

Vera Margarete Scarpassa (\*\*)

Wanderli Pedro Tadei (\*\*\*)

## RESUMO

No estudo do ciclo biológico de *Anopheles nuñez-tovari* foram analisadas 108 posturas, totalizando 13.999 ovos. A média de ovos postos por postura foi de  $128,83 \pm 4,85$  e uma taxa de eclosão elevada de 84,06%. Foi constatado que 89% dos ovos eclodem com 48 horas após a oviposição, mostrando, no total, um período médio de eclosão de  $1,86 \pm 0,004$  dias. A média de ovos eclodidos por postura foi de  $109,39 \pm 5,26$ . Os dados de correlação entre ovos postos e ovos eclodidos evidenciaram que a medida que aumenta o número de ovos por postura há também um aumento correspondente na taxa de eclosão. Contudo, quando as posturas são reunidas em intervalos de classe de 40 ovos, constatou-se que não há correlação para algumas delas. Para as fases imaturas, verificou-se que existem diferenças no tempo de desenvolvimento, sendo o estágio 4º - pupa - o mais longo, apresentando uma média de  $3,15 \pm 0,03$  dias. A menor média foi observada para o estágio 2º - 3º com  $1,46 \pm 0,02$  dias. Valores intermediários foram constatados para os estádios 1º - 2º, 3º - 4º e estágio de pupa - adulto ( $2,34 \pm 0,02$ ;  $1,67 \pm 0,02$  e  $1,54 \pm 0,01$  dias, respectivamente). Para o ciclo completo ovo-adulto observou-se um tempo médio de desenvolvimento de  $12,02 \pm 0,004$  dias. As maiores taxas de mortalidade foram verificadas para o 4º estágio (19,6%) e para o estágio de pupa (6,0%). A taxa de sobrevivência, considerando-se desde larvas de 1º estágio até a emergência do imago, foi de 71,40%, sendo um valor elevado segundo os dados da literatura. A comparação dos períodos de desenvolvimento entre *A. nuñez-tovari* com *A. darlingi* e *A. triannulatus* possibilitou considerar *A. nuñez-tovari* como mais próxima da primeira espécie.

## INTRODUÇÃO

Os estudos sobre aspectos biológicos de anofelinos brasileiros, desenvolvidos em laboratório, são relativamente restritos e diferentes parâmetros foram analisados. Dentre estes, ressaltam-se condições de alimentação, taxas de oviposição e eclosão dos ovos,

(\*) Trabalho subvencionado pelo CNPq/INPA/ELETRONORTE/POLONOROESTE.

(\*\*) Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, CP 478 - 69011 - Manaus, AM.

(\*\*\*) Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA/UNESP, Campus de São José do Rio Preto - SP.

tempo de desenvolvimento dos estágios imaturos, luminosidade, fotoperíodo e fatores físicos que interferem na oviposição.

Para *Anopheles oswaldoi*, Galvão (1938) relata que o desenvolvimento dos primeiros estádios varia com a temperatura, a alimentação e a luminosidade. O ciclo biológico de *Anopheles maculipes* e *Anopheles intermedius* foi analisado por Ricciardi & Rachou (1949) e verificaram que as duas espécies mostram tempos de desenvolvimento diferentes para o ciclo total. Os dados de Bates & Zulueta (1948) descrevem diferenças no tempo de desenvolvimento dos estádios larvais de *Anopheles rangeli* e *Anopheles triannulatus*. Rachou (1950), estudando três espécies do subgênero *Kerteszia*, encontrou um período de 2 a 18 dias para incubação dos ovos de *Anopheles cruzii*. Os dados para *Anopheles darlingi* são mais amplos e os resultados referem-se a uma série de fatores que podem afetar a duração do ciclo biológico, como o tipo de alimentação das larvas, os fungos presentes no meio de manutenção, a temperatura, o fotoperíodo e a luminosidade. Ainda, a orientação espacial e luminosidade são de grande importância na preferência do local para a oviposição em laboratório (Barreto & Coutinho, 1943; Bates, 1947; Freire & Faria, 1947; Zulueta & Bates, 1948; Santos, 1979; Santos et al., 1981).

Considerando-se *Anopheles nuñez-tovari*, o desenvolvimento ovo-adulto desta espécie foi analisado por Panday (1977) e Paraluppi (1978). O primeiro autor descreve dados sobre populações do interior do Suriname em que analisa a duração do período de incubação dos ovos, estádios larvais e de pupa. Foi analisado também o ciclo gonotrófico com informações sobre a duração do mesmo e a incidência de fêmeas oníparas no ciclo de atividade. Paraluppi (1978) estudou populações de Manaus (Amazonas) e também incluiu dados sobre o período de incubação dos ovos, tempo de desenvolvimento do ciclo total e constatou uma elevada incidência de mortalidade nos estádios larvais, que admitiu decorrer da presença de fungos no meio de manutenção.

Com o objetivo de contribuir para os conhecimentos sobre o ciclo biológico ovo-adulto de *A. nuñez-tovari*, neste trabalho são relatados dados sobre as taxas de oviposição e eclosão dos ovos, tempo médio de desenvolvimento e índices de mortalidade dos estágios imaturos até a emergência dos alados.

## MATERIAL E MÉTODOS

As populações estudadas foram procedentes do Estado do Pará, cujas amostras foram obtidas na Base 4, localizada à margem direita do reservatório da hidrelétrica de Tucuruí (Figura 1). Para a obtenção das amostragens, as capturas foram feitas na forma alada, sendo as coletas realizadas entre 18:00 e 22:00 horas. Este horário foi determinado uma vez que os dados da literatura evidenciam que a espécie é mais freqüente no período crepuscular (Tadei et al., 1983).

Durante as coletas, os espécimes eram localizados com auxílio de uma lanterna e capturados com um aspirador, quando pousavam nas pessoas para se alimentar. Foram coletados também exemplares que pousavam na vegetação junto aos coletores, nos períodos em

que a frequência de anofelinos era elevada. Após a captura, os espécimes eram transferidos para copos de papelão parafinado medindo 12,8 cm de altura por 9 cm de diâmetro. Os copos eram tampados com filô que era preso por um elástico nas bordas, e no centro continha um orifício por onde eram introduzidos e retirados os exemplares. Este orifício era tampado com um chumaço de algodão que impedia a saída dos anofelinos.

Após as coletas, os espécimes eram alimentados com o auxílio de uma ave (*Gallus gallus*, Galliformes). Após a alimentação, as fêmeas eram isoladas para a postura individual. Os copos utilizados nas oviposições mediam cerca de 4,5 cm de altura por 7 cm de diâmetro. No interior dos mesmos era colocada uma camada fina de algodão recoberta com papel de filtro, sobre o qual as fêmeas depositavam os ovos. Os copos eram tampados com filô preso por um elástico e contendo um orifício no centro preenchido com chumaço de algodão. O transporte das desovas para o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, em Manaus (AM), foi realizado em caixas de espuma de poliestireno (isopor).

Após a oviposição, o material foi identificado e a taxa de oviposição foi determinada contando-se os ovos com auxílio de um contador manual, sob microscópio estereoscópico (Zeiss). A taxa de eclosão foi medida transportando-se os ovos para um outro copo, de dimensões do utilizado para as oviposições, que internamente era envolvido com uma fita de papel de filtro. Este procedimento evitava que os ovos aderissem na lateral do copo e dessecassem. Em cada copo foram colocados aproximadamente 50 ml de água destilada. As observações foram realizadas a cada 12 horas, durante 10 dias, no período da manhã, entre 6:00 e 8:00 horas e no final da tarde, entre 18:00 e 20:00 horas. Os ovos foram coletados e contados no período da manhã, considerada a hora zero. A partir desta, a primeira observação foi no final da tarde, 12 horas após, e assim sucessivamente, até o 10º dia.

