

# Detecção de predadores naturais das larvas de *Simulium fulvinitum* Cerq. e Mello, 1968 (Diptera, Nematocera) (\*)

I. S. Gorayeb \*\*

R. R. Pinger \*\*\*

## Resumo

Como a primeira pesquisa sobre estudos ecológicos nos criadouros naturais de simuliídeos no Brasil, este trabalho, realizado nas imediações da cidade de Manaus, Estado do Amazonas, objetivou detectar os predadores naturais das larvas de *Simulium fulvinitum* através dos testes sorológicos de precipitação em tubos capilares (teste não específico para *S. fulvinitum*) e imunodifusão em agar-gel, aliados às observações de restos larvais de *S. fulvinitum* nos intestinos dos predadores suspeitos. Larvas de espécies do gênero *Macronema* (Hydropsychidae) e de Lepidoptera (Nymphulinae, Pyralidae) foram incriminadas pela primeira vez como predadores de simuliídeos. Náíades de Libellulidae (Odonata), Perlidae (Plecoptera) e larvas de Corydalidae (Neuroptera) também foram incriminadas como predadoras das larvas de *S. fulvinitum* em seus criadouros naturais.

## INTRODUÇÃO

Os Simuliidae são dípteros importantes pois, além de serem considerados insetos incômodos por sua insistência em atacar o homem e outros animais, são transmissores de doenças. São incriminados como vetores de *Onchocerca volvulus* Leuckart (Blacklock, 1926), *Mansonella ozzardi* Manson (Cerqueira, 1959; Shelley & Shelley, 1976) e causadores iniciais da Síndrome Hemorrágica de Altamira (Pinheiro *et al.*, 1974).

No Brasil na Amazônia, o *Simulium amazonicum* Goeldi, 1905 tem sido incriminado como transmissor de *O. volvulus* por Rassi *et al.* (1975), de *M. ozzardi* por Cerqueira (1959) e como causador inicial da Síndrome Hemorrágica de Altamira por Pinheiro *et al.* (1974).

O *Simulium fulvinitum* Cerq. e Mello (1968) apesar de nunca ter sido citado como

tendo alguma importância médica ou veterinária, é uma espécie bastante comum nas imediações da cidade de Manaus (Estado do Amazonas, Brasil) apresentando criadouros definidos e restritos a condições ecológicas especiais. Esta espécie foi escolhida como um modelo para este primeiro estudo do relacionamento presa-predador nos criadouros naturais de simuliídeos no Brasil.

Métodos sorológicos usados no estudo do relacionamento presa-predador, foram aplicados para a detecção dos predadores das larvas de *S. fulvinitum*. Boreham & Ohiagu, 1978 apresentaram uma revisão do uso da sorologia no estudo do relacionamento presa-predador em invertebrados. O método de precipitação em tubos capilares, mais comumente usado em entomologia e o método de imunodifusão em agar-gel, menos usado, foram escolhidos. As técnicas sorológicas são valiosos artifícios disponíveis às descobertas no campo da ecologia dos insetos e apresentam vantagens, porque a intensidade da predação ocorrendo na natureza é mensurada.

Este trabalho objetivou detectar os predadores naturais das larvas de *S. fulvinitum* em seus criadouros naturais, que posteriormente possam ser testados e utilizados no possível controle dos problemas que os simuliídeos causam ou poderão vir a causar no Brasil e especialmente na Amazônia.

## MATERIAL E MÉTODO

A área de estudo está localizada em uma região de mata com árvores de aproximadamente 15m de altura, próxima do campus de experimentos da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias) no quilômetro

(\*) — Parte de um trabalho submetido pelo primeiro autor à Universidade Federal do Estado do Amazonas e Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, para obtenção do grau de *Magister Scientiae*.

(\*\*) — Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

(\*\*\*) — Ball State University, Dept. of Physiology and Health Science — Muncie, Indiana 47306 — USA.

30 da rodovia AM-010, Município de Manaus, Estado do Amazonas, Brasil. Dois igarapés de águas pretas correm no local. O primeiro atravessa um pequeno rochedo, corre sobre leito pedregoso, para em seguida passar por uma clareira. O segundo corre sob a mata, passa por cima de uma rocha e cai em cachoeira formando um lago. Os dois igarapés se enquadram como "jovens" na classificação de Dalmat (1955).

