

Como citar esse artigo:

Cabrini, I. & Andrade, C.F.S., 2008. Sistemas Fechados como Ferramenta para Estudos Comportamentais com Mosquitos. *Artigos Técnicos. Inst. de Biologia, Dep. de Zoologia, Campinas, 2006*. Site Ecologia Aplicada, 11pp.

Disponível em: http://www.ib.unicamp.br/profs/eco_aplicada/. Acesso em: (colocar a data)



SISTEMAS FECHADOS COMO FERRAMENTA PARA ESTUDOS COMPORTAMENTAIS COM MOSQUITOS

Isaías Cabrini¹ e Carlos Fernando S. Andrade²

¹Mestre em Parasitologia, Programa de Pós Graduação I.B. – Unicamp

² Professor Depto. de Zoologia, IB - Unicamp

A utilização de sistemas fechados, como olfatômetros, câmaras-teste e túneis de vento para estudos comportamentais com mosquito, têm se mostrado conveniente para obtenção de diversos dados relativos ao seu comportamento. Nesses sistemas os indivíduos avaliados são induzidos a responder a um determinado estímulo, como o de um hospedeiro, de um inseticida ou outra substância que pode levar a atração ou repelência do inseto (Carlson et al., 1992).

Atualmente, os modelos já desenvolvidos são os mais variados, podendo ser simplesmente uma caixa quadrada ou retangular, com tubos para inserção de estímulos, ou até modelos em forma de dois funis acoplados. Os mais sofisticados podem ser em forma de “Y”, com sistemas de liberação de odor e temperatura e umidade controlada, além da filtragem do ar no sistema.

Em 1965, Gouck & Schreck desenvolveram um olfatômetro que consistiu em uma caixa retangular de madeira onde foram colocados dois tubos de acrílico na mesma extremidade para inserção dos estímulos atrativos para mosquitos. Os mosquitos eram soltos na caixa e após a atração eram capturados nos tubos.

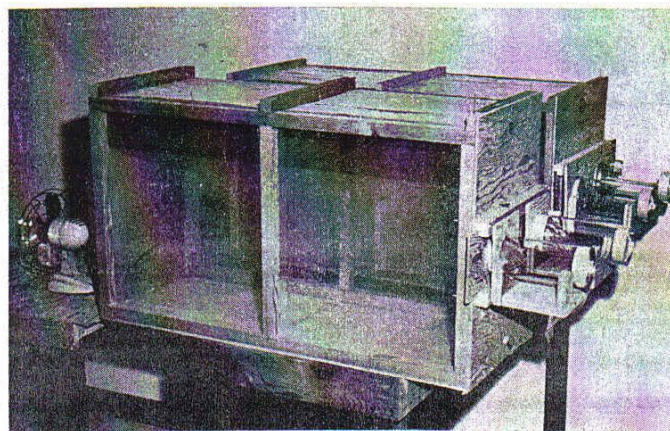


FIG. 1.—Side view of olfactometer cage.

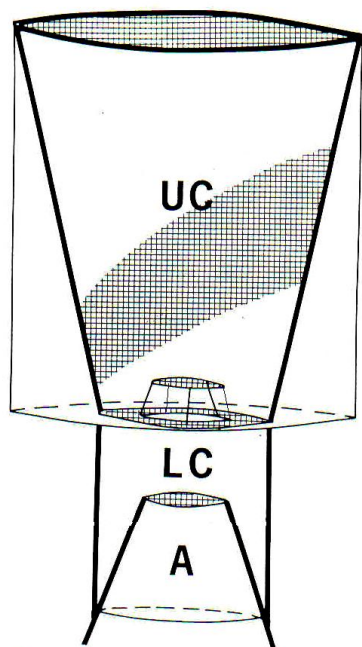


FIG. 1. Design of olfactometer. An attractant is placed beneath a plastic funnel (A) and those mosquitoes descending from the upper chamber (UC) to the lower chamber (LC) are recorded. Overall height of the olfactometer is 28 cm.

Mais de dez anos depois, Feinsod & Spielman (1979) desenvolveram um sistema constituído de dois funis acoplados entre si, de modo que as extremidades mais largas ficavam opostas. Esse sistema funciona verticalmente com os odores atrativos sendo colocados no funil inferior (A) e difundindo de forma passiva e ascendente. Os mosquitos eram liberados na parte superior do sistema (UC) e aqueles atraídos, eram coletados e registrados na câmara inferior (LC). Todo o sistema media 28 cm.

