

Avaliação da influência da temperatura sobre o desenvolvimento de *Aedes albopictus*

Evaluation of the temperature influence on the development of *Aedes albopictus*

Daniéla Cristina Calado^a e Mário Antônio Navarro da Silva^b

^aDepartamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR, Brasil. ^bLaboratório de Entomologia Médica e Veterinária do Departamento de Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR, Brasil

Descritores

Aedes. Ecologia de vetores.
Temperatura ambiente. Insetos vetores.
Larva. Pupa. Culicidae. *Aedes albopictus*.

Resumo

Objetivo

Verificar a influência da temperatura sobre os estágios de desenvolvimento de *Aedes albopictus* sob condições de laboratório.

Métodos

Foi avaliado o período de desenvolvimento dos estágios de ovo, larva e pupa em quatro temperaturas constantes de 15°C, 20°C, 25°C e 30°C em câmaras climatizadas com umidade relativa do ar oscilando entre 70% e 85% e fotoperíodo de CE 12:12 horas. Pela análise de variância, foram testados os efeitos das quatro temperaturas constantes.

Resultados

O período de incubação dos ovos compreendeu 38,38; 19,09; 13,10; e 10,44 dias; o período larval dos indivíduos machos atingiu 30,13; 13,83; 7,36; e 5,57 dias; o período larval para fêmeas apresentou duração de 33,22; 15,00; 8,06; e 6,16 dias; o período pupal em machos compreendeu 8,01; 4,92; 2,40; e 1,76 dias, enquanto nas fêmeas foi de 8,15; 5,11; 2,60; e 1,88 dias sob as temperaturas de 15°C, 20°C, 25°C e 30°C, respectivamente. Em todos os estágios de desenvolvimento, foram encontradas diferenças significativas, entre as temperaturas avaliadas, em torno de 5% no tempo de desenvolvimento. O período de desenvolvimento foi inversamente relacionado à temperatura, com o período larval mais breve em machos que em fêmeas. Nas temperaturas de 20°C a 30°C, o desenvolvimento foi mais breve e com maior viabilidade que a 15°C.

Conclusões

Nas condições em que foram realizados os experimentos, a temperatura afetou de forma significativa e inversamente proporcional os estágios imaturos de *Aedes albopictus*. Esses resultados mostram que os estágios imaturos são mais suscetíveis durante os períodos de baixas temperaturas devido ao maior tempo necessário para completar o desenvolvimento, informação que pode ser utilizada em estratégias de controle.

Keywords

Aedes. Ecology, vectors. Temperature.
Insect vectors. Larva. Pupa. Culicidae.
Aedes albopictus.

Abstract

Objective

To verify the temperature's influence on the *Aedes albopictus* development stages under laboratory conditions.

Correspondência para/Correspondence to:
Mário Antônio Navarro da Silva
Setor de Ciências Biológicas do Departamento
de Zoologia da Universidade Federal do Paraná
Caixa Postal 19020
81531-990 Curitiba, PR, Brasil
E-mail: mnavarro@bio.ufpr.br

Pesquisa financiada pelo Programa PEAa – Programa de Erradicação do *Aedes aegypti* do Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde e Organização Pan-Americana da Saúde. Parte da dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Zoologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, 2001.
Recebido em 20/7/2001. Reapresentado em 25/10/2001. Aprovado em 14/11/2001.

Methods

The development period of eggs, larvae and pupas were assessed at constant temperatures, 15°C, 20°C, 25°C and 30°C, inside acclimatized chambers with 70-85% of relative humidity, and LD 12:12 h. The effect of the four constant temperatures was assessed using variance analysis.