Considerando que as larvas de *S. fulvino-tum* foram encontradas em sua grande maioria fixadas a pedras onde a correnteza é mais acentuada, dois locais foram escolhidos para as observações e coletas: no primeiro igarapé, onde existe uma queda d'água de aproximadamente um metro de altura e no segundo, onde existe uma queda d'água de mais ou menos 3 metros de altura. O primeiro criadouro tinha águas com pH 4,7, temperatura média de 25°C, apresentou uma taxa de oxigênio de 97%, velocidade de 52 cm/s, condutividade elétrica de 10,8  $\mu$ S/cm a 20°C (14,7 mg de sais dissolvidos por litro), largura de 1,53m, profundidade de 22 cm e vazão de 31 l/s. O segundo criadouro tinha águas com pH 4,9, temperatura de 25,5°C, apresentou uma taxa de oxigênio de 85%, velocidade de 52 cm/s, condutividade elétrica de 8,6  $\mu$ S/cm à 20°C (11,8 mg de sais dissolvidos por litro), largura de 5 m, profundidade de 25 cm e vazão de 173 l/s (1).

Utilizando-se uma técnica adaptada de Frank (1967), Dempster (1960), Kwapinski (1972), Service (1973a, 1973b, 1973c, 1976) e Service & Lyle (1975), um antígeno foi preparado com as larvas de *S. fulvino-tum*. Nos criadouros as larvas foram coletadas com a mão e transferidas com uma pinça a um frasco contendo água do igarapé; este frasco foi depositado em uma vasilha de isopor com gelo, para o transporte ao laboratório. Os frascos permaneceram na vasilha com gelo por um tempo máximo de 5 horas. No laboratório as larvas foram transferidas para água destilada, e mantidas por 12 a 18 horas, sem alimento, para evacuação dos intestinos. A água destilada era oxigenada com bombas de ar. No fim do período de jejum, as larvas eram retiradas da água, secadas sobre papel de filtro, pesadas e

cada duas gramas maceradas em 10 ml de solução salina tamponada, pH 7,39-7,41 (Wellings, 1969), em banho de gelo, para evitar eventuais desnaturações de proteínas. Cianeto de potássio à  $10^{-3}$  M foi adicionado para impedir a possível deposição de melanina do tecido larvar. A mistura foi centrifugada a 3000 r.p.m. por 20 minutos e ao fluído sobrenadante, usado como antígeno, adicionou-se azida sódica na taxa de 0,01%. O antígeno foi separado em porções de 2,5 ml e conservado no congelador à  $-15^{\circ}\text{C}$ .

Utilizou-se para a preparação dos anti-soros um método adaptado de Frank (1967), Dempster (1960), Service (1973a, 1973b, 1973c, 1976) e Service & Lyle (1975). Dois coelhos brancos adultos (*Oryctolagus cuniculus*), da variedade Nova Zelândia, foram utilizados para a preparação dos anti-soros. Em cada coelho foram aplicadas 4 séries de injeções de antígeno, com intervalos de 12 dias entre cada série. Uma série foi composta de 5 ml de antígeno e 0,2 ml de alumem de potássio estéril a 10% (como substância adjuvante) sendo aplicada a metade da solução em cada coxa do animal. Após a 3ª e a 4ª série de injeções, amostras de sangue foram coletadas por sangramento pela veia da orelha, para testar a presença e a titulação de anticorpos no soro. Quando o título de anticorpos foi considerado como eficiente, os coelhos foram sangrados por punção cardíaca. O soro foi separado, misturado com azida sódica numa taxa de 0,01% e conservado na geladeira em lotes de 2 ml.

Nos criadouros das larvas de *S. fulvino-tum* os predadores suspeitos foram identificados no momento da coleta. Os não identificados nesse momento levaram um número idêntico ao de um modelo. Após a dissecação os restos dos exemplares foram conservados em álcool 70% e estocados com o mesmo número de seus respectivos conteúdos intestinais, macerados em papel de filtro, para posterior identificação no laboratório. Procura de restos de larvas e/ou pupas de *S. fulvino-tum* foi feita no ato da dissecação dos conteúdos intestinais dos predadores suspeitos. Os conteúdos in-

(1) — As medidas foram tomadas por Julio Dellome e com unificadas pessoalmente.

