

RÚBEN ANTUNES CAPELA

Assistente da Faculdade de Ciências da Universidade Clássica de Lisboa

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA SISTEMÁTICA,
FISIOLOGIA, ECOLOGIA E ETOLOGIA DE DUAS ESPÉCIES
HALÓFILAS DE MOSQUITOS (*DIPTERA, CULICIDAE*) DE PORTUGAL :
Aedes (Ochlerotatus) caspius (Pallas, 1771) e *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833).

Dissertação apresentada à Faculdade
de Ciências de Lisboa para obtenção
do grau de Doutor

Lisboa 1986

59

CAP Com

ex. 2

T15

RÚBEN ANTUNES CAPELA

Assistente da Faculdade de Ciências da Universidade Clássica
de Lisboa

UNIVERSIDADE DA MADEIRA
SERVIÇOS DE DOCUMENTAÇÃO

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA SISTEMÁTICA, FISIOLÓGIA, ECOLOGIA
E ETOLOGIA DE DUAS ESPÉCIES HALÓFILAS DE MOSQUITOS (DIPTERA, CULICIDAE)
DE PORTUGAL: Aedes (Ochlerotatus) caspius (Pallas, 1771) e Aedes (Ochle-
rotatus) detritus (Haliday, 1833).

Dissertação apresentada à Faculdade
de Ciências de Lisboa para obtenção
do grau de Doutor.

LISBOA

1986

A meus filhos

ÍNDICE

págs.

INTRODUÇÃO

PARTE I

GENERALIDADES SOBRE OS CULICÍDEOS OU MOSQUITOS

1 - IMPORTANCIA MÉDICA, VETERINÁRIA E ECONÓMICA DOS CULICÍDEOS ..	5
2 - POSIÇÃO SISTEMÁTICA DOS CULICÍDEOS	8
3 - MORFOLOGIA GERAL DOS CULICÍDEOS	9
3.1 - OVO	9
3.2 - LARVA	9
3.2.1 - Cabeça	9
3.2.2 - Tórax	9
3.2.3 - Abdómen	9
3.3 - PUPA OU NINFA	10
3.4 - ADULTO	10
3.4.1 - Cabeça	10
3.4.2 - Tórax	10
3.4.3 - Abdómen	10
4 - FISIOLOGIA, ECOLOGIA E ETOLOGIA GERAL DOS CULICÍDEOS	10
4.1 - Ciclo evolutivo	11
4.2 - Ovogénese	11
4.3 - Embriogénese	12
4.4 - Eclosão	13
4.5 - Estado larvo-ninfal	13
4.6 - Desenvolvimento larvar	15
4.7 - Nutrição e respiração larvar	15
4.8 - Adultos	16
4.8.1 - Comportamento sexual	17

4.8.2 - Comportamento trófico	17
4.8.3 - Ritmo sazonal-hibernação	17
4.8.4 - Os ciclos biológicos	18

PARTE II

SISTEMÁTICA DOS MOSQUITOS	19
1 - Critérios morfológicos e anatómicos	22
1.1 - Morfologia geral	22
1.2 - Morfologia das genitálias	23
1.3 - Morfologia dos estados prè-imaginais	24
2 - Critérios biométricos	24
3 - Critérios cariológicos	25
4 - Critérios mixiológicos	26
5 - Critérios bioquímicos	26
5.1 - Generalidades	26
5.2 - Estado actual dos estudos electroforéticos de <u>Aedes</u> (<u>O.</u>) <u>detritus</u> e de <u>Aedes</u> (<u>O.</u>) <u>caspius</u>	32
6 - Critérios ecológicos	32

PARTE III

1 - RESUMO HISTÓRICO E ESTADO ACTUAL DO RECONHECIMENTO DA CULICIDEOFAUNA DE PORTUGAL	34
2 - ESTADO ACTUAL DO CONHECIMENTO DOS CULICÍDEOS HALÓFILOS PORTUGUESES	35
2.1 - Generalidades	35
2.2 - Morfologia de <u>Aedes</u> (<u>O.</u>) <u>caspius</u>	37
2.2.1 - Ovo	37
2.2.2 - Larva	37
2.2.3 - Pupa	37
2.2.4 - Adulto	38
2.3 - Morfologia de <u>Aedes</u> (<u>O.</u>) <u>detritus</u>	38
2.3.1 - Ovo	38
2.3.2 - Larva	38

2.3.3 - Pupa	38
2.3.4 - Adulto	38
3 - Distribuição geográfica de <u>Aedes caspius</u> e de <u>Aedes detritus</u>	42
3.1 - Distribuição geográfica mundial de <u>Aedes caspius</u>	42
3.2 - Distribuição geográfica mundial de <u>Aedes detritus</u>	43
3.3 - Distribuição geográfica de <u>Aedes caspius</u> e de <u>Aedes detritus</u> em Portugal	43
3.3.1 - Distribuição de <u>Aedes caspius</u>	45
3.3.1.1 - Colheitas efectuadas pelo autor, no âmbito do trabalho de tese	45
3.3.1.2 - Colheitas efectuadas por outros autores.	45
3.3.2 - Distribuição de <u>Aedes detritus</u>	45
3.3.2.1 - Colheitas efectuadas pelo autor, no âmbito do trabalho de tese	45
3.3.2.2 - Colheitas efectuadas por outros autores.	46

PARTE IV

MATERIAL; TÉCNICAS E MÉTODOS	48
1 - TÉCNICAS GERAIS	48
2 - CRIAÇÃO LABORATORIAL	51
2.1 - Criação de larvas e pupas	51
2.2 - Criação de adultos	51
3 - TÉCNICAS DE DISSECÇÃO DOS OVÁRIOS E DAS ESPERMATECAS	52
4 - TÉCNICAS DE FECUNDAÇÃO ARTIFICIAL	54
5 - TÉCNICAS MORFOMÉTRICAS	54
6 - TÉCNICAS ELECTROFORÉTICAS	54
7 - DESCRIÇÃO DAS ESTAÇÕES DE COLHEITA DO MATERIAL ESTUDADO ..	59
8 - <i>LISTA DOS LOCALS BARRAS DE COLHEITA</i>	

PARTE V

RESULTADOS

1 - ESTUDO ELECTROFORÉTICO DE SISTEMAS PROTEICOS EM AMOSTRAS DE POPULAÇÕES PORTUGUESAS DE <u>Aedes detritus</u> E DE <u>Aedes caspius</u>	72
2 - ESTUDO MORFOMÉTRICO	87
2.1 - Análise univariada	87
2.1.1 - Ovo	88
2.1.2 - Larva do 4º estado	93
2.1.3 - Pupa	93
2.1.4 - Adulto	106
2.2 - Análise discriminante das larvas	138
3 - ESTUDO ECOFISIOLÓGICO	142
3.1 - ADULTOS	142
3.1.1 - Autogenia/anautogenia nos insectos hematófagos com particular relevo para os mosquitos	143
3.1.2 - A autogenia em <u>Aedes detritus</u>	154
3.1.2.1 - A autogenia em <u>Aedes detritus</u> de Portugal	155
3.1.3 - A autogenia em <u>Aedes caspius</u>	161
3.1.4 - Eurigamia/estenogamia	188
3.1.5 - Locais de postura	188
3.1.6 - Alocronia/sincronia	189
3.1.7 - Comparação de alguns parâmetros demográficos, entre <u>Aedes detritus</u> A e <u>Aedes detritus</u> B	190
3.1.8 - Antropofilia/zoofilia. Endofilia/exofilia	192
3.2 - LARVAS	196
3.2.1 - Tolerância das espécies A e B de <u>Aedes detritus</u> a diferentes concentrações de NaCl	196
3.2.2 - Classificação ecológicas dos criadouros larvares de <u>Aedes detritus</u>	201

PARTE VI

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	203
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	209
APÊNDICE	225

AGRADECIMENTOS

É nossa intenção prestar uma modesta homenagem àqueles que de várias maneiras e a diferentes níveis, contribuíram de algum modo, para levarmos a bom termo o presente trabalho.

Assim, desejamos expressar o nosso sincero reconhecimento ao Professor Doutor Henrique RIBEIRO, nosso mestre e companheiro de longas e, por vezes, penosas jornadas tanto em Angola, no Instituto de Investigação Médica, como em Portugal no Instituto de Higiene e Medicina Tropical. Ao Professor RIBEIRO devemos grande parte da nossa formação moral e científica que não podemos nem queremos esquecer e que serviu de base para a realização do trabalho de tese agora apresentado. Por tudo, a nossa profunda gratidão.

Para os restantes colegas da sua e nossa equipa, Dr. Carlos Alves PIRES, Dr^a. Helena da Cunha RAMOS e colaboradores, que do mesmo modo partilharam connosco os seus conhecimentos ao longo dos anos em que temos trabalhado nas mais variadas e difíceis circunstâncias no continente africano e em Portugal, vão os nossos justos agradecimentos.

Seja-nos igualmente permitido realçar o importante papel de todos os Professores do nosso Departamento que com o seu exemplo de devotado e árduo trabalho no domínio da docência e da investigação, aliado aos conselhos que nos foram dando nesta longa caminhada, contribuíram assim para a sua finalização.

Em particular, ao Professor Doutor Germano da Fonseca SACARRÃO de quem tivémos o grato prazer de ser aluno e, posteriormente, Assistente das Disciplinas de Histologia e Embriologia, Ecologia Animal e Ecologia Geral, a seu cargo, são devidos os nossos respetos e agradecimentos pela forma sempre cordial e amigável com que nos recebeu e acompanhou. Sendo o nosso orientador científico na Faculdade, soube transmitir-nos alguns dos seus vastos conhecimentos, encorajando-nos e apoiando-nos incondicionalmente.

Para o Professor Doutor Eduardo José de Frias Gonçalves CRESPO, vão as nossas saudações e penhorados agradecimentos pela sua camaradagem, amizade e frutuosa ensinamentos que colhemos, em particular no domínio da análise enzimática de alguns sistemas proteicos por meio de electrofo-

rese. A convivência que mantivemos tanto em trabalho de campo como no laboratório, foi sempre um estímulo de alto valor para a realização deste estudo.

Queremos do mesmo modo expressar o nosso agradecimento ao Professor Doutor Carlos Alberto da Silva ALMAÇA, pela receptividade e apoio franco com que sempre nos presenteou.

O nosso reconhecimento vai igualmente para a Dr^a. Ana Maria CRESPO e Dr. Luis VICENTE, pela amizade, conselhos e ensinamentos que deles recebemos, respectivamente no âmbito da análise electroforética e no tratamento estatístico dos dados da morfometria.

Não podemos esquecer a camaradagem e o bom acolhimento que sempre tivemos entre os colegas do Laboratório Marítimo da Guia. Na pessoa do seu responsável Professor Doutor Luiz Caldas Vieira SALDANHA, desejamos manifestar a nossa gratidão a quantos de algum modo nos auxiliaram. Em particular à nossa colega e amiga Dr^a. Maria Teresa Coelho Teixeira LOPES é de inteira justiça agradecermos a colaboração que gentilmente nos prestou, nomeadamente na realização do trabalho de campo.

Aos colegas da Secção de Entomologia com cujos elementos vimos trabalhando há alguns anos queremos manifestar a nossa gratidão pelo apoio, compreensão e incentivo que nos têm dedicado.

Distinguimos com o nosso muito obrigado o responsável da Secção, Professor Doutor José Alberto de Oliveira QUARTAU pelo encorajamento e motivação com que sempre nos obsequiou.

Não queremos ainda deixar de realçar a motivação desinteressada e amiga que nos foi prestada pela Professora Doutora Maria Teresa Ramos Rocha PITÉ, Professor Doutor Pedro Duarte RODRIGUES, Professor Doutor Luis Fernando Marques MENDES, Dr^a. Maria Hália Rodrigues de Abreu Morgado MENDES e Dr. Artur Raposo Moniz SERRANO.