Na mesma época Omer (1979) utilizou um sistema denominado túnel de vôo, descrito anteriormente por Omer & Gillies em 1971, que consistia em várias seções retangulares que podiam ser desmontadas e quando acopladas formavam uma câmara retangular.

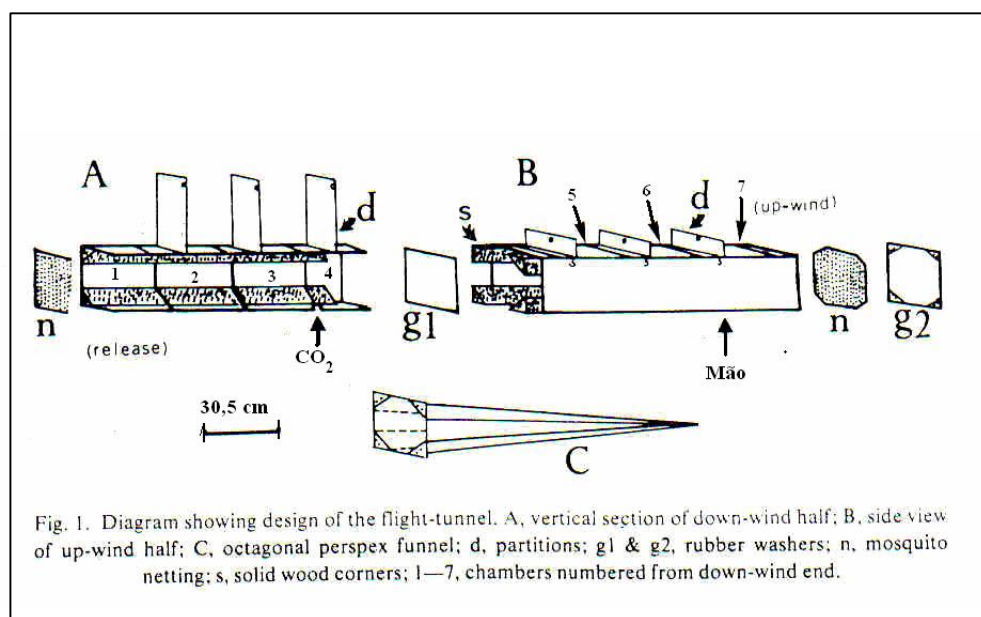
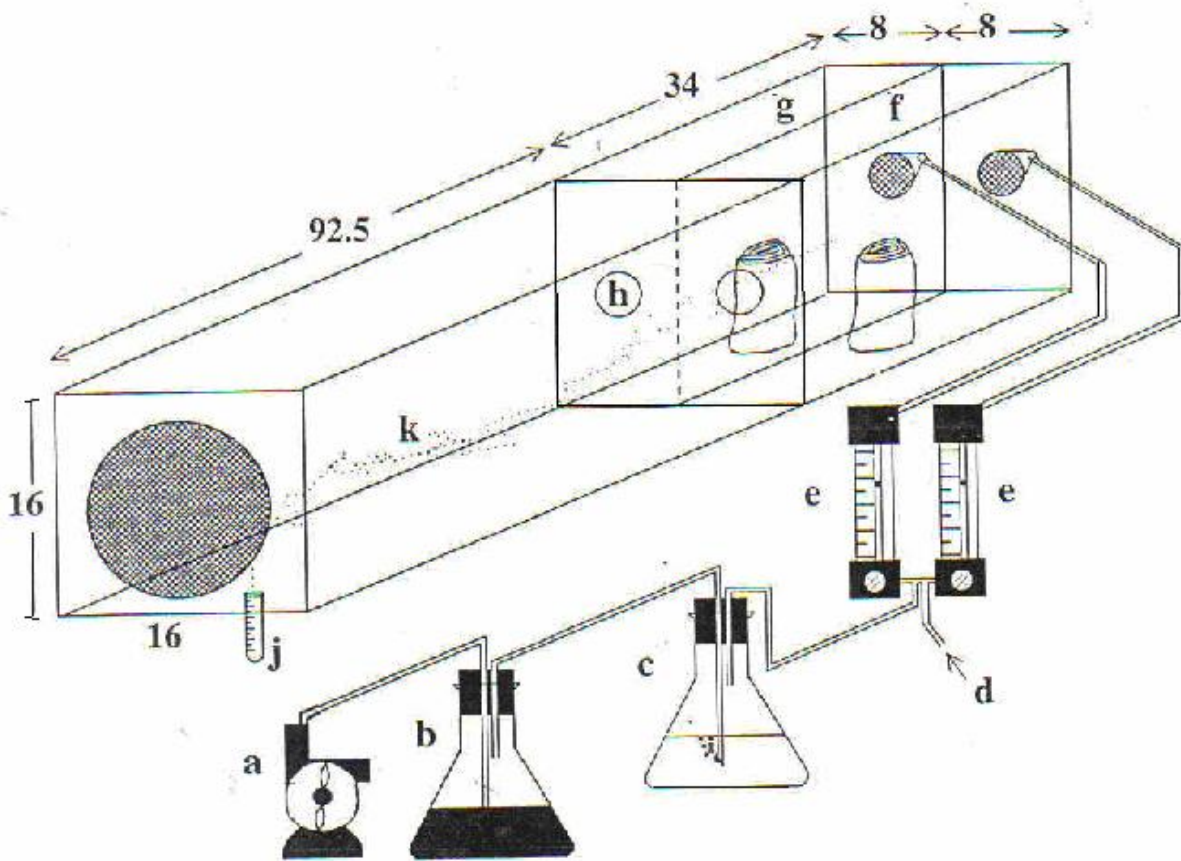