testinais dos exemplares maiores foram macerados em papeis de filtro e os menores macerados inteiros. Papeis de filtro com os maceradores numerados foram conservados em frascos contendo pentóxido de fósforo dessecante, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

No laboratório os papeis de filtro com os macerados dos conteúdos intestinais dos predadores suspeitos foram recortados separadamente e cada amostra misturada em pequenos tubos de ensaio com 0,2 — 0,5 ml de solução salina normal (0,85%), conforme o tamanho do macerado e mantida na geladeira a 4°C durante a noite. No dia seguinte os tubos foram centrifugados a 3000 r. p. m. por 20 minutos e os sobrenadantes testados contra o anti-soro total de *S. fulvinitum* por dois métodos, precipitação em tubos capilares (PPT) e imunodifusão em agar-gel (ID).

#### 1 — Precipitação em tubos capilares

A técnica de precipitação utilizada foi adaptada de Frank (1967), Dempster (1960), Kwapinski (1972), Service (1973a, 1973b, 1973c, 1976) e Service & Lyle (1975). Tubos capilares de vidro (de 75mm de comprimento por 1,1 — 1,2mm de diâmetro com paredes de 0,18 — 0,2 mm de espessura) foram utilizados para reagir os conteúdos intestinais dos predadores suspeitos contra o anti-soro de *S. fulvinitum*. Leituras das reações foram tomadas 1, 2, 12 e 24 horas após a mistura dos componentes.

#### 2 — Imunodifusão em agar-gel

Esta técnica foi adaptada de Ouchterlony (1948), Crans (1969), Kaufman *et al.* (1972), Kwapinski (1972) e Crowle (1973). Na placa com agar-gel, as cavidades periféricas foram preenchidas com as soluções dos conteúdos intestinais dos predadores suspeitos e, após duas horas, a cavidade central foi preenchida com o anti-soro de *S. fulvinitum*. Leituras foram tomadas 24, 48, 72 e 96 horas após o preenchimento da cavidade central. Quando bandas ou linhas de precipitação apareceram entre a cavidade central e uma periférica, a reação era considerada positiva (Fig. 1).

Para calcular a especificidade e a sensibilidade dos testes sorológicos utilizados, anti-

geno de larvas de *S. fulvinitum* e antígeno de larvas de *Culex* spp. foram testados contra o anti-soro de larvas de *S. fulvinitum*, contra o anti-soro de larvas de *Culex* spp. e contra o soro de um coelho controle (coelho não injetado com antígenos). Tabela 1.

#### RESULTADOS

No teste de PPT o anti-soro de *S. fulvinitum* reagiu com o antígeno homólogo até a diluição de 1: 1000 e com o antígeno de larvas de *Culex* spp. até a diluição de 1: 1000. O anti-soro de *Culex* spp. reagiu com o antígeno homólogo até 1: 1000 e com o antígeno de larvas de *S. fulvinitum* até 1: 100. Tanto o antígeno de larvas de *S. fulvinitum* a 1: 10 como o de *Culex* spp. a 1: 1000 apresentaram reações positivas contra o soro do coelho controle (Tabela 1).

No teste de ID o anti-soro de *S. fulvinitum* reagiu com o antígeno homólogo até a diluição

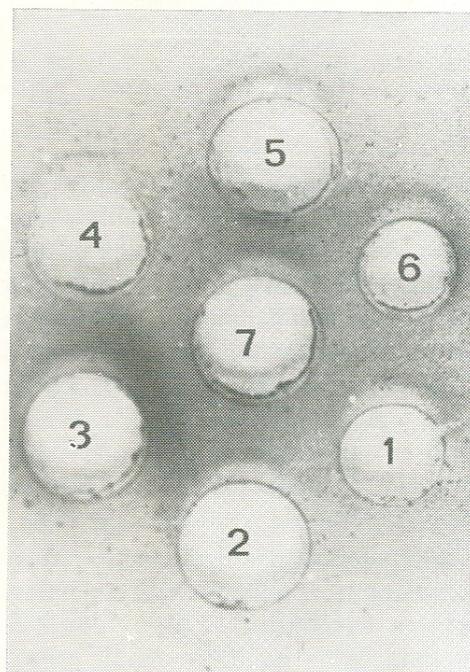


Fig. 1 — Reação positiva de imunodifusão em agar-gel com duas bandas de precipitação entre as cavidades 3 (com solução do conteúdo intestinal de uma larva de *Corydalidae*) e 7 (com anti-soro de *S. fulvinitum*). As cavidades 1, 2, 5 e 6 continham soluções do conteúdo intestinal de outras larvas de *corydalídeos*.

