ($F=21,3$; $P < 0,0001$) com menor tempo de desenvolvimento para as larvas alimentadas com todos os alimentos em relação aquelas alimentadas com comida de gato (Figura 9).

Figura. 9: Tempo de desenvolvimento (média +/- desvio padrão) das larvas de *An. darlingi* criadas com diferentes alimentos.



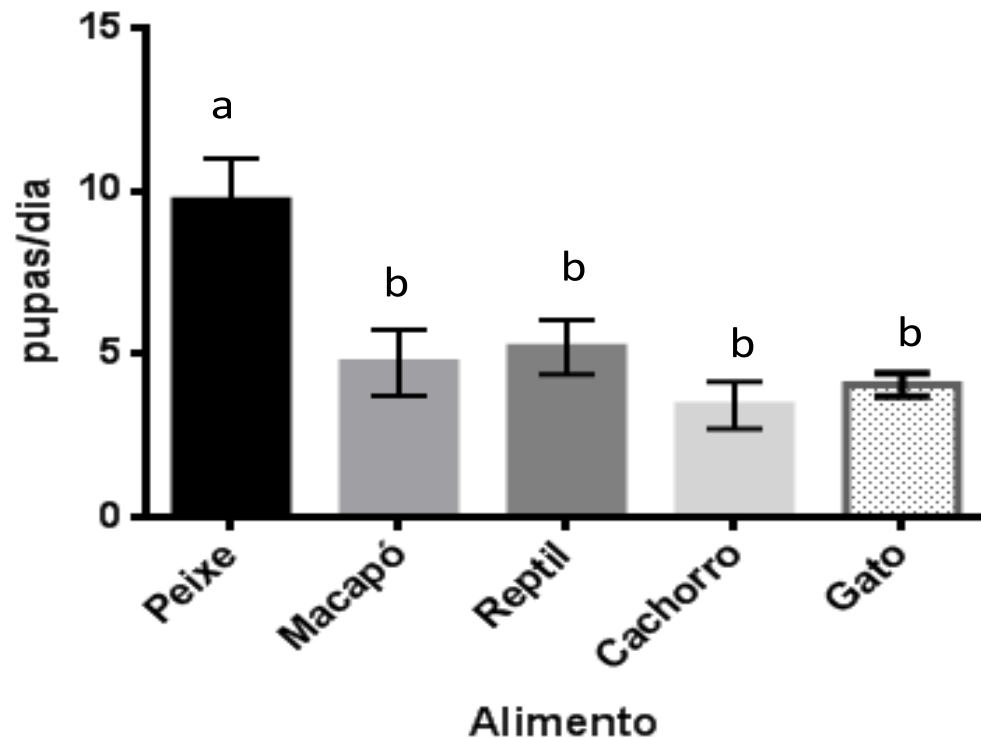
Legenda: Peixe: Tetramin Tropical Flakes; Macapó: farinha de peixe, farinha de trigo, farinha de soja, farinha de maca, amido de milho e fubá (Moreno et al 2014); Réptil: Nutricon Pet; Cachorro:

Royal Canin Canine Hepatic; Gato: Whiskas sabor peixe. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

4.2 PRODUÇÃO DE PUPAS E EMERSÃO DE ADULTOS

A média de produção de pupas diária foi significativamente ($F=7,64$; $P=0,0007$) maior nos tratamentos utilizando a comida de peixe em relação aos demais. (Figura 10).

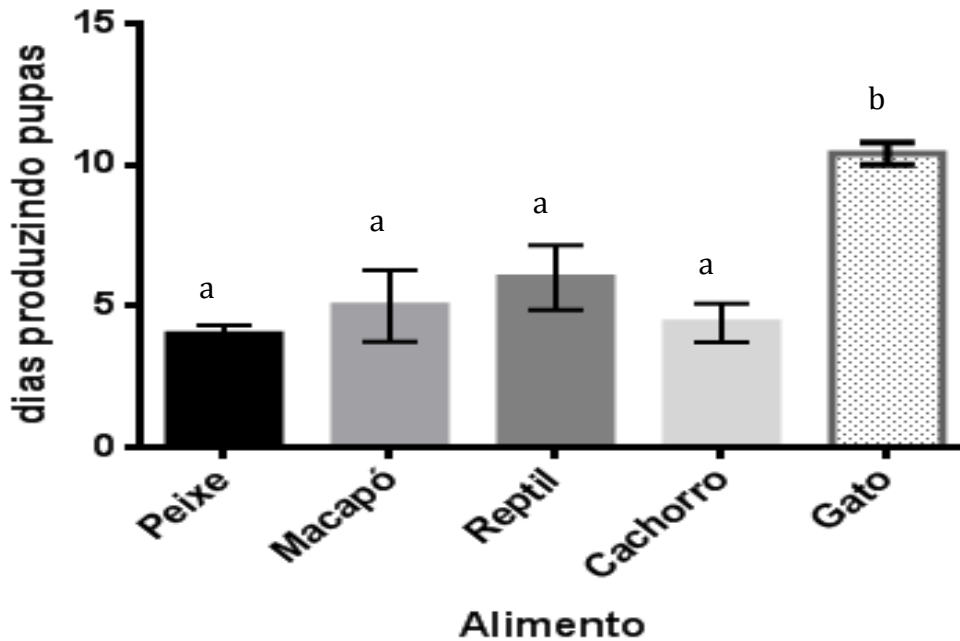
Figura 10: Produção de pupas por dia (média +/- desvio padrão) de *An. darlingi* oriundas de larvas criadas com diferentes alimentos.



Legenda: Peixe: Tetramin Tropical Flakes; Macapó: farinha de peixe, farinha de trigo, farinha de soja, farinha de maca, amido de milho e fubá (Moreno et al 2014); Réptil: Nutricon Pet; Cachorro: Royal Canin Canine Hepatic; Gato: Whiskas sabor peixe. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

Houve diferença significativa entre o número de dias com produção de pupas ($F=9,29$; $P=0,0002$), sendo de forma geral muito maior para as pupas oriundas de larvas alimentadas com comida de gato em relação aos demais tratamentos (Figura 11).

