

# Desenvolvimento larval de *Simulium* (Chirostilbia) *pertinax* (Diptera: Simuliidae) em criadouro artificial

## Larval development of *Simulium* (Chirostilbia) *pertinax* (Diptera: Simuliidae) in an artificial breeding site

Andrea de Barros Pinto

V. Cunha<sup>1</sup>

andrea.sergio@uol.com.br

Jansen F. Medeiros<sup>2</sup>

jmedeiro@gmail.com

Thaissa Consoni Bernardino<sup>3</sup>

thaissacb@butantan.gov.br

Carlos José P.C de Araújo-Coutinho<sup>3\*</sup>

coutinho@butantan.gov.br

## Resumo

Este estudo teve por objetivo observar a influência de diferentes concentrações de nutrientes sobre o período de desenvolvimento larvário de *Simulium* (Chirostilbia) *pertinax*. Foram coletadas fêmeas de *S. (C.) pertinax* ingurgitadas e submetidas à oviposição por "stress". Os ovos foram retirados e transportados a um criadouro artificial, no qual foram comparados dois suplementos alimentares: alga e levedura, em diferentes concentrações. Poucas variações dos fatores abióticos foram observadas durante o estudo, encontrando-se dentro dos padrões para a espécie *S. (C.) pertinax*. Em relação à taxa de formação de pupas, foi observada uma maior taxa na concentração de 5 ml de alga + 10 ml de levedura, com diferença significativa em relação às concentrações de 10 ml de alga + 5 ml de levedura. Nos testes com 5 ml de alga, 10 ml de levedura e 5 ml de levedura, não foi obtido o término do desenvolvimento larvário em todas as repetições. A pouca variação dos fatores abióticos é compatível com resultados de outros autores; assim, os valores observados neste experimento podem ser considerados adequados, quando comparados aos padrões exigidos por esta espécie. A utilização de alga, associada ou não a outros elementos, para criação em laboratório, tem sido feita por diversos autores, assim como a utilização de levedura. Em criação de *S. (C.) pertinax* alimentada com cultura exclusiva de algas, ocorreu sobrevida larvária máxima de 43 dias, e, quando alimentada com caldo de levedura, não obtivemos o desenvolvimento larvário completo.

**Palavras-chave:** *Simulium* (Chirostilbia) *pertinax*, período larvário, alimentação larval.

## Abstract

This study aimed to observe the influence of different concentrations of nutrients over the period of development of *Simulium* (Chirostilbia) *pertinax* larvae. Were collected *Simulium pertinax* engorged females and then subjected to oviposition under stress. The eggs were removed and transported to an artificial breeding site, in which two alimentary supplements were compared, viz. algae and yeast in different concentrations. Few variations of abiotic factors were observed during the study, and they were within the standards of the *S. (C.) pertinax* species. Regarding the rate of pupae formation, a higher concentration of 5 ml of algae + 10 ml of yeast was observed, with significant differences in concentrations of 10 ml of algae and 10 ml of algae and 5 ml of yeast. In tests with 5ml of algae, 10 ml of yeast, and 5 ml of yeast, the end of larval development was not obtained in all replications. The small variation of abiotic factors is consistent with results of other authors, and the values observed in this experiment can be regarded as appropriate when compared to the standards required by this species. Use of seaweed, with or without other elements, for breeding in the laboratory has been made

<sup>1</sup>Superintendência de Controle de Endemias, Av. Pernambuco 1045, Caraguatatuba, 11660-000, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Ciências da Saúde, Coordenação de Medicina, Avenida Carvalho Leal, 1777, Cachoeirinha, 69065-001, Manaus, AM, Brasil.

<sup>3</sup>Laboratório de Imunologia Viral, Instituto Butantan, Av. Vital Brasil, 1500, 05503-900, São Paulo, SP, Brasil.

\* Autor para correspondência.

by several authors, as well as use of yeast. When *S. (C.) pertinax* were fed only with culture of algae, larval survival was up to 43 days, and, on the other hand, when fed with yeast broth they did not reach the complete larval development.

**Key words:** *Simulium (Chirostilbia) pertinax*, larvae development period, larval feeding.

## Introdução

A família Simuliidae possui mais de 1.750 espécies descritas, e estima-se que cerca de 10% destas são antropofílicas e zoofílicas (Campos e Andrade, 2002; Araújo-Coutinho *et al.*, 2005; Figueiró *et al.*, 2006).