**TABELA 1 — Precipitação e imunodifusão dos antígenos de *S. fulvinitum* e de *Culex* spp., contra os anti-soros homólogos, heterólogos e soro do coelho controle (1).**

Precipitação									
Antígenos	<i>S. fulvinitum</i>				<i>Culex</i> spp.				
	Diluições	Puro	1/10	1/100	1/1000	Puro	1/10	1/100	1/1000
As. S.		+++	++	+	+	++ m	++ m	+	—
As. C.		+	+	±	—	+++m	++ m	++ m	+
Soro do coelho controle		+	±	—	—	++ m	+	m	±

Imunodifusão									
As. S.		++	+	—	—	—	—	—	—
As. C.		—	—	—	—	++	++	—	—
Soro do coelho controle		—	—	—	—	—	—	—	—

(1) — O soro foi coletado de um coelho controle que não foi injetado com antígenos.  
 As. S. = anti-soro contra larvas de *S. fulvinitum*.  
 As. C. = anti-soro contra larvas de *Culex* spp.  
 +++ = reação positiva muito forte e evidente.  
 ++ = reação positiva forte e evidente.  
 + = reação positiva evidente. — ± = reação positiva fraca.  
 — = reação negativa. m = deposição de melanina do tecido com antígenos.

de 1: 10 e não reagiu com a antígeno de larvas de *Culex* spp. De forma semelhante o anti-soro de *Culex* spp. reagiu com o antígeno homólogo até 1: 10 e não reagiu com o antígeno de larvas de *S. fulvinitum*. Tanto o antígeno de larvas de *S. fulvinitum* como o antígeno de *Culex* spp. não apresentaram reação positiva com o soro do coelho controle (Tabela 1). Outras reações comprovaram que no teste de ID o anti-soro de *S. fulvinitum* reagiu com seu antígeno homólogo até a diluição de 1: 80.

Nos criadouros das larvas de *S. fulvinitum*, foram coletados e testados 496 exemplares de predadores suspeitos. Destes, 226 (45,5%) foram detectados positivos como predadores por um ou mais dos métodos utilizados; 221 (44,5%) foram positivos pelo teste de ID e 12 (2,4%) por observações intestinais no ato da dissecação (OI). Tabela 2.

As 3 náíades de Libellulidae (Odonata) testadas foram positivas por PPT. Uma foi positiva pelos três métodos (PPT, ID e OI) e neste exemplar foram encontradas 3 larvas de

*S. fulvinitum* no intestino anterior, antes dos dentes do cibário.

De 46 náíades da família Perlidae (Plecoptera), 27 (58,7%) foram positivas por PPT, nenhuma por ID e 3 (6,5%) positivas por OI. Destas 3, uma com uma larva no intestino anterior, outra com restos e uma larva no intestino anterior e a última com 7 larvas antes dos dentes do cibário.

Das 16 larvas de Corydalidae (Neuroptera) testadas, 10 foram positivas por PPT e uma por PPT e ID. No intestino anterior desta larva positiva por PPT e ID, foram encontradas 19 larvas de *S. fulvinitum* e restos de outras larvas de *S. fulvinitum*. No intestino anterior de outro exemplar positivo por PPT foram encontradas 10 larvas de *S. fulvinitum*. Estas duas larvas de Corydalidae que foram positivas pela presença de larvas de *S. fulvinitum* em seus intestinos, tinham sido mantidas no laboratório em aquários juntamente com larvas de *S. fulvinitum*. A primeira foi deixada junto com 30 larvas de *S. fulvinitum* e no dia seguinte

TABELA 2 — Predadores suspeitos das larvas de *S. fulvinotum* testados por precipitação, imunodifusão e observações intestinais no ato da dissecação.