No estudo do período de desenvolvimento das fases imaturas analisou-se um total de 500 larvas. De cada postura foram retiradas, ao acaso, 10 larvas de 1º estágio recém-eclodidas, no momento da maior taxa de eclosão. As 10 larvas selecionadas foram separadas em duas réplicas, de cinco exemplares cada, para observação dos estágios até a emergência do adulto. Cada réplica foi mantida nos copos plásticos, contendo aproximadamente 50 ml de água destilada. As observações para medida do tempo de desenvolvimento foram realizadas a cada 12 horas, também no período da manhã e no final da tarde.

A alimentação das larvas foi a usual do laboratório, que apresenta modificações em relação a descrita por Rabbani *et al.* (1976) e Santos (1979). No preparo da alimentação, utilizou-se um grama de pó de fígado para oito de farinha de peixe, diluídos em 500 ml de água destilada. Esta composição era preparada no momento de ser adicionada aos copos. As trocas das águas foram realizadas a cada dois dias e as larvas foram transportadas para um outro copo com auxílio de um conta-gotas. O alimento era adicionado em seguida, sendo 2 ml de solução para cada copo. Uma porção muito pequena de germe de trigo (ponta de espátula) era também adicionada ao copo.

As trocas das águas a cada dois dias, foram feitas para os estágios larvais até a empupação. Neste momento, os exemplares eram transportados para um outro copo contendo água destilada e recoberto por filô para observação da emergência do imago.

Na identificação do material foram utilizadas as chaves de Gorham et al. (1967), Faran & Linthicum (1981) e a redescrição da espécie de Sutil (1976). Nos casos em que os ovos foram identificados, empregou-se a descrição de Cova-Garcia (1961).

Todo o experimento foi realizado em um insetário com temperatura constante de  $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa entre 80% e 90%.

## RESULTADOS

Na Tabela 1 constam os resultados das 108 posturas estudadas, totalizando 13.999 ovos analisados. As posturas foram agrupadas com intervalo de classe de 20 ovos e constata-se que há uma freqüência elevada de posturas entre 61 e 180 ovos, perfazendo 75,92% do total; 59 posturas estão classificadas no intervalo entre 101 e 180 ovos. Nos intervalos 21 - 40, 221 - 240 e 241 - 260 a incidência de posturas decresce acentuadamente. O número médio de ovos por postura foi de  $128,83 \pm 4,85$ .

A eclosão dos ovos foi observada a cada 12 horas, por um período de 10 dias (Tabela 2). Verifica-se que a eclosão dos ovos ocorreu em oito dias, perfazendo 192 horas de observação, com uma taxa de eclosão de 84,06%. A observação da tabela possibilita verificar que nas primeiras 12 horas é constatada eclosão e que a taxa é elevada com 24 horas (11,51%), sendo o pico maior com 48 horas (57,89%). A taxa de eclosão ainda é relativamente elevada no terceiro dia, com 60 horas e, após este período, praticamente não se observam mais taxas elevadas. O percentual dos ovos não eclodidos se modifica apenas em cerca de duas unidades após este período (17,95% para 15,94%). Como as observações foram realizadas a cada 12 horas, constata-se que no período maior de eclosão dos ovos (entre 20 e 60 horas), registra-se também eclosão no período diurno, porém, a mesma ocorre predominantemente no período noturno, sendo mais freqüente entre 36 e 48 horas. O período médio de eclosão dos ovos em dias foi  $1,86 \pm 0,004$ .

Os dados da Tabela 3 incluem a distribuição das freqüências dos ovos eclodidos por postura com um intervalo de classe também de 20 ovos. Verifica-se, em comparação com os dados da Tabela 1, que há um deslocamento das classes mais freqüentes entre 41 e 140 ovos, representando 64,80% das posturas. A classe 21 - 40 também mostra freqüência elevada e a primeira classe 1 - 20 ovos foi constatada com a freqüência de 4,63%. As classes mais elevadas (221 - 240 e 241 - 260) mostram as mesmas freqüências da Tabela 1. As demais classes entre 141 e 220 apresentaram freqüências semelhantes às observadas para as posturas. Foi verificada a média de  $109,39 \pm 5,26$  ovos eclodidos por postura.

Foi calculado o coeficiente de correlação entre o número de ovos postos e o número de ovos eclodidos das 108 posturas estudadas. Constatou-se um coeficiente elevado ( $r = 0,886$ ), sendo a correlação positiva, estatisticamente significativa ( $t_{106} = 19,697$ ;  $P < 0,001$ ). As variáveis desta correlação estão representadas graficamente na Figura 2.

Assim, com base nos resultados da correlação, constata-se que à medida em que aumenta o número de ovos por postura, há também um correspondente aumento na taxa de eclosão, considerando-se as 108 posturas. Por outro lado, quando as posturas são agrupadas

em classes de ovos com intervalo de 40, verifica-se que não há correlação para algumas delas. Esse intervalo foi considerado para análise por reunir um número satisfatório de posturas em cada classe. Ainda, adotou-se esse intervalo, pois os dados da Figura 2 mostram pontos que se distanciam da reta de regressão. Na Figura 3 estão representadas as correlações das seis classes de ovos compostas. O coeficiente de correlação foi significativo para as classes 20 - 60, 101 - 140, 181 - 220 e 221 - 260, sendo o nível de significância a 5%. Para as classes 61 - 100 e 141 - 180, em que o coeficiente de correlação não foi significativo, constatou-se os seguintes valores  $r = 0,398$  ( $t_{21} = 1,991$ ;  $P > 0,05$ ) e  $r = -0,001$  ( $t_{27} = -0,007$ ;  $P > 0,05$ ), respectivamente.

Portanto, os resultados evidenciaram que o coeficiente de correlação não é significativo para todas as classes de ovos analisadas, considerando-se os parâmetros ovos postos e ovos eclodidos. Ainda, estas duas classes que não mostraram correlação estão incluídas nos grupos em que o intervalo de classe agrega um número maior de posturas.

Na Tabela 4 é apresentado o espectro do desenvolvimento das 500 larvas estudadas, desde o 1º estágio até completar o estágio adulto. Os parâmetros sobrevivência e mortalidade estão representados nesta tabela, de forma acumulativa, até o 17º dia, quando todos completam o desenvolvimento. Constata-se o menor índice de mortalidade para as larvas de 1º estágio (0,4%), sendo os maiores valores para o 4º (19,6%). O índice de mortalidade das pupas também é elevado (6%), sendo cerca de três vezes menor que o valor do 4º estágio. Considerando-se todos os estágios do ciclo foi observado o índice de sobrevivência de 71,4%.

Os dados da Tabela 4 estão computados de forma a mostrar evolução dos 500 indivíduos estudados, com os níveis de mudanças nos respectivos estágios, durante os 17 dias de observação. Os percentuais em cada estágio estão representados na Figura 4, em um histograma em diagonal. Observa-se que o 1º estágio é o que se mostra com menor período de duração e que o 4º é o mais longo. Este último apresenta os percentuais mais elevados distribuídos em um período maior, em comparação com todos os outros estágios. Os estágios larvais 2º e 3º mostram apenas uma observação de diferença no tempo de desenvolvimento e uma similaridade grande no que se refere aos percentuais de mudanças. O estágio de pupa mostra-se também longo no tempo de desenvolvimento e diferente em relação ao estágio adulto, pois este último reflete a emergência dos alados. O tempo de emergência dos alados, que no período de desenvolvimento (Tabela 4) se inicia no 8º dia, na observação matinal, está representado na Tabela 5. No período de desenvolvimento total, cujo ciclo desde larva de 1º estágio a adulto se completa, para as 500 larvas estudadas, em 17 dias, o período de emergência se distribui em 8 dias. Contudo, as frequências as maiores se concentram do 9º ao 11º dia, período em que ocorre 92,14% das emergências.

