

## CONTROLE BIOLÓGICO

**Variação da Predação de Larvas de *Aedes aegypti* por Larvas de *Toxorhynchites violaceus* (Diptera: Culicidae) de acordo com Dimensões do Hábitat**DANIEL ALBENY SIMÕES<sup>1</sup>, CASSIANO SOUSA ROSA<sup>2</sup>, RODRIGO FERREIRA KRÜGER<sup>3</sup>, LÍVIA MARIA SILVA ATAÍDE<sup>1</sup>, EVALDO FERREIRA VILELA<sup>1</sup><sup>1</sup>Departamento de Entomologia – UFV 36570-000 - Viçosa – MG [toxorhynchites.sp@gmail.com](mailto:toxorhynchites.sp@gmail.com)<sup>2</sup>FaEnge – UEMG – 35930-314 – João Monlevade - MG<sup>3</sup>Departamento de Microbiologia e Parasitologia – Universidade Federal de Pelotas 96.010-900 – Pelotas – RS*BioAssay*: 7:4 (2012)Variation of *Aedes aegypti* Larvae Predation by *Toxorhynchites violaceus* Larvae (Diptera: Culicidae) According to Habitats Dimensions

**ABSTRACT** - Non-biodegradable containers that accumulate water are commonly found in urban environment, and make ease the larval development of *Aedes aegypti* mosquito, which can make chemical control very difficult and less effective. Biological control is an alternative method, and the predators larvae of the genre *Toxorhynchites* (Diptera: Culicidae) are a model widely used. In this article we check the effect of habitat heterogeneity on *Ae. aegypti* larvae predation by larvae of *Toxorhynchites violaceus*. The predation model defines that the habitat heterogeneity has a significant effect on predation level. Larvae suffers a higher predation in containers with 1.8 centimeters in high of the water column than in containers with 4 and 13.4 centimeters high. In large containers, the predation of *Ae. aegypti* larvae by *Tx. violaceus* larvae may not be efficient. However, in containers that accumulate small water volume, as in the majority of the non-biodegradable containers, the model may be efficient.

**KEY WORDS** - *Toxorhynchites*, containers, heterogeneity, *Ae. aegypti*.

**RESUMO** - Recipientes não biodegradáveis que acumulam água espalham-se pelo ambiente urbano e favorece o desenvolvimento larval do mosquito *Aedes aegypti*, o que aliado a outras questões torna o controle químico larval difícil e/ou pouco efetivo. O controle biológico é um método alternativo e um modelo já utilizado são larvas predadoras do gênero *Toxorhynchites* (Diptera: Culicidae). O efeito da altura da coluna d'água e área da superfície utilizada para respiração sobre a predação de larvas de *Ae. aegypti* por larvas de *Tx. violaceus* foi avaliado. O modelo de predação obtido determina que a variação da altura da coluna d'água e área da superfície de respiração afeta significativamente a predação. Larvas de *Ae. aegypti* são mais predadas em recipientes com coluna de água de 1,8cm, do que em recipientes com colunas de 13,4 cm e 4,0 cm, a medida que se aumenta a superfície utilizada para respiração. Segundo o modelo obtido, em grandes recipientes, aqueles com grandes medidas para altura de coluna d'água e superfície de respiração, a predação de larvas de *Ae. aegypti* por larvas de *Tx. violaceus* pode não ser eficiente. Já em recipientes que acumulam pequeno volume de água como a maioria dos recipientes não biodegradáveis, o modelo sugere que a predação possa ser eficiente.