Ordem — Família — Gênero	N.º testado	N.º de + em precipitação	N.º de + em imunodifusão	Com restos de <i>S. fulvinotum</i> nos intestinos	Total (*)
ODONATA (Náiades)					
Libellulidae	3	3	1	1	3
Agrionidae	1	1	0	0	1
PLECOPTERA (Náiades)					
Perlidae	46	27 (58,7%)	0	3 (6,5%)	27 (58,7%)
NEUROPTERA (Larvas)					
Corydalidae	16	11	1	2	11
COLEOPTERA					
Elmidae (Larvas)	3	1	0	0	1
Elmidae (Adultos)	15	8	0	0	8
TRICHOPTERA (Larvas)					
Philopotamidae					
Chimarra sp. 1	46	19 (41,3%)	0	0	19 (41,3%)
Chimarra sp. 2	11	9	0	0	9
Hydropsychidae					
Macronema spp.	289	89 (30,8%)	6 (2,0%)	4 (1,4%)	93 (32,9%)
Helicopsychidae	7	6	0	0	6
Odontoceridae	1	1	0	0	1
LEPIDOPTERA (Larvas)					
Pyrilidae					
Nymphulinae	58	46 (79,3%)	0	2 (3,4%)	47 (81,0%)
<b>TOTAL</b>	<b>496</b>	<b>221 (44,5%)</b>	<b>8 (1,6%)</b>	<b>12 (2,4%)</b>	<b>226 (45,5%)</b>

(\*) — Quantidade de predadores incriminados por um ou mais dos métodos utilizados.  
 OBS.: As porcentagens foram calculadas somente para os grupos que apresentam mais de 30 exemplares.

foram encontradas 19 larvas em seu intestino anterior. A segunda foi deixada junto com 20 larvas e no dia seguinte foram encontradas 10 larvas em seu intestino anterior. A predação ocorreu somente durante a noite.

De 289 larvas de *Macronema* spp. Burmeister (Hydropsychidae: Trichoptera) 89 (30,8%) foram positivas por PPT, 6 (2,0%) por ID e 4 (1,4%) por OI. Dentre estes 4 últimos, um foi considerado positivo pela presença da ca-

beça de um *S. fulvinotum* adulto, um pela presença de 3 larvas, outro pela presença da cabeça de uma larva e o outro pela presença de uma larva de *S. fulvinotum* no intestino anterior, sendo que este exemplar também foi positivo por PPT e ID.

De 58 larvas de Nymphulinae (Pyrilidae: Lepidoptera) testadas, 46 (79,3%) foram positivas por PPT e nenhuma por ID. Uma foi considerada positiva também pela presença de

restos de 3 larvas de *S. fulvotum* nos intestinos. Uma larva de Nymphulinae foi coletada caminhando sobre pupas de *S. fulvotum* e em seu intestino foram encontrados restos de brânquias de pupas.

De 15 larvas de Elmidae (Coleoptera), 8 foram positivas por PPT; de 3 adultos, somente um foi positivo por PPT.

TABELA 3 — Predadores suspeitos testados por imunodifusão, precipitação e pela presença de restos de larvas de *S. fulvotum* em seus conteúdos digestivos.

		Imunodifusão		
		+	-	Total
Observações intestinais	+	3	9	12
	I	5	479	484
	Total	8	488	496

$$\chi^2 = 30,17$$

$$p < 0,001$$

		Precipitação		
		+	-	Total
Observações intestinais	+	8	4	12
	I	213	271	484
	Total	221	275	496

$$\chi^2 = 2,01$$

$$p > 0,05$$

		Imunodifusão		
		+	-	Total
Precipitação	+	5	216	221
	I	3	272	275
	Total	8	488	496

$$\chi^2 = 1,12$$

$$p > 0,05$$

De 46 larvas de *Chimarra* sp. 1 Stephens (Philopotamidae: Trichoptera), 19 (41,3%) foram positivas por PPT e de 11 larvas de *Chimarra* sp. 2, nove foram positivas por PPT, porém nenhuma larva de *Chimarra* foi detectada por ID ou OI.

De 7 larvas de Helichopsychidae (Trichoptera), 6 foram positivas por PPT e nenhuma pelos outros métodos.

Para comprovar associações entre os métodos de detecção de predadores de *S. fulvotum*, a Tabela 3 apresenta o número de exemplares detectados por cada método em comparação com os outros. Foram calculados valores de  $\chi^2$  de cada comparação. Observou-se uma associação estatisticamente significativa entre o teste de ID e OI ( $\chi^2 = 30,2$ ;  $p < 0,001$ ). Nenhuma associação foi observada entre os testes de ID e PPT ou entre os testes de PPT e OI.