O período de duração de cada estágio consta na Tabela 6, desde ovo-eclosão até pupa-adulto. Conforme mostramos na Tabela 2, o tempo médio de eclosão dos ovos é  $1,86 \pm 0,004$  dias e todas as eclosões ocorrem em 8 dias. O pico máximo é verificado no 2º dia, na quarta observação (48 horas), realizada no período matinal. Contudo, há também uma frequência elevada de eclosões com 24 e 36 horas de desenvolvimento. A passagem do 1º para o 2º estágio ocorre com cinco dias, porém mudanças são observadas apenas no segundo dia

Biologia de anofelinos amazônicos ...

de desenvolvimento, com frequência maior em 48 horas (49,81%) e em 60 horas (31,33%). A média para a duração do estágio foi  $2,34 \pm 0,02$  dias. Para o 2º - 3º estágio, que também ocorre em cinco dias, são observadas mudanças logo com 12 horas de desenvolvimento (1,42%). No entanto, o 2º estágio é de desenvolvimento rápido (média igual a  $1,46 \pm 0,02$  dias), ocorrendo incidência elevada de mudanças do 2º para o 3º estágio com 24 e 36 horas (31,02% e 48,79%, respectivamente). O 3º - 4º estágio também é de curta duração, com uma média de  $1,67 \pm 0,02$  dias, porém a passagem do 3º para o 4º estágio ocorre com maior frequência em 36 horas (60,21%) e em 48 horas (24,74%). O tempo de duração do estágio é de cinco dias e também são registrados espécimes que mudam com apenas 12 horas de desenvolvimento. O 4º estágio é o mais longo (8 dias), tendo em média  $3,15 \pm 0,03$  dias de duração, ocorrendo as primeiras mudanças com 36 horas. Os três picos maiores de mudanças 4º - pupa estão entre 60 e 84 horas de desenvolvimento. O estágio de pupa é de curta duração (apenas três dias), ocorrendo o pico maior de mudanças pupa-adulto com 36 horas (78,71%), dando uma média de duração de estágio de  $1,54 \pm 0,01$  dias. Para o desenvolvimento total ovo - adulto, a média foi  $12,02 \pm 0,004$  dias.

Resultados relativos aos estágios do ciclo biológico de espécies de *Anopheles* constam na Tabela 7, juntamente com os dados deste trabalho. Para *A. darlingi* (Santos et al., 1981) e *A. triannulatus* (Teles et al., em preparação) são disponíveis dados sobre a duração dos estágios: ovo - eclosão, estágios larvais (1º a 4º), pupa e adulto. Para *A. nuñez-tovari*, linhagem de Manaus (Paraluppi, 1978), são registrados apenas dados sobre o primeiro e o último estágios mencionados. A observação da tabela possibilita constatar que para as três espécies de *Anopheles* o estágio 4º - pupa é o mais longo e que *A. darlingi* apresenta a média mais elevada ( $5,80 \pm 2,56$  dias). O 2º - 3º estágio apresenta curta duração também nas três espécies, assim como o estágio pupa - adulto. O estágio 3º - 4º é relativamente curto em *A. darlingi* e *A. nuñez-tovari* ( $2,20 \pm 0,87$ ;  $1,67 \pm 0,45$  dias, respectivamente) e mais longo em *A. triannulatus* ( $3,35 \pm 1,68$  dias). O tempo de desenvolvimento ovo - eclosão é mais reduzido em *A. nuñez-tovari*, tanto na linhagem de Manaus ( $1,40 \pm 0,50$  dias), como de Tucuruí ( $1,86 \pm 0,47$  dias), e o mais longo em *A. triannulatus* ( $2,92 \pm 0,64$  dias). Os valores das médias foram comparados pelo teste t com os dados de *A. nuñez-tovari* deste trabalho, e na Tabela 8 estão incluídos os resultados dos testes com os respectivos níveis de significância. Para *A. darlingi*, os valores de t não foram significativos apenas para 2º - 3º estágio ( $t_{581} = 1,83$ ;  $P > 0,05$ ) e pupa-adulto ( $t_{412} = 1,73$ ;  $P > 0,05$ ). Para *A. triannulatus*, todos os estágios diferiram significativamente de *A. nuñez-tovari*, em nível de um por mil ( $P < 0,001$ ).

## DISCUSSÃO

Estudos relativos a diferentes parâmetros do ciclo biológico das espécies são de fundamental importância, principalmente quando as mesmas estão envolvidas na transmissão de doenças. Dados sobre o desenvolvimento possibilitam tecer considerações sobre as medidas de controle e avaliar o momento mais preciso e eficaz de suas aplicações. Const



derando-se as espécies de **Anopheles** transmissoras da malária, o conhecimento de seu ciclo é relevante sob o ponto de vista epidemiológico (Forattini, 1962; Tadei, 1988).

Diferentes parâmetros do ciclo biológico de **A. nuñez-tovari** foram analisados, estudando-se desde a oviposição até a emergência dos alados, sendo obtidos dados sobre as taxas de oviposição e eclosão dos ovos, tempo de desenvolvimento dos estádios larvais, pupas e adultos. Para o 4º estágio e pupas foram reconhecidas três fases dentro de cada estágio. Os dados de oviposição mostraram uma amplitude de variação relativamente extensa (28-241) quando comparada com a observada para **A. triannulatus** (Teles et al., em preparação), que variou entre 6 e 141 ovos. Ainda, considerando **A. nuñez-tovari** Paraluppi (1978) estudando 33 posturas procedentes de Manaus (AM) encontrou uma amplitude de variação mais elevada (40-288). Os dados deste trabalho são mais semelhantes aos observados para **A. darlingi**, cuja amplitude de variação foi de 10 a 246 (Santos et al., 1981). A média de ovos por postura observada é alta ( $128,83 \pm 4,85$ ) em comparação com outras espécies, porém levemente menor em relação à população de **A. nuñez-tovari** de Manaus, relatada por Paraluppi (1978), que registra 153,10 ovos. Para **A. darlingi**, Santos et al. (1981) observaram 110 ovos e para **A. triannulatus** a média foi  $82,2 \pm 34,0$  (Teles et al., em preparação). Médias ainda menores de ovos por postura foram constatadas para **A. (K.) cruzii**, **Anopheles (Kerteszia) homunculus** e **Anopheles (Kerteszia) bellator** com 67,3, 74,5 e 72,2, respectivamente (Rachou, 1950).

A amplitude de variação foi também elevada para a eclosão dos ovos por postura 7 a 241, o que também foi relatado por Santos et al. (1981) para **A. darlingi**, que observaram uma diferença de 218 ovos. Na comparação da média de eclosão dos ovos por postura verifica-se que **A. nuñez-tovari** mostrou valor mais elevado ( $109,39 \pm 5,26$ ) em relação à **A. darlingi** (83,31).

O período médio de incubação dos ovos para **A. nuñez-tovari** mostrou-se curto, cuja média apresentada foi  $1,86 \pm 0,004$  dias, com uma alta taxa de eclosão 84,06% e, em um período de 48 horas, eclodem 89% dos ovos (Tabela 2). Valores ainda menores para o período médio de incubação foram obtidos para **A. nuñez-tovari**, de outras localidades. Para populações de Manaus, Paraluppi (1978) encontrou 1 a 2 dias e uma média de 1,40 dias. Panday (1977) relata, para populações do Suriname, a duração de 1,0 dia para o estágio de ovo. Santos et al. (1981) encontraram para **A. darlingi** um período médio de incubação de  $2,40 \pm 0,49$  dias e uma taxa de eclosão de 75,66%. Período médio de incubação semelhante ao desta última espécie foi obtido para **A. triannulatus** que mostrou a média de  $2,92 \pm 0,64$  dias, porém a taxa de eclosão foi mais elevada em relação à obtida neste trabalho - 88,7% (Teles et al., em preparação). Taxas de eclosão próximas à observada para **A. darlingi** foram relatadas por Ricciardi & Rachou (1949) em **A. maculipes** e **A. intermedius** (65,80% e 74,60%, respectivamente). Valores ainda mais baixos para a taxa de eclosão foram verificados para espécies do subgênero **Kerteszia**, que de um total de 6.573 ovos postos, nasceram 2.137 larvas, o que corresponde a um percentual de eclosão de apenas 32,5% (Rachou, 1950).