Results

The incubation periods of eggs were 38.38, 19.09, 13.10, and 10.44 days. Larval periods for males lasted 30.13, 13.83, 7.36, and 5.57 days; for females it lasted 33.22, 15.00, 8.06, and 6.16 days. Pupal period for males lasted 8.01, 4.92, 2.40, and 1.76 days; and for females it lasted 8.15, 5.11, 2.60, and 1.88 days under the temperatures of 15°C, 20°C, 25°C and 30°C, respectively. In all development stages for all temperatures, significant differences were found at the level of 5%. The development period was inversely associated to the temperature, and the larval period was shorter in males than in females. Under the temperatures of 20°C and 30°C, the development of immature stages was shorter and their viability was greater than at 15°C.

Conclusions

In the conditions the experiment was performed, the temperature affected significantly and inversely proportional *Aedes albopictus* immature stages. These results show that immature stages are more susceptible at low temperatures due to the longer time required completing their development. This could be used in vector control strategies.

INTRODUÇÃO

Aedes (Stegomyia) albopictus é uma espécie alóctone do continente americano, com presença detectada em 14 estados brasileiros de acordo com Gomes et al⁶ (1999). O primeiro registro dessa espécie no Brasil foi efetuado por Forattini³ (1986) a partir de exemplares provenientes do Estado do Rio de Janeiro. A população presente no Vale do Paraíba (Estado de São Paulo, Brasil) parece ser oriunda da Ásia tropical. Esse fato reveste-se de elevada importância epidemiológica pela possibilidade dessa espécie vir a ser vetora, no Brasil, da dengue e da febre amarela, como mencionado em Gomes et al⁷ (1992). No continente americano, Ibanez-Bernal et al¹⁰ (1997) relataram o primeiro encontro dessa espécie, naturalmente infectada pelo vírus da dengue, no México.

Dentre os fatores abióticos que influenciam as atividades de *Aedes albopictus*, destacam-se a temperatura e a precipitação pluviométrica conforme Gomes et al⁷ (1992). O efeito da temperatura sobre o ciclo biológico de *Aedes albopictus* coletada em território nacional foi avaliado no estudo de Xavier et al¹⁴ (1991), que analisaram o número médio de ovos por desova, o período de incubação, a duração do período larval e pupal e a longevidade dos adultos fêmeas e machos sob condições de laboratório em temperatura de 25°C. Gomes et al⁸ (1995) abordaram a biologia dessa espécie sob condições de campo, em criadouros naturais e artificiais, em especial em ocos de árvore que se apresentaram como os mais adequados ao desenvolvimento dessa espécie

por permitir a produção de adultos com maior tamanho corporal.

Populações de *Aedes albopictus* de outras regiões receberam atenção, sob vários aspectos, da influência da temperatura na biologia dessa espécie, como o efeito da temperatura sobre o desenvolvimento larval e a influência da temperatura e do fotoperíodo na indução da diapausa.^{1,15}

Tendo em vista a grande importância epidemiológica de *Aedes albopictus* e sua facilidade de adaptação aos mais variados habitats, o conhecimento de como essa espécie exótica se desenvolve sob diferentes regimes de temperatura é necessário para o melhor entendimento de sua biologia e para o levantamento de maior número de informações que possam ser utilizadas em programas e estratégias de controle. Forattini⁴ (1998) e Forattini et al⁵ (1998) também destacam a importância epidemiológica de *Aedes albopictus*, ressaltando o poder de difusão desse vetor e recomendando a elaboração de modelos teóricos que se baseiem em maior número de informações. Esses autores destacam a importância do estudo da biologia dessa espécie exótica, tendo em vista as novas condições às quais ela está submetida.

Movido por essas considerações, o presente trabalho teve como objetivo verificar a influência da temperatura sobre os estágios de desenvolvimento de *Aedes albopictus*, sob condições de laboratório, em quatro temperaturas constantes e fotoperíodo de CE 12:12 horas.

MÉTODOS

Os espécimes utilizados para a realização dos experimentos foram obtidos a partir da colônia de *Aedes albopictus* mantida em insetário climatizado a 25°C, com umidade relativa do ar de aproximadamente 70% a 85% e iluminação natural, pertencente ao Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná. A colônia dessa espécie teve início em março de 1999 a partir de imaturos coletados em recipiente artificial na área urbana da cidade de Registro, Estado de São Paulo, Brasil.