Fig. 1. Diagram showing design of the flight-tunnel. A, vertical section of down-wind half; B, side view of up-wind half; C, octagonal perspex funnel; d, partitions; g1 & g2, rubber washers; n, mosquito netting; s, solid wood corners; 1—7, chambers numbered from down-wind end.

As câmaras eram fechadas por meio de divisórias, após os mosquitos serem atraídos por um estímulo que era colocado em uma das seções.

Em 1998, Mboera *et al.* utilizaram um sistema, denominado olfatômetro de dupla escolha, que possui basicamente o mesmo princípio daquele desenvolvido por Gouck & Schreck (1965), porém com algumas sofisticacões. O sistema de Mboera *et al.* (1998) foi feito com plástico transparente e, internamente, a temperatura, umidade relativa e velocidade do vento foram medidas. Além disso, uma corrente de ar foi produzida internamente para que se pudesse limpar o ar e, dessa forma, não haver nenhum estímulo secundário que modificasse a resposta dos mosquitos.

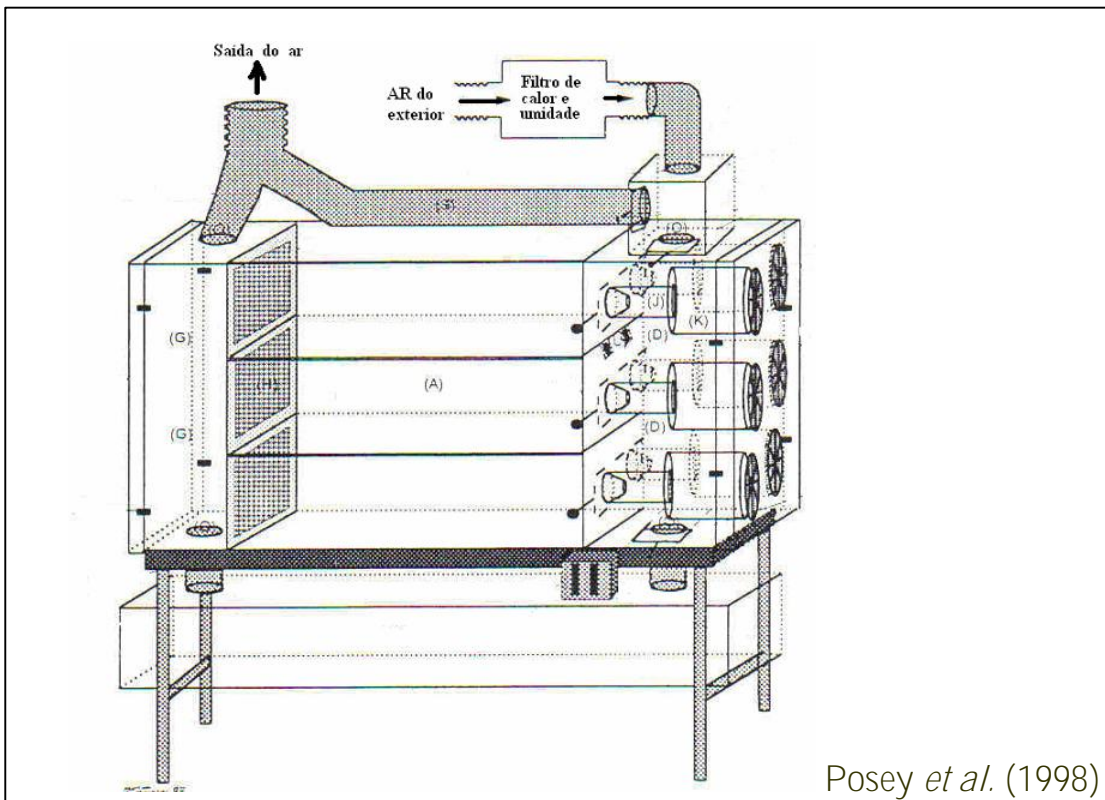