**PALAVRAS-CHAVE** - *Toxorhynchites*, recipientes, heterogeneidade, *Ae. Aegypti*.

Recipientes artificiais podem ser encontrados espalhados em diversos locais das cidades. São eles, por exemplo, garrafas de plástico, vidro, isopor, alumínio ou pneus de automóveis descartados. Estes recipientes se diferenciam dos naturais, tais como ocos de árvore, entrenós de bambu, folhas de bromélias, pela sua estrutura e composição. No Brasil, o

agente patogênico causador da dengue é transmitido pelo *Aedes aegypti* (L.) (Funasa, 2002). Esta espécie encontra no meio urbano, condições favoráveis para uma rápida expansão, viabilizadas pela intensa oviposição em recipientes artificiais e naturais (Funasa, 2002; Focks, 2007). Esta ampla variedade de recipientes utilizados pelo mosquito torna

seu controle químico difícil em áreas de grande infestação (Forattini & Marques, 2000; Donalísio & Glasser, 2002; Schreiber, 2007).

Dentre os inseticidas utilizados para controle do *Ae. aegypti* no Brasil destaca-se o temephos. Este larvicida é utilizado para o controle das larvas do mosquito (Funasa, 2002), entretanto, em algumas populações já se observa resistência (Braga *et al.*, 2004; Beserra *et al.*, 2007; Horta *et al.*, 2009). Entre alternativas de controle biológico que mostraram viabilidade técnica estão os peixes larvófagos (Pamplona *et al.*, 2009), as bactérias (Lima *et al.*, 2005) e os hormônios reguladores de crescimento (Martins & Silva, 2004). Dentre os organismos utilizados como agentes de controle biológico também se encontram larvas predadoras do gênero *Toxorhynchites* (Theobald) (Diptera: Culicidae) (Bonnet & Hu, 1951; Sempala, 1983; Collins & Blackwell, 2000; Schreiber, 2007; Albeny *et al.*, 2011).

Larvas de *Toxorhynchites* são aquáticas e desenvolvem-se em recipientes, naturais e artificiais, que acumulam água (Steffan & Evenhuis, 1981). Nestes recipientes, exercem importante papel na manutenção e regulação populacional de macro-invertebrados (Amalraj & Das, 1996; Sunahara *et al.*, 2002), como esperado pelos modelos de interação predador-presa (Holling, 1961; Bay, 1974). Entretanto, os adultos não apresentam hábitos hematófagos, o que os tornam incapazes de transmitir diretamente agentes patogênicos ao homem (Schreiber, 2007).

Testes que avaliam os efeitos da introdução direta de larvas do gênero *Toxorhynchites* em recipientes onde vivem larvas do mosquito *Ae. aegypti* tem se mostrado eficientes na redução da densidade larval do *Ae. aegypti* (Focks *et al.*, 1982; Gerberg & Visser, 1978; Rawlins *et al.*, 1991; Tikasingh, 1992; Albeny *et al.*, 2011). Entretanto estes estudos não levam em consideração que variações no tamanho, forma e volume de recipientes podem afetar a taxa de predação (Sunahara *et al.* 2002, Alto & Griswold, 2005).

Variações no volume de recipientes são capazes de gerar habitats estruturalmente complexos (Sunahara *et al.* 2002, Alto & Griswold, 2005). Considerando a ampla variedade de recipientes utilizados para o desenvolvimento larval do mosquito *Ae. aegypti*, a diversidade de formatos, e as diferentes capacidades de acúmulo de água (Forattini & Marques, 2000; Funasa, 2002; Donalísio & Glasser, 2002), o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de alguns aspectos da complexidade de habitat sobre o número de larvas de *Ae. aegypti* predadas por larvas da espécie *Toxorhynchites violaceus* (Wiedemann). O presente experimento busca responder as seguintes perguntas: i) A variação no volume de água e posição do recipiente influencia no número de presas (larvas de *Ae. aegypti*) consumidas pelo predador (larvas de *Tx. violaceus*)? ii) Existe relação entre altura de coluna de água, superfície de respiração e número de presas consumidas pelo predador? iii) Existe interação entre as variáveis altura da coluna d'água e superfície de respiração?

## Material e Métodos

Larvas de *Tx. violaceus* foram obtidas em bromélias

rupícolas na Serra da Piedade (43°40'N, 19°49'S, altitude 1746m), Caeté, MG. Folhas de bromélias são ambientes que acumulam água das chuvas e proporcionam condições ideais para a ocorrência de uma grande diversidade de espécies (Lounibos & Frank, 1987), dentre elas, as larvas do gênero *Toxorhynchites* (Albeny *et al.*, 2010).