Exemplares de *Aedes albopictus* da colônia encontram-se depositados na Coleção de Entomologia Pe. J. S. Moure (DZUP), pertencente ao Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná.

Foram avaliados o período de incubação dos ovos, dos estágios larval e pupal e a viabilidade de cada um dos estágios em quatro temperaturas constantes: 15°C, 20°C, 25°C e 30°C. Os experimentos foram conduzidos em câmaras climatizadas modelo 347, marca Fanem, fotoperíodo CE 12:12 horas e umidade relativa do ar entre 70-85%.

Foram utilizados 200 ovos para verificação do período de incubação e de sua viabilidade, divididos em quatro lotes de 50 ovos cada um e mantidos em recipientes de polietileno com capacidade de 120 ml. Em cada recipiente, foram colocados 90 ml de água de torneira submetida à aeração, e acrescentado alimento constituído de ração para peixes TetraMin®. Diariamente foi acrescentada água para evitar a adesão dos ovos às paredes dos recipientes. A troca do meio líquido foi realizada a cada dois dias. Os frascos foram monitorados uma vez ao dia para a retirada de larvas e para a contagem dos ovos eclodidos.

Na determinação do período de desenvolvimento e da viabilidade larval, foram utilizadas 200 larvas de primeiro instar de mesma idade, divididas em quatro lotes de 50 imaturos, mantidos em bandejas plásticas translúcidas e retangulares (21,4 x 14,1 x 5,7cm) com capacidade de 900 ml. Em cada bandeja, foram colocados 400 ml de água de torneira submetida à aeração, e acrescentado alimento. A troca da água e o fornecimento de alimento, constituído de 0,05 g de ração para peixes, foram realizados a cada dois dias.

Duas vezes ao dia (7h30 e 18h30) foram retiradas e contadas as exúvias larvais, anotando-se o dia e o período (manhã ou tarde) no qual ocorreu a ecdise. Foi estipulado que o intervalo manhã-tarde corresponderia à metade de um dia, e o intervalo manhã-manhã ou

tarde-tarde, a um dia. Esse procedimento foi adotado devido à curta duração do segundo e terceiro instares sob as temperaturas de 25°C e 30°C. O cálculo do período médio de duração de cada instar foi realizado a partir da diferença das datas entre duas mudas. A duração do período larval para machos e fêmeas foi calculada pela subtração da data do final do quarto instar da data de eclosão das larvas.

Na determinação do período pupal e de sua viabilidade, foram utilizadas pupas recém-formadas mantidas em recipientes individuais de coloração branca, com 5 cm de diâmetro, 4 cm de altura e capacidade de 50 ml. Em cada recipiente, foram colocados aproximadamente 40 ml de água de torneira submetida à aeração. Os recipientes foram cobertos com filme plástico para evitar a dispersão dos indivíduos emergidos. Duas vezes ao dia, as exúvias pupais foram retiradas e submetidas à sexagem. A separação dos indivíduos em recipientes individuais ocorreu para permitir o cálculo do período pupal para machos e fêmeas.

Pela análise de variância, foram testados os efeitos das quatro temperaturas constantes sobre uma mesma variável biológica: (a) duração do período de incubação dos ovos; (b) duração do primeiro instar; (c) período entre a eclosão e o final do segundo instar; (d) período entre a eclosão e o final do terceiro instar; (e) período entre a eclosão e o final do quarto instar; (f) duração do período larval de fêmeas; (g) duração do período larval de machos; (h) duração do período pupal de fêmeas; (i) duração do período pupal de machos. Foram estabelecidas as seguintes hipóteses:

- hipótese H_0 : as quatro temperaturas testadas apresentam efeitos semelhantes sobre as variáveis biológicas analisadas;
- hipótese H_1 : as quatro temperaturas testadas não apresentam efeitos semelhantes sobre as variáveis biológicas analisadas.