Para a Sr^a. D^a. Carolina de Jesus ALCOBIA vão os nossos agradecimentos pela dedicação e amizade que sempre demonstrou bem como pela preciosa e útil colaboração técnica que nos vem prestando.

A todos os colegas do Departamento de Zoologia e Antropologia e aos do Museu Bocage que de algum modo conosco colaboraram prestamos a nossa homenagem. Do mesmo modo agradecemos a simpatia e apoio que nos foi prestado pelo pessoal técnico e auxiliar do Departamento de Zoologia e Antropologia e do Museu Bocage.

Queremos expressar o nosso reconhecimento ao Dr. Gonçalo JANZ do Instituto de Higiene e Medicina Tropical pela gentil colaboração que nos deu na parte do trabalho relativa à análise discriminante.

Lembramos ainda a Estação Agronómica Nacional em Oeiras nas pessoas do Eng^o. A. ILHARCO, Eng^a. Arminda COSTA e Eng^o. Gonçalves PASSOS, pelo precioso auxílio na realização das fotomicrografias ao microscópio electrónico de varrimento.

Aquando das nossas estadias em França fomos recebidos e apoiados por diversas entidades de que desejamos destacar:

Professor Doutor J.A-RIOUX e seus colaboradores Doutora E.GUILVARD, Dr. J.M. VERDIER e M^{me} BELMONTE do Laboratoire d'Écologie Médicale et Pathologie Parasitaire- Faculté de Médecine de MONTPELLIER;

Doutores COUSSERANS, GABINAUD, SINEGRE, VIGO, M^{lle} MOUSSIEGHT e restantes colaboradores de l'Entente Interdépartementale pour la Demoustication du Littoral Méditerranéen- MONTPELLIER;

Doutora N. PASTEUR e colaboradores do Laboratoire d'Electrophoreses - Faculté de Sciences et Techniques du Languedoc-MONTPELLIER. Para todos o nosso reconhecimento.

Agradecemos também à Direcção do Museu Bocage todo o apoio que sempre nos prestou não só em termos materiais mas igualmente em meios humanos postos ao nosso dispor.

Em particular, ao Dr. A. SOARES a nossa gratidão. Pela excelente execução de algumas figuras e mapas que ilustram o texto, o nosso muito obrigado à Sr^a D^a. Maria Teresa B. LOPES.

Para o Instituto Nacional de Investigação Científica (INIC) de que somos bolseiros desde 1978, vai a expressão do nosso reconhecimento pelas facilidades que nos vem concedendo através de bolsas e outros subsídios permitindo assim a efectivação deste trabalho.

INTRODUÇÃO

Data de 1963, ano em que fomos colocados na Secção de Entomologia do então Instituto de Investigação Médica de Angola, o nosso gosto pelo estudo dos insectos, particularmente aqueles ligados à saúde pública.

Efectivamente, desde essa data e sempre em colaboração com a equipa orientada pelo Professor Doutor Henrique Ribeiro, temos vindo a desempenhar a nossa actividade no interessante grupo dos mosquitos (Diptera, Culicidae). Assim, após termos participado em diversos trabalhos em Angola, foi-nos oferecida a oportunidade de colaborarmos na realização de estudos conducentes à elaboração de uma Monografia sobre os mosquitos portugueses, trabalho iniciado em 1975 e que continua actualmente a desenvolver-se.

Intercaladas com este estudo realizaram-se, entretanto, várias missões de que destacamos uma à República de Cabo Verde e outra à de S. Tomé e Príncipe, com o objectivo de se proceder a um levantamento da fauna culicicideológica desses territórios.

No decorrer das actividades ligadas ao estudo dos mosquitos portugueses fomos despertados pelas curiosas características biológicas e ecológicas das populações halófilas que revelam aspectos particulares altamente interessantes que serão tratados no presente trabalho.

Apesar da relativa pobreza do nosso país em espécies de mosquitos considerados halófilos, optámos pelo seu estudo mais detalhado por entendermos que este grupo engloba um conjunto de espécies com manifesto interesse do ponto de vista sistemático, ecofisiológico e epidemiológico.

Para além destes aspectos, não se poderá negligenciar o papel negativo que as espécies halófilas têm desempenhado na economia dos vários países onde elas proliferam. Basta recordar que em vastas zonas da região mediterrânica a agricultura e a pecuária não se desenvolveram convenientemente devido à existência de grandes densidades de mosquitos halófilos que impediram o Homem de aí se instalar com carácter definitivo.

Paralelamente, a transmissão de algumas viroses que têm estes mosquitos como vectores, como o vírus da mixomatose nos coelhos e o arbovírus "Tahyna", transmitido ao Homem e aos animais na Europa central e do sul por Aedes caspius, igualmente se traduz em graves prejuízos e sérios riscos em termos de saúde pública.

Apesar de se terem desencadeado em alguns países, sobretudo em França, vários programas de defesa do meio ambiente, procurando controlar do melhor modo possível as densidades das espécies halófilas em regiões onde estas se desenvolvem naturalmente, o problema não foi de modo nenhum ultrapassado e, actualmente, assiste-se à proliferação relativamente fácil destas espécies, por exemplo em áreas de grande interesse turístico com as consequências negativas que isso acarreta em termos económicos. A este propósito as Autoridades sanitárias da região francesa do Languedoc criaram os Serviços de l' Entente Interdepartementale pour la Demoustication du Litoral mediterranéen (E.I.D.), sediados em Montpellier, com o objectivo de inventariar os criadouros larvares e exercerem o controlo dos mosquitos halófilos, aí presentes em elevadas densidades, partindo dos conhecimentos adquiridos numa zona piloto previamente estudada. Semelhante procedimento seria de grande utilidade aplicar-se em Portugal nas áreas de interesse turístico e/ou económico, em que as espécies halófilas se apresentam com grandes densidades, causando incómodo às populações residentes e/ou turistas, não só em termos das desagradáveis picadas, por vezes dolorosas, como também pela eventual inoculação de agentes etiológicos, por exemplo os vírus. Assim sendo, achámos ser oportuno e importante contribuir para o conhecimento destas espécies o mais detalhadamente possível.

Conforme se pode verificar em Ribeiro et al. (1977/78) foi J. M. Braga que, em 1931, publicou uma excelente monografia, para a época sobre os mosquitos portugueses em que assinalou pela primeira vez a existência, na nossa culicidaeofauna, das espécies halófilas: Aedes (O.) caspius (Pallas, 1771), Aedes (O.) detritus (Haliday, 1833) e Aedes (O.) mariaae (Sergent e Sergent, 1903), sendo as duas primeiras objecto do nosso trabalho de tese, uma vez que se apresentam distribuídas ao longo de toda a faixa costeira atlântica, de Esposende a Castro Marim, enquanto que Aedes mariaae, espécie bastante rara no nosso país se circunscreve à região algarvia mais oriental, tendo sido capturada uma única fêmea, em Olhão, por Ribeiro et al. (1977/78).

Para além do conhecimento da culicidaeofauna portuguesa adquirido através do trabalho em equipa anteriormente referido, foi-nos possível estagiar na Faculdade de Medicina de Montpellier e na Faculdade de Ciências da mesma cidade francesa sob orientação do Professor J.A.-Rioux e Doutora N. Pasteur, respectivamente, e ainda no Departamento de Controlo de mosquitos da região mediterrânica (E.I.D.) igualmente em Montpellier, com a

supervisão do Doutor Cousserans.

Destes contactos que achámos de grande utilidade prática resultou um melhor conhecimento do que havia sido feito até então e das perspectivas futuras relativas ao estudo de vários aspectos da sistemática e da biologia geral das espécies halófilas de mosquitos, trabalho em que, de certo modo, os Organismos citados foram pioneiros, como é o caso da elaboração de uma carta fitoecológica dos criadouros larvares de Aedes caspius e de Aedes detritus (Gabinaud, 1975), de um estudo ecofisiológico de Aedes caspius (Sinegre 1974), de trabalhos relativos à autogenia em Aedes detritus (Guilvard, 1978) e da detecção por meio da electroforese de alguns sistemas proteicos de duas espécies gêmeas no seio da espécie nominal Aedes detritus, no sul de França e no norte de África (Pasteur et al. 1978)

Com tão vasta problemática que interessava interpretar e estender ao conjunto da área de repartição destas espécies halófilas com o objectivo de se compararem os dados obtidos e eventualmente aumentar os conhecimentos acerca das mesmas, fácil se tornou para nós a decisão de optarmos pelo seu estudo em Portugal.

Assim sendo, propusemo-nos levar a cabo um trabalho em que fosse confirmada ou não a presença entre nós de duas ou mais espécies gêmeas do complexo do Aedes detritus. Ainda no que respeita a esta espécie, procedemos a um estudo ecofisiológico da autogenia que havia sido detectada, por nós, em amostras de populações de Castro Marim (Capela, 1979). Outra técnica que decidimos utilizar por a considerarmos susceptível de fornecer resultados interessantes no estudo de um complexo de espécies gêmeas como seria o caso de Aedes detritus foi a da análise biométrica (análise univariada e discriminante) com o objectivo de encontrar variáveis que permitissem uma mais fácil discriminação das espécies gêmeas eventualmente presentes.

À medida que o trabalho avançava, tomámos consciência de que o estudo do Aedes detritus nos abria novas perspectivas de investigação a vários níveis cada uma das quais, por sua vez, seriam suficientes para monopolizar a nossa capacidade em função dos meios técnicos e materiais disponíveis. Apesar disso, não descurámos o estudo de Aedes caspius, tendo abordado e desenvolvido alguns aspectos da sua ecologia e fisiologia que julgamos de algum interesse.

Como metodologia, dividimos o trabalho em seis partes. A primeira trata das generalidades sobre os culicídeos ou mosquitos, abordando a

sua importância médica e veterinária e ainda económica, posição sistemática e morfologia, tratando também de alguns aspectos da fisiologia, ecologia e etologia.

A segunda parte aborda a sistemática dos mosquitos e inclui a análise de diversos critérios utilizados na mesma. Na parte terceira, faz-se um resumo histórico e dá-se conta do estado actual do conhecimento da culicidaeofauna de Portugal, prestando-se particular atenção às espécies halófilas. Igualmente é tratada a distribuição geográfica actualmente conhecida de Aedes caspius e de Aedes detritus. A quarta parte é dedicada ao material, técnicas e métodos utilizados na realização das tarefas de campo e de laboratório, fazendo-se uma descrição pormenorizada de algumas técnicas utilizadas pela primeira vez em Portugal no domínio dos mosquitos.

Na parte quinta do nosso trabalho, apresentam-se os resultados obtidos com as diferentes técnicas e métodos que empregámos, salientando-se o estudo de sistemas proteicos em amostras de populações halófilas de Aedes detritus, a análise morfométrica e os ensaios ecofisiológicos efectuados em Aedes detritus e Aedes caspius.

Finalmente, na sexta parte, discutem-se os resultados obtidos e extraem-se algumas conclusões que nos pareceram mais fundamentais.

Apesar do trabalho desenvolvido, estamos conscientes de que o presente estudo constitui uma simples contribuição para um melhor conhecimento da culicidaeofauna portuguesa e que estudos mais aprofundados neste domínio devem ser prosseguidos, tendo como base de partida os resultados agora obtidos que nos parecem de qualquer modo encorajadores. Assim, esperamos e desejamos poder encetar uma nova fase da nossa actividade em que algumas questões agora menos esclarecidas possam vir a ser tratadas e melhor compreendidas, recorrendo aos conhecimentos e experiência adquiridos com a realização do presente trabalho.

