

MANUTENÇÃO EM LABORATÓRIO DE *ANOPHELES ALBITARSIS* E
ANOPHELES AQUASALIS POR COPULAÇÃO INDUZIDA

MERCIA E. ARRUDA *
RICARDO I. RIOS **
PAULO C. ARANTES **
ANA C. OLIVEIRA **
LUZENÁRIO P. NASCIMENTO **

Introduzimos a técnica da copulação induzida para a manutenção e criação em cativeiro, do Anopheles albitarsis e do A. aquasalis, objetivando facilitar futuros trabalhos com estas espécies de difícil cruzamento espontâneo em laboratório.

A manutenção de anofelinos em laboratório é muitas vezes problemática devido às dificuldades relativas à sua reprodução em cativeiro. A técnica da copulação induzida, inicialmente descrita para o *Aedes vexans* por McDaniel e Horsfall (1957), e adaptada por Baker, French & Kitzmiller (1962) para anofelinos, contribuiu para solucionar em grande parte estas dificuldades. Em 1967, Horsfall e Taylor informaram que, às custas de cópula induzida, colônias de cerca de 40 espécies dos gêneros *Anopheles*, *Aedes*, *Psorophora* e *Culiseta* podiam ser mantidas em laboratório.

Nosso estudo introduz esta técnica para criação e manutenção em cativeiro do *A. albitarsis* e do *A. aquasalis*, importantes vetores da malária no Brasil, e cuja colonização em laboratório tem-se mostrado difícil. As tentativas anteriores com essas espécies em nosso país não têm sido bem sucedidas, em vista da raridade ou ausência de cruzamentos.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos espécimens adultos provenientes da oviposição de fêmeas capturadas na localidade de São Bento, Município de Duque de Caxias, Estado do Rio de Janeiro.

Estes adultos foram mantidos em recipientes cilíndricos de papelão (18cm de altura por 17 cm de diâmetro), com sua abertura superior ocluída por uma tela de náilon. Ambos os sexos foram alimentados com solução de glicose à 10% e as fêmeas receberam repastos sanguíneos.

* Instituto Oswaldo Cruz, Cx. Postal 926 – 20000 Rio de Janeiro, Brasil.

** Instituto de Biologia da UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.

Para efetuar a cópula, os machos foram retirados dos recipientes por sucção e colocados, vivos, entre dois chumaços de algodão. Para facilitar a manipulação durante a cópula, seus mesonotos foram transpassados lateralmente por microalfinetes afixados a finos bastões de madeira. A seguir, os machos foram decapitados, pois o gânglio subesofágico, onde se encontra o centro de inibição da cópula, localiza-se na cabeça. (Roeder, 1935). Tiveram também suas patas posteriores arrancadas para facilitar o contato durante a cópula.

As fêmeas, também retiradas por sucção, foram, no próprio sugador, levemente anestesiadas com éter embebido em algodão, para provocar o relaxamento dos apêndices abdominais e colocadas dorsalmente sobre a platina do estereomicroscópio.

Depois, sob aumento de 15 vezes, foram aproximadas as extremidades posteriores do macho e da fêmea, de forma que seus abdomens se colocassem em um ângulo de 90°. A este estímulo de contato, o macho responde abrindo as pinças genitais e apreendendo a porção terminal da fêmea, iniciando-se, assim, a cópula que dura cerca de 5 segundos. Após a cópula, os machos foram desprezados e as fêmeas transferidas, individualmente, para frascos de Borrel tendo no fundo uma camada de algodão úmido recoberta por um disco de papel de filtro, onde foram mantidas até a oviposição.

Os ovos provenientes destas posturas foram semeados em recipientes esmaltados contendo água destilada. Após a eclosão, as larvas foram alimentadas com Dogui (alimento para cães, Cargill Agrícola S.A.) até a fase de pupa, quando foram transferidas, em copos de plástico, para recipientes cilíndricos do tipo descrito anteriormente.

Todo este processo teve lugar em um insetário a uma temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $80 \pm 3\%$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conseguimos induzir à cópula 121 mosquitos fêmea da espécie *A. albipennis*, dos quais 92 desovaram. Com a descendência desta postura e novamente através da cópula induzida, obtivemos quatro gerações. Com o *A. aquasalis* logramos que 72 fêmeas copulassem, 37 das quais desovaram. Também, por cópula induzida, chegamos à segunda geração. Os ovos de ambas as espécies, em quase sua totalidade, eram férteis. Uma contaminação por fungos impediu a continuação da experiência.

No decorrer de nosso trabalho, comprovamos a importância das condições ambientais tanto em relação à manutenção dos anofelinos quanto à eficácia da técnica de cópula utilizada. Verificamos que a simples transferência dos mosquitos para fora do insetário alterava sua resposta ao contato com a fêmea. Os índices de temperatura e umidade mantidos no insetário durante o experimento foram estabelecidos a partir da proposta de Coluzzi (1964).

A idade do macho é também de importância fundamental. Apesar de anatomicamente preparado para a cópula horas após sua eclosão, observamos que o índice de fertilização das fêmeas aumentava quando utilizávamos machos com a idade variando entre 8 e 14 dias. Quanto às fêmeas, não observamos variação da fertilidade em relação à sua idade.

Embora a colonização destas espécies já tenha sido obtida por Galvão, Corrêa & Grieco (1944), acreditamos que nosso trabalho abre novas perspectivas para a manutenção de mosquitos em laboratório, pois a técnica por ele utilizada é complexa e de difícil reprodução. O método da cópula induzida descrito neste trabalho possibilita a obtenção sistemática e homogênea destes mosquitos em cativeiro.

SUMMARY

Many species of mosquitoes are unsuited to life in a laboratory because they fail to copulate in cages. This situation may be largely eliminated by the technique in current use for manually inducing insemination as outlined. We have used this technique for the first time in relation to *Anopheles albitarsis* and *A. aquasalis*, species of malaria vectors which are difficult to mate spontaneously in captivity. The pre-mating age of the males and the temperature at which they are held affect the ability of male to transfer sperm. Mating males 8 to 14 days old with females at any age, resulted in a high order of insemination. Temperature of 25°C and humidity of 80% RH enhanced the degree of insemination.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKER, R.H.; FRENCH, W.L. & KITZMILLER, J.B., 1962. Induced copulation in *Anopheles* mosquitoes. *Mosq. News* 22 :16-17.
- COLUZZI, M., 1964. Maintenance of laboratory colonies of *Anopheles* mosquitoes. *Bull. Wld Hlth Org.* 31 :441-443.
- GALVÃO, L.A.; CORRÊA, R.R. & GRIECO, S.J., 1944. Alguns dados sobre a manutenção de colônias de *Nyssorhynchus* em laboratório. *Arq. Hig. Saúde Públ* 9 :85-102.
- HORSFALL, W.R. & TAYLOR, M.L., 1967. Temperature and age as factors in inducing insemination of mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Ann. Entom. Soc. Am.* 60 :118-120.
- McDANIEL, I.N. & HORSFALL, W.R., 1957. Induced copulation of Aedine mosquitoes. *Science* 125 :745.
- ROEDER, K.D., 1935. *Biol. Bull.* 69 :203. Apud McDANIEL & HORSFALL.