Foi avaliado também o efeito do sexo dos indivíduos sobre uma mesma variável biológica e sobre a mesma temperatura, sendo estabelecidas as seguintes hipóteses:

- hipótese H_0 : a duração do período larval e pupal são semelhantes em machos e fêmeas submetidos a uma mesma temperatura;
- hipótese H_1 : a duração do período larval e pupal são diferentes em machos e fêmeas submetidos a uma mesma temperatura.

Em sendo a hipótese H_1 a verdadeira, foi aplicado o teste de Tukey-Kramer ou teste de Tukey, dependendo do tamanho da amostra.

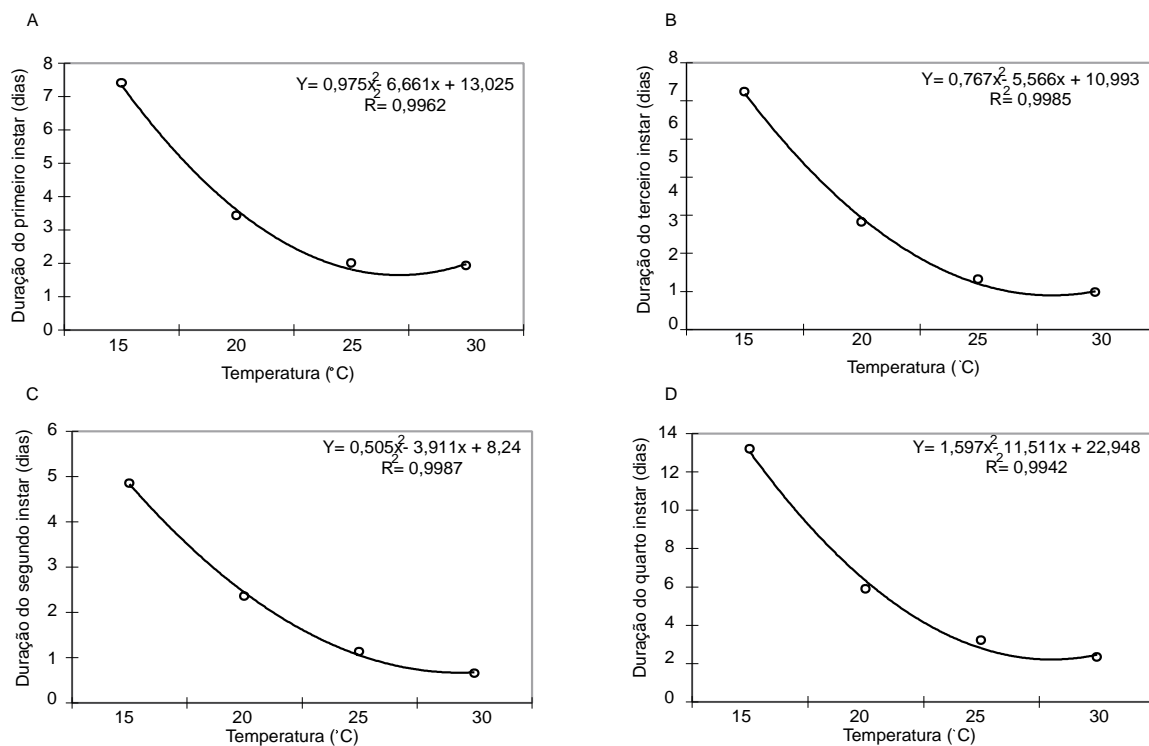


Figura 1 - Linhas de tendência do tipo polinomial para a duração dos instares larvais de *Aedes albopictus* em temperaturas controladas, fotoperíodo de CE 12h12 e umidade relativa do ar entre 70-85%, para o (a) 1º instar, (b) 2º instar, (c) 3º instar e (d) 4º instar.