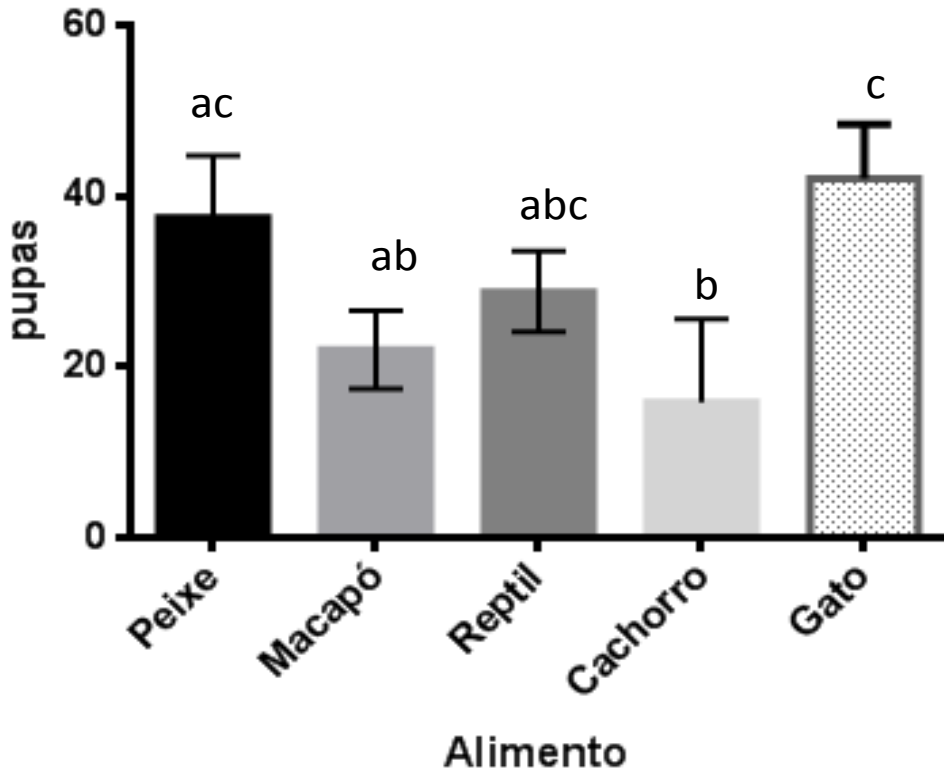
Figura 11: Número de dias com produção de pupas (média +/- desvio padrão) de *An. darlingi* oriundas de larvas criadas com diferentes alimentos.



Legenda: Peixe: Tetramin Tropical Flakes; Macapó: farinha de peixe, farinha de trigo, farinha de soja, farinha de maca, amido de milho e fubá (Moreno et al 2013); Réptil: Nutricon Pet; Cachorro: Royal Canin Canine Hepatic; Gato: Whiskas sabor peixe. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P<0,05$) entre os tratamentos.

A produção de pupas total tendeu a ser maior nas larvas criadas com comida de peixe e gato, mas as diferenças significativas ($F=7,1$; $P=0,001$) foram entre o número médio total de pupas produzidos no tratamento com comida de peixe e gato em relação a comida de cachorro (Figura 12).

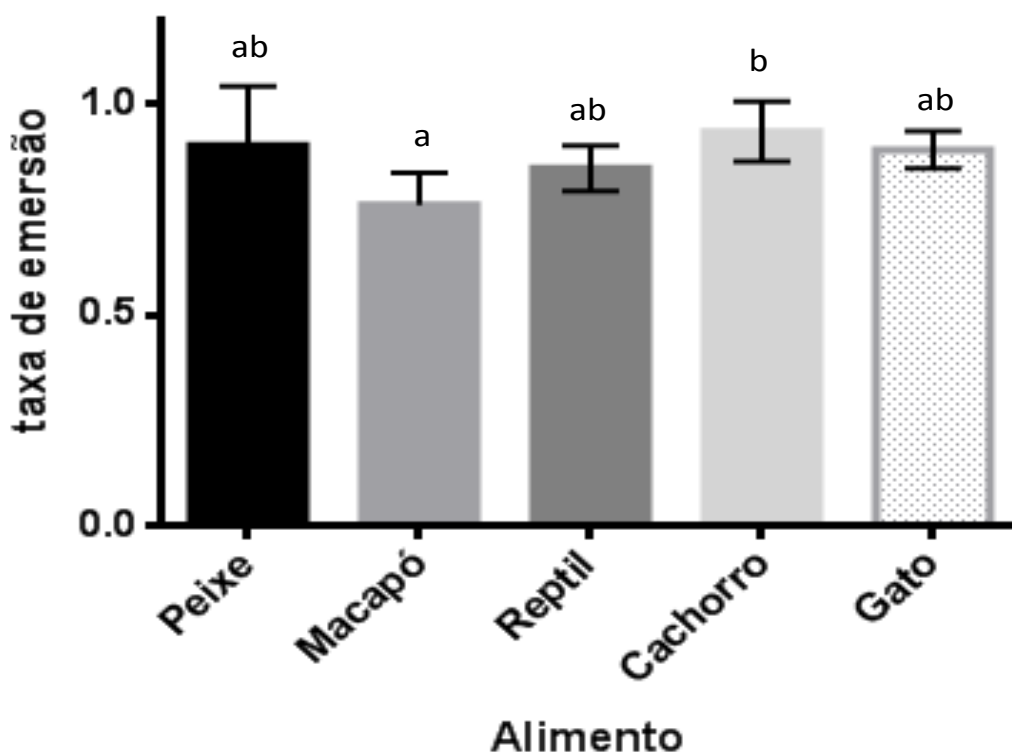
Figura 12: Produção de pupas total (média +/- desvio padrão) de *An. darlingi* oriundas de larvas criadas com diferentes alimentos.



Legenda: Peixe: Tetramin Tropical Flakes; Macapó: farinha de peixe, farinha de trigo, farinha de soja, farinha de maca, amido de milho e fubá (Moreno et al 2013); Réptil: Nutricon Pet; Cachorro: Royal Canin Canine Hepatic; Gato: Whiskas sabor peixe. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

De forma geral, as taxas de emersão dos indivíduos que atingiram o estágio de pupa em todos os tratamentos foi alta, com exceção das larvas alimentadas com Macapó, cuja a taxa de emersão foi significativamente ($F=3,16$; $P=0,036$) menor do que nas alimentadas com comida de cachorro (Figura 13).