Os simulídeos apresentam relevância como vetores do filarídeo causador da oncocercose humana como também socioeconômica, uma vez que afetam a atividade turística e agropecuária em regiões de alta incidência, visto que sua picada pode causar prurido intenso e irritação cutânea (Amaral-Calvão e Maia-Herzog, 2003; Gil-Azevedo *et al.*, 2004; Figueiró *et al.*, 2006).

No hemisfério norte, existem relatos de baixa produção leiteira e até mesmo de morte de gado. Em regiões de grande infestação, as perdas econômicas ocasionadas pelas espécies zoófilas são difíceis de avaliar, podendo estar relacionadas com perda de peso dos animais, redução na produção de leite e transmissão de doenças específicas aos animais domésticos; contudo, até o momento, não está comprovado que os simulídeos tenham importância veterinária no Brasil (Strieder *et al.*, 2006).

Simulídeos são insetos holometábolos, e suas larvas são filtradores não seletivos, ingerindo partículas inferiores a 100 µm, característica que as torna o principal alvo para atividades de controle, uma vez que as pupas não se alimentam e os alados apresentam maior dispersão, características que dificultam a formulação de estratégias eficazes de controle com inseticidas (Cunha, 2004).

Desta forma, várias investigações sobre aspectos bioecológicos da fase larval deste díptero têm sido realizadas (Zhang, 2000; Lozovei *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2009), uma vez

que tais informações são primordiais na elaboração de estratégias eficientes de controle.

No Brasil, atualmente existem dois grandes programas de controle de simulídeos, sendo um realizado no Estado do Rio Grande do Sul e outro no litoral norte do Estado de São Paulo (Rabinovitch *et al.*, 2008). Em um estudo sobre a simuliofauna do litoral norte de São Paulo, Araújo-Coutinho *et al.* (1988) concluíram que *Simulium (Chirostilbia) pertinax* é a principal espécie-alvo para o controle, uma vez que tem ampla distribuição, alta densidade e acentuada atividade antropofílica.

Este trabalho teve por objetivo observar a influência de diferentes concentrações de nutrientes sobre o período de desenvolvimento larvário de *S. (C.) pertinax*.

## Material e métodos

As fêmeas de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* foram coletadas em ambiente natural com repasto sanguíneo completo, sendo acondicionadas em frascos de vidro e transportadas ao laboratório da SUCEN/Caraguatatuba/SP, onde foram mantidas em câmara de BOD à temperatura constante de 25° C para o desenvolvimento ovariano, conforme Viviani e Araújo-Coutinho (1999a). A seguir, as fêmeas foram submetidas a oviposição por “stress”, conforme o método descrito por Simmons e Edman (1981), procedimento este precedido pela introdução de tiras de papel vegetal de 2,5 cm x 5,0 cm no interior dos frascos para adesão dos ovos, facilitando assim o transporte dos mesmos para o criadouro artificial. Esse criadouro consistia em um aquário de vidro com 28 cm de altura x 35 cm de comprimento x 11 cm de largura, provido de uma rampa inclinada, contendo 4 litros de água

provenientes do criadouro natural. A água era impulsionada para o topo da rampa, por onde retornava à base do aquário, através de uma bomba de aquarismo modelo Betta 500, com vazão de 6.000 ml/min, reproduzindo, assim, as condições naturais de um criadouro. Com a finalidade de se manter a oxigenação da água, utilizaram-se bombas de aeração acopladas a mangueiras em cujas extremidades foram inseridas pedras porosas.

Após a oviposição, os frascos foram recolocados na câmara de BOD, à mesma temperatura, ocorrendo o desenvolvimento embrionário no quarto dia da postura (Viviani e Araújo-Coutinho, 1999b). As tiras de papel, com os ovos aderidos, foram retiradas e transportadas ao criadouro artificial, onde foram colocadas sobre a rampa. Para a fixação das tiras, as mesmas eram transpassadas por arame galvanizado, que, preso às bordas, mantinha os ovos em contato com a água.

Foram mensurados, diariamente, a temperatura da água, obtida por um termômetro digital Horiba, e o pH por aparelho portátil Digital MP 120 pH Meter. O teor de oxigênio dissolvido foi obtido através de um medidor marca Horiba modelo OM 12-2 a cada dois dias, quando então a água foi substituída usando-se água do criadouro, visando a eliminar substâncias tóxicas metabólicas nitrogenadas pelas próprias larvas.