Três exemplares foram detectados simultaneamente pelos métodos utilizados: uma náide de Libellulidae, uma larva de Corydalidae e uma larva de *Macronema* spp.. Cinco exemplares foram detectados por PPT e OI: três náides de Perlidae duas larvas de Nymphulinae. Dois foram detectados por PPT e ID: pertencem ao gênero *Macronema*. Nenhum exemplar foi detectado simultaneamente pelos métodos de ID e OI sem que tenha sido também detectado por PPT.

#### DISCUSSÃO

A presente pesquisa emprega o teste de PPT juntamente com o de ID e OI para detectar predadores das larvas de *S. fulvotum*. O teste de PPT apresentou uma sensibilidade alta, uma titulação de 1: 1000 em relação ao antígeno de *S. fulvotum*, mas não foi específico, detectando também o antígeno de *Culex* sp. na diluição de 1: 1000. O teste de ID, ao contrário, apresentou uma sensibilidade de 1: 80, e foi específico para o antígeno de *S. fulvotum*. As observações intestinais dos predadores suspeitos (OI) são evidências irrefutáveis da predação, mas somente é possível encontrar restos ou larvas de *S. fulvotum* nos intesti-

nos dos predadores poucas horas após a predação, pois eles foram encontrados principalmente antes dos dentes do cibário no intestino anterior do predador e esporadicamente, mais triturados, no intestino médio. A especificidade é mais desejável que a sensibilidade na detecção de predadores, devido à necessidade de se conhecer os principais inimigos naturais de um grupo animal importante que se queira controlar, pois a ação do predador sobre as espécies de presas existentes no criadouro, se pode conhecer. Assim fica claro, com base neste estudo, que os testes de ID e OI são mais eficazes na detecção dos predadores, pois são específicos.

Considerando que os testes de ID e OI são eficazes na detecção dos predadores naturais das larvas de *S. fulvotum*, náíades de Libellulidae e Perlidae e larvas de Corydalidae, de *Macronema* spp. e de Nymphulinae, são incriminadas como predadoras das larvas de *S. fulvotum* em seus criadouros naturais. Nas listas de predadores de simuliídeos apresentada por Jenkins (1964) e Burton & Mc Rae (1972) não é feita qualquer referência a predadores de simuliídeos no Brasil, pois até então não haviam sido realizados no Brasil trabalhos sobre este assunto. Larvas de Trichoptera da família Hydropsychidae, dos gêneros *Hydropsyche* Pictet, *Smicridea* Mc Lachlan, *Diplectrona* Westwood, *Cheumatopsyche* Wallengren e *Arctopsyche* Mc Lachlan eram incluídas naquelas listas como predadores de várias espécies de larvas de simuliídeos em outras localidades, mas nenhuma larva de Lepidoptera e do gênero *Macronema* havia sido citada predando simuliídeos. Somente agora este trabalho incrimina as larvas de *Macronema* spp. e Nymphulinae como novos predadores de larvas de simuliídeos.

Náíades de Libellulidae também foram incriminadas como predadoras das larvas de *S. fulvotum* por ID e OI, porém já haviam sido incriminadas como predadoras de simuliídeos por Service & Lyle (1975). Náíades de Plecoptera da família Perlidae foram detectadas predando larvas de *S. fulvotum* e Cameron (1922), Crisp (1956) e Wolfe & Peterson (1959) também detectaram plecópteros predando simuliídeos. Larvas de Corydalidae foram incriminadas e já tinham sido encontradas predando larvas de simuliídeos por Twinn (1939) e Dalmat (1955).

Ficou determinado que, nestes experimentos, o teste de PPT não apresentou especificidade para comprovar predação das larvas de *S. fulvotum*, o que não exclui a possibilidade de que os outros grupos de insetos positivos somente no teste de PPT sejam predadores. Uma larva de Agrionidae (Odonata) testada, foi positiva pelo teste de PPT. De três larvas de Elmidae testadas, uma foi positiva por PPT; de 5 adultos, 8 foram positivos. Elmídeos foram coletados associados com as larvas de simuliídeos, mas não foram observados predando (Crisp, 1956; Peterson & Davies, 1960; Peterson, 1960; Service & Lyle, 1975). *Chimarra* sp. 1 e *Chimarra* sp. 2 foram detectadas pelo teste de PPT; as *Chimarra* já tinham sido incriminadas por Crisp (1956), Peterson (1960), Peterson & Davies (1960) e Service & Lyle (1975). Helichopsychidae e Odontoceridae foram positivos pelos testes de PPT como predadores de simuliídeos, mas não há certeza de que realmente o sejam, pois o teste apresentou uma considerável margem de erro.