Os resultados do período de incubação obtidos neste trabalho estão de acordo com Rachou (1950) que considera o tempo de 48 horas normal para incubação dos ovos de anofelinos amazônicos ...

linos, desde que estejam em meio aquático. Essas considerações estão de acordo para *Anopheles culicifacies*, pois Ainsley (1976) relatou um período de 36 a 48 horas para a eclosão dos ovos. Galvão (1938), estudando o ciclo evolutivo de *A. oswaldoi*, também verificou um período de 2 dias para a eclosão dos ovos. No subgênero *Kerteszia*, Rachou (1950), estudando populações de Santa Catarina, encontrou um período de 2 a 18 dias para a eclosão dos ovos de *A. (K.) cruzii*. Ainda em relação às eclosões, este mesmo autor verificou, para espécies do subgênero *Kerteszia*, que a eclosão dos ovos ocorre preferencialmente à noite. Para *A. nuñez-tovari*, estas mesmas observações foram verificadas e um número maior de eclosões foi registrado pela manhã (Tabela 2). Contudo, como neste trabalho foram feitas observações a cada 12 horas, registrou-se também eclosões diurnas, porém em percentuais muito baixos. Para as espécies do subgênero *Kerteszia*, aquele autor ressalta que a quase totalidade das oviposições eram feitas no período noturno. Este aspecto também foi observado para *A. nuñez-tovari*, pois um número muito baixo de oviposições foi verificado no período diurno. Esses resultados estão de acordo com as observações de Forattini (1962), que relata o fato de que as fêmeas parecem mostrar preferências para a oviposição em momentos em que a luminosidade é mais reduzida.

Levando-se em conta os parâmetros discutidos até o momento, é possível verificar que *A. nuñez-tovari* é uma espécie que apresenta um alto grau de fecundidade, este último medido pelo número de ovos em cada postura. Conforme as descrições, a fecundidade é 57% mais elevada em relação à *A. triannulatus* e 17% em relação à *A. darlingi*. A fertilidade (medida pela taxa de eclosão) da espécie também é bem elevada em relação a outras, exceto para *A. triannulatus*, que foi quatro unidades maior. É maior em relação a *A. darlingi*, *A. maculipes* e *A. intermedius* e muito maior quanto às espécies do subgênero *Kerteszia* (cerca de duas vezes e meia).

Ainda deve ser ressaltado para *A. nuñez-tovari* o fato de que o coeficiente de correlação foi alto para os parâmetros oviposição e eclosão (Figura 2). No entanto, torna-se interessante enfatizar a falta de correlação verificada para as classes de ovos 61-100 e 141-180 da Figura 3, em que os parâmetros oviposição e eclosão foram correlacionados levando-se em conta a divergência dos pontos em relação à reta de regressão da Figura 2. O agrupamento dessas classes com intervalo de 40 ovos possibilitou detectar ausência de correlação entre esses dois parâmetros analisados. Este fato questiona a correlação alta constatada em termos totais, suscitando a necessidade de se ampliar os dados da natureza. Esses resultados poderiam estar refletindo flutuações no grau de fertilidade das fêmeas em populações naturais, próprias das mudanças de densidade populacional, que poderiam estar relacionados às variações estacionais. Corroborando esta hipótese, os dados obtidos em estações de controle da Base 4, sobre amostragens de densidade em um ciclo anual, mostraram alterações nas frequências de *A. nuñez-tovari*, nas populações da natureza, conforme a época de coleta.

Os dados sobre o desenvolvimento dos estágios de *A. nuñez-tovari* evidenciaram períodos menores em comparação com outras espécies de *Anopheles*. O 2º e 3º estágios larvais mostraram tempos de desenvolvimento menores do que o 1º e 4º estágios, que foram os maiores, sendo o último o mais longo de todos. Resultados semelhantes foram descritos



para *A. darlingi* (Santos et al., 1981) e *A. triannulatus* (Teles et al., em preparação). Forattini (1962) relata este mesmo aspecto para os culicídeos, excluindo-se as variações em nível específico. Considerando-se as espécies constantes da Tabela 7, verifica-se que o maior período de desenvolvimento foi observado para *A. triannulatus*. Esta espécie, em comparação com *A. darlingi*, mostra todos os estágios mais longos, exceto o 4º estágio larval.

O tempo de desenvolvimento das fases imaturas das três espécies foi comparado e se constatou que não há diferenças significativas para todos os estágios entre *A. nuñez-tovari* e *A. darlingi*. No entanto, em relação à *A. triannulatus*, todos os estágios foram diferentes, com nível de significância de um por mil. Esses resultados possibilitam constatar uma proximidade entre *A. nuñez-tovari* e *A. darlingi*, no que se refere ao tempo de desenvolvimento de estágios específicos. Estão de acordo com uma proximidade maior também das duas espécies, os dados de comparação do grau de similaridade dos cromossomos politênicos das glândulas salivares. Kreuzer et al. (1972) relatam que *A. nuñez-tovari* e *A. darlingi* são mais semelhantes em comparação com *Anopheles aquasalis* e *Anopheles albimanus*, no nível do cromossomo 2, envolvendo ambos os braços (2R e 2L).

A constatação do tempo de desenvolvimento acentuadamente mais longo para o 4º estágio deve estar relacionada ao início das mudanças morfológicas e histológicas que ocorrem neste estágio, antecedendo o estágio de pupa. Também deve estar relacionada às mudanças nas concentrações dos hormônios destinados à formação do alado. Em relação a este último, Wigglesworth (1961) considera que o desenvolvimento das características larvais e a metamorfose para a fase adulta apresentam dois tipos de diferenciação. O primeiro acontece só na presença do hormônio juvenil, que é secretado durante todos os estágios larvais, exceto o último, o qual é responsável pela retenção das características das formas imaturas. Outros autores consideram os estágios do desenvolvimento como resultado da redução da concentração do hormônio juvenil, (Chapman, 1976), cuja função é modificar as reações das células alvo do hormônio de muda (ecdisona). Provavelmente, na sua presença, é ativado um grupo de genes que dá origem às características larvais e, na sua ausência, é ativado um segundo grupo que produz as características dos adultos. Em insetos holometabólicos o processo é similar, exceto pelo fato de que uma concentração intermediária de hormônio juvenil conduz à ativação de um terceiro grupo de genes que produz as características pupais.

Taxas de mortalidade elevadas foram verificadas para o 4º estágio (19,60%) e estágio de pupa (6,0%); o menor valor foi observado para o 1º estágio (0,4%). Para o 4º estágio, a grande mortalidade ocorreu no final do mesmo, próximo do momento da empupação das larvas. Resultados semelhantes foram encontrados para *A. darlingi*, porém em taxas de mortalidade mais elevadas mostrando um percentual de 37,21% para o 4º estágio e 39,53% para a fase de pupa (Santos et al., 1981). Índices elevados também foram observados para o 4º estágio em *A. triannulatus* (Teles et al., em preparação). Para as três espécies, a menor taxa de mortalidade é registrada no 1º estágio. Paraluppi (1978) verificou para população de *A. nuñez-tovari* que o índice de mortalidade para o estágio de larva era muito elevado, não sendo relatado os estágios específicos.

Segundo a literatura, uma série de fatores podem contribuir para o grande índice de mortalidade das larvas. Frequentemente têm sido discutidas a alimentação, a temperatura, o fotoperíodo e a densidade populacional. A presença de fungos no meio de manutenção também pode contribuir sobremaneira para limitar o rendimento da criação, podendo impedir que muitas larvas atinjam a fase de pupa ou mesmo atrasar o desenvolvimento (Barreto & Coutinho, 1943; Freire & Faria, 1947; Ricciardi & Rachou, 1949; Paraluppi, 1978; Santos et al., 1981). Admite-se também que as intensas transformações que ocorrem no 4º estágio e pupas, principalmente mudanças no nível hormonal sejam, em grande parte, responsáveis pelas elevadas taxas de mortalidade que foram registradas nos estágios do desenvolvimento.