A eclosão das larvas teve início um dia após a introdução no aquário (Viviani e Araújo-Coutinho, 1999b).

Para a criação de larvas de simulídeos nas condições de laboratório em sistema fechado, Pegoraro (1989) relata a necessidade de circulação constante da água, alimentação com fitoplâncton e rações especiais e remoção de nitrogenados tóxicos resultantes do metabolismo.

Alguns autores relatam que a alimentação dos imaturos na natureza é composta por algas, bactérias, fitoplâncton e restos orgânicos (Coscaron e Wygodzinsky, 1973; Wotton, 1980; Alencar *et al.*, 2001). Em sistemas fechados, autores como Zhang (2006) e Vojvodic *et al.* (2006) utilizaram ração de peixe como suplemento alimentar para a criação de larvas de Simuliidae, enquanto os autores Hart *et al.* (1991) e Fredeen (1959) utilizaram a levedura.

No presente trabalho, comparamos dois suplementos alimentares: alga e levedura, em diferentes concentrações, em criadouro artificial.

Foram realizados testes com dois nutrientes. O primeiro era composto pelas seguintes algas: *Clamydomonas sp.* (Chlamydomonadaceae), *Mono-raphidium sp.*, *Nephrocytium lunatum* e *Chlorella vulgaris* (Oocystaceae), todas cultivadas em laboratório segundo Vieira e Cáceres (1987). As algas eram centrifugadas, resultando em um concentrado, e armazenadas em frascos de vidro tamponados e mantidos em refrigerador até a sua

utilização. Essas algas foram escolhidas devido à facilidade de cultura em laboratório e por serem relatadas como fonte alimentar das larvas de simulídeos por Fredeen (1964), Vargas (1945) e Wilson *et al.* (1992). O segundo nutriente era constituído por levedura de cerveja (Fredeen, 1959) na proporção de um comprimido de 43 mg macerado e diluído em 20 ml de água destilada. A alimentação era ministrada no período matutino com auxílio de uma pipeta graduada de vidro.

Foram realizados 29 testes com cada uma das seguintes dosagens de levedura e alga: (i) 5 ml de alga e 10 ml de levedura, (ii) 10 ml de alga e 5 ml de levedura, (iii) 10 ml de alga, (iv) 5 ml de alga, (v) 10 ml de levedura e (vi) 5ml de levedura.

As larvas emergidas eram observadas diariamente e contabilizadas até a pupação, estabelecendo-se o período de desenvolvimento larvário nos diferentes testes.

Para a determinação do número de pupas eclodidas nas diferentes concentrações foi utilizada a análise de va-

riância não paramétrica (FRIEDMAN Two-Way ANOVA) (Zar, 1996).

## Resultados

Poucas variações dos fatores abióticos foram observadas no transcorrer do presente estudo, encontrando-se dentro dos padrões para a espécie *Simulium* (*Chirostilbia*) *pertinax* (Tabela 1).

Em relação à taxa de formação de pupas, foi observada uma maior taxa na concentração de 5 ml de alga + 10 ml de levedura (teste nº 1), com diferença significativa ( $F = 27,58$ ;  $P < 0,001$ ) em relação ao número de pupas nas concentrações de 10 ml de alga (teste nº 3) e 10 ml de alga + 5 ml de levedura (teste nº 2) (Tabela 2). Nos testes com 5 ml de alga (teste nº 4), 10 ml de levedura (teste nº 5) e 5 ml de levedura (teste nº 6), não foi obtido o término do desenvolvimento larvário em todas as repetições.

No teste 1, ocorreu um melhor desenvolvimento larvário, visto que o número de pupas foi maior em curto período de tempo em relação às outras concentrações (Figura 1, Tabela 3). No teste 2, apesar de se verificar

**Tabela 1.** Média e desvio padrão (DP) do oxigênio dissolvido (OD), temperatura (°C) e pH, valores máximo (Max) e mínimo (Min.) nas diferentes concentrações

**Table 1.** Mean and standard deviation (SD) of dissolved oxygen (DO), temperature (°C) and pH values maximum (Max) and minimum (Min) at different concentrations