Figura 13: Taxa de emergência de adultos de *An. darlingi* oriundos de larvas criadas com diferentes tipos de alimentos.

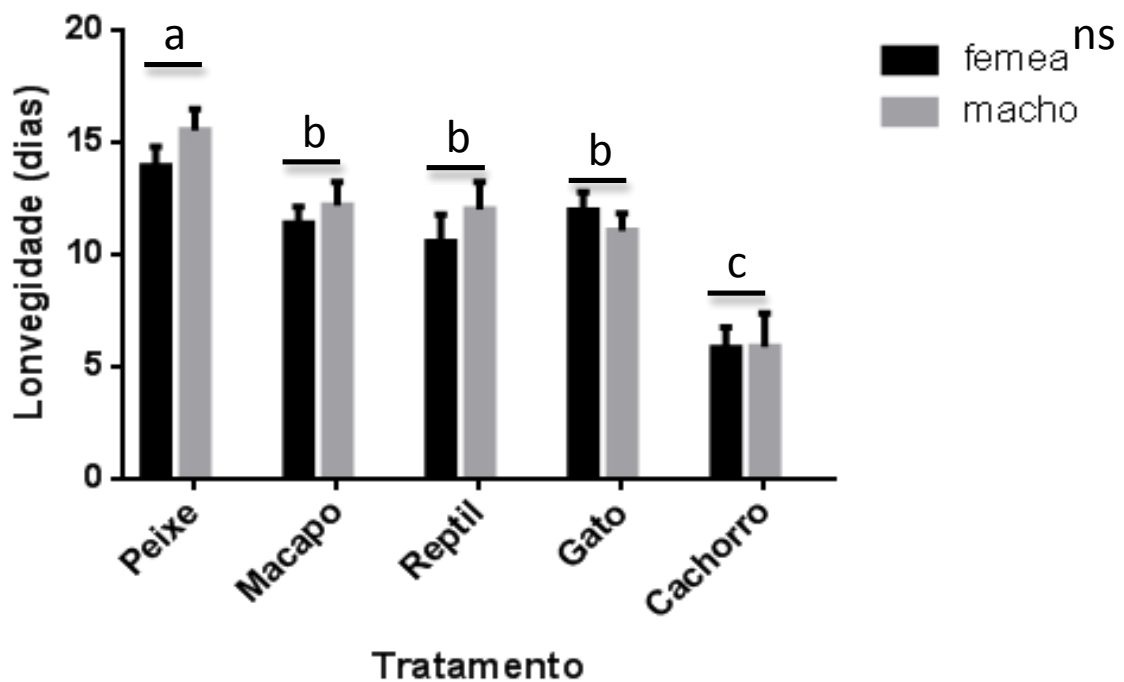


Legenda: Peixe: Tetramin Tropical Flakes; Macapó: farinha de peixe, farinha de trigo, farinha de soja, farinha de maca, amido de milho e fubá (Moreno et al 2013); Réptil: Nutricon Pet; Cachorro: Royal Canin Canine Hepatic; Gato: Whiskas sabor peixe. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

4.3 LONGEVIDADE DOS ADULTOS

Observou-se diferença significativa ($F=14,3$; $P < 0,0001$) na longevidade dos adultos oriundos de larvas criadas com diferentes alimentos, independentemente da alimentação açucarada, mas não houve diferenças entre os sexos ($F=0,77$; $P=0,38$) (Figura 14). Em geral, os adultos oriundos de larvas alimentadas com comida de peixe viveram mais em relação a adultos oriundos de larvas alimentadas com outros alimentos e os adultos oriundos de larvas alimentadas com comida de cachorro tiveram a menor longevidade.

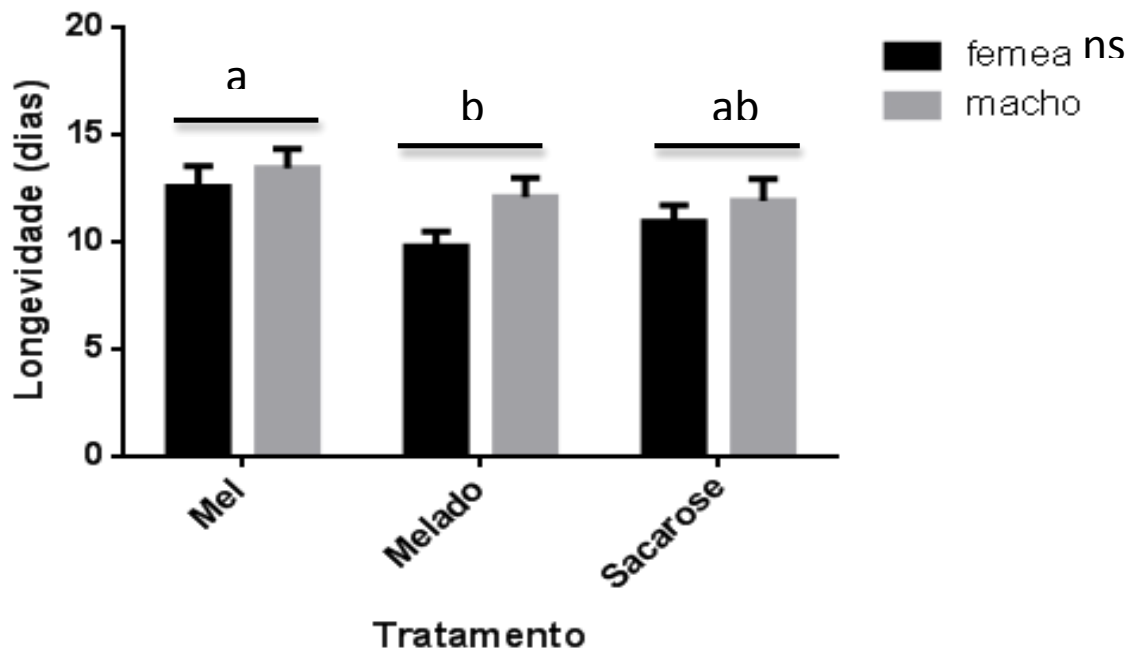
Figura 14: Longevidade (média +/- desvio padrão) de adultos machos e fêmeas de *An. darlingi* oriundos de larvas criadas com diferentes alimentos.