Os dados sobre o tempo de desenvolvimento ovo-adulto de *A. nuñez-tovari* mostraram uma média de  $12,02 \pm 0,004$  dias e uma taxa de sobrevivência de 71,40%. Esses resultados foram semelhantes aos apresentados por Paraluppi (1978), para populações de Manaus, cujo período médio de desenvolvimento ovo-adulto foi de 11,9 dias. Período de desenvolvimento menor foi verificado para populações do Suriname, com tempo médio de 10 dias (Panday, 1977). Contudo, Barreto & Coutinho (1943), analisando quatro espécies do subgênero *Nyssorhynchus*, evidenciaram que as mesmas apresentaram um período médio de desenvolvimento semelhante, porém mais longo em relação à *A. nuñez-tovari*. Evidenciaram também que há variações entre elas quanto às taxas de sobrevivência. Para *Anopheles albitarsis domesticus* foi constatada duração média da fase ovo-adulto de 14 dias e taxa de sobrevivência de 72%; *Anopheles tarsimaculatus* (= *A. aquasalis*) apresentou também o mesmo tempo de duração e uma sobrevivência maior (88,8%); *Anopheles noroestensis* (= *Anopheles evansae*) mostrou 13 dias e a taxa de sobrevivência de 89,5%; e para *A. darlingi*, foi registrado um período de 16 dias e uma taxa de 64,6%. Os dados do tempo de desenvolvimento para duas linhagens de *A. oswaldoi*, também espécie de subgênero *Nyssorhynchus*, relatado por Galvão (1938), são mais próximos aos descritos para as primeiras três espécies, ou seja, 12-13 dias. Para *A. darlingi*, Santos et al. (1981) encontraram valores semelhantes aos de Barreto & Coutinho (1943), sendo constatados 15,6 dias, com uma sobrevivência de 57%. No entanto, Freire & Faria (1947) obtiveram um período de desenvolvimento sensivelmente menor em relação aos já relatados - 10 dias, e uma taxa de sobrevivência muito maior (91%). Os dados do tempo de desenvolvimento de Stephens & Christophers (1906) para *Anopheles argyritarsis*, são muito próximos aos de *A. darlingi* - 15 - 16 dias. Bailey et al. (1979), estudando populações de *A. albimanus* procedentes de El Salvador (América Central), obtiveram uma taxa de sobrevivência menor (51,66%). O maior valor para o tempo de desenvolvimento verificado para as espécies, até agora relatadas, foi *A. triannulatus* que mostrou a média de  $17,36 \pm 1,72$  dias. A taxa de sobrevivência da espécie foi igual a de *A. darlingi*, 57,2% (Teles et al., em preparação). No entanto, Ricciardi & Rachou (1949) registraram um período maior para *A. maculipes*, de duração mínima de 21 dias e máxima de 24, correspondendo a uma média de 22,5 dias.

Considerando-se a manutenção dos anofelinos em laboratório, Barreto & Coutinho (1943) e Freire & Faria (1947) ressaltam que dois fatores são relevantes para se obter um bom desempenho na criação de espécies de *Anopheles* e outros culicídeos: (1) for-

recimento de alimentação abundante para os estádios larvais e (2) a manutenção da temperatura constante num nível ótimo. Enfatizaram que o primeiro é de fundamental importância pois sempre que a alimentação é imprópria não há libertação total dos alados que ficam, em parte, presos à exúvia pupal.

Em relação à passagem de pupa a adulto, os resultados mostraram uma periodicidade na emergência dos alados. No ciclo de desenvolvimento como um todo, as observações matinais e no início da noite evidenciaram que há predominância de alados na primeira observação, denotando emergência no período noturno. Um percentual muito reduzido é registrado durante o dia. Contudo, os resultados deste trabalho não possibilitaram verificar, no período de 12 horas (18:00 às 6:00 horas da manhã seguinte), em que momento a emergência é mais elevada. No entanto, há indícios de que é mais acentuada próximo ao amanhecer.

#### AGRADECIMENTOS

Aos Professores Doutores Valdir Antonio Tadei e Wladimir João Tadei pelas discussões e leitura crítica do manuscrito. Ao Sr. Acilino Carvalho de Souza pelo auxílio técnico durante as coletas do material.

#### SUMMARY

In a study of the developmental cycle of *Anopheles nuñez-tovari*, 108 egg hatches with a total of 13.999 eggs were analyzed. The mean number of eggs per hatch was  $128,83 \pm 4,85$  and there was a high eclosion rate of 84,06%. 89% out of the total number of eggs that eclosed within 240 hours, did so within the first 48 hours with a mean time of  $1,86 \pm 0,004$  days. The mean number of eclosions per hatch was  $109,39 \pm 5,26$ . The proportion of eggs eclosing is positively correlated with the number of eggs per hatch. However, when egg hatches are grouped in class intervals of 40 eggs there is no correlation for some of them. The developmental time of larval stages varied, the longest being the fourth (pre-pupal) stage with a mean of  $3,15 \pm 0,03$  days. The shortest mean interval was from the second to third instar (mean  $1,46 \pm 0,02$  days). Intermediate values were observed for the stages 1<sup>st</sup> - 2<sup>nd</sup> instar, 3<sup>rd</sup> - 4<sup>th</sup> instar and pupal-adult instar ( $2,34 \pm 0,02$ ;  $1,67 \pm 0,02$  and  $1,54 \pm 0,01$  days, respectively). The mean developmental time from oviposition to adult emergence was  $12,02 \pm 0,004$  days. The highest mortality was observed in the fourth larval (19,6%) and pupal (6,0%) stages. 71,4% of first instar larvae reached the adult stage, which is a high survival compared to previous reports. The developmental time of *A. nuñez-tovari* appears to be closer to that of *A. darlingi* than *A. triannulatus*.

**Tabela 1.** Média, erro padrão ( $\bar{X} \pm EP$ ), e distribuição das freqüências de ovos por postura de *Anopheles nuñez-tovari*.

Total de posturas analisadas	Número de ovos estudados	Ovos por mínimo	postura máximo	Classes de ovos	Freqüência	
					Nº	(%)
108	13.999	28	241	21-40	3	(2,78)
				41-60	7	(6,48)
				61-80	11	(10,18)
				81-100	12	(11,11)
				101-120	15	(13,89)
				121-140	15	(13,89)
				141-160	15	(13,89)
				161-180	14	(12,96)
				181-200	5	(4,63)
				201-220	8	(7,41)
				221-240	2	(1,85)
				241-260	1	(0,93)
					Total	
	$\bar{X} \pm EP$			128,83 $\pm$ 4,85		

**Tabela 2.** Período de eclosão dos ovos de *Anopheles nuñez-tovari* e tempo médio de eclosão, em dias ( $\bar{X} \pm EP$ ). M = observação no período da manhã. T = observação no período da tarde.

Período de observação dias	horas	Ovos eclodidos		Ovos não eclodidos	
		Nº	(%)	Nº	(%)
1º	0-M	0	(0,00)	13.999	(100,00)
	12-T	13	(0,11)	13.986	(99,91)
	24-M	1.354	(11,51)	12.632	(90,24)
2º	36-T	2.293	(19,49)	10.339	(73,86)
	48-M	6.812	(57,89)	3.527	(25,19)
3º	60-T	1.014	(8,61)	2.513	(17,95)
	72-M	190	(1,61)	2.323	(16,59)
4º	84-T	49	(0,42)	2.274	(16,24)
	96-M	18	(0,15)	2.256	(16,11)
5º	108-T	15	(0,13)	2.241	(16,01)
	120-M	3	(0,02)	2.238	(15,99)
6º	132-T	2	(0,02)	2.236	(15,97)
	144-M	1	(0,01)	2.235	(15,96)
7º	156-T	0	(0,00)	2.235	(15,96)
	168-M	1	(0,01)	2.234	(15,96)
8º	180-T	0	(0,00)	2.234	(15,96)
	192-M	2	(0,02)	2.232	(15,94)
9º	204-T	0	(0,00)	2.232	(15,94)
	216-M	0	(0,00)	2.232	(15,94)
10º	228-T	0	(0,00)	2.232	(15,94)
	240-M	0	(0,00)	2.232	(15,94)

Total 11.767

$\bar{X} \pm EP = 1,86 \pm 0,004$

Taxa de eclosão = 84,06%

**Tabela 3.** Média, erro padrão ( $\bar{X} \pm EP$ ), e distribuição das freqüências de ovos eclodidos por postura de *Anopheles nuñez-tovari*.