Olfatômetro de dupla escolha. O ar ambiente é bombeado (**a**) a 1.400ml/min, é limpo ao passar pelo carvão ativado (em **b**), umedecido ao passar pela água destilada (em **c**), passa pelo fluxômetro (**e**) de cada porta e entra no olfatômetro. Meias **g**

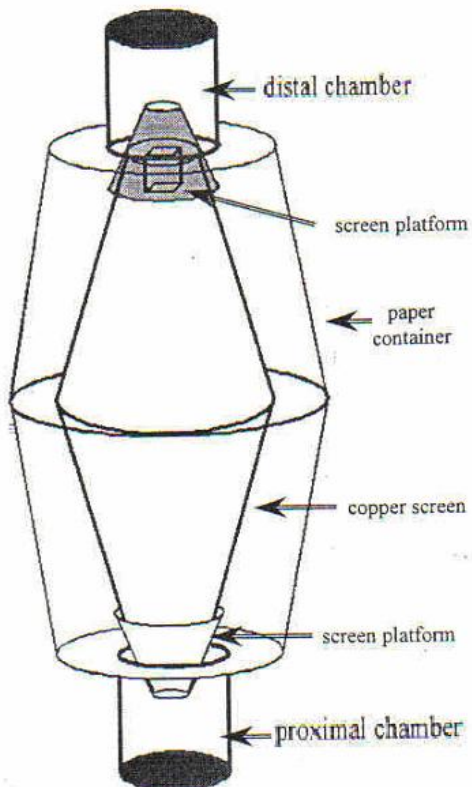
As iscas (meias usadas ou não) são posicionadas nos compartimentos e o ar que passa por elas entra no túnel pelas portas (**h**). Os mosquitos são liberados de frascos de vidro (**j**) na final do tunel e registrados em **g** ou **f**. Quando necessário, gás carbônico é bombeado no sistema a partir de um cilindro **d**.

Mboera et al. 1998.

Posey *et al.* (1998) por sua vez desenvolveram um modelo de olfatômetro onde três caixas de acrílico retangulares, sobrepostas, foram montadas e em uma das extremidades de cada caixa, eram colocados dois tubos como gaiolas. Em uma das extremidades de cada tubo foi colocado um emissor de vento funcionando de forma a atrair os mosquitos para o estímulo. Em todo o sistema, a umidade relativa e a temperatura foram mantidas constantes filtrando-se o ar externo por meio de um filtro de carvão vegetal.



Posey *et al.* (1998)