PARTE I

GENERALIDADES SOBRE OS CULICÍDEOS OU MOSQUITOS

1 - IMPORTANCIA MÉDICA, VETERINÁRIA E ECONÓMICA DOS CULICÍDEOS

Certamente coexistindo com o Homem desde o seu aparecimento no nosso planeta, os mosquitos que até aí dispunham de excelentes fontes alimentares nos outros animais, primatas primitivos incluídos, passaram a dispôr de um novo hospedeiro para a satisfação de uma das suas necessidades vitais. A adaptação à picada no Homem não deve ter sido difícil dada a já existente habitação alimentar nos outros primatas. Desde logo, o Homem passou a constituir mais uma vítima e um elo na transmissão e desenvolvimento de agentes etiológicos, causadores de graves doenças. Assim, sem o desejar, acabou necessariamente por contrair certas endemias causadoras de elevada mortalidade em épocas recuadas. Recordamos, entre outras, a malária e a febre amarela, por serem aquelas que ainda hoje vitimam milhões de pessoas nas diferentes regiões zoogeográficas do globo, com particular incidência na Etiópica, Neotropical e Oriental. Não podemos ignorar, igualmente, outras doenças transmitidas por mosquitos, inoculando nos seres humanos os chamados arbovírus que, por vezes, se manifestam com quadros clínicos de difícil interpretação, mas que poderão ser a causa de uma taxa relativamente alta de mortalidade.

Basicamente, os mosquitos podem ser vectores de três grupos distintos de agentes patogénicos para o Homem:

a) - o grupo dos Haemosporidia, com 4 espécies de parasitas da malária pertencentes ao género Plasmodium e ainda um parasita ocasional da malária nos símios, igualmente do mesmo género.

b) - duas ou mais espécies de Filarioidea pertencentes aos géneros Brugia e Wuchereria.

c) - cerca de 80 arbovírus, 40 dos quais isolados a partir do Homem e considerando-se como altamente provável a possibilidade dos restantes 40 o poderem infectar, uma vez que em pesquisas efectuadas, se tem detectado a presença de anticorpos. Segundo Mattingly (1973), os vírus conhecidos ou suspeitos de infectarem o Homem foram já isolados de mais de 150 espécies de mosquitos, pertencentes a 14 géneros diferentes. Se algumas espécies de mosquitos manifestam uma acentuada preferência alimentar pelo

Homem, outras existem, felizmente a maioria, que picam sobretudo os animais.

Deste modo, existe a possibilidade da transmissão de agentes patogênicos aos animais domésticos e silváticos. São já conhecidos inúmeros casos de afecções provocadas pela inoculação por picada, ou mesmo por via mecânica, de agentes etiológicos a aves e mamíferos. Como exemplo, citamos: o vírus da encefalomielite equina do Oeste, o vírus do grupo AB responsável pela febre do Vale de Rift (nas ovelhas e bezerros) e o vírus da mixomatose nos coelhos (neste caso com transmissão mecânica). Para além das filárias humanas, Wuchereria bancrofti e W. malayi, Bates (1949), assinala a presença de Dirofilaria immitis nos cães, transmitida geralmente pela picada de insectos hematófagos (mosquitos incluídos). Fide Bates (1949), Highby (1943 a, 1943 b) detectou Dirofilaria scapiceps em coelhos e Dipetalonema arbuta no porco espinho, ambas transmitidas por mosquitos do género Aedes; enquanto Abbot, Roden e Yoely (1946) se referem a Anopheles sacharovi e An. maculipennis como vectores de uma espécie de filária causadora da "filariase dermal equina" na Grécia. Os halófilos Aedes detritus e Aedes caspius são considerados vectores do vírus da mixomatose entre os coelhos e o arbovírus "Tahyna" foi isolado a partir de Aedes caspius do sul de França.

Com estas breves referências relativas à capacidade exibida pelos mosquitos para a transmissão de doenças nocivas ao Homem e a outros animais, facilmente podemos inferir dos enormes prejuízos para a actividade humana que vêm sendo causados desde que os insectos se tornaram competidores do Homem pelo domínio do planeta. De facto, eles têm sido responsáveis pela disseminação de quase todas as febres epidémicas nos trópicos e subtropicais e pela transmissão de doenças com alta percentagem de mortalidade, sobretudo infantil (malária e febre amarela, por exemplo).

Segundo Wigglesworth (1976), foi em 1878 que Patrick Manson descobriu que as filárias eram transmitidas por mosquitos. A partir de então, assistiu-se a um verdadeiro desenvolvimento da entomologia médica e veterinária.

Desde tempos imemoriais que o Homem suporta com graves consequências para a sua saúde física e psíquica a presença destes insectos que, em épocas recuadas, constituíram autêntico flagelo. Vastas áreas do planeta, sobretudo nos trópicos, foram vedadas ao Homem que, impedido de

exercer actividades agrícolas e de pastorícia, foi forçado a confinar-se a territórios onde a presença destes insectos era mais reduzida. Por exemplo, na costa mediterrânica francesa, em terrenos pantanosos onde proliferavam espécies halófilas, o Homem trabalhava a terra sómente a horas de maior calor e luminosidade, recolhendo em seguida às montanhas afastadas da costa, furtando-se assim às picadas dos mosquitos, que atacavam sobretudo ao amanhecer e ao entardecer. Com vastas áreas inhabitáveis, outras em que a sua presença se limitava ao mínimo de tempo indispensável para as tarefas a desempenhar e sempre correndo o risco de contrair doenças, fácil deduzir das enormes dificuldades na colonização de certos territórios e no atraso causado ao desenvolvimento das actividades humanas pelos mosquitos.

Reportando-nos ainda a Wigglesworth (op.cit.) só na Europa, e em períodos de guerra, a malária vitimou milhares de soldados: 100 000 franceses na Macedónia em 1916, 30 000 ingleses em 1916 e 70 000 em 1917, na mesma frente de combate. Estas verdadeiras calamidades tiveram, no entanto, um papel decisivo na procura de soluções tendentes a minimizar esta situação. A epidemiologia das doenças foi estudada e as medidas profiláticas introduzidas o que conduziu a uma melhoria do estado geral das populações em termos de saúde pública. Porém, assiste-se ainda nos nossos dias, à manutenção e, por vezes, proliferação de focos endémicos de doenças transmitidas por mosquitos que o Homem ainda não controla totalmente.

Relatórios da Organização Mundial de Saúde, apontam para mais de um milhão de vítimas anuais da malária, das quais cerca de 100 000 perecem. Assim, a humanidade tem todo o interesse em prosseguir de forma harmoniosa e profícua a investigação científica a todos os níveis, devendo existir cooperação entre os serviços de saúde dos diversos Estados, assim como entre organismos de investigação científica, universidades e, eventualmente, entidades privadas, devendo ser postas à disposição dos trabalhadores de saúde pública, verbas significativas que permitam levar a bom termo os estudos conducentes ao controlo e eventual erradicação das doenças transmitidas por insectos vectores.

2 - POSIÇÃO SISTEMÁTICA DOS CULICÍDEOS

Os insectos estão separados num número de ordens cujos nomes derivam quase sempre das características das asas, terminando geralmente em "ptera" (do grego asa). As borboletas, por exemplo, pertencem à ordem Lepidoptera (asas com escamas) ao passo que os escaravelhos se integram na ordem Coleoptera (asas membranosas cobertas).

Quanto aos culicídeos, têm sido estabelecidas diferentes classificações de acordo com os autores e, sobretudo, com a evolução dos conhecimentos sobre este grupo. Marshall (1938), considerava-os pertencentes à ordem Díptera, subordem Nematocera que englobava algumas subfamílias das quais destacava a Culicidae com três subfamílias: Culicinae, Dixinae e Chaoborinae. Os insectos da primeira subfamília mencionada seriam facilmente reconhecíveis pela presença de uma probóscida conspícua (nas fêmeas, picadora sugadora) a ela pertencendo os verdadeiros mosquitos.

Os Culicinae, ou mosquitos, eram então divididos em duas tribos: Anophelini e Culicini, cada uma das quais com vários géneros, espécies e, em alguns casos, subespécies, variedades e raças. Knight e Stone (1977), no seu Catálogo dos Mosquitos do Globo, consideram os culicídeos como fazendo parte da família Culicidae que se divide em três subfamílias: Anophelinae, Culicinae e Toxorhynchitinae. A algumas destas subfamílias pertencem diversos géneros, espécies e subespécies. Por nos parecer mais lógico e de acordo com a filogenia dos mosquitos, temos seguido e continuaremos a fazê-lo, esta classificação, no nosso trabalho de investigação. Assim, resumidamente, conforme quadro I, enquadraremos os mosquitos alfabeticamente na ordem Díptera, subordem Nematocera, família Culicidae, com três subfamílias: Anophelinae, Culicinae e Toxorhynchitinae. A subfamília Culicinae subdivide-se em várias tribos, das quais destacamos a Aedini, com o género Aedes a que pertencem Aedes (Ochlerotatus) caspius (Pallas, 1771) e Aedes (Ochlerotatus) detritus (Haliday, 1833), espécies que constituem o fulcro de todo o nosso trabalho de tese.

Quadro I

Filo	<u>Arthropoda</u>	
Classe	<u>Insecta</u>	
Ordem	<u>Díptera</u>	
Subordem	<u>Nematocera</u>	
Família	<u>Culicidae</u>	{ <u>Anophelinae</u> <u>Culicinae</u> - Tribo <u>Aedini</u> -gén. <u>Aedes</u> <u>Toxorhynchitinae</u>

3 - MORFOLOGIA GERAL DOS CULICÍDEOS

3.1 - OVO

O ovo, fusiforme, é rodeado por uma espessa "casca" provida de um micrópilo no polo anterior. A camada externa ou exocóriorion é uma fina membrana translúcida que ornamente o ovo. A sua camada média ou endocóriorion, relativamente espessa, assegura-lhe uma excelente protecção mecânica. Aplicada contra a sua face interna existe uma membrana pelúcida que envolve o embrião. Algumas formações exocoriônicas particulares e características de gêneros e espécies (flutuadores nos Anopheles sp., por exemplo asseguram aos ovos a sua flutuabilidade e a posição relativa, face à superfície da água.

Após deposição, o ovo possui um tom bastante claro que vai passando para tons acinzentados até negros, por oxidação de certos compostos químicos da teca, em contacto com a água ou o ar atmosférico.

3.2 - LARVA

A larva possui três regiões perfeitamente distintas:

3.2.1 - Cabeça - composta de uma placa quitinizada ímpar e dorsal, chamada fronto-clípeus, onde se situa o chamado botão de eclosão de forma acerada e quitinizada, existente somente nas larvas do 1º estado. De um e outro lado do fronto-clípeus, localizam-se os olhos suportados por um par de placas epicranianas. Cada um destes olhos originará o correspondente olho composto do futuro imago. Anteriormente sobre cada placa epicraniana insere-se uma antena. Estas placas alojam na face ventral algumas peças bucais: lábio, maxilas e mandíbulas. O labro está anexado ao pré-clípeus que é ímpar e se encontra soldado à parte anterior do fronto-clípeus.

3.2.2 - Torax - apresenta-se como uma massa globosa ligeiramente achatada dorso ventralmente. Não são visíveis traços de segmentação. A única indicação exterior desta segmentação é a disposição de certos grupos de sedas, pro, meso e metatorácicas.

3.2.3. - Abdómen - é composto por nove segmentos, sendo o oitavo, distal, de grande interesse taxonómico. A ele estão anexos: de um lado, o segmento anal projectado ventralmente e, por outro lado, o sifão respiratório projectado dorsalmente. A sua ornamentação quetotáxica (número

de sedas e sua disposição relativa) permitem, por vezes, diferenciar espécies.