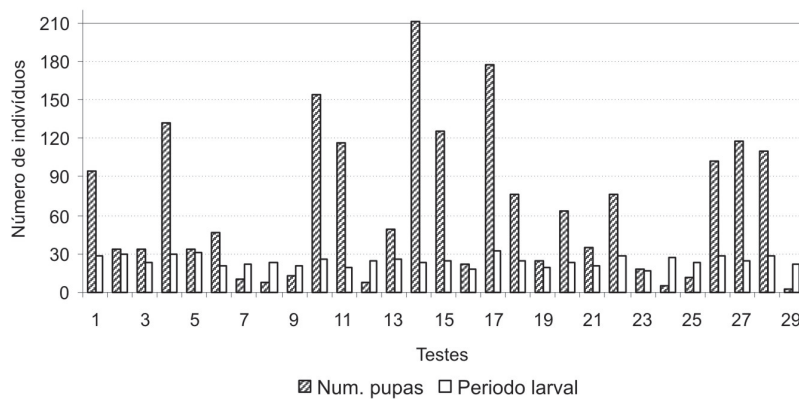
	5 ml de alga + 10 ml de levedura			10 ml de alga + 5 de levedura			10 ml de alga		
	OD(mg/l)	Temp.(°C)	pH	OD(mg/l)	Temp(°C)	pH	OD(mg/l)	Temp.(°C)	pH
Média	6,3	24,0	7,4	6,0	24,0	6,8	6,7	24,1	7,1
DP	0,3	1,28	0,3	1,2	0,8	0,2	0,6	1,82	0,5
Min	5,7	21,1	6,8	3,4	22,5	6,2	5,5	18,9	6,2
Max	7,9	26,7	8,3	8,8	25,9	7,2	8,3	27,0	8,2

**Tabela 2.** Média, desvio padrão e número total, máximo e mínimo de pupas formadas nas diferentes concentrações.

**Table 2.** Mean, standard deviation and total, maximum and minimum of pupae formed in different concentrations.

	5 ml de alga + 10 ml de levedura <sup>a</sup>	10 ml de alga + 5 ml de levedura <sup>a</sup>	10 ml de alga <sup>a</sup>
Total de pupas	1913	1019	65
Média	65,96	35,13	2,24
Desvio padrão	57,47	66,77	5,27
Mínimo	2,0	0	0
Máximo	211,0	280,0	19,0

Nota: (a) A diferença entre os valores das médias é estatisticamente significante (FRIEDMAN Two-Way ANOVA) ( $F = 27,58$ ;  $P < 0,001$ )



**Figura 1.** Período larvário e total de pupas formadas em cada teste nas concentrações de dietas de 5 ml de alga + 10 ml de levedura.

**Figure 1.** Larval total period and pupae formed in each test diet at concentrations of 5 ml algae + 10 ml of yeast.

que o período de desenvolvimento foi semelhante ao do teste 1, houve uma redução no número de pupas formadas e, em algumas repetições, não ocorreu o término do desenvolvimento larvário (Figura 2, Tabela 3). Já no teste 3, as formações de pupas foram bem reduzidas e o período de desenvolvimento foi bem maior, sendo que, em várias repetições, os resultados foram nulos quando comparados com os outros testes (Figura 3, Tabela 3).

Os resultados permitiram determinar que para *S. (C.) pertinax* a alimentação de alga associada a levedura (teste 1) apresentou-se favorável ao seu desenvolvimento em laboratório, com média mínima de 16 dias e máxima de 25 dias do período de formação de pupa, em temperatura média da água de 24 °C (Tabela 3).

## Discussão

A pouca variação dos fatores abióticos observados é compatível com resultados de outros autores em estudos biológicos de *S. (C.) pertinax*.

As médias dos valores de oxigênio oscilaram, no presente trabalho, entre 6,0 mg/L e 6,7 mg/L. Alguns autores relataram a concentração de oxigênio dissolvido em criadouros naturais desta espécie: Cunha (2004), observando

a distribuição de espécies no Litoral Norte (SP), obteve uma variação entre 4,9 mg/L e 5,3 mg/L, e Dellome Filho (1991), em Morretes (PR), obteve valores entre 7,2 mg/L e 10,9 mg/L.

A média do pH neste experimento oscilou entre 6,8 e 7,4. Valores similares foram encontrados por Guimarães e Medeiros (1986) em laboratório, onde o pH médio foi de 6,6. Cunha (2004) obteve pH entre 6,9 e 7,4 em criadouros naturais do Litoral Norte do estado de São Paulo, e Araújo-Coutinho *et al.* (1999), em Parati (RJ), obteve médias de pH anual oscilando entre 6,6 e 7,5.