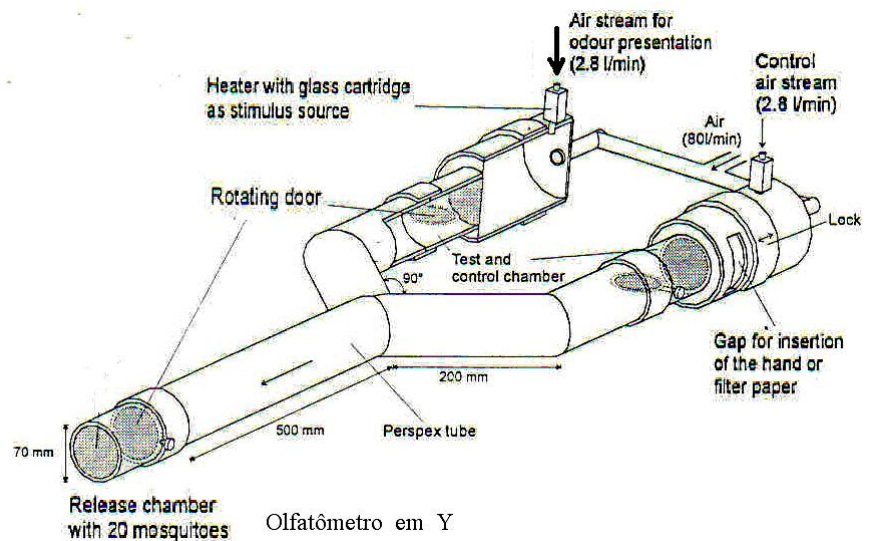
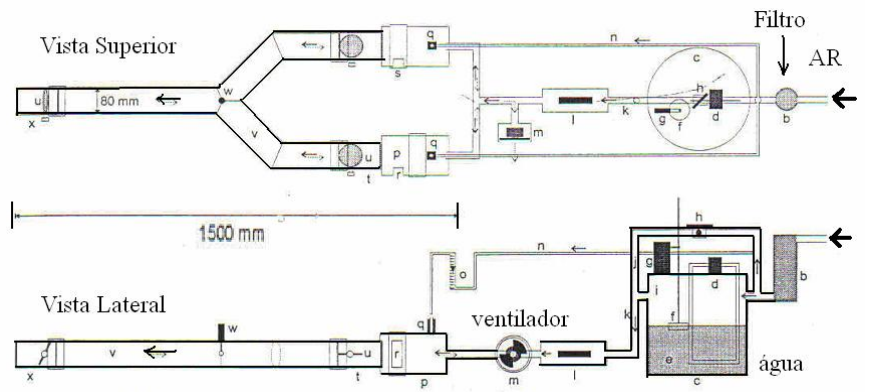
REPELÔMETRO. Mosquitos são colocados na câmara intermediária e o estímulo é liberado na câmara proximal (P).

Dogan & Rossignol (1999) modificaram o olfatômetro desenvolvido por Feinsod & Spielman (1979), e utilizaram-no para diferenciar e quantificar a atração, inibição e repelência de mosquitos a diferentes substâncias químicas. Esse novo sistema foi denominado "repelômetro" (*repelometer*), e as modificações consistiram em manter dois funis de tela de cobre, ligados pelas extremidades maiores, e nas extremidades menores acoplaram-se duas câmaras, a proximal embaixo e a distal em cima. Todo o sistema foi formado então por três câmaras, sendo os mosquitos liberados na câmara mediana. Dessa forma podiam voar ou não para a extremidade proximal, onde haveria o estímulo.

Um outro olfatômetro de dupla escolha, em formato de “Y”, foi desenvolvido por Geier & Boeckh (1999), para avaliação da atratividade a odores de hospedeiros.

Esse sistema foi feito de plástico transparente com câmaras de PVC removíveis nas extremidades.

Em duas câmaras foram colocadas telas que podiam ser movimentadas de modo a liberar e impedir a passagem dos mosquitos. Internamente, o ar pressurizado foi limpo, utilizando-se um filtro de carvão vegetal. Água deionizada foi utilizada para umidificar o ar. Fêmeas de *Ae. aegypti* foram liberadas na extremidade única do sistema, e estímulos químicos como CO₂ e odores extraídos da pele humana, foram oferecidos aos mosquitos.