3.3 - PUPA OU NINFA

O seu corpo é composto por duas partes: um cefalotórax globuloso encimado por duas trompetas respiratórias e por um abdómen segmentado na extremidade apical, no qual se inserem duas paletas natatórias que permitem à ninfa efectuar deslocamentos rápidos.

3.4 - ADULTO

O corpo de um mosquito adulto compõe-se de três partes: cabeça, tórax e abdómen.

3.4.1 - Cabeça - na sua base é limitada anteriormente pelo occiput, pelo vértex antero dorsal e, lateralmente, pelas têmporas. Os olhos ocupam a quase totalidade da parte antero-lateral, sendo bastante chanfrados à frente de modo a permitirem a inserção das antenas. O clipeus, situado numa posição média, limita a cabeça na sua parte anterior. Os palpos maxilares, em número par e a tromba ímpar, composta por um conjunto de peças modificadas, inserem-se no clipeus.

3.4.2 - Tórax - caracteriza-se pela predominância do mesotórax cuja parte dorsal, ou mesonoto, ocupa a quase totalidade do campo torácico. Cada uma das três regiões torácicas aloja um par de patas. As asas estão inseridas no mesotórax e os balanceiros no metatórax.

3.4.3 - Abdómen - é composto por dez segmentos, sendo os oito primeiros indiferenciados e os dois apicais modificados para as funções sexuais. As peças genitais masculinas (hipopígio, genitália ou terminália), apresentam bastantes detalhes anatómicos e revestem-se de grande interesse prático para a sistemática. A coloração das escamas e a sua disposição nos tergitos abdominais permitem, frequentemente, a determinação das espécies.

4 - FISILOGIA, ECOLOGIA E ETOLOGIA GERAL DOS CULICÍDEOS

Os mosquitos passam por quatro estados sucessivos de desenvolvimento, nomeadamente, ovo, larva, pupa (ou ninfa) e adulto (ou imago). A estes estados correspondem duas fases: aquática (ovo, larva e pupa) e aérea (adultos).

4.1 - Ciclo evolutivo

De acordo com as espécies, os representantes da família Culicidae depositam os ovos directamente sobre a água ou sobre um substrato húmido que posteriormente seja submetido à submersão. No primeiro caso, o ovo eclode geralmente dois ou três dias depois da postura; no segundo caso, a colocação do substrato em contacto com a água será uma das condições necessárias para que a eclosão se dê.

Como atrás referimos, os métodos de deposição da postura mostram-se variados. Assim, as fêmeas dos anofelíneos, por exemplo, de Anopheles maculipennis e de Anopheles claviger, depositam os ovos isoladamente (um a um), entre a vegetação, geralmente em águas de fraca corrente ou paradas; enquanto que nos culicíneos, por exemplo, nos géneros Culex, Coquillettidia e Culiseta, os ovos são colocados em diferentes colecções de água, num conjunto agrupado que forma uma massa, a que por vezes se atribui o nome de "jangada". Por outro lado, fêmeas de espécies pertencentes ao género Aedes, fazem a postura geralmente no solo, em zonas facilmente atingíveis pelas águas das chuvas ou provenientes das marés (espécies halófilas). Estes ovos embrionados possuem a capacidade de resistir e serem viáveis durante longos períodos (meses e até mais do que um ano) de seca. Após contacto com a água, dão lugar às larvas passado algum tempo, que é variável, em função dos diferentes factores ecológicos do meio.

A larva, invariavelmente aquática, sofre quatro mudas, sendo a última que origina a pupa, também ela aquática. A emergência do adulto ocorre à superfície da água. O acasalamento efectua-se perto dos locais de criação, nos primeiros dias seguintes à eclosão.

4.2 - Ovogénese

O ovo desenvolve-se no seio dos ovários, cujo número, por ovário, varia consideravelmente em função da espécie e do tamanho da fêmea. Colless e Chellapah (1960) contaram de 50 a 150 ovários em Aedes (S.) aegypti, podendo este número ascender a 500, em certas espécies de Anopheles (Clements, 1963). O germário, situado na extremidade apical do tubo folicular, produz os folículos uns a seguir aos outros. Quando se inicia a actividade gonotrófica existem dois folículos no tubo folicular e os seguintes formam-se logo que o folículo distal atinge a maturação.

A cada ciclo gonotrófico corresponde o desenvolvimento de um deles. O desenvolvimento faz-se em duas fases: evolução folicular até um estado de repouso, Geralmente, uma reduzida quantidade de vitelo nutritivo envolve o núcleo do ovócito antes da paragem do desenvolvimento, depois da estimulação ovárica, controlada por hormonas gonadotrópicas, segregadas pelos corpora allata, após a ingestão de sangue, nas espécies anautogênicas. Esta estimulação só intervém após uma paragem prolongada, nas fêmeas em diapausa, e desencadeia uma vitelogénese acrescida. O epitélio folicular segrega então o córion, enquanto que a membrana pelúcida interna é de origem vitelina (Nath,1924). A duração desta fase de maturação é influenciada pela temperatura que actua sobre a velocidade de digestão do sangue e, em certos casos, pela acção de uma segunda refeição sanguínea. Christophers (1911) propôs uma classificação dos estados de desenvolvimento ovárico em que distingue cinco sucessivos, com subdivisões. Logo que o ovo atinge a maturação, o epitélio folicular rasga-se. A ovulação é sincrónica nos dois ovários. A inseminação tem lugar no acto de postura, assim que o orifício micropilar do ovo se encontra na proximidade do canal das espermatecas, situado na câmara genital (Polovodova,1947). Nos mosquitos, nunca se observou a partenogénese, sendo frequente a poliespermia.

4.3 - Embriogénese

O desenvolvimento embrionário tem sido estudado por numerosos investigadores. Idris (1960) e Oelhafen (1961) com os seus trabalhos de embriologia experimental demonstraram a presença de um centro activador e de um outro diferenciador, no ovo de Culex (C.) pipiens (Linnaeus,1758).

De Coursey e Webster (1952) descorando o córion dos ovos de Aedes (O.) sollicitans (Walker,1856), com a utilização de produtos químicos, observaram e estudaram pela primeira vez, as principais etapas da embriogénese natural em Aedes sp. Na ocasião da postura apenas se observa no ovo uma massa deutoplásmica. Após 43 horas de incubação a uma temperatura variada (não definida pelos autores) a segmentação do abdómen torna-se visível e a membrana pelúcida encontra-se inteiramente formada. A diferenciação das três partes do corpo observa-se ao terceiro dia, pós-postura. A partir do quinto dia, já se distinguem as manchas oculares e o botão cefálico de eclosão. O ovo poderá eclodir ao sexto dia de vida.

Vários autores, entre os quais destacamos Telfor (1957), Judson et al.(1966) e Trpis et al.(1973), puzeram em evidência a relação existen-

te entre a velocidade de desenvolvimento embrionário e a temperatura.

4.4 - Eclosão

Após ter terminado a embriogénese, pode dar-se a eclosão. A embriogénese não é bloqueada se os ovos ficarem submersos na ocasião da postura; Trpis et al. (1973), constataram que o desenvolvimento do embrião de Aedes (γ.) sticticus (Meigen, 1838), prosseguia normalmente na água a 20 °C e a 30°C.

No estado de ovo embrionado, todas as espécies dos géneros Aedes, Psorophora e Haemagogus são capazes de suspender o seu ciclo evolutivo durante vários meses. Diapausa e quiescência ovular permitem a estas espécies hibernar e sobreviverem na ausência de água, podendo assim ocupar biótopos temporariamente inundados.

Os estímulos que desencadeiam normalmente a eclosão dos ovos não actuarão sobre aqueles que se encontram em diapausa. Estes, terão de ser expostos a condições climáticas favoráveis, antes de poderem eclodir. A diapausa pode ser facultativa, isto é, induzida por condições do meio e, neste caso, espontânea, geneticamente induzida e parecendo independente das condições externas, observa-se geralmente nas espécies univoltinas (Beckel, 1958, Horsfall et al. 1958). O ovo quiescente ou condicionado convenientemente, após diapausa, eclode sob a influência de certos estímulos.

Na natureza, a diminuição da concentração de oxigénio na água constitui, por si só, o estímulo de eclosão mais eficaz (Gjullin et al. 1941, Ganden, 1951). O estímulo vai provocar um movimento no embrião que, com o auxílio do botão de eclosão, rompe a teca. O polo cefálico do ovo destaca-se e a larva liberta-se rapidamente do "envólucro".

4.5 - Estado larvo-ninfal

Habitat larvar - as larvas dos culicídeos encontram-se em todas as colecções de água susceptíveis de albergar posturas ou submergir substratos em que as fêmeas hajam depositado os ovos. Bates (1949), distingue quatro tipos principais de habitats:

A - águas paradas de carácter permanente ou semi-permanente

A₁ - águas doces - paúis e zonas pantanosas no bordo de lagos, pequenos charcos ou grandes extensões alagadiças, colecções de água alimentadas por uma fonte, fauna culicideológica associada a certas plantas, turfeiras, pântanos em florestas

de exposição solar franca e outros.

A₂ - águas salôbras - salinas, valas de irrigação de salinas, paúis em zonas descobertas, paúis em zonas abrigadas, pequenas colecções de água salôbra, em biótopos variados.

B - águas correntes

cursos de água a descoberto (rios, ribeiras, riachos, córregos de montanha com vegetação e cursos de água em zonas de floresta.

C - águas temporárias

colecções de água de exposição solar total ou não, com reduzidas dimensões.

D - habitats reduzidos

buracos nas rochas da zona supra litoral, buracos de árvore, buracos no solo, buracos de caranguejo, associações especiais a certas plantas.

Rioux (1958), elaborou uma classificação ecológica dos biótopos larvares existentes no litoral mediterrânico francês em que considera, fundamentalmente, dois agrupamentos:

- estenótopo (ou exíguo)
- eurítopo (ou extenso)

Cada um destes compreendendo criadouros de carácter permanente e temporário. Aquelles que se encontram em locais abrigados à sombra são designados por ciáfilos, enquanto que os localizados em zonas descobertas ao sol são os hliófilos. Tanto uns como outros podem situar-se em facies doce (dulçaquícola) ou salgado (halobiótico). O autor chama a atenção para a importante questão da especificidade dos locais de postura, afirmando: " se conservarmos a ideia do tropismo imaginal da postura, evitaremos negligenciar o papel primordial das fêmeas no estudo dos biótopos larvares óptimos... com efeito, salvo raras excepções, as larvas dos mosquitos são dotadas de uma grande plasticidade ecológica e é quase sempre a 'escolha das fêmeas' que condiciona este ou aquele tipo particular de criadouro".

Esta plasticidade ecológica é, frequentemente, assinalada na literatura. Mac Gregor (1921) e Keilin (1932) encontraram larvas de Anopheles (A.) plumbeus (Stephens, 1828) e Aedes (F.) geniculatus (Olivier, 1791) em águas com pH variando de 4,4 a 9,3; Kurihara (1959) revelou que larvas de Aedes (S.) flavopictus (Yamada, 1921), podem desenvolver-se facilmente em laboratório, em meio com pH compreendido entre 2 e 9. A tolerância aos cloretos é também importante. Assim, Aedes (O.) mariaae (Sergent e Sergent, 1903) espécie halófila que coloniza os buracos rochosos das falésias litorais e que suporta teores em NaCl superiores a 200 g/litro, pode ser criado em água doce, no laboratório, sucedendo o contrário, por exemplo, com Anopheles gambiae melas (Ribbands, 1949).

4.6 - Desenvolvimento larvar

A velocidade de desenvolvimento larvar é influenciada por numerosos factores do meio. Em cada biótopo os factores térmicos e nutricionais parecem ser determinantes.