Eclusão por postura		Classes de ovos	Freqüência	
mínima	máxima		Nº	(%)
7	241	1 - 20	5	( 4,63)
		21 - 40	6	( 5,56)
		41 - 60	12	(11,11)
		61 - 80	9	( 8,33)
		81 - 100	16	(14,81)
		101 - 120	17	(15,74)
		121 - 140	16	(14,81)
		141 - 160	8	( 7,41)
		161 - 180	6	( 5,56)
		181 - 200	6	( 5,56)
		201 - 220	4	( 3,70)
		221 - 240	2	( 1,85)
		241 - 260	1	( 0,93)
		Total	108	(100,00)
		$\bar{X} \pm EP$	109,39 $\pm$ 5,26	





**Tabela 5.** Distribuição das freqüências para o período de emergência do imago de *Anopheles nuñez-tovari*. M = observação no período da manhã. T = observação no período da tarde.

Período de emergência		Freqüência	
dias	horas	Nº	(%)
8º	180-T	0	( 0,00)
	192-M	3	( 0,84)
9º	204-T	9	( 2,52)
	216-M	94	(26,33)
10º	228-T	32	( 8,96)
	240-M	127	(35,57)
11º	252-T	22	( 6,16)
	264-M	45	(12,60)
12º	276-T	7	( 1,96)
	288-M	3	( 0,84)
13º	300-T	0	( 0,00)
	312-M	11	( 3,08)
14º	324-T	1	( 0,29)
	336-M	2	( 0,56)
15º	348-T	0	( 0,00)
	360-M	1	( 0,29)
Total		357	(100,00)

**Tabela 6.** Período de desenvolvimento em dias e horas de cada estágio do ciclo biológico de *Anopheles nuñez-tovari*, com suas respectivas médias e erros padrões em dias ( $\bar{X} \pm EP$ ). N = número de indivíduos analisados. 1º a 4º = estádios larvais. ( ) = percentagem.

Estágio	N	dias		1º		2º		3º		4º		5º		6º		7º		8º		TOTAL	$\bar{X} \pm EP$
		horas	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120	132	144	156	168	180	192			
Ovo - Ecliose	13.999	73	1354	2293	6812	1014	190	49	18	15	3	2	1	1	1	1	1	1	2	11.767	1,86 ± 0,004
		(0,11)	(11,51)	(19,49)	(57,89)	(8,61)	(1,61)	(0,42)	(0,15)	(0,13)	(0,02)	(0,02)	(0,01)	(0,01)	(0,01)	(0,01)	(0,01)	(0,01)	(0,02)		
1º - 2º	500	0	0	12	248	156	64	10	6	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	498	2,34 ± 0,02
				(2,40)	(49,61)	(31,33)	(12,96)	(2,00)	(1,20)	(0,40)											
2º - 3º	496	7	152	239	73	12	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	490	1,46 ± 0,02
		(1,42)	(31,02)	(48,79)	(14,30)	(2,45)	(0,61)	(0,41)	(0,20)	(0,20)											
3º - 4º	490	2	37	292	120	24	5	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	485	1,67 ± 0,02
		(0,41)	(7,63)	(60,21)	(24,74)	(4,95)	(1,02)	(0,21)	(0,41)	(0,21)	(0,21)										
4º - Pupa	485	0	0	1	21	103	110	97	28	12	7	5	2	2	2	2	2	2	2	387	3,15 ± 0,03
				(0,26)	(5,43)	(26,62)	(28,42)	(25,06)	(7,23)	(3,10)	(1,81)	(1,29)	(0,52)	(0,52)	(0,52)	(0,52)	(0,52)	(0,52)	(0,52)	(0,26)	
Pupa - Adulto	387	0	24	281	50	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	357	1,54 ± 0,01
			(6,72)	(78,71)	(14,01)	(0,56)															
Ovo - Adulto																					12,02 ± 0,004

**Tabela 7.** Médias e desvios padrões para os períodos de desenvolvimento, em dias, de cada estágio do ciclo biológico de espécies de **Anopheles**. N = número de indivíduos analisados. 1º a 4º = estádios larvais.

Estágio	E S P É C I E							
	N	A. darlingi <sup>1</sup> (BR - 174 - AM)	N	A. triannulatus <sup>2</sup> (U.H.E. Balbina-AM)	N	A. nuñez-tovari <sup>3</sup> (Manaus - AM)	N	A. nuñez-tovari <sup>4</sup> (Tucuruí - PA)
Ovo - Eclusão	100	2,40 ± 0,49	399	2,92 ± 0,64	-	1,40 ± 0,50	11.767	1,86 ± 0,47
1º - 2º	100	2,95 ± 0,48	172	3,73 ± 0,89	-	-	498	2,34 ± 0,48
2º - 3º	93	1,90 ± 0,72	169	2,73 ± 1,08	-	-	490	1,46 ± 0,46
3º - 4º	90	2,20 ± 0,87	146	3,35 ± 1,68	-	-	485	1,67 ± 0,45
4º - Pupa	74	5,80 ± 2,56	122	4,73 ± 2,02	-	-	387	3,15 ± 0,64
Pupa - Adulto	57	1,80 ± 0,43	100	2,06 ± 0,56	48	1,30	357	1,54 ± 0,24

1. Santos et al., 1981.
2. Teles et al. (em preparação).
3. Paraluppi, 1978.
4. Presente trabalho.

**Tabela 8.** Valores de t da comparação das médias de cada estágio do desenvolvimento de *Anopheles nuñez-tovari* com *Anopheles darlingi* e *Anopheles triannulatus*. 1ª a 4ª = estádios larvais. gl = graus de liberdade. \* = P < 0,05; \*\* = P < 0,01; \*\*\* = P < 0,001.

Estágio	gl	A. darlingi	gl	A. triannulatus
Ovo - Eclosão	11 865	2,45 *	12 164	10,6 ***
1ª - 2ª	596	2,77 **	668	8,18 ***
2ª - 3ª	581	1,83	657	7,47 ***
3ª - 4ª	573	2,21 *	629	8,40 ***
4ª - Pupa	459	6,79 ***	507	26,27 ***
Pupa - Adulto	412	1,73	455	4,73 ***