As temperaturas da água, no transcorrer do experimento, oscilaram entre 18,9°C e 27,0°C. Valores próximos foram relatados por Petry *et al.* (2006), que obtiveram temperaturas da água entre 16,5 a 28°C em estudo com *Simulium pertinax* em laboratório. Em criadouro natural de *Simulium pertinax*, no Litoral Norte (SP), Cunha (2004) obteve temperaturas médias entre 23,1°C e 26,8°C, e Araújo-Coutinho *et al.* (1999); em Parati (RJ), temperatura anual da água oscilando entre 18,3 e 24,5°C. Desta forma, no que se refere aos fatores abióticos, os valores observados neste experimento, no decorrer do desenvolvimento larval, podem ser considerados adequados, quando

comparados aos padrões exigidos por esta espécie.

O desenvolvimento larvário de cada espécie pode ser influenciado pela temperatura (Puri, 1925; Vargas, 1945; Mokry *et al.*, 1981). No entanto, neste experimento, não obtivemos uma variação significativa deste parâmetro que evidenciasse essa influência. Vários relatos do período de desenvolvimento larvário em relação à temperatura são encontrados em trabalhos com criadouros seminais no campo: Moreira *et al.* (1994) com *S. nogueirai*, em Santa Catarina, observaram que o período larval foi de 18 dias, com temperatura média da água de 22,8°C, e de 36 dias, com média de temperatura de 15,2°C; Pegoraro (1993), com *S. (C.) pertinax*, obteve um período larvário de 21 dias à temperatura média de 22,4°C.

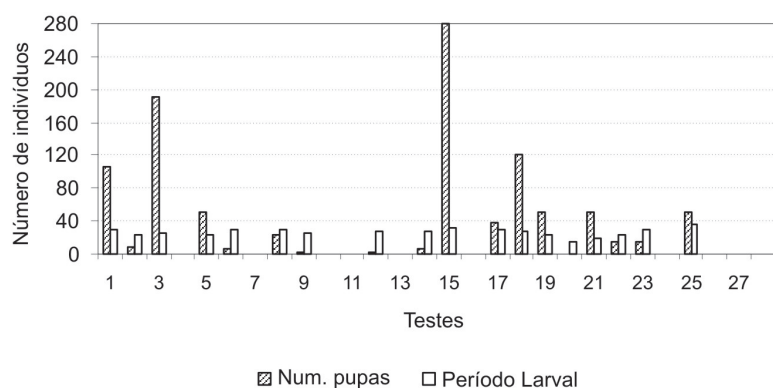
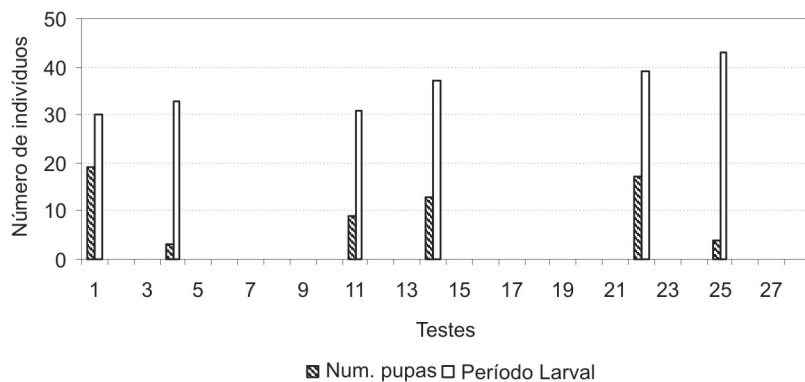
A importância das algas na composição alimentar de larvas de *Simulium* foi reconhecida por Alencar *et al.* (2001), Dellome Filho (1989), Lovzovei (1989). A utilização de alga, associada ou não a outros elementos, para criação em laboratório, foi feita por diversos autores, tais como Tarshis (1968), Raybould *et al.* (1982) e Dellome Filho (1989) como também a utilização de levedura (Hart *et al.*, 1991; Zhang, 2006).