Observou-se que uma larva de Nymphulinae caminhava sobre pupas de *S. fulvotum*; no exame do conteúdo intestinal desta larva, foram encontrados filamentos branquiais das pupas. Outras larvas de Nymphulinae constroem suas teias próximo a aglomerados de pupas. Estas observações podem ser consideradas como evidências da especialização do predador para determinadas fases do desenvolvimento da presa. É provável que haja uma separação de nichos relacionada com as fases do desenvolvimento da presa. Outra observação importante foi a predação, somente durante a noite, por larvas de Corydalidae mantidas no laboratório. Esta observação pode ser uma evidência da provável separação de nichos por períodos de predação. Pode ainda existir uma separação de nichos por um complexo de fatores no qual estes dois estejam incluídos.

A determinação dos predadores das larvas de *S. fulvotum* é um início dos estudos sobre a relação presa-predador nos criadouros naturais de simuliídeos no Brasil. Abre um caminho para estudos deste relacionamento nos criadouros das espécies de importância para o

homem na Amazônia. O relacionamento presa-predador nos criadouros naturais do *S. amazonicum*, que foi incriminado na Amazônia como o transmissor de *O. volvulus*, *M. ozzardi* e causadores iniciais da Síndrome Hemorrágica de Altamira deve ser estudado para um possível futuro controle dos problemas que estes insetos causam ou poderão vir a causar.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Dra. Wai Yin Mok pela orientação no uso das técnicas sorológicas. A Maria de Fátima Leite Gorayeb que incentivou este trabalho partilhando passo a passo o seu desenvolver. A Julio Dellome colega do dia a dia da convivência no laboratório. Ao Dr. José Alberto Nunes de Mello por ceder parte de seu laboratório para o desenvolvimento desta pesquisa.

#### SUMMARY

As the first attempt on ecological studies on the natural breeding places of black flies in Brazil, this study carried out in the vicinities of the city of Manaus, state of Amazonas, aimed at detecting the natural predators of the *Simulium fulvotum* larvae by means of capillary tube precipitin test (not specific for *S. fulvotum*) and agar-gel immunodiffusion test, aided by observations of *S. fulvotum* larval remains in the intestines of suspected predators.

Larvae of species of the genera *Macronema* (Hydropsychidae) and Lepidoptera (Nymphulinae, Pyralidae) were incriminated for the first time as predators of black flies.

Naiads of Libellulidae (Odonata), Perlidae (Plecoptera) and larvae of Corydalidae (Neuroptera) were also incriminated as predators of the *S. fulvotum* larvae in their natural breeding places.

#### BIBLIOGRAFIA CITADA

- BLACKLOCK, D.B.  
1926 — The development of *Onchocerca volvulus* in *Simulium damnosum*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 20 : 1-48.
- BOREHAM, P.F.L. & OHIAGU, C.E.  
1978 — The use of serology in evaluating invertebrate prey-predator relationships: a review. *Bull. ent. Res.*, 68 : 171-194.