Legenda: Peixe: Tetramin Tropical Flakes; Macapó: farinha de peixe, farinha de trigo, farinha de soja, farinha de maca, amido de milho e fubá (Moreno et al 2013); Réptil: Nutricon Pet; Cachorro: Royal Canin Canine Hepatic, Gato: Whiskas sabor peixe. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre alimentos fornecidos.

Analisando-se a longevidade dos mosquitos que foram alimentados com diferentes fontes de açúcar independente da alimentação das larvas, observa-se que a alimentação com mel aumentou significativamente ($F=3,04; P=0,04$) a longevidade dos adultos em relação aqueles alimentados com melado (Figura 15), mas não houve diferença entre os sexos ($F=3,78; P=0,05$).

Figura 15: Longevidade (média +/- desvio padrão) de machos e fêmeas adultos de *An. darlingi* alimentados com diferentes fontes de açúcar a 10% (mel, melado e sacarose).



Legenda: Peixe: Tetramin Tropical Flakes; Macapó: farinha de peixe, farinha de trigo, farinha de soja, farinha de maca, amido de milho e fubá (Moreno et al 2013); Réptil: Nutricon Pet; Cachorro: Royal Canin Canine Hepatic, Gato: Whiskas sabor peixe. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

5. DISCUSSÃO

5.1 EFEITOS DO ALIMENTO NA BIOLOGIA LARVAL

Atualmente, pesquisadores que trabalham com mosquitos podem utilizar rações industrializadas (ARAÚJO et al., 2012), misturas entre rações industrializadas e outros ingredientes (MANORENJITHA e ZAIRI, 2012) ou apenas ingredientes selecionados (MORENO et al., 2014) para a criação de imaturos.

A utilização de rações industrializadas fornece dados gerais sobre o valor nutricional, teores de proteínas, gorduras, fibras e outros ingredientes. Dessa forma, rações com diferentes perfis nutricionais puderam ser utilizadas no presente trabalho variando de 47 (Peixe) a 14% (Cachorro) de proteínas e de 14 (Cachorro) a 3% (Réptil) de gorduras (Anexo 1).

De forma geral, a mortalidade larval de *An. darlingi* foi afetada pelo tipo de alimento fornecido e pelo estágio larval (Figura 8), sendo maior nos 1° e 3° estádios. Diferentemente de Araújo et al., (2012) que obtiveram maiores mortalidades em L4 e pupa. A mortalidade larval, em geral, foi maior do que a observada pelos mesmos autores comparando-se os dados com ração de peixe e as quantidades de alimento fornecidos. Kivuyo et al., (2014) também relataram baixa mortalidade de larvas de *Anopheles gambiae* alimentados com a mesma ração de peixe.

Bergo et al., (1990) estudaram diferentes dietas para *An. darlingi* e relataram mortalidade de apenas 5% para larvas alimentadas com farinha de peixe, farinha de pão e gérmen de trigo. Moreno et al., (2014) utilizaram uma dieta a base de farinha de peixe, farinha de trigo, farinha de soja, farinha de maca, amido de milho e fubá com sucesso para criação de *An. darlingi* no Peru, entretanto, a utilização da mesma dieta (Macapó) no presente trabalho não corrobora sua utilização para criação de *An. darlingi* de populações brasileiras e nas condições experimentais utilizadas.

Aparentemente, a mortalidade entre diferentes estádios larvais não está ligada a quantidade absoluta de proteínas e gorduras ou a sua proporção presente nos diferentes alimentos utilizados. Bergo et al., (1990), em trabalho

realizado com *An. darlingi*, relatam que o estágio inicial parece ter menos exigências nutricionais do que os intermediários, apesar disso, a mortalidade de *An. darlingi* no presente trabalho foi maior no primeiro estágio (Figura 8).

Em geral, houve uma diferença significativa entre a mortalidade de larvas criadas com comida de cachorro (14% de proteínas) e ração de gato (30% de proteínas) (Figura 8). As proteínas são fundamentais para os imaturos de mosquitos e meios sem proteínas ou aminoácidos, mas completos nos demais nutrientes são incapazes de promover a sobrevivência larval até o segundo estágio (GOLBERG e MEILLON, 1948a).

House (1969) destaca que uma vez que os nutrientes essenciais estejam presentes, sua proporção pode contribuir mais para a qualidade nutricional do que a quantidade absoluta. Dessa forma, é possível que as proporções entre outros ingredientes nas rações utilizadas podem estar relacionadas a mortalidade observada.

As larvas alimentadas com ração de peixe tiveram um desenvolvimento mais rápido, aproximadamente 10 dias, menor do que os relatados para *An. darlingi* (ARAÚJO et al., 2012) e por Lima (2009) para *An. albitarsis* utilizando também a ração para peixe Tetramin Tropical Flakes e a temperatura semelhante.

O tempo de desenvolvimento larval de *An. darlingi* tende a aumentar (Figura 9) nas rações que contém menores teores de proteínas (Anexo 1), com exceção da ração de gato. A quantidade de gordura, por outro lado pode não ser uma fator limitante, visto que meios sem gordura não afetaram o crescimento de *Ae. aegypti* (GOLBERG e MEILLON, 1948b).

Outras variáveis como a temperatura podem ter influenciado o tempo de desenvolvimento, pois o tempo de desenvolvimento observado por Araújo et al., (2012) utilizando a mesma ração de peixe foi muito maior do que no presente trabalho (i.e. 29 dias), durante seus experimentos, a temperatura utilizada na criação (27°C) em estufas entomológicas, enquanto no presente trabalho as larvas foram criadas em insetário com maior temperatura média (29°C) com resultados semelhantes aos de Bergo et al., (1990) que relataram a criação de *An. darlingi* em temperaturas variando entre 25 a 28°C.

A temperatura de criação associada ao menor tempo de desenvolvimento observado no presente trabalho podem estar ligadas a maior mortalidade observada. Embora não haja dados publicados para *An. darlingi*, Bayoh e Lindsay (2004) mostraram que a temperatura afetou significativamente a sobrevivência de *An. gambiae* e que temperaturas próximas ao limite superior (i.e. 30-32°C) levaram a maior mortalidade dessa espécie. Associado a isso, o menor tempo de desenvolvimento pode ter afetado a acumulação de massa crítica para mudança de estágio/estágio, Telang et al., (2007) observaram maiores proporções de pupação e eclosão de *Ae. aegypti* quando houve aumento do tempo disponível para alimentação.