Para a remoção do líquido presente nas plantas foi utilizado um sugador, na forma de um recipiente plástico com 10 cm de comprimento e 5 cm de raio com volume igual a 500 ml com uma tampa com dois orifícios de 2 cm. Desses orifícios saem dois tubos de PVC medindo 40 cm de comprimento por 3 cm de largura. O líquido retirado de cada bromélia foi vasculhado, a fim de se detectar a presença das larvas de *Tx. violaceus* que foram acondicionadas individualmente em recipientes plásticos de poliestireno de 250 ml. Posteriormente, foram conduzidas ao laboratório da Universidade Federal de Viçosa, MG, onde o experimento foi realizado. Larvas de 4° estágio de *Tx. violaceus* e larvas de 3° e 4° estágio de *Ae. aegypti* foram utilizadas no experimento. As larvas de *Ae. aegypti* foram obtidas de ovos provenientes da criação do Laboratório de Ecologia Química de Vetores (Depto. de Parasitologia UFMG).

O experimento foi conduzido com quatro diferentes volumes de água destilada (0,25; 0,5; 0,7 e 1 L) em garrafas tipo PET de 2 L para a posição vertical e para a posição horizontal (8 tratamentos). Por não serem homoganeamente cilíndricas, as garrafas permitiram na vertical diferentes superfícies para os diferentes volumes. Trezentas larvas de *Ae. aegypti* foram acondicionadas em cada garrafa. Cada tratamento foi repetido seis vezes e cada um foi composto por uma garrafa PET na horizontal ou vertical. Os quatro volumes e as posições das garrafas permitiram diferentes colunas d'água e superfícies em contato com o ar (Tabela 1). As superfícies em contato com o ar (cm<sup>2</sup>) foram estimadas conforme a posição da garrafa: (i) quando esta estava na vertical, foi medido o perímetro do círculo (C) à altura da coluna d'água e a superfície de contato com o ar foi calculada como sendo a área do círculo ( $a=C^2/4\pi$ ), (ii) quando a garrafa estava na horizontal foram medidos os lados (base (b) e altura (h)) do retângulo formado pela coluna d'água e a área deste retângulo foi tomada como superfície de contato ( $a=b*h$ ).

As larvas de *Tx. violaceus* utilizadas no experimento

Tabela 1. Valores para volume de água, altura da coluna de água, superfície utilizada para respiração para as garrafas PET na posição horizontal (GPH) ou vertical (GPV). (número de presas oferecidas = 300 e número de repetições =6).

Tratamento	Volume (l)	Coluna (cm)	Superfície (cm <sup>2</sup> )
GPH	0,25	1,8	223,3
GPH	0,5	2,8	293,3
GPH	0,7	3,5	330,5
GPH	1,0	4,0	351,8
GPV	0,25	3,9	86,5
GPV	0,5	6,9	81,71
GPV	0,7	9,5	76,98
GPV	1,0	13,4	70,88

ficaram em jejum por 96 horas. As variáveis explicativas utilizadas no presente trabalho foram altura da coluna de água e área superficial utilizada pelas larvas de ambas espécies para a respiração. O experimento foi conduzido com fotofase de 12 horas e temperatura de  $25^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$  com duração de 48 horas. Para obtenção do número de larvas de *Aedes* predadas, foram contadas as larvas remanescentes ao final de 48 horas e subtraído do número de larvas colocadas no início do experimento.

Os dados foram analisados com o software estatístico livre R (R Development Core Team, 2006) utilizando distribuição de Poisson e corrigida a sobredispersão para quasipoisson, tendo como variável resposta o número de larvas de *Aedes* predadas por uma larva de *Tx. violaceus* após um período de 48 horas. Como variáveis explicativas foram utilizadas a altura da coluna de água e a superfície utilizada pelas larvas para respiração. A análise foi realizada considerando como significativo  $p < 0,05$ .