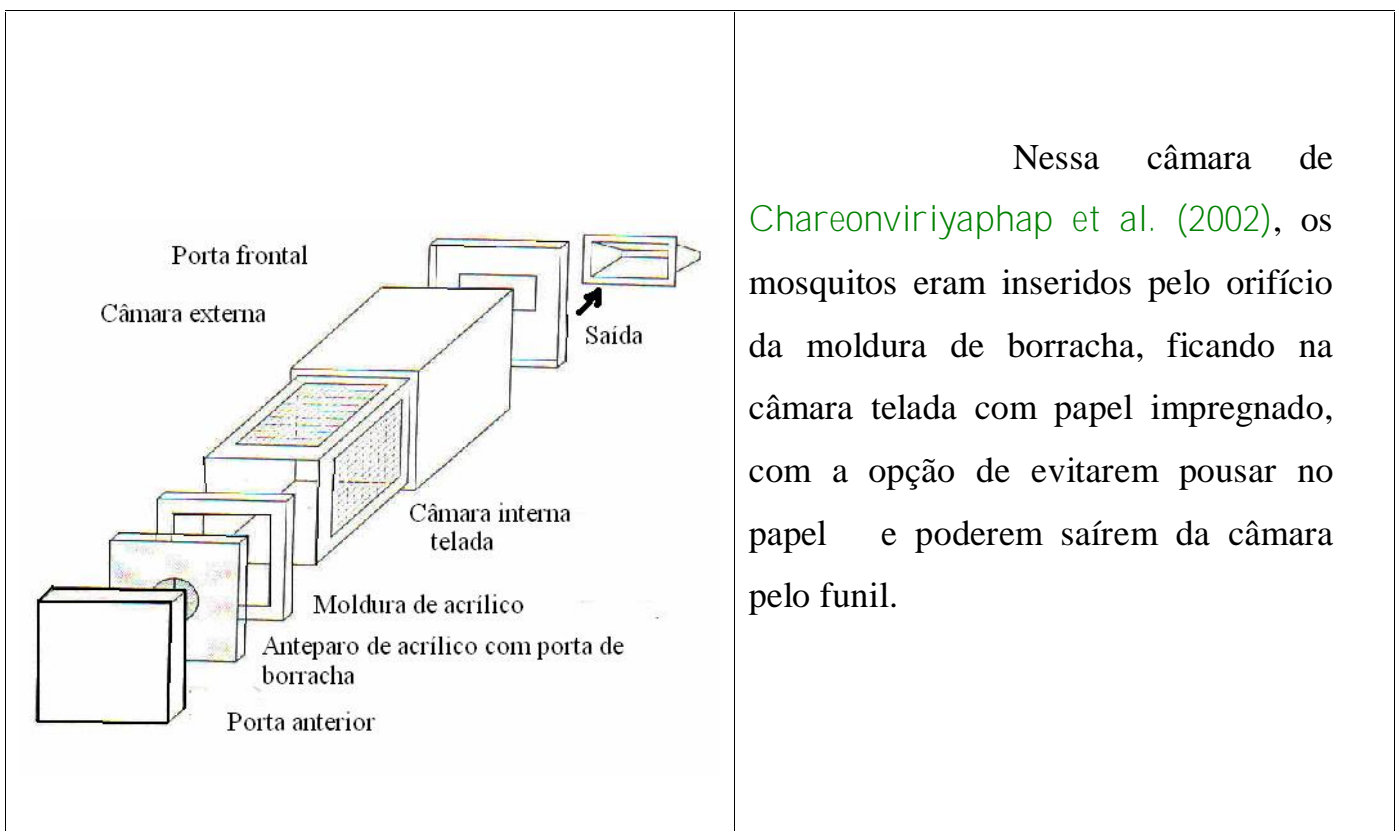
Sharpington et al. (2000) desenvolveram um túnel de vento para ensaios de repelência com mosquitos. O sistema consistiu em um túnel retangular conectado a uma armação retangular de aço, onde foram posicionados quatro cilindros, por onde eram

passados o ar filtrado e o odor estimulante, assim como os mosquitos que eram atraídos até uma câmara onde estava posicionada a fonte de odor.

Chareonviriyaphap et al. (2002) desenvolveram um modelo simples de câmara-teste para estudar o comportamento de mosquitos respondendo à ação residual de inseticidas.

Esse sistema consistiu em duas câmaras quadradas, sendo uma telada (chamada de câmara interna telada) de 33,5 x 22,5 cm², utilizada para colocar papéis impregnados com inseticida, e outra não-telada (chamada de câmara externa) de 33,5 x 33,5 cm², revestida internamente de papel alumínio. Junto a câmara interna foi colocada uma moldura de acrílico e junto dessa uma outra moldura de borracha com um orifício 15 cm de diâmetro, fechado com um placa, chamada de porta anterior.

Na outra extremidade da câmara externa foi colocada outra placa para fechar essa câmara, sendo que nessa placa foi feita uma abertura retangular de 15 cm de comprimento por 2 cm de altura. Nessa abertura foi conectado um funil.