A produção de pupas diária (Figura 10) foi maior nos tratamentos utilizando comida de peixe, além disso, a produção total de pupas (Figura 11) também tende a ser maior com essa ração, cuja a quantidade de proteínas é maior do que nas demais rações. Hood-Nowotny et al., (2012) observaram que a maior porcentagem de N nas dietas correlacionou-se significativamente com a maior produção de adultos de *An. arabiensis*.

Segundo Golberg e Meillon (1948a), em testes realizados com larvas de *Ae. aegypti*, a diminuição nos níveis de gordura afetou a produção de pupas e conseqüentemente a produção de adultos. No entanto, destacam que alto nível de gordura pode ser tóxico para as larvas. Akov (1962) observou também que a alta quantidade de gordura foi prejudicial as larvas de *Ae. aegypti*, fazendo com que não pupassem e muito menos emergissem adultos. No presente trabalho as rações com quantidade de gorduras entre 100 g/Kg (peixe) e 30g/Kg (réptil) mostraram ser melhores para a produção de pupas e adultos, em relação a ração de cachorro com a maior quantidade de gordura (140g/kg).

Nas rações testadas neste trabalho pode-se observar as mesmas vitaminas em quase todos os rótulos como a tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido pantotênico, biotina e ácido fólico (Anexo 1). Segundo Golberg et al., (1944) essas vitaminas são essenciais para que a larva se desenvolva e atinja o quarto estágio. Eles também observaram que o ácido fólico tem papel importante na pupação.

A diminuição da quantidade de tiamina nas dietas de *Ae. aegypti* aumentou a mortalidade das pupas e levou a incompleta emergência de adultos; a falta de

riboflavina aumentou a mortalidade larval e a de ácido pantotênico retardou o desenvolvimento larval (AKOV e GUGGENHEIM, 1963).

Segundo Singh e Brown (1957), a vitamina Bt e a colina são requeridos para o crescimento e desenvolvimento normal de *Ae. aegypti*. A ausência de vitamina B12 atrasa a pupação e a ausência do ácido amino benzóico atrasa a ecdise. Os mesmos autores mostraram que sem glutatona, apenas 25% das larvas chegam ao 4° instar. Além disso, na falta de piridoxina e ácido fólico apenas 60 e 65 % das larvas que chega no 4° instar, respectivamente e nenhuma pupa foi obtida.

A biotina, vitamina presente em algumas das rações testadas, tem importante papel no desenvolvimento larval, principalmente na metamorfose de larva para mosquito. Segundo Trager (1948), os resultados obtidos com larvas de *Ae. aegypti* demonstram que a omissão ou a baixa concentração da biotina na dieta tornou o desenvolvimento das larvas lento, além de impedir a pupação. Por outro lado, o excesso também pode ser tóxico para as larvas.

5.2 EFEITO DA ALIMENTAÇÃO NA LONGEVIDADE DOS ADULTOS

O açúcar é o alimento básico de mosquitos adultos e pode ser ingerido entre 2-5 dias em regiões temperadas e subtropicais. Além disso, alimentação açucarada é comum após a emergência, embora tenda a declinar com a idade (FOSTER, 1995).

As principais fontes de açúcar na natureza são nectários florais que usualmente contém sacarose, frutose e glicose em concentrações entre 20 - 50%, além de alguns aminoácidos e lipídeos (FOSTER, 1995). No entanto, não foram encontradas informações sobre os efeitos na utilização de diferentes fontes de açúcar na biologia de mosquitos em geral.

No presente trabalho utilizou-se a concentração de 10% para todas as fontes de açúcar que, são mais do que suficientes para impedir o déficit energético causado por concentrações entre 0,5 e 1% (FOSTER, 1995).

De forma geral, os adultos oriundos de larvas alimentadas com comida de peixe tiveram maior longevidade, e os adultos alimentados com mel a 10%

tiveram maior longevidade do que os alimentados com melado e não houve diferenças na proporção entre machos e fêmeas (Figura 14), diferente do observado no trabalho de Araújo et al., (2012), onde as fêmeas tiveram maior longevidade do que os machos.

Diferentemente da sacarose, o mel e o melado são fontes mais complexas de nutrientes que incluem vitaminas, sais minerais e pequenas quantidades de proteína/aminoácidos (CAMARGO et al, 2006; HERING, 2015), mas fornecem menores quantidades de açúcares totais do que a sacarose.

O mel possui em sua totalidade 80% de açúcares sendo a frutose e a glicose e mais 10% de sacarose e maltose. Ele também é composto por água, proteínas, enzimas, ácidos orgânicos, minerais e uma concentração de vitaminas.

O melaço de cana possui açúcar em menor quantidade do que o mel, possui uma concentração maior dos demais nutrientes presentes no mel (CAMARGO et al, 2006; HERING, 2015).

Segundo as informações nutricionais dos rótulos das fontes comerciais de mel (Apicultura silvestre LTDA) e melado (Da Colônia Alimentos Naturais LTDA) utilizadas no trabalho, o mel fornece quantidades maiores de carboidratos.

A presença de aminoácidos, oriundas do néctar usado na produção do mel, pode aumentar bastante o tempo de vida dos mosquitos, além disso, cada alimentação açucarada realizada pode estender a vida dos mosquitos em dias ou semanas, além disso, a ingestão de açúcar é fundamental para o voo, contribui para o desenvolvimento ovariano e aumento da produção de ovos (Foster, 1995). Segundo Vrzal et al., (2010) a adição de aminoácidos a dieta de adultos de *Culex quinquefasciatus* aumentou em 5% na sobrevivência geral.

O mel utilizado na alimentação de *Catolaccus grandis* por Wanderley et al., (2004) aumentou a longevidade de fêmeas e machos, assim como o potencial reprodutivo das fêmeas, tendo como valores médios para macho 33,33 dias e 29,33 dias e para fêmeas 33,87 dias e 29,33 dias. Quando alimentados com melado de cana a longevidade diminuiu para 14,20 dias e 11,87 dias para machos e 11,27 dias e 10,93 dias para fêmeas. No presente trabalho observa-se uma maior longevidade nos mosquitos tratados com mel em relação aos tratados com melado de cana.