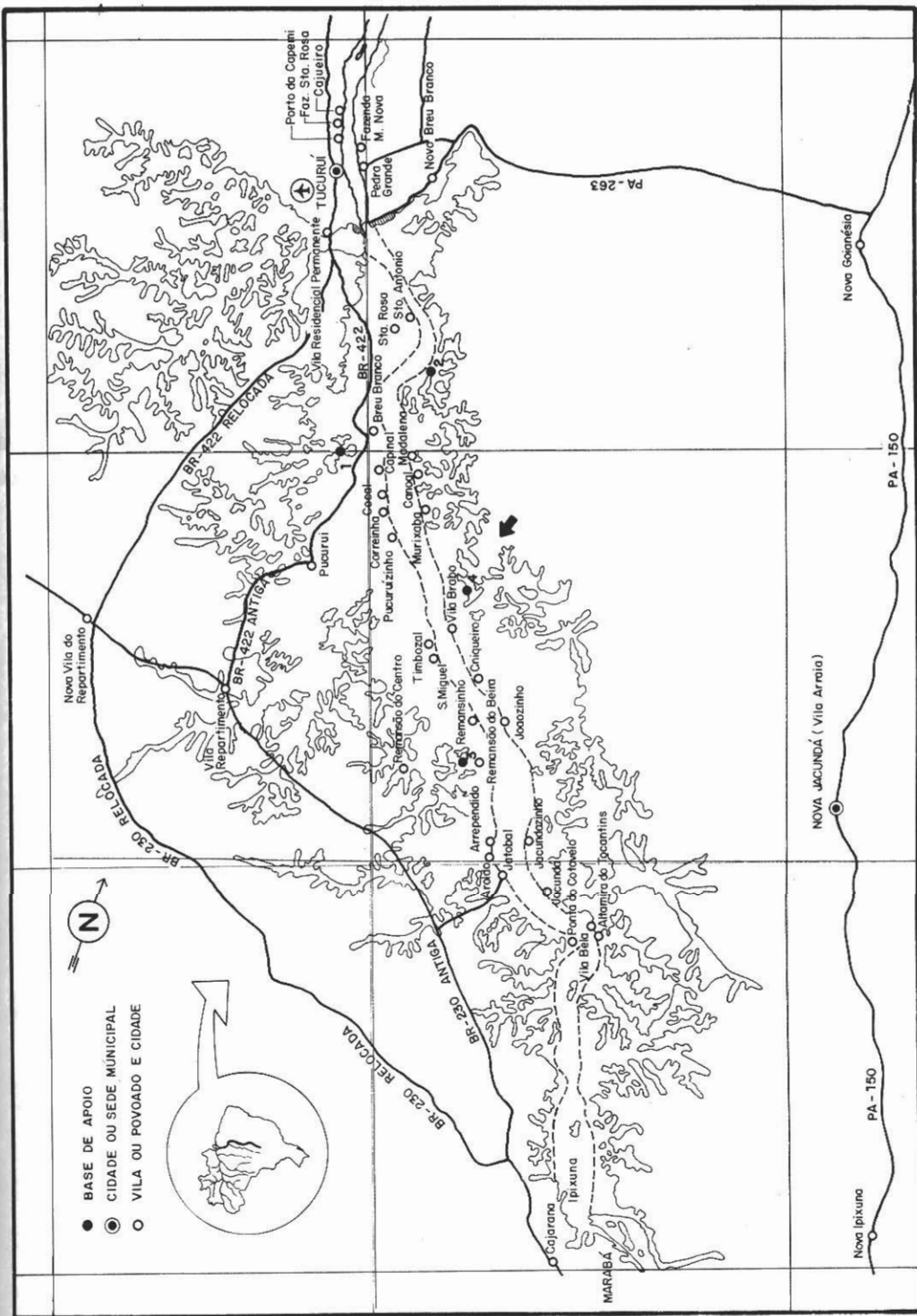


Fig. 1. Localização da Base 4 no Reservatório da Hidrelétrica de Tucuruí (Pará).

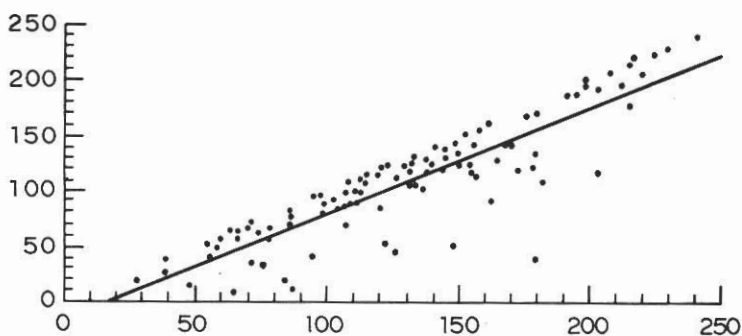


Fig. 2. Coeficiente de correlação entre ovos postos (abscissa) e ovos eclodidos (ordenada) das 108 posturas analisadas de *Anopheles nuñez-tovari*. ( $r = 0,886$ ;  $t_{106} = 19,697$ ;  $P < 0,001$ ).

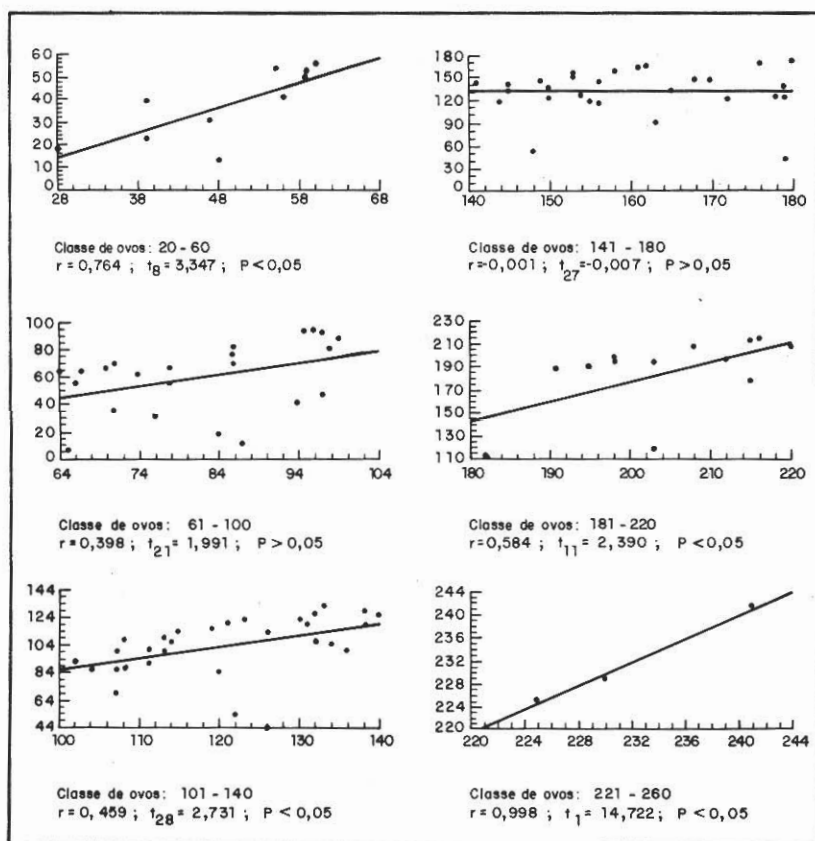


Fig. 3. Coeficiente de correlação entre ovos postos (abscissa) e ovos eclodidos (ordenada) das 108 posturas de *Anopheles nuñez-tovari*, agrupadas com intervalo de classe de 40 ovos.