### Resultados e Discussão

A análise dos dados indicou que houve diferença significativa entre a variável altura da coluna de água ( $gI=1,40$ ;  $p=0,001$ ) e a superfície utilizada para respiração ( $gI=1,39$ ;  $p=0,003$ ) para um mesmo volume de água dependendo da posição da garrafa ser a horizontal ou a vertical. Houve interação entre altura da coluna de água e superfície utilizada para respiração ( $gI=1,38$ ;  $p=0,01$ ). Houve um ponto de intercessão para três retas relativas às colunas d'água de 1,8, 4,0 e 13,4 cm (Fig. 1) quando a superfície de respiração foi de aproximadamente  $50\text{ cm}^2$  e o número de larvas de *Ae. aegypti*

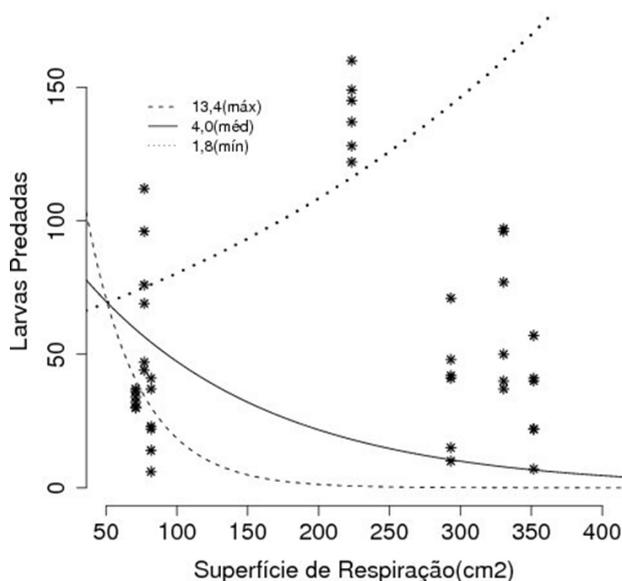


Figura 1. Número de larvas de *Ae. aegypti* predadas em 48 horas por larvas de *Tx. violaceus* em função da variação da superfície de respiração. As curvas plotadas no gráfico correspondem aos valores máximo, médio e mínimo para a variável altura da coluna de água e medem 13,4; 4,0 e 1,8 cm, respectivamente.

consumidas em 48 horas foi o mesmo, aproximadamente 70 larvas.

Em recipientes com alturas de coluna d'água média (4,0 cm) e máxima (13,4 cm) houve uma diminuição no número de larvas de *Ae. aegypti* consumidas (Fig. 1). Já em recipientes com altura de coluna d'água menores (1,8 cm) houve um aumento no número de larvas de *Ae. aegypti* consumidas conforme aumenta a superfície de respiração.

Suspeita-se então que, recipientes com alturas de coluna d'água entre 4,0 e 13,4 cm (Fig. 1), por possuírem mais espaço para deslocamento das presas, possibilitaram uma situação de desencontro entre presa e predador. Como proposto por Alto & Griswold (2005) a elevação da altura da coluna d'água parece gerar locais de espaço para fuga, diminuindo assim a taxa de encontro com seus predadores. Outro fato relevante é que, Linley (1990, 1995) observou que larvas das espécies *Toxorhynchites brevipalpis* Theobald e *Toxorhynchites amboinensis* (Doleschall) capturam suas presas por golpes e que dependem da proximidade com as mesmas. O autor observou que o aumento do ângulo ou da distância entre predador e presa diminui a taxa de captura. Portanto, a estratégia de emboscada empregada pelas espécies deste grupo é altamente dependente da capacidade de deslocamento das presas, bem como de sua densidade. Em densidades muito altas, que dificultam o deslocamento das presas, pode haver redução da taxa de predação, o que subverte o esperado em relação à teoria ecológica de densidade-dependência. No presente experimento, suspeita-se que o aumento da área superficial utilizada para respiração aliado a alturas de coluna d'água de 4,0 e 13,4 cm, promoveu o aumento da distância entre predador e presa (Linley, 1990) diminuindo assim a taxa de captura das presas pelo predador. Entretanto, quando a altura da coluna d'água é reduzida (ex. mínima, 1,8 cm) observou-se o aumento do número de presas consumidas. Possivelmente, este aumento é proporcionado pela diminuição das áreas de fuga para as presas.