Para a duração de cada instar larval para os três estágios imaturos de desenvolvimento, foram construídas linhas de tendência utilizando as equações tipo polinomial ($y=b+c_1x+c_2x^2+\dots+c_3x^3$), linear ($y=mx+b$) e logarítmica ($y=c\ln x+b$), que expressam a relação entre a duração da variável biológica analisada e as quatro temperaturas constantes utilizadas, sendo apresentada somente a tendência com valor de r^2 mais elevado.

RESULTADOS

O aumento da temperatura levou à diminuição do período de desenvolvimento de todos os estágios imaturos de *Aedes albopictus*, com a relação entre a duração média dos estágios e as temperaturas constantes apresentando-se inversamente proporcional.

Todas as temperaturas utilizadas permitiram o desenvolvimento embrionário de *Aedes albopictus*, com a viabilidade dos ovos superior a 65% para todas as temperaturas avaliadas. Foram observadas diferenças significativas na duração do período de incubação, sendo considerável a variação de tempo dentro de uma mesma temperatura, representada pelos altos desvios-padrão obtidos e podendo indicar eclosão assíncrona (Tabela 1).

A percentagem de eclosão dos ovos e o período

transcorrido desde a oviposição sofreram variação de acordo com a temperatura a que estiveram expostos. A 15°C, 53,0% das eclosões ocorreram até o 36º dia. Nas temperaturas de 25°C e 30°C, ocorreu uma redução de aproximadamente 27 dias no período embrionário em relação ao observado a 15°C. Também a 30°C, foi detectado o menor intervalo entre o início e o final das eclosões.

As temperaturas de 25°C e 30°C tiveram efeito semelhante sobre a duração do primeiro instar, enquanto, entre 15°C e 20°C, foram encontradas diferenças significativas, como o fato de a temperatura de 20°C ter determinado um período aproximadamente duas vezes inferior ao registrado para 15°C (Tabela 2 e Figura 1).

Os imaturos de primeiro instar mantidos sob a temperatura de 15°C apresentaram desenvolvimento irregular, que pode ser evidenciado pelo intervalo de até 11,5 dias entre o início e o final da passagem dos imaturos para o instar seguinte. Nas demais, a passagem para o segundo instar mostrou-se mais homogênea: a maioria das larvas completou o primeiro instar em um intervalo de tempo semelhante. Embora a temperatura exerça influência significativa sobre a duração desse instar, a viabilidade foi alta em todas as temperaturas, atingindo 100% nos imaturos mantidos a 25°C (Figura 1 e Tabela 2).

Tabela 1 - Período de incubação médio, mínimo, máximo e viabilidade dos ovos de *Aedes albopictus* sob quatro temperaturas constantes, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C, fotoperíodo de CE 12:12 h e umidade relativa do ar entre 70-85%.

Temperatura (°C)	N de ovos	Média* (DP)	Período de incubação (dias)		Viabilidade (%)
			Mín.	Máx.	
15°C	200	38,38 (6,25)a	19	49	66,0%
20°C	200	19,09 (5,70)b	10	47	82,0%
25°C	200	13,10 (8,37)c	7	45	73,5%
30°C	200	10,44 (6,18)d	4	29	80,0%

*Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer, em nível de 5% de significância. DP = Desvio-padrão.

Tabela 2 - Dias cumulativos de duração de cada instar do desenvolvimento larval de *Aedes albopictus*, sob quatro temperaturas constantes, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C, fotoperíodo de CE 12:12 horas e umidade relativa do ar entre 70-85%.

Temperatura (°C)	Instar larval*			
	1º instar (DP)	1º + 2º instar (DP)	1º + 2º + 3º instar (DP)	1º + 2º + 3º + 4º instar (DP)
15°C	7,40 (1,34)a	12,26 (2,31)a	18,49 (3,45)a	31,67 (5,03)a
20°C	3,42 (0,46)b	5,78 (0,68)b	8,60 (1,12)b	14,48 (1,65)b
25°C	2,00 (0,00)c	3,13 (0,34)c	4,44 (0,82)c	7,67 (0,91)c
30°C	1,92 (0,18)c	2,57 (0,74)d	3,54 (0,79)d	5,86 (1,41)d

*Médias seguidas por letras distintas, em mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey-Kramer, a 5% de significância.