Além dos sistemas desenvolvidos com o intuito de se avaliar substâncias químicas, há também aqueles destinados a estudar o comportamento dos mosquitos em relação ao som. Obviamente, dependendo do modelo em que o sistema é desenvolvido, há possibilidade do uso para ambas as finalidades.

Singleton (1977), por exemplo, desenvolveu uma caixa retangular com compartimentos, sendo que em um desses era colocado um hospedeiro animal e as fêmeas de *Ae. aegypti* tinham que voar contra uma fonte sonora para se alimentar.

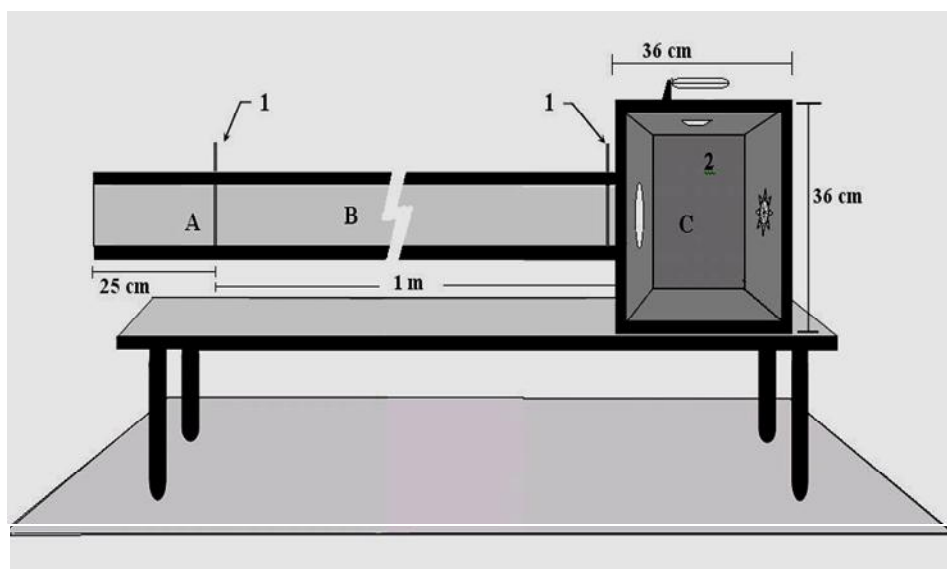
Lewis et al. (1982) desenvolveram um túnel de 6 m de comprimento e em uma das extremidades colocou-se um aparelho eletrônico para analisar a possível influência das ondas sonoras na distribuição dos mosquitos pelo túnel.

Em 1978, Klowden & Lea utilizaram um olfatômetro para avaliação da atração de fêmeas de *Ae. aegypti* para alimentação sanguínea em hospedeiro humano. Esse sistema, por sua vez, foi utilizado por Foster & Lutes (1985) para avaliação de repelentes eletrônicos. O sistema consistia em quatro câmaras, sendo que um compartimento foi utilizado para inserção da mão de um pesquisador e para liberar dióxido de carbono por meio da respiração, sendo acoplado a um outro compartimento cilíndrico, denominado armadilha. À armadilha, foi acoplado um túnel de plástico acrílico transparente, denominado câmara de vôo, e junto a essa, foi acoplado um último compartimento, denominado câmara de segurança. Um emissor de vento (*cooler* de computador) foi inserido na câmara de segurança e funcionou de forma a sugar o odor da mão do pesquisador. Entre a câmara de segurança e a armadilha, foram colocadas divisórias para manter as fêmeas presas nesses compartimentos. Na câmara de segurança eram liberadas fêmeas de *Ae. aegypti*, que ficavam expostas aos estímulos atrativos. Após o período de exposição, os mosquitos eram contados em todas as câmaras.

Em 2007, Cabrini & Andrade desenvolveram uma câmara-teste a partir daquela desenvolvida por Klowden & Lea (1978). A câmara foi feita somente com isopor, consistindo em três seções (A, B e C) (veja detalhes na figura 2) e usando uma mão humana como estímulo e uma lâmpada fluorescente para atrair os mosquitos. As seções eram conectadas por meio de elásticos de borracha e, entre as seções A-B e B-C eram inseridas divisórias removíveis para aprisionar os mosquitos antes e após cada repetição do ensaio, respectivamente. Sobre a seção C foi feita uma abertura (fechada com acrílico transparente) e sobre essa abertura foi colocada uma lâmpada fluorescente. Na extremidade posterior da seção C foi colocado um ventilador (cooler 12V de computador), funcionando em 3V de forma a espalhar os atrativos da mão do pesquisador (inserida na seção C) para as seções B e A.