Além de alterações na longevidade geral, utilização de açúcares na alimentação de mosquitos está relacionada a resposta imune (melanização) de *An. stephensi* contra a invasão de patógenos, visto que o aumento da concentração de açúcar de 2% para 6% aumentou significativamente a melanização de beads de Sepharose (KOELLA e SORENSEN, 2002). Gu et al., (2011) relataram que *Anopheles sargentii* oriundos de locais ricos em fontes de açúcar apresentavam maiores populações e taxas de sobrevivência, bem como menor tempo para o ciclo gonotrófico e capacidade vetorial 250 vezes maiores que mosquitos de locais pobres em fontes de açúcar.

6. CONCLUSÕES

A mortalidade, tempo de desenvolvimento e estágio larval de *Anopheles darlingi* são afetados pela alimentação utilizada na criação dos imaturos.

A produção de pupas diária e total de *Anopheles darlingi* é influenciada pelo tipo de alimentação larval.

A longevidade de adultos de *Anopheles darlingi* oriundos de larvas criadas com diferentes alimentos diferiu entre os tratamentos. Por outro lado, o tipo de alimentação larval não afetou a proporção de macho e fêmeas obtidos.

A fonte de alimentação açucarada dos adultos afeta a longevidade dos mosquitos, independentemente da fonte de alimentação das larvas.

REFERÊNCIAS

AKOV, S. **A qualitative and quantitative study of the nutritional requirements of *Aedes aegypti* L. larvae.** Inst. Physiol., vol. 8, p. 319, 1962.

AKOV, S.; GUGGNHEIM, K. **Antimetabolites in the nutrition of *Aedes aegypti* L. larvae. Thiamine, riboflavin and pantothenic acid antagonists.** The Journal of Nutrition, v. 81, p. 419-426, 1963.

ARAÚJO, M. S.; GIL, L. H. S.; SILVA, A. A. E. **Larval food quantity affects development time, survival and adult biological traits that influence the vectorial capacity of *Anopheles darlingi* under laboratory conditions.** Malaria Journal, 2012.

BAYOH, M. N. LINDSAY, S. W. **Temperature-related duration of aquatic stages of the Afrotropical malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* in the laboratory.** Medical and Veterinary Entomology. 18, p.174-179, 2004.

BERGO, E. S. et al. **Avaliação do desenvolvimento larval de *Anopheles darlingi* criado em laboratório sob diferentes dietas.** Rev. Saúde pública, São Paulo, 24(2): 95-100, 1990.

BURALLI, G. M. BERGO, E. S. **Manutenção de colônia de *Anopheles darlingi* Root, 1926, em laboratório.** Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 30 (3):157-164, 1988.

CAMARGO, R.C.R. et al. **Mel: Características e propriedades.** Embrapa Meio-Norte, 2006.

CARRERA, M. **Insetos de interesse médico e veterinário.** Curitiba, Editora da UFPR p. 228, 1991.

CLEMENTS, A. N. **The biology of mosquitoes. Development, nutrition and reproduction.** Grã-Bretanha, University Cambridge. Vol. 1, 1992.

COLUZZI, M. **Maintenance of laboratory colonies of *Anopheles* Mosquitos.** Bull. Org. mond. Santé, vol. 31, p. 441-443, 1964.

CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO DE OLIVEIRA, R. **Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil.** Rio de Janeiro: Fiocruz, p.190-196, 1994.

DADD, R. H. **Insect nutrition: current developments and metabolic implications.** Annu. Rev. Entomol. 18:381-420, 1973.

DAMIENS, D. et al. **An inexpensive and effective larval diet for *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae): Eat like a horse, a bird, or a fish?** J. Med. Entomol. 49(5): 1001-1011, 2012.

DEANE, L. M.; CAUSEY, O. R.; DEANE, M. P. **Notas sôbre a distribuição e a biologia dos anofelinos das regiões nordestina e amazônica do Brasil.** *Revista do Serviço Especial de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 1, n. 4, p. 827 - 965, maio, 1948.

DEANE, L. M.; VERNIN, C.S.; DAMASCENO, R.G. **Avaliação das preferências alimentares das fêmeas de *Anopheles darlingi* e *anopheles aquasalis* em Belém, Pará, por meio de Provas de precipitina.** *Revista do Serviço Especial de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 2, n. 3, p. 793 - 808, jul. 1949.

FORATTINI, O.P. **Culicidologia Médica.** São Paulo: Edusp.v.2, p. 860, 2002.

FOSTER, W.A. **Mosquito sugar feeding and reproductive energetics.** Rev. Entomol. 40:443-74, 1995.

FRAENKEL, G.; BLEWETT, M. **The Vitamin B-complex Requirements of Several Insects.** Department of Zoology and Applied Entomology, Imperial College of Science and Technology, London, S.W. 7, 1943.

GAMA, R. A. **Periodicidade de hematofagia de *Anopheles darlingi*, em Porto Velho (RO), e modificação da armadilha BGSentinel® para a captura de anofelinos, visando à substituição da atração humana.** (doutorado) Universidade Federal de Minas Gerais: Instituto de Ciências Biológicas. Belo Horizonte, 2009.

GAMA, R. A. et al. **Development of the BG-Malaria trap as an alternative to human-landing catches for the capture of *Anopheles darlingi*.** *Mem Inst Oswaldo Cruz*. Vol. 108(6): p.763-771, 2013.

GARY, R. E.; FOSTER, W. A. **Effects of available sugar on the reproductive fitness and vectorial capacity of the malaria vector *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae).** J. Med. Entomol. 38(1): 22-28, 2001.

GIL, L. H. et al. **Seasonal malaria transmission and variation of anopheline density in two distinct endemic areas in Brazilian Amazonia.** *Journal of Medical Entomology*, v. 5, p. 636-41, 2003.

GOLBERG, L.; MEILLON, B. **The nutrition of the larva of *Aedes aegypti* Linnaeus – 3. Lipid requirements.** South African Institute for Medical Research, Johannesburg. Vol. 43, 1948a.

GOLBERG, L.; MEILLON, B. **The nutrition of the larva of *Aedes aegypti* Linnaeus – 4. Protein and amino-acid requirements.** South African Institute for Medical Research, Johannesburg, Vol. 43, 1948b.