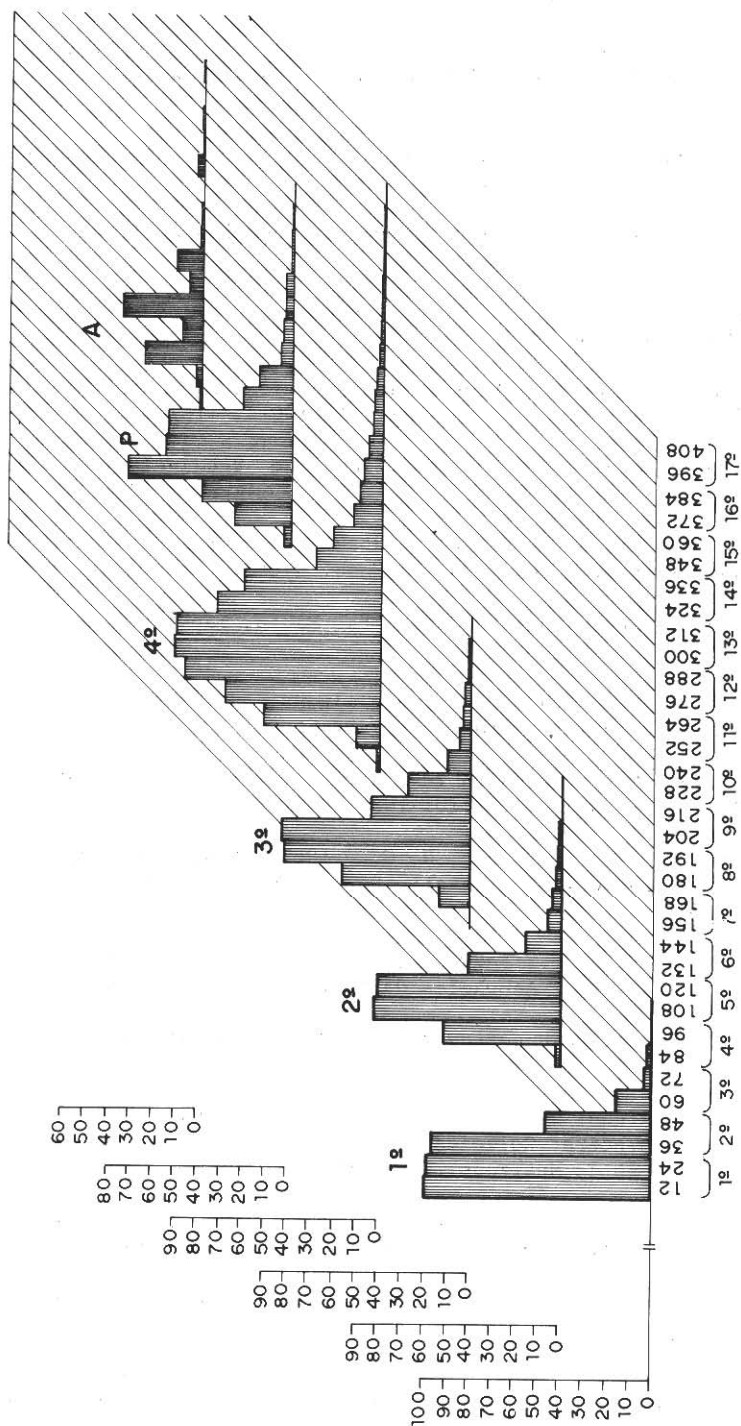


Fig. 4. Histograma do desenvolvimento de larva a adulto de *Anopheles nunez-tovari*. Ordenada : percentagem de indivíduos. Abscissa : tempo de desenvolvimento em horas e dias. N conforme tabela 5. 1º a 4º = estádios larvais. P = pupa. A = adulto.

## Referências bibliográficas

- Ainsley, R. W. - 1976. Laboratory colonization of the malaria vector, *Anopheles culicifacies*. *Mosq. News*, 36(3):256-258.
- Bailey, D. L.; Fowler, J. E. F.; Lowe, R. E. - 1979. Production efficiency and rate of increase of massreared laboratory colony of *Anopheles albimanus* Wiedemann. *Mosq. News* 39(3):640-644.
- Barreto, M. P. & Coutinho, J. O. - 1943. Criação de algumas espécies de anofelinos brasileiros. *Rev. Brasil. Biol.*, 3(3):317-323.
- Bates, M. - 1947. The laboratory colonization of *Anopheles darlingi*. *J. Nat. Malariol. Soc.*, 6:155-158.
- Bates, M. & Zulueta, J. - 1948. The seasonal cycle of anofeline mosquitoes in a pond in Eastern Colombia. *J. Trop. M.*, 29(1):129-150.
- Chapman, R. F. - 1976. **The Insects Structure and Function**. American Elsevier Publishing Company, INC. 52 Vanderbilt Avenue, New York, NY 10017. 819 p.
- Cova-Garcia, P. - 1961. **Notas sobre los anofelinos de Venezuela y su identificación**. Caracas, Ed. Grafos.
- Faran, M. E. & Linthicum, K. J. - 1981. A handbook of the Amazonian species of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera, Culicidae). *Mosq. Systematics*, 13(1):1-91.
- Forattini, O. P. - 1962. **Entomologia Médica**. São Paulo, Faculdade de Higiene e Saúde Pública. v. 1. 662 p.
- Freire, S. A. & Faria, G. S. - 1947. Criação e alguns dados sobre a biologia de *Anopheles* (*N.*) *darlingi*. *Rev. Brasil. Biol.*, 7(1):57-66.
- Galvão, A. L. A. - 1938. Observações sobre o ciclo evolutivo de *Anopheles oswaldoi* Periyassú, 1922. *Rev. Biol. Hyg.*, 9(2):101-103.
- Gorham, J. R.; Stojanovich, C. J.; Scott, H. G. - 1967. **Chave ilustrada para los mosquitos anofelinos de Sudamerica Oriental**. Department of Heather, Education, and Welfare Public Health Service. 64 p.
- Kreutzer, R. D.; Kitzmiller, J. B.; Ferreira, E. - 1972. Inversion polymorphism in the salivary gland chromossomes of *Anopheles darlingi* Root. *Mosq. News*, 32(4):555-565.
- Panday, R. S. - 1977. *Anopheles nuneztovari* and malaria transmission in Surinam. *Mosq. News*, 37(4):728-737.
- Paraluppi, N. D. - 1978. Alguns aspectos da biologia e do comportamento de *Anopheles* (*N.*) *nuneztovari* Gabaldon (Diptera: Culicidae) dos arredores da cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. **Dissertação de Mestrado**, INPA/FUA. 62 p.
- Rabbani, M. G.; Seawright, J. A.; Leatherwood, L. B. - 1976. A method for culturing single families of *Anopheles albimanus*. *Mosq. New*, 36(1):100-102.
- Rachou, R. G. - 1950. Observações sobre o ciclo evolutivo dos anofelinos do subgênero *Kerteszia* em laboratório: Fase de ovo. *Rev. Brasil. Malariol.*, 11(2):111-118.
- Ricciardi, I. & Rachou, R. G. - 1949. Ciclo evolutivo em condições experimentais de duas espécies de anofelinos do subgênero *Anopheles*. *Rev. Bras. Malariol.*, 1(4):326-332.
- Santos, J. M. M. - 1979. Aspectos biológicos e isoenzimáticos de *Anopheles* (*N.*) *darlingi* Root, 1926 (Diptera: Culicidae). **Dissertação de Mestrado**, INPA/FUA. 87 p.

- Santos, J. M. M.; Contel, E. P. B.; Kerr, W. E. - 1981. Biologia de Anofelinos Amazônicos. I. Ciclo biológico, postura e estádios larvais de *Anopheles darlingi* Root, 1926 (Diptera: Culicidae) da Rodovia Manaus - Boa Vista. *Acta Amazon.*, 11(4):789-797.
- Stephens, Y. W. W. & Christophers, S. R. - 1906. Etude Pratique du Paludisme et des Parasites du Sang. In: Galvão, A. L. A. - 1938. Observações sobre o ciclo evolutivo de *Anopheles oswaldoi* Peryassú, 1922. *Rev. Biol. Hyg.*, 9(2):101-103.
- Sutil, E. O. - 1976. Redescrición de la especie *Anopheles (Nyssorhynchus) nuñez-tovari* Gabaldon, 1940, y su distribución geográfica en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. Y San. Am.*, 16(1):33-45.
- Tadei, W. P. - 1988. **Projeto Controle da Malária na Bacia Amazônica**. Consultoria BIRD/SUCAM. Biblioteca do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 40 p.
- Tadei, W. P.; Mascarenhas, B. M.; Podestá, M. G. - 1983. Biologia de Anofelinos Amazônicos. VIII. Conhecimento sobre a distribuição de espécies de *Anopheles* na região de Tucuruí-Marabá (Pará). *Acta Amazon.*, 13(1):103-140.
- Wigglesworth, V. B. - 1961. Some observations on the juvenile hormone effect of farnesol in *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera). *J. Insect Physiol.*, 7:73-78.
- Zulueta, J. & Bates, M. - 1948. Laboratory experiments with selection of oviposition site by *Anopheles darlingi*. *Amer. J. Hyg.*, 48:350-360.

(Aceito para publicação em 07.01.1991)