- BURTON, G.J. & MCRAE, T.M.  
1972 — Observation on trichopteran predators of aquatic stages of *Simulium damnosum* and other *Simulium* species in Ghana. *J. Med. Ent.*, 9 : 289-294.
- CAMERON, A.E.  
1922 — The morphology and biology of a Canadian cattle infesting black fly, *Simulium simile* Mall. (Diptera, Simuliidae). *Can. Dept. Agr. N. S., Ent. Bull.*, 20 : 1-26.
- CERQUEIRA, N.L.  
1959 — Sobre a transmissão de *Mansonella ozzardi*. Nota 1 e nota 2. *J. Bras. Med.*, 1 : 885-914.
- CERQUEIRA, N.L. & MELLO, J.A.N.  
1968 — Simuliidae da Amazônia. IV) Descrição de *Simulium fulvotum* sp.n. (Diptera, Nematocera). *Amazoniana*, 1 : 205-210.
- CRANS, W.J.  
1969 — An agar-gel diffusion method for the identification of mosquito blood-meals. *Mosquito News*, 29 : 563-566.
- CRISP, G.  
1956 — An ephemeral fauna of torrents in the Northern territories of Gold Coast, with special reference to the enemies of *Simulium*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 50 : 260-267.
- CROWLE, A.L.  
1973 — *Immunodiffusion*. 2ª edi. New York, Academic Press. 545 p.
- DALMAT, H.T.  
1955 — The black flies (Diptera, Simuliidae) of Guatemala and their role as vector of onchocerciasis. *Smithsonian Misc. Collections*, 125 : 1-425.
- DEMPSTER, J.P.  
1960 — A quantitative study of the predators on eggs and larvae of the broom beetle, *Phytodecta olivacea* Froster, using the precipitin test. *J. Amin. Ecol.*, 29 : 149-167.
- FRANK, J.H.  
1967 — A serological method used in the investigation of the predators of the pupal stages of the winter moth, *Operophtera brumata* (L.) (Hydriomenidae). *Quaest. Ent.*, 3 : 95-105.
- JENKINS, D.W.  
1964 — Pathogens, parasites and predators of medically important arthropods. Annotated list and bibliography. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 30 (Supl.) : 5-150.
- KAUFMAN, L.; HUPPERT, M.; NETTO, C.F.; POLLAK, L. & RESTREPO, A.  
1972 — Manual of standardized serodiagnostic procedures for systemic mycoses. Part I: agar immunodiffusion test. PAHO publication : 1-14.

- KWAPINSKI, J.B.G.  
1972 — **Methodology of immunochemical and immunological research**. New York. Wiley-Interscience (John Wiley & Sons, Inc.). 820 p.
- OUCHTERLONY, O.  
1948 — In vitro method for testing toxin-producing capacity of diphtheria bacteria. *Acta path. microbiol. scand.* 25 : 186-191.
- PETERSON, B.V.  
1960 — Notes on some natural enemies of Utah black flies (Diptera: Simuliidae). *Can. Ent.*, 92 : 266-274.
- PETERSON, B.V. & DAVIES, D.M.  
1960 — Observations on some insect predators of black flies (Diptera: Simuliidae) of Algonquin Park, Ontario. *Can. J. Zool.*, 38 : 9-18.
- PINHEIRO, F.P.; BENSABATH, G.; COSTA JR., D.; MAROJA, O.M.; LINS, Z.C. & ANDRADE, A.H.P.  
1974 — Haemorrhagic Syndrome of Altamira. *The Lancet*, Apr. 13 : 639-642.
- RASSI, E.; LACERDA, N.; GUAIMARAES, J.A.; VULCANO, M.A.; PÉREZ, J.R. & RAMÍREZ, A.  
1975 — Preliminary report on a new vector of onchocerciasis in the Americas: *Simulium amazonicum* (Goeldi, Lutz, 1910 and 1917). *PAHO Bull.*, 9 : 10-12.
- SERVICE, M.W.  
1973a — Study of the natural predators of *Aedes cantans* (Meigen) using the precipitin test. *J. Med. Entomol.*, 10 : 503-510.
- 1973b — Mortalities of larvae of the *Anopheles gambiae* complex and detection of predators by the precipitin test. *Bull. ent. Res.*, 62 : 359-369.
- 1973c — Identification of predators of *Anopheles gambiae* resting in huts, by the precipitin test. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 67 : 33-34.
- 1976 — **Mosquito Ecology. Field Sampling Methods**. London. Applied Science Publishers, LTD. 583 p.
- SERVICE, M.W. & LYLE, P.  
1975 — Detection of the predators of *Simulium damnosum* by the precipitin test. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 69 : 105-108.
- SHELLEY, A.J. & SHELLEY, A.  
1976 — Further evidence for the transmission of *Mansonella ozzardi* by *Simulium amazonicum* in Brazil. *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 70 : 213-217.
- TWINN, C.R.  
1939 — Notes on some parasites and predators of black-flies (Simuliidae, Diptera). *Can. Ent.*, 71 : 101-105.
- WELLINGS, F.M.  
1969 — Epidemiological virological study of the California encefalites group in Trampa Bay of Florida, 1963-1968. *Univ. Microfilm, Inc. Ann. Arbor, Michigan*, 140 p.
- WOLFE, L.S. & PETERSON, D.G.  
1959 — Black flies (Diptera: Simuliidae) of the forest of Quebec. *Can. Jour. Zool.*, 37 : 135-159.

(Aceito para publicação em 19/09/78)