Como larvas de *Toxorhynchites* são predadores de emboscada (Steffan & Evenhuis, 1981) e geralmente capturam suas presas próximo à superfície da água (Linley, 1990) foi esperado que a redução da área superficial aproximasse a presa do predador. Yasuda & Hagimori (1998) observaram que larvas de *Toxorhynchites towadensis* (Matsumura) apresentam maior taxa de sobrevivência, promovida pela maior captura de presas, em recipientes com pequena área superficial. Uma possível explicação para suportar esta tendência é o fato de que todas as presas precisam subir à superfície para respirar. No momento da respiração, se a superfície utilizada para tal é pequena (ex.  $< 50\text{ cm}^2$ ), a captura é possibilitada pela maior proximidade entre presa e predador.

De uma maneira geral, recipientes com superfícies de respiração e colunas d'água inferiores a aproximadamente  $50\text{ cm}^2$  e 1,8 cm respectivamente, suportam pequeno volume de água. No entanto, recipientes com estas características, podem se tornar facilmente bastante adensados. Nestas circunstâncias, quando alturas de coluna d'água são mínimas (ex: 1,8 cm) observa-se uma tendência à diminuição no número de presas consumidas (Fig. 1). Hubbard et al. (1988) observaram que o aumento da densidade de larvas de *Ae.*

Tabela 2. Modelos utilizados para calcular as diferentes curvas de altura da coluna de água que influenciam na quantidade de larvas de *Ae. aegypti* predadas por *Toxorhynchites violaceus* em função da superfície de respiração.

Altura da coluna de água	Modelo
13.4 cm	$Col_{pred} = e^{(4,087226+0,00299186x)}$
4.0 cm	$Col_{pred} = e^{(4,634996-0,007791796x)}$
1.8 cm	$Col_{pred} = e^{(5,605277-0,02689322x)}$

*aegypti* de 0,05 para 1 larva/ml resulta na diminuição da eficiência predatória de *Toxorhynchites rutilus rutilus* (Coq.). O relacionamento negativo entre densidade e captura de presas possivelmente ocorre porque uma alta densidade de indivíduos pode atrapalhar o predador, confundindo-o ou até mesmo impossibilitando-o de capturar e manipular suas presas.

O tamanho de recipientes é conhecido como sendo um importante fator para crescimento, desenvolvimento e sobrevivência de vários organismos aquáticos (Padgett & Focks, 1980). Em predadores de emboscada, como as larvas do gênero *Toxorhynchites*, o encontro com suas presas parece ser uma função da área superficial do recipiente e sua altura da coluna d'água (Yasuda & Hagimori, 1998). Considerando o fato de que larvas do gênero *Toxorhynchites* localizam suas presas quando elas se movimentam (Steffan & Evenhuis, 1981; Yasuda & Hagimori, 1998; Alto & Griswold, 2005), variações na área superficial e altura da coluna d'água em um recipiente irão afetar diretamente o relacionamento entre presa e predador. Os resultados apresentados corroboram com os obtidos por Linley (1990) e Amalraj & Das (1998) que observaram que em grandes áreas de forrageamento o predador leva mais tempo para capturar sua presa. Consequentemente, o número de larvas consumidas diminui.