GOLBERG, L, MEILLON, B. LAVOIEPIERRE, M. **The nutrition of the larva of *Aedes aegypti* L. II. Essential water-soluble factors from yeast.** [S.l:s.n.] 1944.

GU, W. et al. **Natural plant sugar sources of *Anopheles* Mosquitoes strongly impact malaria transmission potential.** Plos One. Vol. 6, 2011.

HERING, A.C. **Melado de cana de açúcar: Um alimento fora de moda, mas que merece voltar – para ficar.** Disponível em: <www.nutrisurya.com>. Acesso em: 22/03/2015.

HOOD-NOWOTNY, R. et al. **An analysis of diet quality, how it controls fatty acid profiles, isotope signatures and stoichiometry in the malaria mosquito *Anopheles arabienses*.** Plos One, vol. 7, outubro, 2012.

HOUSE, H. L. **Effects of different proportions of nutrients on insects.** Ent. exp. & appl. 12: 651-669. North-Holland Publishing Co., Amsterdam, 1969.

KIVUYO, H. S. et al. **Performance of five food regimes on *Anopheles gambiae* Senso Stricto larval rearing to adult emergence in insectary.** Plos One, vol. 9, 2014.

KLEIN, T. A.; LIMA, J. B. P.; TADA, M. S. **Comparative susceptibility of anopheline mosquitoes to *Plasmodium falciparum* in Rondônia, Brazil.** *American Journal Tropical Medical Hygiene*, v. 44, p. 598-603, 1991a

KLEIN, T. A.; TADA, M. S.; LIMA, J. B. P. **Infection of *Anopheles darlingi* fed on patients with *Plasmodium falciparum* before and after treatment with quinine or quinine plus tetracycline.** *American Journal Tropical Medical Hygiene*, v. 44, p. 604-608, 1991b.

KOELLA, J.C. SORENSEN, F.L. **Effect of adult nutrition on the melanization immune response of the malaria vector *Anopheles stephensi*.** *Medical and Veterinary Entomology*, 16, 316-320, 2002.

LAMBRECHTS, L. et al. **Environmental influence on the genetic basis of mosquito resistance to malaria parasites.** *Proc. R. Soc. B*, p. 1501-1506, 2006.

LIMA, A. S. S. **Aspectos básicos do desenvolvimento e da reprodução em laboratório de *Anopheles* Neotropicais, vetores de malária.** (mestrado). Instituto Oswaldo Cruz – Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária, 2009.

MANORENJITHA, M. S.; ZAIRI, J. **Nutrition and overcrowding effects on larval development and fecundity of female *Aedes albopictus* (Skuse)**. International Journal of Life Science and Medical Research. Vol. 2, p.63-67, 2012.

MARCONDES, C. B. **Entomologia Médica e Veterinária**. São Paulo: Editora Atheneu. p. 432, 2001.

MORENO, M. et al. **Infection of Laboratory-Colonized *Anopheles darlingi* Mosquitoes by *Plasmodium vivax***. Am. J. Trop. Med. Hyg., 90(4), pp. 612–616, 2014.

MORIBAYASHI, A. et al. **Polyunsaturated fatty acid, eicosapentaenoic acid, mediates larval-pupal and pupal-adult development in the malarial vector mosquito, *Anopheles stephensi***. Med. Entomol. Zool. Vol. 55, p. 59-66, 2004.

PANIZZI, A. R. PARRA, J. R. P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991.

REY, L. **Parasitologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 883, 2008. SILVA, A. N. M. et al. **Laboratory colonization of *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae) in Belém, Pará, Brazil**. J. Med. Entomol. 43(1): 107-109, 2006.

SILVERMAN, P. H. LEVINSON, Z. H. **Lipid requirements of the larva of the Housefly *Musca vicina* (Macq.) reared under non-aseptic conditions**. [S.l.:s.n.] Vol. 58, p. 291-294, 1954.

SINGH, K.R.P. BROWN, A.W.A. **Nutritional requirements of *Aedes aegypti* L.** Ins. Physiol, vol. 1, p.199, 1957.

SINKA E. M. et al. **A global map of dominant malaria vectors**. Parasites e Vectors, 5:69, 2012.

TELANG, A. FRAME, L. BROWN, M. R. **Larval feeding duration affects ecdysteroid levels and nutritional reserves regulating pupal commitment in the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**. The Journal of Experimental Biology, 210, p. 854-864, 2007.

TRAGER, W. **Biotin and fat-soluble materials with biotin activity in the nutrition of mosquito larvae**. J. Biol. Chem. 176:1211-1223, 1948.

VENTURINI, K. S. SARCINELLI, M. F. SILVA, L. S. **Características do mel**. Universidade Federal do Espírito Santo – Programa Institucional de Extensão. Boletim técnico, 2007.

VILLARREAL-TREVINO, C. et al. **Establishment of a free-mating, long-standing and highly productive laboratory colony of *Anopheles darlingi* from the Peruvian Amazon.** Malaria Journal, 14:227, 2015.

VRZAL, E. M. ALLAN, S. A. HAHN, D. A. **Amino acids in nectar enhance longevity of female *Culex quinquefasciatus* mosquitoes.** Journal of Insect Physiology, vol. 56, p. 1659-1664, 2010.

WANDERLEY, P.A. et al. **Efeito de quatro tipos de mel na longevidade e reprodução de *Catolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae).** Ciencia Rural, Santa Maria, vol. 34, n. 4, p. 979-983, 2004.

ANEXOS

1 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DAS RAÇÕES TESTADAS

Ração Tetramin Tropical Flakes – ingredientes: arroz integral, etoxiquin, extrato de levedura, farelo de aveia, farelo de soja, farinha de algas marinhas, farinha de camarão, farinha de peixe, fosfato de cálcio, glúten de trigo hidrolisado, lecitina de soja, levedura inativada, óleo de peixe refinado, óleo de soja refinado, proteína de batata, sorbitol, vitamina C. premix vitamínico. Corantes: amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, azul indigotina, beta-caroteno, bixina, vermelho eritrozina

Informações nutricionais: umidade (máx): 60g/kg, proteína bruta (mín) 470g/kg, extrato etéreo (mín) 100g/kg, matéria fibrosa (máx) 30g/kg, matéria mineral (máx) 200,5g/kg, cálcio (máx) 10,8g/kg (mín) 10,1g/kg, fósforo (mín) 1000mg/kg.