Foram observadas diferenças significativas entre o período gasto pelos imaturos desde a eclosão até o final do segundo instar. A 15°C, os primeiros imaturos concluíram o segundo instar com tempo aproximadamente quatro vezes superior ao observado para 30°C, enquanto a razão entre 20°C e 30°C apresentou um tempo de desenvolvimento duas vezes superior para a primeira temperatura. Também nessa fase do desenvolvimento a viabilidade foi elevada, atingindo valores superiores a 97,0% (Tabela 2).

Quanto ao terceiro instar, observou-se desenvolvimento mais irregular a 15°C, semelhante ao observado para o primeiro e o segundo instares nessa mesma temperatura. A 15°C, o tempo para atingir o final do instar oscilou entre o mínimo de 15,5 dias e o máximo de 43 dias. Nas demais temperaturas, o tempo mínimo foi reduzido à metade, com a diferença entre o período de desenvolvimento das larvas mantidas a 15°C e 30°C de aproximadamente 15 dias, sendo a viabilidade em todas as temperaturas superior a 95%.

O quarto instar apresentou alta viabilidade, ultrapassando 92% em todas as temperaturas testadas. A 15°C, o período da eclosão até o final do quarto instar oscilou de 26,0 a 73,5 dias, aproximadamente cinco vezes maior que a 30°C. Nas demais temperaturas, foram observadas oscilações no tempo de passagem das larvas para o estágio seguinte, entretanto esse desenvolvimento assincrônico ficou melhor evidenciado a 15°C.

As proporções ocupadas pelos instares dentro do período larval foram diferentes; no entanto, mantiveram-se aproximadamente constantes nas diferentes temperaturas testadas. O segundo e o terceiro instares

foram mais curtos que o primeiro e o quarto, com este sendo o mais longo dos quatro, ocupando entre 39,68% e 42,12% do período total.

O estágio larval compreendeu diferentes períodos de desenvolvimento tendo em vista o sexo dos indivíduos. Analisando separadamente a duração do estágio larval para machos e fêmeas, observaram-se diferenças significativas não só entre os indivíduos machos e fêmeas mantidos na mesma temperatura como entre indivíduos do mesmo sexo, mas mantidos em temperaturas diferenciadas, de acordo com o teste de Tukey-Kramer a 5%. Os indivíduos machos apresentaram período larval mais curto que as fêmeas em todas as temperaturas analisadas (Figura 2). Não foi observado efeito da temperatura sobre a proporção sexual dessa espécie. A relação entre o número de machos e fêmeas avaliados em cada temperatura correspondeu a 1,40 (15°C), 0,81 (20°C), 1,15 (25°C) e 1,02 (30°C). A menor viabilidade foi observada a 15°C (84%), e a maior, a 25°C (98%).

Conforme verificado para os estágios de ovo e larva, a temperatura também exerceu grande efeito sobre o desenvolvimento pupal, e seu aumento permitiu o desenvolvimento mais acelerado dessa fase (Figura 2). A 15°C, não foram observadas diferenças significativas entre a duração do período pupal em machos e fêmeas, de acordo com o teste de Tukey-Kramer a 5%. Nas demais temperaturas, esse estágio foi mais curto para os indivíduos machos, com diferenças significativas entre machos e fêmeas para uma mesma temperatura e para o mesmo sexo entre as temperaturas avaliadas. A viabilidade obtida para esse estágio foi elevada, correspondendo a 86,39% sob 15°C e apresentando-se superior a 99% nas demais temperaturas.