Huffaker (1944) estudando Anopheles (A.) quadrimaculatus (Say, 1824) constatou um aumento de velocidade de evolução larvo-ninfal em função do aumento de temperatura. Bar-Zeev (1957), demonstrou que a nutrição não tem um efeito determinante sobre a diminuição da velocidade de evolução. Este mesmo autor em 1958, determinou, em função da temperatura, o tempo necessário às larvas para passarem de um estado a outro, afirmando que cada estado larvar tem uma duração específica para uma temperatura dada: o 4º estado é o mais longo (33% do tempo total) o 2º estado é o mais curto (13,9%) ocupando o estado ninfal 20,6%. Embora a elevação da temperatura inicie uma aceleração da evolução, esta relação não se observa se as larvas estiverem em diapausa incondicional ou natural. Não podemos ignorar que os mosquitos podem suspender o seu ciclo evolutivo no estado de ovo fecundado e embrionado. Várias espécies têm a faculdade de entrar em diapausa no estado larvar sob influenciado fotoperíodo recebido, quer pelas larvas, quer pelos adultos fêmeas que originaram as larvas. Estas considerações mostram a variabilidade das características inerentes a cada espécie de culicídeo.

4.7 - Nutrição e respiração larvar

As necessidades nutritivas das larvas assumem uma maior importância à medida que a sua actividade metabólica aumente, desencadeando

uma evolução mais rápida. As larvas hibernantes ou as mantidas em estado de quiescência, por abaixamento de temperatura, não se alimentam.

O exame do conteúdo intestinal revela a presença de microplancton: algas, rotíferos, protozoários, bactérias e esporos de fungos. Igualmente se encontra matéria orgânica, sob a forma de partículas coloidais. Há casos de larvas predadores de outros insectos, sendo também frequente o canibalismo em algumas espécies. A pupa ou ninfa não se alimenta. Nas larvas, a respiração é essencialmente aérea, sendo o ar captado à superfície através dos orifícios espiraculares. Certas espécies possuem uma adaptação especial em que a respiração cutânea permite à larva ficar quase permanentemente debaixo de água. Outras espécies captam o ar nos espaços aeríferos dos tecidos vegetais imersos, como por exemplo, Ficalbia sp., Aedeomyia sp. e Coquillettidia sp., cujo sifão é modificado para esta função.

4.8 - Adultos

A eclosão dos adultos faz-se à superfície da água. A cutícula ninfal abre-se numa linha médio-dorsal do cefalotórax e o adulto liberta-se rapidamente da exúvia.

4.8.1 - Comportamento sexual

A inseminação das fêmeas ocorre nos primeiros dias a seguir à emergência. A cópula realiza-se quase sempre perto do local de criação.

De acordo com as espécies, distinguem-se fundamentalmente dois tipos de comportamento sexual nos mosquitos:

- a) - uma espécie designa-se por esténogama (Roubaud, 1933) desde que a cópula se possa realizar num espaço reduzido (gaiola de criação, tubo de ensaio) ou
- b) - eurígama se a cópula só ocorre através de vôo nupcial, em meio natural.

Os machos formam um enxame ao qual as fêmeas são atraídas e fecundadas. Vandehey e Craig (1958) demonstraram, com indivíduos marcados geneticamente, que vários machos de Aedes aegypti podem fertilizar uma só fêmea. Por outro lado, Kitzmiller e Laven (1959) revelaram que o mesmo não se passa com Culex (C.) fatigans (Wiedemann, 1828) e Culex (C.) molestus Forskal, 1775. Experiências laboratoriais permitem verificar que um macho pode inseminar várias fêmeas. No nosso laboratório, utilizando Aedes (O.) detritus (Haliday, 1833), obtivemos inseminação de quatro fêmeas com um só macho.

4.8.2 - Comportamento trófico

Sómente a fêmea é hematófaga e a sua apetência ou preferência para os diferentes grupos de vertebrados é função do género ou da espécie a que o insecto pertence. As fêmeas do subgénero Neoculex são tipicamente batracófilas, recusando alimentar-se em vertebrados de sangue quente. As espécies que picam o Homem (antropofílicas) são geralmente antro-po-zoófilas. É este comportamento que confere aos mosquitos o seu papel vectorial na propagação de diversas doenças.

Quanto aos hábitos alimentares distinguem-se espécies exofágicas ou endofágicas, consoante se alimentem no exterior ou no interior das habitações. À margem do grande número de espécies que picam os vertebrados, encontram-se os mosquitos que se alimentam em invertebrados aos quais absorvem a hemolinfa.

4.8.3 - Ritmo sazonal-hibernação

Nas regiões árticas e temperadas em que as variações do fotoperíodo e térmicas são muito acentuadas durante o ano, os mosquitos suspendem a sua actividade na estação fria, tanto no estado de ovo como no de larva ou mesmo de adulto. As espécies cujo ciclo evolutivo apresenta uma fase de "paragem" são chamadas heterodinâmicas. Inversamente, classificam-se como homodinâmicas aquelas que se mantêm activas de modo contínuo ou subcontínuo. É o caso do urbano Culex molestus do complexo pipiens, cujas larvas colonizam certos criadouros domésticos artificialmente aquecidos, no Inverno.

Nas regiões tropicais e equatoriais a interrupção relativa do ciclo tem lugar na estação seca. No decurso da sua actividade, as fêmeas têm, geralmente, vários ciclos gonadotróficos. As espécies multivoltinas são frequentes, encontrando-se entre aquelas que hibernam no estado adulto. No entanto, são de assinalar algumas excepções como Culiseta (C.) impatiens (Walker, 1848), univoltina e cujos adultos, saídos da primeira geração, entram espontâneamente em diapausa e vivem mais de um ano (Frohne, 1953).

O número de ovos postos em meio natural é difícil de estabelecer. No entanto, sabe-se que existem variações importantes de fecundidade das fêmeas em cativeiro. A partir do primeiro ciclo gonotrófico o adulto pode pôr de 60 a 500 ovos, segundo a espécie.

4.8.4 - Os ciclos biológicos

Estudos recentes sobre Helminthas parasitas de peixes permitiram a distinção de várias espécies gêmeas através da análise do ciclo de um destes parasitas. Bartoli (1974) distinguiu dois grupos de espécies gêmeas de Tremátodos parasitas de peixes: Gymnophallus nereicola, G. fossarum e G. rebecqui por um lado e Gymnophallus choledocus e Parvatrema sp.2, por outro. Em ambos os casos, os vermes adultos são morfológicamente semelhantes, mas o seu ciclo biológico difere substancialmente.

Na actualidade, com os recursos às novas técnicas de observação e de análise, são descritas frequentemente espécies e géneros em quase todos os grupos animais e em certos grupos do reino vegetal. Nos insectos, devido à sua vasta representatividade no reino Animal e à sua reconhecida importância médica e veterinária e, essencialmente, agrícola e florestal, os estudos sobre espécies gêmeas estão, de certo modo, mais desenvolvidos e são mais numerosos.

De entre os insectos, os Dípteros são certamente os melhor estudados. Por exemplo, os Drosophilidae têm sido bastante trabalhados por numerosos geneticistas, Dobzhansky (1961), Teissier (1954), que utilizaram uma gama assinalável de técnicas: morfologia, cruzamentos, sequência dos cromossomas politenos das glândulas salivares, estudos bioquímicos, ecológicos e etológicos. Através dessa fecunda investigação é possível referir alguns exemplos de complexos de espécies, nos Drosophilidae:

- Drosophila pseudoobscura e D. persimilis
- Drosophila melanogaster (complexo constituído por seis espécies)
- Zapronius tuberculatus (complexo constituído por três espécies).

Na perspectiva que mais nos interessa que é, fundamentalmente, a abordagem destes problemas, relativamente a Aedes detritus, faremos seguidamente breves referências sobre aspectos da taxonomia, em alguns complexos nos dípteros hematófagos, com interesse na epidemiologia.

PARTE II

SISTEMÁTICA DOS MOSQUITOS

Neste capítulo trataremos de modo simples algumas ideias e conceitos sobre a evolução da ciência classificatória, dando particular ênfase a um tipo de sistemática que se apoia sobretudo em dados morfológicos, ecológicos, fisiológicos, bioquímicos, cariológicos, etológicos e outros que serviram de base para a elaboração do presente trabalho.

A ciência da classificação dos organismos tem-se desenvolvido de modo notável com o recurso a novos e poderosos métodos de análise e a tecnologias avançadas que as modernas sociedades têm colocado à disposição do Homem. Assim, desde os processos tipicamente morfológicos até à investigação que recorre a modernos computadores (taxonomia numérica, por exemplo) um longo e rico caminho foi percorrido. Classificar é uma exigência da mente, em parte inata, em parte (considerável) resultante da educação (Sacarrão, 1978). Desde Platão e Aristóteles, passando por Lineu, Darwin, Huxley, Simpsoni, Cronquist, Mayr, até aos mais recentes taxonomistas que se debruçam sobre os diferentes grupos vegetais e animais, foram reconhecidas nos últimos 218 anos de trabalho taxonómico apenas cerca de 15% das cerca de 10 milhões de espécies previsíveis na actualidade (dados segundo Raven *et al.* (1971) in: Sacarrão, *op.cit.*). Segundo Mayr *et al.* (1953) admitindo a existência de 3 milhões de espécies de insectos, tendo cada um em média 5 estados morfológicos distintos de desenvolvimento, tornar-se-á necessário descrever 15 milhões de formas para se poderem caracterizar todas as espécies de insectos actuais. Embora este exemplo seja tomado dos insectos que constituem a maior parcela de seres do reino Animal, muitas espécies de outros grupos animais e vegetais permanecerão ainda por descrever enquanto não nos pudermos socorrer de métodos inovadores de recolha, análise, tratamento e arquivo de dados. Deste modo, para além das tecnologias em si, estamos de acordo com Sacarrão (1980) que afirma que é indispensável proceder ao recrutamento e treino de numerosos taxonomistas e transformar a taxonomia num assunto projectado para fins de aplicação prática, onde ainda muito existe a fazer.

Não tem sido pacífica a aceitação de conceitos e termos para os designar no domínio da sistemática. Assim, Cronquist (1964) aborda o termo da velha sistemática em oposição a Mayr (1964) que defende a nova sistemática. Para Cronquist (*op.cit.*) não há uma delimitação clara entre

a velha e a nova sistemática. Pergunta este autor onde acaba a velha e começa a nova sistemática? Já Lineu, no século XVIII, introduziu uma "nova sistemática" relativamente à que então era utilizada. No século XIX, o sistema natural de Candolle também pode ser considerado um "novo sistema taxonómico". Darwin, reconhecendo que o sistema natural é, na sua essência, um sistema evolutivo, assinala também uma "nova taxonomia". Após 1940, surge uma outra "nova sistemática" assim designada pela introdução de técnicas e conceitos de citogenética na taxonomia, associada a uma grande ênfase dada aos conceitos de nível específico e infraespecífico. Foi designada por biosistemática e tudo o que a precedeu, será a "sistemática clássica".