Macapó (Moreno et al, 2014) - ingredientes: 24 g farinha de peixe, 24 g farinha de trigo, 13 g farinha de soja, 13 g farinha de maca, 13 g amido de milho e 13 g fubá.

Nutricon Pet – ingredientes: farinha de peixe, farelo de soja, quirera de arroz, farelo de trigo, cerelose, polpa de beterraba, sacarose, calcário calcítico, fubá de milho, glúten de milho, feno de alfafa, polpa de banana, aroma de banana, fosfato bicálcico, farinha de trigo, amido de milho, levedura de cana de açúcar, óleo de soja, cloreto de sódio (sal comum), corantes (amarelo tartrazina, verde folha, vermelho bordeaux), prebiótico (0,1%), vitamina C monofosfatada (0,1%), suplemente vitamínico e mineral: (sulfato de cobre, sulfato ferroso, sulfato de manganês, sulfato de cobalto, iodato de cálcio, sulfato de zinco, selenito de sódio, vitamina A 20.000,00 UI, vitamina D3 5.000,00 UI, vitamina E 250,00 UI, vitamina K3 (menadiona) 25,00 mg, vitamina B1 (tiamina) 37,50 mg, vitamina B2 (riboflavina) 37,50 mg, vitamina B6 (piridoxina) 25,00 mg, vitamina B12 (cianocobalamina) 50,0 mcg, vitamina C (ácido ascórbico monofosfatado), niacina 500,00 mg, pantotenato de cálcio, ácido fólico 12,50 mg, biotina 1,25 mg, ácido

pantoténico 100,00 mg, colina 1.000,00 mg, cloreto de colina, inositol 250,00 mg, cobalto 0,25 mg, cobre 12,50 mg, ferro 125,00 mg, iodo 1,25 mg, manganês 37,50 mg, selênio 0,25 mg, zinco 125,00 mg, vitamina C 250,00 mg) fungistático e antioxidante.

Eventuais substitutos: concentrado proteico de soja, spirulina, feno de alfafa pelotizado, glúten de trigo, levedura de cerveja, soja integral e corante verde menta.

*Espécies doadoras de gene: *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus thuringiensis*, *Streptomyces viridochromogenes*.

Níveis de garantia: umidade (máx) 120g/kg, proteína bruta (mín) 200g/kg, extrato etéreo (mín) 30g/kg, matéria fibrosa (máx) 70g/kg, matéria mineral (máx) 90g/kg, cálcio (máx) 30g/kg (mín) 10g/kg, fósforo (mín) 7.000mg/kg, mananoligossacarídeos (mín) 1.200mg/kg, vitamina C (mín) 420mg/kg.

Ração Royal Canin Canine Hepatic – ingredientes: quireira de arroz, proteína hidrolisada de soja, gordura de frango, gordura suína, polpa de beterraba, casca de ervilha, óleo de soja refinado, fosfato bicálcico, cloreto de potássio, óleo de peixe refinado, fruto-oligossacarídeos, cloreto de sódio (sal comum), fosfato monocálcico, extrato de Marigold, glúten de trigo, vitaminas (A, C, E, D3, B1, B2, B6, B12, PP, K3), ácido pantoténico, ácido fólico, biotina, cloreto de colina, carbonato de cálcio, sulfato de ferro, óxido de manganês, zinco aminoácido quelato, iodato de cálcio, selenito de sódio, fígado de frango, taurina, L-lisina, DL-metionina, L-carnitina, antioxidante (BHA). *proteína hidrolisada de soja e óleo de soja produzidos a partir de soja geneticamente modificada por *Agrobacterium sp.*

Níveis de garantia: proteína bruta (mín) 140.0 g/kg, umidade (máx) 95.0 g/kg, matéria fibrosa (máx) 35.0 g/kg, fósforo (mín) 4100.0 mg/kg, vitamina A 11590.0 (UI), vitamina E 600.0 (UI), vitamina C 200.0 mg, taurina (mín) 1890.0 mg/kg, L-carnitina (mín) 300.0 mg/kg, extrato etéreo (mín) 140.0 g/kg, matéria mineral (máx) 56.0 g/kg, metionina (mín) 7290.0 mg/kg, lisina (mín) 8460.0 mg/kg, energia metabolizável 3990.0 kcal/kg.

Whiskas sabor peixe – ingredientes: farinha de peixe, farinha de subprodutos de frango, glúten de milho, quirera de arroz, milho integral moído, gordura de frango, gordura bovina, farinha de trigo, taurina, metionina, palatabilizante, vitaminas (A, B1, B2, B6, B12, D3, E, K3, ácido fólico, niacina, biotina, cloreto de colina, ácido pantoténico), minerais (cloreto de sódio (sal comum), cloreto de potássio, óxido de zinco), antioxidantes e corantes.

Enriquecimento por quilograma do produto (mín): vitamina A (6.900 UI), vitamina B1 (6,5 mg), vitamina B2 (5 mg), vitamina B6 (5 mg), vitamina B12 (25 µg), vitamina D3 (700 UI), vitamina K3 (0,115 mg), ácido pantoténico (7 mg), biotina (0,075 mg), colina (2400 mg), niacina (70 mg), ácido fólico (1,0 mg).

Níveis de garantia: umidade 120 g/kg (12%), proteína bruta (mín) 300 g/kg (30%), extrato etéreo (mín) 90 g/kg (9,0%), matéria fibrosa (máx) 40 g/kg (4,0%), matéria mineral (máx) 85 g/kg (8,5%), cálcio (mín) 6000 mg/kg (0,6%), cálcio (máx) 12 g/kg (1,2%), fósforo (mín) 7000 mg/kg (0,7%), fósforo (máx) 12 g/kg (1,2%), magnésio (máx) 1000 mg/kg (0,1%), sódio (mín) 8000 mg/kg, potássio (mín) 7000 mg/kg, zinco (mín) 100 mg/kg, ácido linoleico (mín) 18 g/kg, vitamina E (mín) 45 UI/kg, taurina (mín) 1000 mg/kg, metionina (mín) 6200 mg/kg.