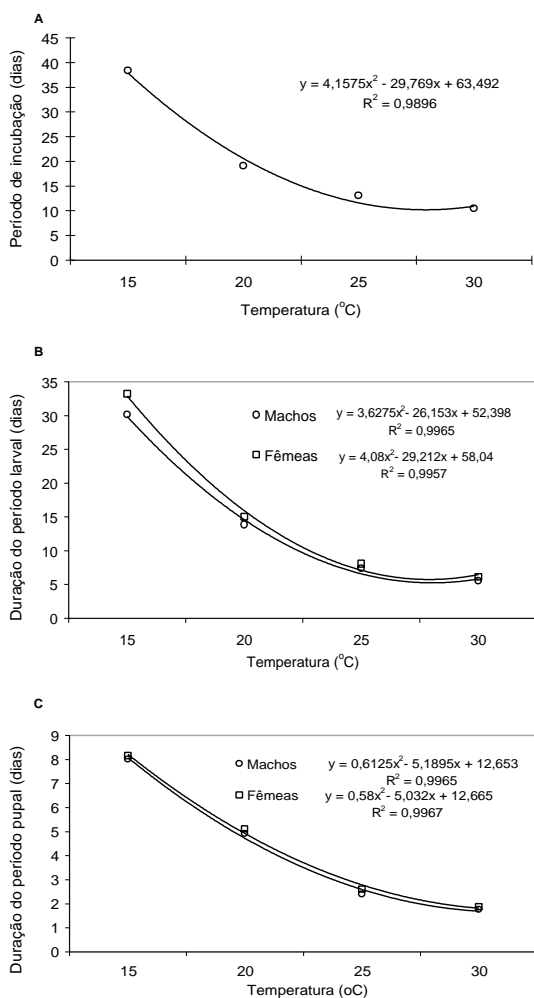


Figura 2 - Linhas de tendência do tipo polinomial, da duração do período de incubação dos ovos (A), do período larval (B) e do período pupal (C) de machos e fêmeas de *Aedes albopictus*, sob quatro temperaturas constantes, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C, fotoperíodo de CE 12h12 e umidade relativa do ar entre 70-85%.

DISCUSSÃO

De acordo com as condições estabelecidas no presente trabalho, observou-se que todos os estágios imaturos de desenvolvimento de *Aedes albopictus*, a partir de população de origem urbana, são grandemente influenciados pela temperatura constante, tendo sido o período de desenvolvimento relacionado inversamente à temperatura. Embora todas as temperaturas utilizadas – 15°C, 20°C, 25°C e 30°C – tenham permitido o desenvolvimento de imaturos, a faixa mais adequada à manutenção desse estágio sob condições de laboratório, com elevada viabilidade e rápido período de desenvolvimento, situou-se entre 20°C e 30°C. Para Teng & Apperson¹¹ (2000) *Aedes albopictus* apresenta maior sobrevivência em temperaturas intermediárias e altas. Em condições naturais,

as temperaturas mais baixas podem provocar indiretamente a mortalidade dos imaturos de culicídeos por meio do maior tempo necessário para completar o desenvolvimento, o que os torna mais vulneráveis à predação, ao parasitismo e às doenças (Trips & Shemanchuk,¹² 1970).

A proporção ocupada pelos quatro instares dentro do período larval manteve-se aproximadamente constante, semelhante ao observado por Tun-Lin et al¹³ (2000) para *Aedes aegypti*. A produção do número relativamente semelhante de machos e fêmeas para cada temperatura indica não haver efeito dessa variável abiótica sobre a proporção sexual e que, de acordo com Forattini,² as condições em que foram levados a termo os experimentos foram favoráveis (1962).

Sob condições de campo, Gomes et al⁸ (1995) verificaram que o aparecimento de imaturos de *Aedes albopictus* tem início a 23°C, com significativo desenvolvimento até 17°C. Apontam também que a faixa mais adequada ao desenvolvimento dessa espécie, em criadouros naturais ou artificiais, situa-se nos limites de 17°C a 23°C, sendo observadas também diferenças no período de desenvolvimento dos instares larvais de acordo com o tipo de criadouro. A faixa adequada ao desenvolvimento de *Aedes albopictus* apontada por esses autores em seu limite inferior é diferente da observada para condições de laboratório.