A adaptabilidade da presente câmara-teste foi validada por meio de 80 repetições, cada uma com 10 fêmeas de *Ae. aegypti*. As fêmeas eram liberadas na seção "A" e permitidas voar para a seção "C", utilizando a atração da mão do pesquisador e a luz fluorescente. Uma média de 96,0% (E.P. 0,213) de fêmeas de *Ae. aegypti* chegaram a seção "C". A presente câmara-teste é mais barata e mais fácil de manusear e é tão eficiente quanto a Câmara de Klowden & Lea (1978) quando comparado a Foster & Lutes (1985) que descreveu que 93,8% de *Ae. aegypti* chegaram a seção armadilha.

1) Divisórias removíveis 2) abertura, fechada com acrílico transparente 3) lâmpada fluorescente
4) cooler 12V





(Cabrini & Andrade, 2007)

Referências Consultadas

- CABRINI, I. & ANDRADE, C.F.S., 2007. Improvement of a test-chamber to behavioral studies on adult females of *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 51, n. 2, p. 252-254.
- CARLSON, D.A., SCHRECK, C.E. & BRENNER, R.J. Carbon-dioxide released from human skin – effect of temperature and insect repellents. *Journal of Medical Entomology*, v. 29, n. 2, p. 165-170, 1992.
- CHAREONVIRIYAPHAP, T; PRABARIPAI, A. & SUNGVORNYOTHRIN, S. An improved excito-repellency test chamber for mosquito behavioral tests. *Journal of Vector Ecology*, v. 27, n. 2, p. 250-252, 2002.
- DOGAN, E.B.& ROSSIGNOL, P.A. An olfactometer for discriminating between attraction, inhibition, and repellency in mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 36 n. 6, p. 788-793, 1999.
- FEINSOD, F.M. & SPIELMAN, A. An olfactometer for measuring host-seeking behavior of female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 15, n. 3, p. 282-285, 1979.
- FOSTER, W.A.; LUTES, K.I. Tests of ultrasonic emissions on mosquito attraction to hosts in a flight chamber. *Journal of the American Mosquito Control Association*, v. 1, n. 2, p. 199-202, 1985.
- GEIER, M.; BOECKH, J. A new Y-tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of host odours. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 92 (1): 9-19, 1999.

- GOUCK, H.K. & SCHRECK, C.E. An olfactometer for use in the study of mosquito attractants. *Journal of Economic Entomology*, v. 58, n. 3, p. 589-590, 1965.
- KLOWDEN, M. J. & LEA, A.O. Blood meal size as a factor affecting continued host-seeking by *Aedes aegypti* (L.). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 27, n. 4, p. 827-831, 1978.
- LEWIS, D. J.; FAIRCHILD, W.L. & LEPRINCE, D.J. Evaluation of an electronic mosquito repeller. *Canadian Entomologist*, v. 114, p. 699-702, 1982.
- MBOERA, L.E.G.; KNOLS, B.G.J.; TAKKEN, W. & HUISMAN, P.W.T. Olfactory responses of female *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) in a dual-choice olfactometer. *Journal of Vector Ecology*, 23(2): 107-113, 1998.
- OMER, S.M. Responses of females of *Anopheles arabiensis* and *Culex pipiens fatigans* to air currents, carbon dioxide and human hands in a flight-tunnel. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 26, p. 142-151, 1979.
- POSEY, K.H.; BARNARD, D.R. & SCHRECK, C.E. Triple cage olfactometer for evaluating mosquito (Diptera: Culicidae) attraction responses. *Journal of Medical Entomology*, v. 35, n. 3, p. 330-334, 1998.
- SHARPINGTON, P.J.; HEALY, T.P. & COPLAND, J.W. A wind tunnel bioassay system for screening mosquito repellents. *Journal of the American Mosquito Control Association*, v. 16, n. 3, p. 234-240, 2000.
- SINGLETON, R.E. Evaluation for two mosquito-repelling devices. *Mosquito News*, v. 37, n. 2, p. 195-199, 1977.