Entretanto, a tendência exibida pelas curvas (Tabela 2 e Fig 1) permite suspeitar que em grandes recipientes como por exemplo caixas d'água, poços, piscinas, grandes latas de lixo e calhas domésticas, onde os valores de altura da coluna de água e superfície utilizada para respiração são elevados, o encontro entre larvas predadoras de *Toxorhynchites* e suas possíveis presas, larvas de *Ae. aegypti* pode não ocorrer, principalmente se a densidade de predadores for baixa. Entretanto, em pequenos recipientes como ocos de árvore, bromélias urbanas, axilas de plantas, ocos de bambu, floreiros de cemitério, latas de alumínio, descartáveis, regadores, vasos sanitários e pneus, vidros, isopor e garrafas plásticas (Forattini & Marques, 2000), onde os valores de altura da coluna d'água e superfície utilizada para respiração não são elevados, e o volume de água acumulada é relativamente pequeno, a situação de encontro entre larvas de *Toxorhynchites* e larvas de *Ae. aegypti* ocorrerá.

### Agradecimentos

Ao programa de Pós Graduação em Biologia Animal (UFV), à CAPES, ao CNPQ, ao Laboratório de Ecologia

Química de Vetores (UFMG) e ao Programa de pós graduação em Entomologia (UFV). Agradecemos em especial aos revisores e também à edição pela contribuição dada através de sugestões para a melhoria do trabalho.

### Referências

- Albeny, D.S., G.F. Martins, M.R. Andrade, R.F. Krüger & E.F. Vilela. 2011. *Aedes aegypti* survival in the presence of *Toxorhynchites violaceus* (Diptera: Culicidae). *Rev. Braz. Zool* 28, 538-540.
- Albeny, D.S., C.S. Rosa, L.M.S. Ataíde & E.F. Vilela 2010. First record of genus *Toxorhynchites* Theobald (Diptera: Culicidae) in Mata Atlântica, Viçosa, Minas Gerais State, Brazil. *Rev. Ceres* 57, 181-184.
- Alto, B.W. & M.W. Griswold. 2005. Habitat complexity and sex-dependent predation of mosquito larvae in containers. *Oecol.* 146: 300–310.
- Amalraj, D. & P. K. Das. 1996. Frequency-dependent prey selection by larvae of *Toxorhynchites splendens* (Diptera: Culicidae). *Bull. Entomol. Res.* 86: 633–639.
- Amalraj, D. & P. K. Das. 1998. Estimation of predation by the larvae of *Toxorhynchites splendens* on the aquatic stages of *Aedes aegypti*. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Health.* 38: 56-60.
- Bay, E.C. 1974. Predator-prey relationships among aquatic insects. *Annu. Rev. Entomol.* 1: 441-453.
- Beserra, E.B., C.R.M. Fernandes, M.F.C. Queiroga & F. P. Castro Jr. 2007. Resistência de populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. *Neotrop. Entomol.* 36: 303-307.
- Bonnet, D. & S.M.K. Hu. 1951. The introduction of *Toxorhynchites brevipalpis* into the territory of Hawaii. *Proceed. Hawaii. Entomol. Soc.* 14: 237-242.
- Braga, I.A., J.B.P.L. Lima, S.S. Soares & D. Valle. 2004. *Aedes aegypti* resistance to temephos during in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe and Alagoas, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 99: 199-203.
- Collins, L.E. & A. Blackwell. 2000. The biology of *Toxorhynchites* mosquitoes and their potential as biocontrol agents. *Bioc. News Inform.* 21: 105-116.
- Donalísio, M. & C. Glasser. 2002. Entomological surveillance and control of dengue fever vectors. *Revis. Bras. Epidem.* 5: 259-272.
- Focks, D. A. 2007. *Toxorhynchites* as biocontrol agents. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23, 118–127.
- Focks, D.A., S.R. Sackett & D.L. Bailey. 1982. Field experiments on the control of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* by *Toxorhynchites rutilus rutilus* (Diptera Culicidae). *J. Med. Entomol.* 19: 336-339.
- Forattini, O. & G. Marques. 2000. Nota sobre o encontro