Quanto às diferenças metodológicas, observou-se que, em experimentos prévios para determinar o delineamento experimental, os ovos de *Aedes albopictus* eclodem em pequena percentagem na ausência de alimento. Várias tentativas foram realizadas para verificar a duração do período de eclosão e a viabilidade dos ovos, utilizando-se apenas água submetida à aeração. Nessas condições, os ovos eclodiam em percentagem reduzida e com período de incubação elevado. Entretanto, quando o alimento foi adicionado em meio líquido, os ovos logo eclodiram, indicando que necessitam de estímulos químicos para que ocorra a eclosão conforme Forattini² (1962).

Outro fator que deve ser considerado na avaliação de resultados é o procedimento adotado, que consistiu na manutenção dos ovos diretamente na água após a oviposição. A duração do período de incubação é grandemente influenciada pela temperatura e pelo tipo de metodologia empregada, mas varia também de acordo com a origem das populações, sejam elas oriundas de laboratório ou procedentes de ambiente florestal ou de área urbana, e com o tipo de criadouro.^{8,9,14}

REFERÊNCIAS

1. Focks DA, Linda SA, Craig Jr-GB, Hawley WA, Pumpuni CB. *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): a statistical model of the role of temperature, photoperiod, and geography in the induction of egg diapause. *J Med Entomol* 1994;31:279-86.
2. Forattini OP. *Entomologia médica*. São Paulo: Faculdade de Higiene e Saúde Pública; 1962. v. 1.
3. Forattini OP. Identificação de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) no Brasil. *Rev Saúde Pública* 1986;20:244-5.
4. Forattini OP. Mosquitos como vetores emergentes de infecções. *Rev Saúde Pública* 1998;32:497-502.
5. Forattini OP, Marques GRAM, Kakitani I, Brito M de, Sallum MAM. An unusual ground larval habitat of *Aedes albopictus*. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1998;40:122.
6. Gomes A de C, Bitencourt MD, Natal D, Pinto PLS, Mucci LF, Paula MB de et al. *Aedes albopictus* em área rural do Brasil e implicações na transmissão de febre amarela silvestre. *Rev Saúde Pública* 1999;33:95-7.
7. Gomes A de C, Forattini OP, Kakitani I, Marques GRAM, Marques CC de A, Marucci D. Microhabitats de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) na região do Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública* 1992;26:108-18.
8. Gomes A de C, Gotlieb SLD, Marques C de AM, Paula MB de, Marques GRAM. Duration of larval and pupal development stages of *Aedes albopictus* in natural and artificial containers. *Rev Saúde Pública* 1995;29:15-9.
9. Hawley WA. The biology of *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc* 1988;4:2-39.
10. Ibañez-Bernal S, Briseño B, Mutebi JP, Argot E, Rodríguez G, Martínez-Campos C et al. First record in America of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus during the 1995 outbreak at Reynosa, Mexico. *Med Vet Entomol* 1997;11:305-9.
11. Teng H, Apperson CS. Development and survival of immature *Aedes albopictus* and *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) in the laboratory: Effects of density, food and competition on response to temperature. *J Med Entomol* 2000;37:40-52.
12. Trips M, Shemanchuk JA. Effect of constants temperature on the larval development of *Aedes vexans* (Diptera: Culicidae). *Can Entomol* 1970;102:1048-51.
13. TUN-Lin W, Burkot TR, Kay BH. Effects of temperature and larval diet on development rates and survival of the dengue vector *Aedes aegypti* in north Queensland, Australia. *Med Vet Entomol* 2000;14:31-7.
14. Wu HH, Chang NT. Influence of temperature, water quality and pH value on ingestion and development of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) larvae. *Chin J Entomol* 1993;13:33-44.
15. Xavier GV, Neves DP, Silva RF da. Ciclo biológico do *Aedes albopictus* (Diptera-Culicidae), em laboratório. *Rev Bras Biol* 1991;51:647-50.