Porém, parece não existir incompatibilidade entre "biosistemática" e "sistemática clássica"; uma é o resultado ou consequência da outra. A introdução dos conceitos evolutivos em taxonomia, embora pareça completa e harmoniosa, mostra-se imperfeita. Os taxonomistas estão, geralmente, de acordo em que um sistema natural, deve reflectir relações evolutivas, isto é, que um grupo natural é, de per si, monofilético, em contraste com os grupos polifiléticos que seriam artificiais e, portanto, rejeitados. Porém, cada vez maior número de grupos que foram considerados naturais não se revelam estritamente monofiléticos. Eles podem ser naturais, no sentido em que todos os subgrupos incluídos, são estreitamente ligados evolutivamente e têm várias características em comum, mas não são monofiléticas, no sentido de terem descendido de uma espécie originária de um dado grupo que reúna todos os caracteres essenciais desse grupo. Os mamíferos são um exemplo, com bons documentos fósseis, de um grupo taxonómico natural que é claramente não monofilético, no sentido restrito do termo. Em 1928, Ferris, in: "Principles of Systematic Entomology" afirma que o sistemata pode e deve empregar os meios de avaliação à sua disposição no sentido de atingir um melhor conhecimento da biologia, quer esses meios recorram à morfologia, anatomia, fisiologia, genética ou mesmos estudos bioquímicos. Para Mayr (op.cit.) não existe conflito entre a nova sistemática e as actividades da "taxonomia clássica". Seria uma tragédia, afirma este autor, se os taxonomistas abandonassem a "taxonomia clássica" em favor da "nova sistemática". A taxonomia clássica, continua a ser a base de todas as classificações. A necessidade da continuação de trabalhos de qualidade em taxonomia clássica é tanto maior se pensarmos em grupos nos quais 90 ou 75% ou mesmo 40 ou 25% de todas as espécies, não foram ainda descritas. Os caracteres e as técnicas introduzidas na taxonomia pelos taxonomistas modernos, complementam, mas não substi-

tuem, os caracteres usados pelos "taxonomistas clássicos".

Gisin (1967), aponta para uma crise da sistemática, fazendo apelo aos sistematas para que se apoiem em dados originários de novas análises e sínteses nos métodos taxonômicos, com a finalidade de nos libertarmos da grave crise com que a sistemática se debate. Às suas teses, apelidou-as de "sistemática ideal" que se baseia, fundamentalmente, em pesquisas genealógicas (elaboração de árvores genealógicas) traduzidas em quanta evolutivos.

Quanto ao grande número de definições de espécie Mayr(1963) e Mayr (1974), afirma que é possível restringi-lo a três conceitos: tipo-lógico, nominalista e biológico. Modernamente prevalece o conceito biológico de espécie (CBE): "as espécies são grupos de populações naturais capazes de intercruzamento e que são reprodutivamente isoladas de outros grupos semelhantes"; assim, a espécie é, simultaneamente, uma comunidade reprodutora, uma unidade ecológica e uma unidade genética. Sendo o nosso estudo sobre Aedes detritus, uma aplicação do conceito sobre espécies gêmeas ("sibling" para os autores anglo-saxões; "jumelles" para os franceses), definiremos este termo, criado por Cuenot (1911) como: "grupo de duas ou mais espécies quase idênticas do ponto de vista morfológico, que deverão ter sido separadas por uma mutação de carácter fisiológico que desencadeou uma diferença de habitat ou de época de postura e, em qualquer dos casos, a separação sexual". Segundo Mayr (1974), as espécies gêmeas são populações naturais, morfológicamente semelhantes ou idênticas e manifestando um isolamento reprodutor. A sua importância em biologia é tripla: em primeiro lugar, elas constituem a prova da validade do conceito biológico de espécie em oposição ao conceito morfológico; em segundo lugar, a sua importância prática é enorme em biologia aplicada para o controlo de pragas agrícolas e em entomologia médica e, finalmente, são de importância histórica para o estudo da especiação, por serem consideradas por alguns autores como a prova de um tipo distinto de especiação. As espécies gêmeas aparentemente semelhantes do ponto de vista morfológico, tornam-se distinguíveis através de diversas técnicas de observação e de análise. Por vezes, a descoberta de um par ou de um grupo de espécies gêmeas que permite a separação da espécie nominal num complexo de espécies é precedida de observações biológicas ou epidemiológicas. É o caso de certas espécies de mosquitos do gén. Anopheles.

A sua presença em dadas regiões em que não se observa a transmissão do paludismo conduziu os investigadores a estudos mais profundos sobre estes insectos. Como consequência, a espécie Anopheles gambiae Giles, 1902 (sensu stricto), foi desmembrada num complexo de espécies gêmeas, só diferenciáveis pelo seu papel como vectoras. Actualmente, como recurso a métodos biométricos, o complexo do Anopheles gambiae, compreende sete espécies (Ribeiro, 1981).

Inicialmente, as espécies gêmeas surgem-nos como morfologicamente idênticas ou muito próximas. Porém, e, geralmente, à medida que os estudos sobre elas se desenvolvem vão-se detectando diferenças morfológicas que se confirmam por divergências ecológicas, fisiológicas e etológicas. Assim sendo, existem à partida critérios que permitem distingui-las, tais como:

- 1 - Crítérios morfológicos e anatómicos
 - 1.1 - Morfologia geral
 - 1.2 - Morfologia das genitálias
 - 1.3 - Morfologia dos estados prè-imaginais
- 2 - Crítérios biométricos
- 3 - Crítérios cariológicos
- 4 - Crítérios mixiológicos
- 5 - Crítérios bioquímicos
- 6 - Crítérios ecológicos

Passaremos a abordar, sucintamente, cada um destes critérios.

1 - Crítérios morfológicos e anatómicos

1.1 - Morfologia geral - a cor e a disposição das diferentes colorações nos Lepidópteros têm um papel importante no seu comportamento sexual, registando-se, frequentemente, casos de coloração adaptativa. Como exemplo referiremos o melanismo industrial exibido pelo Lepidóptero Biston betularia, vivendo em algumas espécies de bétulas europeias. No género Drosophila, as manchas alares e a morfologia dos tarsos são igualmente utilizados na distinção de espécies gêmeas. A observação dos caracteres morfológicos revela-os como variáveis. Nestas circunstâncias, é necessário saber se esta variabilidade é devida a um verdadeiro polimorfismo, isto é, aquilo que se observa geralmente numa população com vasta repartição geográfica, ou se tais diferenças são o produto de desigual estrutura genética provocada pelo isolamento geográfico, ou ainda, se serão

devidas a diferenças específicas. No gênero Anopheles, foram analisados com êxito muitos complexos de espécies, com base em estudos da morfologia clássica, como é o caso de Anopheles funestus, A. hyrcanus, A. maculipennis, A. umbrosus. No entanto, os caracteres morfológicos nem sempre são utilizáveis de per si, como por exemplo, no complexo do Anopheles gambiae em que são conhecidas sete formas taxonomicamente distintas adentro do complexo gambiae Giles, recorrendo à utilização de diversos métodos (Ribeiro, 1981). A identificação dos estados imaturos (ovos, larvas e pupas) e dos adultos de ambos os sexos é possível em muitas espécies. Porém, estes métodos nem sempre são suficientes. Por exemplo, no caso de espécies gêmeas simpátricas, tais critérios não podem ser aplicados com elevado grau de precisão a não ser em limites geográficos e condições ecológicas de certo modo estritas.

Como já referimos a côr, a distribuição e o arranjo ou a estrutura das escamas constituem os critérios de identificação tradicionais mais importantes. Na pesquisa de caracteres morfológicos com a finalidade de separar espécies gêmeas utilizam-se igualmente critérios pouco comuns, como por exemplo, a localização de certos quimiorreceptores e mecanorreceptores, situados particularmente nas antenas e nos palpos maxilares. A variação do número, a distribuição e o tamanho das sensilla antenares e/ou maxilares, são utilizados para diagnose de certas espécies de dípteros (ceratopogonídeos e flebotomíneos), em particular para distinguir as fêmeas, uma vez que os machos são susceptíveis de separação através da morfologia da genitália. No presente trabalho utilizamos este método (número de sensilla coelocônica) para distinguir as fêmeas de Aedes detritus, espécies A e B, com bons resultados. Em Anopheles maculipennis, o estabelecimento de índices espiraculares, estudados para três formas do complexo, parece ser um bom auxiliar para discriminar estas espécies.

1.2 - Morfologia das genitálias - Os primeiros estudos sobre o valor taxonômico das genitálias assinalavam uma estreita coadaptação entre as peças masculinas ^{e femininas} durante a cópula, comparável a um sistema chave-fechadura, sendo qualquer modificação de uma destas "peças" responsável pela impossibilidade mecânica de cruzamento. Hsu (1949), mostrou o interesse deste "sistema" nos Drosophilidae. A maior parte das espécies gêmeas em Lepidópteros, foi descoberta graças a diferenças na armadura genital dos machos. Em algumas espécies do grupo Drosophila melanogaster:

As antenas A e B existem pequenas mas nas significativas estatisticamente

Drosophila yakuba
Drosophila teisseri
Drosophila erecta
Drosophila mauritania } detectou-se a sua existência através da observação da genitália masculina.

Drosophila melanogaster (Meigen 1830); D. simulans (Stutevan 1919); D. yakuba (Burba, 1954); D. teisseri (Tsacas, 1971); D. erecta (Tsacas e Lachaise 1974) e D. mauritania (Tsacas e David 1974), detectou-se a existência das quatro últimas espécies referidas, através da observação das genitálias masculinas. Controlos genéticos subsequentes comprovaram a validade do critério utilizado, revelando ainda que D. mauritania e D. simulans constituem um par de espécies gêmeas. O estudo do subgrupo D. melanogaster (formado por dois complexos) revela que o grau de diferenciação das genitálias destas espécies é proporcional ao seu isolamento reprodutor. O estudo dos Drosophilídeos permitiu ainda a detecção de um outro par de espécies gêmeas: Drosophila pseudoobscura (Frolova, 1929) e D. persimilis (Dobzhansky e Epling, 1944). Consideradas por Dobzhansky e Epling em 1944 como boas espécies, não apresentando qualquer carácter distintivo, foi-lhes entretanto reconhecida diferença morfológica assinalável, através do estudo da genitália masculina (Rizki, 1951).

1.3 - Morfologia dos estados pré-imaginais - Podem fornecer preciosas informações sobre a delimitação específica. Por exemplo, nas espécies do complexo Zaprionus tuberculatus (Drosophilidae) (Tsacas e David, 1975), foi a análise dos ovos que permitiu a sua separação. O mesmo se pode afirmar quanto ao complexo do Anopheles maculipennis s.l., onde a morfologia e a ornamentação do ovo é de grande importância taxonómica (a nível específico). Usualmente utilizam-se como diagnosticantes os caracteres ornamentação do córion, dimensões e configuração dos flutuadores e relação comprimento total do ovo/comprimento dos flutuadores.

Relativamente às larvas e pupas a sua morfologia é importante e serve como complemento aos caracteres taxonómicos dos estados adultos. Algumas características importantes são reveladas pelo exame das sedas (quetotaxia) e pela observação das mudas (aspecto dos tergitos abdominais, distribuição dos pigmentos), permitindo estabelecer diferenças extremamente significativas.

2 - Critérios biométricos

São, em muitos casos, de natureza estatística e aplicam-se sobretudo ao estudo de espécies simpátricas. As suas técnicas podem permitir a detecção de híbridos que apresentam, muitas vezes, valores médios. A partir de numerosos caracteres morfológicos podem aplicar-se os critérios

Permite, por vezes, detectar híbridos.

biométricos. Por exemplo, nos Lepidópteros, Guillaumin (1971) utilizou as genitálias medindo vários índices: índice da valva, do stilo e do desrugamento da placa subgenital. Nos roedores, a relação comprimento da cauda/comprimento do corpo, constitui um bom critério de determinação específica.

3 - Critérios cariológicos - Fundamentalmente, utilizam-se dois métodos:

- descrição dos cariotipos metafásicos
- sequência das bandas de ADN dos cromossomas politenos (banding-pattern).

Os dípteros têm constituído um bom material para estes estudos. Nos Drosophilidae a descrição dos cariótipos metafásicos revela-se de interesse secundário na separação de duas espécies; em contrapartida, o estudo dos cromossomas politenos das glândulas salivares das larvas facilitam análises bastante úteis. A sequência das bandas de ADN permitem separar espécies morfológicamente muito próximas. Simultaneamente, estes trabalhos têm conduzido à formação de interessantes hipóteses filogenéticas.