- de *Aedes aegypti* em bromélias. *Rev. Saúde Pública*. 34: 543-44.
- Funasa. 2002. Fundação nacional de saúde. - programa nacional de controle da dengue (PNCD). Brasília: FUNASA
- Gerberg, E. J. & W.M. Visser. 1978. Preliminary field trial for the biological control of *Aedes aegypti* by means of *Toxorhynchites brevipalpis*, a predatory mosquito larvae. *Mosq. News*. 38: 197- 200.
- Holling, C. S. 1961. Principles of insect predator. *Annu. Rev. Entomol.* 1: 163-182.
- Horta, M.A.P., F.I. Castro, C.S. Rosa, M. Daniel & A. Melo. 2009. Susceptibility of *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae) to *Temephos* in Brazil: A Revision and new data for Minas Gerais state. *BioAssay*, *In press*.
- Hubbard, S., S. Malley & R. Russo. 1988. The functional response of *Toxorhynchites rutilus rutilus* to changes in the population density of its prey *Aedes aegypti*. *Medical and Veterinary Entomology*. 2: 279-283
- Lima, J., N. Melo & D. Valle. 2005. Persistence of Vectobac WDG and Metoprag S-2G against *Aedes aegypti* larvae using a semi-field bioassay in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. de São Paulo*. 47: 7-12
- Linley, J. 1990. The predatory behavior of *Toxorhynchites amboinensis* and *Tx. brevipalpis* larvae (Diptera: culicidae) in response to subsurface prey. *Fla. Entomol.* 73: 9-50.
- Linley, R. 1995. Behavior on approach to surface prey by larvae of *Toxorhynchites amboinensis* and *T. brevipalpis* (Diptera: Culicidae). *J. Entomol.* 32: 53-65.
- Lounibos, L. & J. Frank. 1987. Survival, development and predatory effects of mosquito larvae in Venezuelan phytotelmata. *J. Trop. Ecol.* 3: 221-242.
- Martins, F. & I. Silva. 2004. Avaliação da atividade inibidora do diflubenzuron na ecdise das larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) *Rev. Soc. Brasil. Méd. Trop.* 37: 135-138
- Padgett, P.D., & D.A. Focks. 1980. Laboratory observations on the predation of *Toxorhynchites rutilus rutilus* on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) *J. Med. Entomol.* 17: 466-472.
- Pamplona, L. D. G. C., C. H. Alencar, J. W. O. Lima & J. 2009. Heukelbach. Reduced oviposition of *Aedes aegypti* gravid females in domestic containers with predatory fish. *Tropical medicine & international health : TM & IH*. 14: 1347-50
- R Development Core Team. 2006. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. [www.R-project.org](http://www.R-project.org).
- Rawlins S.C., G.G. Clark & R. Martinez. 1991. Effects of a single introduction of *Toxorhynchites moctezuma* upon *Aedes aegypti* on a Caribbean Island. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 7: 7-10.
- Schreiber, E.T. 2007. *Toxorhynchites*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 23: 129-132.
- Sempala, S.D.K. 1983. Interactions between immature *Aedes africanus* (Theobald) and larvae of 2 predatory species of *Toxorhynchites* (Diptera, Culicidae) in Zika Forest, Uganda. *Bull. Entomol. Res.* 73; 19-24.
- Steffan, W.A. & N.L. Evenhuis. 1981. Biology of *Toxorhynchites*. *Annu. Rev. Entomol.* 26: 159-181.
- Sunahara, T., K. Ishizaka & M. Mogi. 2002. Habitat size: a factor determining the opportunity for encounters between mosquito larvae and aquatic predators. *J. Vector Ecol.* 27: 8-20.
- Tikasingh, E.S. 1992. Effects of *Toxorhynchites moctezuma* larval predation on *Aedes aegypti* populations: experimental evaluation. *Med. Vet. Entomol.* 6: 266-271.
- Yasuda, H. & K. Hagimori. 1998. Effects of prey density, prey instar, and patch size on the development of the predatory mosquito, *Toxorhynchites towadensis*. *Entomol. Exp. Appl.* 86: 189-195.

Available online: [www.bioassay.org.br/ojs/index.php/bioassay/article/view/26](http://www.bioassay.org.br/ojs/index.php/bioassay/article/view/26)