Guimarães e Medeiros (1986) obtiveram um período médio de desenvolvimento larvário de 19 dias em criação de *S. (C.) pertinax* alimentada com cultura mista de algas. Dellome Filho (1991) obteve em laboratório, utilizando diferentes estágios de larvas de *S. (C.) pertinax* do campo e inseridas em aquário, uma sobrevida máxima de 22 dias, utilizando água do rio e uma suplementação alimentar de microalgas cultivadas para esse fim. Comparando com nossos resultados, verificamos, no presente trabalho, uma sobrevida larvária máxima de 43 dias (Tabela 3), quando alimentadas exclusivamente com algas. Esta discrepância pode ser justificada, pelo fato das larvas terem sido observadas, no presente trabalho, logo após sua eclosão, ao contrário do



**Tabela 3.** Período de dias para formação de pupa, mínimo e máximo e média máxima e mínima.**Table 3.** Period of days to form pupae, minimum and maximum and maximum and minimum average.

	10 ml de alga	5 ml de alga + 10 ml de levedura	10 ml de alga e 5 ml de levedura
Tamanho da amostra	6	29	18
Média min/dias	29,16 ± 4,66	17,07 ± 2,52	19,66 ± 4,07
(Min – Max)	(22,00 – 34,00)	(13,00 – 23,00)	(15,00–28,00)
Média máx/dias	35,50 ± 5,05	25,38 ± 6,11	26,55 ± 4,88
(Min – Max)	(30,00 – 43,00)	(17,00 – 51,00)	(15,00 – 37,00)

**Figura 2.** Período larvário e total de pupas formadas em cada teste nas concentrações de dietas de 10 ml de alga + 5 ml de levedura.**Figure 2.** Larval total period and pupae formed in each test diet at concentrations of 10 ml algae + 5 ml of yeast.**Figura 3.** Período larvário e total de pupas formadas em cada teste nas concentrações de dietas de 10 ml de alga.**Figure 3.** Larval total period and pupae formed in each test diet at concentrations of 10 ml algae.

autor citado, que utilizou larvas de vários estágios.

Fredeen (1959) utilizou em laboratório, para larvas de *Simulium*, caldo de levedura como alimento, obtendo como resultado uma sobrevida de poucos dias, com o desenvolvimento larvário ocorrendo apenas até o segundo estágio. Resultado semelhante foi encontrado no presente estudo, onde não ocorreu desenvolvimento larvário completo quando utilizada levedura isoladamente. O mesmo autor, usando a associação de levedura e alga, obteve uma pupação de *S. venustum* com 14 dias, resultado este próximo aos encontrados neste trabalho (Tabela 3), quando se associou alga e levedura para *S. (C.) pertinax*.

## Agradecimentos

Ao pesquisador Nilton Rojas, do Instituto de Pesca (SP), pela cultura de microalgas que nos foram cedidas e ao Técnico de Apoio à Pesquisa Paulo Frugoli dos Santos, do Laboratório de Simuliídeos da SUCEN, Caraguatatuba.

## Referências

- ALENCAR, Y.B.; LUDWIG, T.A.; SOARES, C.C.; HAMADA, N. 2001. Stomach content analyses of *S. perflavum* Roubaud 1906 (Diptera: Simuliidae) larvae from streams in Central Amazonia, Brazil, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **96**:561-576.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762001000400020>  
 AMARAL-CALVÃO, A.M.R.; MAIA-HERZOG, M. 2003. Coleção de simuliídeos (Diptera: Simuliidae) de Adolpho Lutz, sua história e importância. *História, Saúde e Ciências: Mangueiras*, **10**:259-271.  
 ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C.; MAIA-HERZOG, M.; SOUZA, B.C. 1988. Levantamento das espécies do gênero *Simulium* Latreille (Diptera: Simuliidae) no litoral norte do Estado de São Paulo. *Rev. Bras. Ent.*, **32**:11-17.  
 ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C.; FIGUEIRÓ, R.; VIVIANI, A.P.; NASCIMENTO, E.S.; CAVADOS, C.F.G. 2005. A bioassay method for blackflies (Diptera: Simuliidae) using larvicides. *Neotropical Entomology*, **34**:511-513.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2005000300022>  
 ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C.; MELLO, R.P.; FREIRE, N.M.S. 1999. The seasonal abundance of *Simulium* (Chirostilbia) *pertinax*, Kollar 1832, (Diptera, Simuliidae) and related entomological fauna in the municipality of