Tal como os drosofilídeos, os mosquitos particularmente os anofelíneos, possuem cromossomas politenos facilmente observáveis, nas glândulas salivares das larvas do 4º estado e nas células ováricas das fêmeas. O arranjo das bandas de ADN destes cromossomas fornece preciosas informações sobre as variações inter e intra específicas. A observação destes cromossomas foi realizada por Coluzzi (1966) no complexo do Anopheles gambiae, permitindo a distinção de espécies gêmeas em complexos e ainda inferências de ordem filogenética. Os trabalhos de Frizzi (1949, 1953, 1958) e Kitzmiller et al. (1967), mostram que a maior parte das espécies do complexo A. maculipennis, são caracterizadas por uma sequência diferente das bandas dos cromossomas politenos. Nas espécies Paleárticas, uma inversão fixa no cromossoma três, distingue Anopheles maculipennis, A. melanoon e A. messeae de Anopheles labranchiae e de A. atroparvus, ao passo que uma inversão ocorrendo em outra porção do mesmo cromossoma, caracteriza Anopheles sacharovi. Anopheles messeae é separável de A. maculipennis e de A. melanoon pela observação de um rearranjo importante do cromossoma X.

Embora se revelem zonas assinápticas e pequenas heterozigotias em alguns cruzamentos, Anopheles atroparvus e A. labranchiae são aparentemente homosequenciais. O estudo do cariótipo permitiu a revelação de uma

nova espécie no seio deste complexo: Anopheles becklemishevi. Quanto às espécies Neárticas do complexo maculipennis, elas apresentam grandes analogias cromossômicas podendo, no entanto, ser distinguíveis facilmente pela sequência das bandas de ADN dos cromossomas politenos. Até ao presente, os trabalhos sobre morfologia (fundamentalmente do ovo), citogenética e mixiológicos mostram que o complexo do Anopheles maculipennis é composto por sete espécies gêmeas na região Paleártica. Não se detectam heterozigóticos naturais. As espécies Neárticas são mais diferenciadas e mais afastadas filogeneticamente do que as Paleárticas.

4 - Critérios mixiológicos

São os critérios biológicos (fisiológicos) do isolamento reprodutor e constituem uma emanção directa do conceito biológico de espécie, Niculescu (1978). Permitem a separação de duas espécies gêmeas e, em alguns casos, constituem uma das causas da sua descoberta através da tentativa infrutífera de cruzamento entre indivíduos, supostamente pertencentes à mesma espécie. Algumas experiências de hibridização tornam-se difíceis dado o carácter eurigâmico das espécies. Para contornar o problema utiliza-se o método da cópula forçada. Cruzamentos experimentais obtidos por este processo permitem detectar a barreira entre duas espécies: isolamento pré ou pós copulatório, esterilidade dos híbridos.

Estas experiências apresentam contudo limitações: não permitem distinguir subespécies e são de execução complexa e demorada.

5 - Critérios bioquímicos

5.1 - Generalidades

Têm-se revelado de grande interesse como auxiliares de diagnóstico de que o sistemata se pode servir, tanto nos animais como nas plantas. O estudo electroforético das aloenzimas permite detectar a presença ou a ausência de híbridos entre dois grupos de populações naturais, sendo assim um bom meio de controlo do estado de isolamento reprodutor. A análise bioquímica permitiu a detecção de muitas espécies em diferentes grupos zoológicos: roedores (Britton et al., 1976), crustáceos, por exemplo, Jaera albifrons (Carion, 1976). É uma técnica relativamente recente que abriu novas perspectivas de investigação e que tem sido muito utilizada. Permite distinguir espécies gêmeas e localizar as barreiras impeditivas de hibridização (Coluzzi e Bullini, 1971).

A sistemática que se apoia em dados obtidos por meio de electroforese é, geralmente, considerada como não morfológica, no sentido tradicional do termo. Avise (1974), citando Brewer (1970), afirma que as técnicas electroforéticas foram utilizadas por Tiselius em 1937, para distinguir múltiplas fracções de proteínas séricas, migrando numa solução sob a influência de uma corrente eléctrica. A partir de então, têm-se desenvolvido vários trabalhos abrangendo diversos domínios da biologia, tais como a sistemática, ecologia, a genética de populações, etc., tanto nos animais como nas plantas, tornando-se claro que as técnicas electroforéticas constituem um bom auxiliar em investigação científica.

A electroforese em papel, em acetato, celogel, gel de amido e em gel de poliacrilamida tem sido de invulgar utilidade na demonstração de diferenças e semelhanças de significado taxonómico. Pasteur (1974), num trabalho que intitula de genética bioquímica e populacional, dá-nos conta do papel da electroforese na detecção de diferenças entre as proteínas, o que equivale a observar directamente a variação do ou dos genes que as codificam. Cei (1969), refere que a técnica electroforética lhe permitiu obter informações úteis e, por vezes, as únicas utilizáveis para resolver o problema da discriminação específica, sobretudo em zoologia aplicada. Alguns exemplos extraídos de Pasteur et al. (1980), reforçam esta realidade. Assim, nos Trypanossomídeos (Leishmania sp.), por falta de caracterização morfológica estabeleceu-se uma classificação baseada nos sintomas clínicos que estes agentes provocavam nos diferentes hospedeiros. Porém, quando os sintomas são idênticos tanto no Homem como nos animais, estaremos na presença da mesma espécie de Leishmania ou serão espécies diferentes deste grupo as responsáveis pela manifestação de quadros clínicos igualmente diferenciados?

A estas e outras interrogações, neste domínio, foi possível dar resposta recorrendo à electroforese de sistemas proteicos. Outros exemplos poderiam citar-se, relativamente a vários grupos zoológicos, tais como os Trichograma, microhymenópteros de reduzidas dimensões que são parasitas de outros insectos nocivos em agricultura e, portanto, potencialmente úteis em controlo biológico. A sua difícil taxonomia foi bastante auxiliada comparando a migração electroforética das Esterases de várias formas de Trichograma (Voegelé e Bergé, 1976). As técnicas electroforéticas também se revelaram úteis no domínio da sistemática ictiológica de robalos, permitindo distinguir os seus alevins e pós-alevins (Sidell et al., 1978).

Segundo Harris (1975), fide Pasteur (1980), as vantagens das enzimas sobre as outras proteínas residem no facto de se poderem ensaiar dezenas de sistemas enzimáticos de entre os quais acaba sempre por se detectar alguns que são capazes de serem, clara e insofismavelmente, discriminativos, a nível específico. Relativamente aos répteis e roedores, um caso elucidativo do poder da electroforese como meio de diagnóstico no domínio da sistemática pode ser referido em populações francesas destes vertebrados, consultando os trabalhos de Guillaume et al.(1976) nos répteis, Britton-Davidian (1978), Britton e Thaler (1978), Bemehdi et al. (1980) nos roedores. Entre nós, há alguns anos que estudos bioquímicos aplicados à problemática da evolução e sistemática animal foram empreendidos, principalmente nos anfíbios, conforme se pode verificar pelos trabalho de Crespo et al.(1975), Crespo (1976) e Crespo (1979). Viegas (1980), Viegas et al. (1982 a) Viegas et al.(1982 b) e Viegas et al.(1985), deram sequência a estes estudos.

Do ponto de vista da descoberta de espécies "ocultas" a electroforese revelou-se igualmente de grande utilidade. Estas espécies bem dissimuladas "crípticas" para os autores anglo-saxões, "gémeas" para outros, vão-se manifestando graças ao poder discriminante de sistemas proteicos, por meio de electroforese. Destas espécies, segundo Pasteur (op.cit.), a primeira a ser descoberta foi um Equinoderme das costas da Florida, detectado pelos autores australianos Manwell e Baker (1963). Porém, a descoberta de tais espécies não é frequente, como seria importante, sendo mesmo rara.

Pasteur et al.(1977), insistindo no estudo de populações de Aedes detritus da Camarga, em França, em que se notava um acentuado défice de heterozigotia, ensaiaram vários sistemas enzimáticos, pondo em evidência que ao nível de dois loci, os da desidrogenase do ácido α -glicerofosfórico (α -Gpd) e de uma transaminase do ácido glutamo-oxaloacético (Got-2), não existem praticamente senão homozigóticos: α -GPD^{CC} ou α -GPD^{BB}, GOT-2^{RR} ou GOT-2^{LL}, ao passo que o gene EST-2, segue a lei de Hardy-Weinberg, em cada grupo. O estudo dos dados que obtiveram permitiu-lhes concluir que a nível bioquímico, pela análise electroforética das alozimas, a variabilidade genética de Aedes detritus aponta para que esta "espécie" seja composta realmente por duas entidades taxonómicamente específicas, pelo menos nas áreas estudadas, cujas características são as seguintes:

EM família:

<u>Conjunto A</u>	<u>Conjunto B</u>
fenótipo Got-2 ^R	fenótipo Got-2 ^L
alelo α -Gpd ^C 98%	alelo α -Gpd ^B 98%
alelo Est-2 ^B o mais frequente, 50%	alelo Est-2 ^C o mais frequente, 80%
alelo Got-2 ^C 2%	alelo Got-2 ^C 10%

Ainda referindo-nos à descoberta de espécies "ocultas" por meios electroforéticos, mencionaremos por ordem cronológica os casos até agora conhecidos, sempre segundo Pasteur (1980):

Duas holotúrias do género Thyonella de Manwell e Baker (1963); três espécies do sáureo Analís brevis (Webster e Burns, 1973); uma espécie no complexo de Drosophila capitata (Lakovaara et al., 1976); seis espécies no seio do Polychaeta Capitella capitata (Grassle e Grassle, 1976); três espécies no Oligochaeta Lumbricillus rivalis (Christensen e Jelnes, 1976) e os dois Aedes detritus A e B (Pasteur et al., 1977).

Buth (1984), publicou uma revisão sobre a aplicação dos dados obtidos por electroforese nos estudos de sistemática em que apresenta algumas conclusões e recomendações de interesse para os investigadores desta matéria. Ainda no que respeita aos insectos, particularmente aos dípteros, podemos recordar vários trabalhos em que a electroforese foi de extrema importância para a solução de vários problemas. Citaremos, entre outros, os trabalhos de: Ogita (1968), sobre o controlo genético das izozimas, utilizando como material biológico a mosca comum, Musca domestica L.; Salkeld (1969) que estudou as proteínas do ovo de 23 espécies de insectos pertencentes a 7 ordens diferentes, **sugerindo** que as proteínas do ovo reflectem relações filogenéticas ao nível de família e género, podendo ainda servir de critério para a identificação de espécies; Powell (1971) que estudou polimorfismos genéticos, sujeitando a diferentes condições ambientais populações experimentais de Drosophila willistoni. Sobre tema semelhante se debruçou Kimura et al. (1971), tratando do polimorfismo em populações de Drosophila sp. Por outro lado, Bullini et al. (1972) procederam a ensaios sobre a selecção natural e deriva genética em proteínas polimórficas, comparando a distribuição dos alelos de PGM- fosfoglucomutase em duas espécies de mosquitos: Aedes mariaae e Aedes aegypti, Ayala et al. (1972), procederam ao estudo de dois grupos de espécies gémeas de Drosophila, mostrando que as diferenças detectadas nas aloenzimas podem utilizar-se como diagnosticantes a nível específico; Johson (1973) em Droso-

phila sp. estudou a importância da variação do substrato no grau de polimorfismo enzimático; Stephen (1974), realizou um trabalho de síntese, em que testou vários sistemas enzimáticos, recorrendo a diferentes espécies de insectos, dando grande ênfase ao papel da electroforese em taxonomia bioquímica.