- Paraty, RJ, Brasil. *Revista Universidade Rural. Série Ciências da Vida*, **21**:107-116.
- CAMPOS, J.; ANDRADE, C.F. 2002. Insecticide resistance in *Simulium* populations (Diptera, Simuliidae). *Cadernos de Saúde Pública*, **18**:661-671.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2002000300015>
- COSCARON, S.; WYGODZINSKY, P. 1973. Notas sobre simuliídeos neotropicales: IV. Sobre la presencia de *S. inaequale* Paterson y Shannon en el noroeste de la Argentina y sudeste del Paraguay, y una nueva especie muy afín (Diptera: Simuliidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, **34**:141-149.
- CUNHA, A.D.B.P.V. 2004. *Variação temporal e zonal de larvas de Simulium sp. no Litoral Norte do Estado de São Paulo*. Jaboticabal, SP. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, 47 p.
- DELLOME FILHO, J. 1989. Simuliofauna do Rio Marumbi Morretes, PR, Brasil: microalgas como alimento de larvas de *Simulium* incrustatum Lutz, 1910 (Diptera:Simuliidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **84**:157-163.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761989000800031>
- DELLOME FILHO, J. 1991. Simuliofauna do Rio Marumbi (Morretes, PR, Brasil): I. coleta e criação; dados meteorológicos e físico-químicos do criadouro; adultos (Diptera: Simuliidae). *Acta Biológica Paranaense*, **20**:145-156.
- FIGUEIRÓ, R.; ARAÚJO-COUTINHO, C.J.; AZEVEDO, L.H.; NASCIMENTO, E.S.; MONTEIRO, R.F. 2006. Spatial and temporal distribution of blackflies (Diptera: Simuliidae) in the Itatiaia National Park, Brazil. *Neotropical Entomology*, **35**:542-550.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2006000400018>
- FREDEEN, F.J.H. 1959. Rearing black flies in the laboratory (Diptera: Simuliidae). *Canadian Entomologist*, **91**:73-83.  
<http://dx.doi.org/10.4039/Ent9173-2>
- FREDEEN, F.J.H. 1964. Bacteria as food for blackfly larvae (Diptera: Simuliidae) in laboratory cultures and in natural streams. *Canadian Journal of Zoology*, **42**:527-548.  
<http://dx.doi.org/10.1139/z64-047>
- GIL-AZEVEDO, L.H.; SANTOS-MALLET, J.R.; MAIA-HERZOG, M. 2004. Caracteres diagnósticos de *Simulium* (Chirostilbia) pertinax Kollar (Diptera: Simuliidae). *Neotropical Entomology*, **33**:433-437.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2004000400006>
- GUIMARÃES, E.L.G.; MEDEIROS, M.L.M.B. 1986. Efeito da poluição por despejo orgânico no ciclo vital do *Simulium pertinax* Kollar (Diptera: Simuliidae). Curitiba, S. 73 p.
- HART, D.D.; MERZ, R.A.; GENOVESE, S.J.; CLARK, B.D. 1991. Feeding postures of suspension-feeding larval black flies: the conflicting demands of drag and food acquisition. *Oecologia*, **85**:457-463.  
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00323756>
- LOZOVEI, A.L. 1989. Diatomáceas (Bacillariophyceae) como alimento das larvas de *Simulium* spp. (Diptera: Simuliidae) no rio Pasauña, Curitiba. Paraná, Brasil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **32**:339-376.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262004000100015>
- LOZOVEI, A.L.; PETRY, F.; SANTOS NETO, L.G.; FERRAZ, M.E. 2004. Levantamento das espécies de *Simulium* (Diptera, Simuliidae), Riacho dos Padres, município de Almirante Tamandaré, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, **48**:91-94.
- MOKRY, J.E.; COLBO, M.H.; THOMPSON, B.H. 1981. Laboratory colonization of blackflies. In: M. LAIRD (ed.), *Blackflies: The future of biological methods in integrated control*. London, Academic Press, p. 299-306.
- MOREIRA, G.R.P.; PEGORARO, R.A.; SATO, G. 1994. Influência de fatores abióticos sobre o desenvolvimento de *Simulium* nogueirai D'Andretta & González em um córrego da Mata Atlântica. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **23**:525-542.
- PEGORARO, R.A. 1989. Dispositivo para criação de larvas e pupas de Simuliidae (Diptera) em condições semi-naturais. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **18**:179-183.
- PEGORARO, R.A. 1993. Ciclo biológico de *Simulium* (Chirostilbia) pertinax Kollar, 1832 (Diptera: Simuliidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **22**:29-38.
- PETRY, F.; LOZOVEI, A.L.; CHAHAD-EHLERS, S. 2006. Eggs fertility and biological aspects of the life cycle in natural populations of *Simulium* (Diptera: Simuliidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* **49**:799-805.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132006000600014>
- PURI, I.M. 1925. On the life history and structure of the early stages of Simuliidae (Diptera: Nematocera). *Part. I. Parasitology*, **17**:295-334.
- RABINOVITCH, L.; ARAÚJO-COUTINHO, C.J.; SILVA, C.M.B.; ALVES, R.S.A.; ALVES, L.F.A.; CAVADOS, C.F.G. 2008. Bioprodutos à base de *Bacillus* entomopatogênicos em programas de controle de vetores na América Latina. In: S.B. ALVES (ed.), *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba, Fealq, p. 137-170.
- RAYBOULD, J.N.; BARRO, T.; SAWADOGO, R.S.; MORDZITA, F. 1982. A new simple technique for rearing F1 progeny from females of the *Simulium damnosum* Theobald complex. *Tropenmed Parasitol*, **33**:87-93.
- SILVA, A.N.B.; ANDRADE, R.T.A.; RIOS-VELÁSQUEZ, C.M.; PESSOA, F.A.C.; MEDEIROS, J.F. 2009. Larval ontogeny and morphological variations of *Psaroniocompsa* incrustata (Lutz) (Diptera: Simuliidae) in the State of Rio Grande do Norte, Northeastern Brazil. *Neotropical Entomology*, **38**(3):360-365.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2009000300010>
- SIMMONS, K.R.J.; EDMAN, J.D. 1981. Sustained colonization of the black fly *Simulium decorum* Walker (Diptera:Simuliidae). *Canadian Journal of Zoology*, **59**:1-7.  
<http://dx.doi.org/10.1139/z81-001>
- STRIEDER, M.N.; SANTOS, J.E.; VIEIRA, E.M. 2006. Distribuição, abundância e diversidade de Simuliidae (Diptera) em uma bacia hidrográfica impactada no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, **50**:119-124.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262006000100018>
- TARSHIS, I.B. 1968. Collecting and rearing blackflies. *Annals of the Entomological Society of America*, **61**:1072-1083.
- VARGAS, L. 1945. *Simulidos del Nuevo Mundo*. Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, 941 p.
- VIEIRA, A.A.H.; CÁCERES, O. 1987. Excreção de carboidratos solúveis por microalgas de água doce. I comparação de nove diferentes espécies em quatro meios de cultura. *Ciência e Cultura*, **39**:1070-1074.
- VIVIANI, A.B.P.; ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C. 1999a. Período de desenvolvimento ovariano de *Simulium pertinax* Kollar, 1832 (Diptera:Simuliidae). *Entomologia y Vectores*, **6**:180-189.
- VIVIANI, A.B.P.; ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C. 1999b. Influência da temperatura no desenvolvimento embrionário de *Simulium pertinax* Kollar, 1832 (Diptera: Simuliidae). *Entomologia y Vectores*, **6**:591-600.
- VOJVODIC, S.; NELDER, M.D.; McCREADIE, J.W. 2006. Influence of fixation of the blackfly *Simulium vittatum* on morphological characters of the trichomycete smittium culisetæ. *Acta Entomologica Serbica*, Supplement:125-130.
- WILSON, M.D.; POST, R.J.; BOAKYE, D.A. 1992. Studies on environmentally-induced colour variation in *Simulium sirbanum* (Diptera:Simuliidae) using a portable rearing system. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **86**:169-174.
- WOTTON, R.J. 1980. Bacteria as food for blackfly larvae (Diptera:Simuliidae) in a lake outlet in Finland *Annales Zoologici Fennici*, **17**:127-130.
- ZAR, J.H. 1996. *Bioestatistical analysis*. Upper Saddle River, Prentice-Hall, 662 p.
- ZHANG, Y. 2000. Effects of fan morphology and habitat on feeding performance of black fly larvae. *Archives of Hydrobiology*, **149**:362-386.
- ZHANG, Y. 2006. Balancing food availability and hydrodynamic constraint: phenotypic plasticity and growth in *Simulium noelleri* blackfly larvae. *Oecologia*, **147**:39-46.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00442-005-0243-9>

Submitted on January 29, 2010

Accepted on March 2, 2011