Mahon et al. (1976), procederam à análise das aloenzimas, por via electroforética, empregando-as como método de rotina, para a identificação de mosquitos do complexo do Anopheles gambiae, concluindo que este sistema de diagnose específica era superior ao método dos cromossomas até então utilizado, em virtude de todos os adultos de ambos os sexos e em qualquer estado do ciclo gonotrófico, serem identificáveis.

Lakovaara et al. (1976) apontam para o uso promissor dos caracteres moleculares em taxonomia, elaborando um trabalho aprofundado sobre a utilização das isoenzimas nos estudos evolutivos e na classificação dos Drosophilidae. Um outro exemplo de aplicação da electroforese para a identificação de espécies gêmeas é-nos fornecido por Saul et al. (1977) ao reconhecerem, por esta técnica, Aedes triseriatus e Aedes hendersoni, espécies simpátricas de mosquitos arborícolas, dificilmente distinguíveis a nível morfológico, no estado de adulto. Utilizando o método aplicado por Pasteur et al. (1977) e ensaiando os sistemas enzimáticos α -Gpd e Got-2, Pasteur et al. (1978) assinalaram igualmente a presença de duas espécies gêmeas no complexo do Aedes detritus, no Maghreb, África do norte.

Pasteur et al. (1981), estudaram os polimorfismos Est-2 e Est-3 em Culex pipiens L., do sul de França, relacionados com a resistência aos organofosforados. Ward et al. (1981), utilizaram igualmente os estudos electroforéticos na determinação do polimorfismo enzimático e diferenciação de flébotomos (Diptera, Psychodidae) da França e da Tunísia. Um trabalho sobre os estudos isoenzimáticos em entomologia médica foi publicado por Tibayrenc (1979). De acordo com este autor, Hunter e Market (1957) aplicaram, pela primeira vez, à electroforese de enzimas, os métodos de coloração histoquímica, chamando a esta técnica "zimograma". O recurso a tal técnica permitiu a descoberta das "isoenzimas" ou "isozimas" (Market e Møller, 1959) que migram diferentemente na electroforese e têm as mesmas propriedades. Posteriormente, descobriu-se que parte destas isozimas sofrem uma segregação mendeliana simples: são as "aloenzimas" (Prakash et al., 1969).

Stein et al., (1979), particularizaram este tema, elaborando uma síntese muito útil das técnicas electroforéticas utilizadas no estu-

do da genética dos mosquitos, trazendo ainda ao nosso conhecimento as espécies até então ensaiadas. Bullini et al. (1980), fazem a revisão da evolução do estudo da biologia populacional e da sistemática, recorrendo à análise electroforética das enzimas.

Em trabalhos de entomologia médica a aplicação destas técnicas tem-se revelado como óptimo auxiliar de diagnose, a nível específico, fundamentalmente em espécies gémeas, com algum interesse epidemiológico, referindo sômente como exemplo, os casos de Anopheles gambiae (Saul e Mahon, 1976) e de Aedes triseriatus e Aedes hendersoni (Saul et al., 1977).

O quadro seguinte, reproduzido de Verdier (1978), por nós modificado, mostra a evolução da aplicação do estudo electroforético das aloenzimas, em entomologia médica.

<u>Aspectos estudados</u>	<u>Espécies ensaiadas</u>
Variação entre populações e espécies de diferentes regiões geográficas	<u>Aedes aegypti</u> , <u>Anopheles stephensi</u> , complexo <u>Aedes mariaae</u> , complexo <u>Culex pipens</u>
Discriminação entre espécies gémeas	complexo <u>Anopheles maculipennis</u> , complexo <u>Aedes mariaae</u> , complexo <u>Culex pipiens</u> , complexo <u>Aedes scutellaris</u> , complexo <u>Aedes detritus</u> , complexo <u>Aedes triseriatus</u> , complexo <u>Aedes hendersoni</u> , complexo <u>Simulium damnosum</u>
Estudo de ecotipos	<u>Aedes aegypti</u>
Mecanismos de isolamento prè-copulatórios	complexo do <u>Aedes mariaae</u>
Não competitividade ao nível sexual	complexo do <u>Culex pipiens</u>
Localização do "linkage"	<u>Aedes aegypti</u> , <u>Anopheles stephensi</u> , complexo <u>Culex pipiens</u> , complexo <u>tritaeniorhynchus</u>
Resistência aos insecticidas	complexo <u>Culex pipiens</u>

5.2 - Estado actual dos estudos electroforéticos de *Aedes (O.) detritus* e de *Aedes (O.) caspius*.

De acordo com os elementos bibliográficos por nós recolhidos, poucas equipas de investigadores se interessaram por alguns aspectos da genética de *Aedes (O.) caspius*, recorrendo à análise electroforética de sistemas enzimáticos. Assim, Bullini e Coluzzi (1973) procederam ao estudo de polimorfismos a nível do locus fosfoglucomutase (PGM) numa população de Livorno (Itália), concluindo existirem cinco alelos electroforéticamente distintos (Pgm^A , Pgm^B , Pgm^C , Pgm^D , Pgm^E). Mery (1976), num trabalho de genética, estudou três loci (EST, GOT, α -GPD), codificando enzimas em *Aedes caspius*. Num outro ensaio semelhante, Mery et al. (1979) procederam ao estudo da Δ -Glicerofosfato desidrogenase, em *Aedes caspius*, através da técnica da cópula forçada entre uma estirpe originária da Camarga e a estirpe "Cairo", proveniente do Egipto.

Cianchi et al. (1980) assinalaram a existência de duas entidades reprodutivamente isoladas (A e B), no seio de várias populações de *Aedes caspius* de Itália, estudando a variação electroforética de vinte e quatro loci.

Relativamente a *Aedes detritus*, conforme atrás referimos, existem dois trabalhos realizados pela escola francesa: Pasteur et al. (1977; 1978) que permitiram concluir que a espécie nominal *Aedes detritus* é, pelo menos, composta por duas espécies gémeas (A e B) no sul de França e no norte de África. Além destes trabalhos, também Bullini e Coluzzi (1973), estudando amostras de duas populações italianas de *Aedes detritus*, de áreas distintas, concluíram que ambas se revelaram polimórficas para cinco alelos de PGM (fosfoglucomutase), Pgm^A , Pgm^B , Pgm^C , Pgm^D e Pgm^E .

6 - Critérios ecológicos

Em muitos casos, são o corolário de diferenças biológicas, fisiológicas, morfológicas e enzimáticas. Alguns critérios podem tomar-se em consideração:

- comportamento nupcial - estudado grandemente nos Lepidópteros, tem contribuído para a clarificação do estatuto de algumas espécies. Um isolamento pode ser provocado por uma falta de atracção sexual devida a uma diminuição do quimiotactismo ou ainda a uma diferença visual (ornamentação). Nos faisões e, em outras aves, a variação da plumagem é tão importante que se admite que a fêmea não responde à parada nupcial se o macho

não possuir um tipo bem determinado de plumagem (Mayr, 1963).

- emissão de sons - Certas espécies foram desmembradas em complexos pelo estudo dos cantos (vocalizações). Por exemplo, nas aves, a variação geográfica do canto constitui um mecanismo importante de isolamento. Nos Orthoptera, o canto nupcial, corresponde a um importante mecanismo de isolamento (Cantrall, 1943). Do mesmo modo, o estudo da vocalização do grilo comum da América do norte (Gryllus) mostrou que seis espécies gêmeas estavam representadas no grupo, até então considerado unitário (Alexander, 1968). Também em certos batráquios, como por exemplo, Rana pipiens, se evidenciou um complexo de espécies gêmeas (Littlejohn e Oldham, 1968). Iguais referências podem ser dadas à cerca dos gêneros Bufo e Hyla (meridionalis e arborea).

Quanto aos dípteros culicídeos, os dados de carácter ecológico recolhidos pela observação directa na natureza ou em ensaios laboratoriais têm permitido a distinção de espécies gêmeas, no género Anopheles, que inicialmente eram consideradas raças ecológicas. O mesmo sucedeu com o complexo do Anopheles maculipennis. No complexo do Anopheles gambiae, simples testes de tolerância das larvas do 1º estado ao teor de cloreto de sódio existente nas águas de criação das formas imaturas, permitiu separar os membros de água salgada melas e merus (Ribeiro, 1981). Diferenças no grau de endofilia e de antropofilia, são também assinaláveis em muitas espécies gêmeas, particularmente nos complexos maculipennis, gambiae, funestus e claviger. O mesmo se passa quanto à especificidade para o hospedeiro.

PARTE III

1 - RESUMO HISTÓRICO E ESTADO ACTUAL DO RECONHECIMENTO DA CULICIDEOFAUNA DE PORTUGAL

Segundo Ribeiro et al. (1977/78), os primeiros trabalhos que referem a presença em Portugal de algumas espécies de mosquitos remontam aos princípios do nosso século. Assim, Sarmiento e França (1901), deram a primeira contribuição valiosa, assinalando cinco espécies: Anopheles (A.) claviger (Meigen, 1804), Aedes (S.) aegypti (L., 1762), Culiseta (C.) annulata (Schrank, 1776), Culiseta (All.) longiareolata (Macquart, 1838) e Culex (C.) pipiens L., 1758.

Em 1902, os mesmos autores registaram um novo achado: Anopheles (A.) maculipennis Meigen, 1818. Jorge e Sarmiento (1906), acrescentaram dois novos culicíneos à lista até então estabelecida: Aedes (O.) pulchritarsis (Rondani, 1872) e Culex (N.) impudicus Ficalbi, 1890. Passadas quase três décadas, Braga (1931), publicou uma excelente monografia dos culicídeos portugueses que incluía 21 espécies, 13 das quais eram, pela primeira vez, assinaladas: Anopheles (A.) plumbeus Stephens, 1828, Coquilletidia (C.) richiardi (Ficalbi, 1889), Aedes (O.) caspius (Pallas, 1771), Aedes (O.) detritus (Haliday, 1833), Aedes (O.) mariaae (Sergent e Sergent, 1903), Aedes (O.) rusticus (Rossi, 1790), Aedes (F.) echinus (Edwards, 1920), Aedes (F.) geniculatus (Olivier, 1791), Aedes (Aedimorphus) vexans (Meigen, 1830), Culex (M.) hortensis Ficalbi, 1889, Culex (N.) territans Walker, 1856, Culex (C.) laticinctus Edwards, 1913 e Culex (C.) theileri Theobald, 1903.

Landeiro e Cambournac (1933), assinalam uma outra espécie: Anopheles (A.) atroparvus Van Thiel, 1927 (como uma variedade de maculipennis). Cambournac (1941) menciona a presença, entre nós, de uma outra espécie proveniente de Águas de Moura: Orthopodomyia pulchripalpis (Rondani, 1872), única espécie do género conhecida na região Paleártica. Mattingly (fide Coluzzi et alii, 1965) aumentou para 25 o número de espécies de culicídeos conhecidos até essa data, com a introdução de um novo achado: Anopheles (A.) petragnanii Del Vecchio, 1939. Ribeiro et al. (1977/78), contribuíram para uma melhoria do conhecimento dos mosquitos portugueses, com a referência a quatro novos achados: Aedes (S.) vittatus (Bigot, 1861), Culex (B.) modestus Ficalbi, 1889, Culex (C.) univittatus Theobald, 1901 e Uranotaenia (P.) unguiculata unguiculata Edwards, 1913. Em 1977, Ribeiro et al., acrescentaram mais cinco espécies à culicidaeofauna portuguesa:

Anopheles (A.) claviger (Meigen,1804), Aedes (O.) berlandi Séguy,1921, Culiseta (C.) subochrea Edwards,1921), Culex (C.) mimeticus Noé,1899, (Culex (Culex) torrentium Martini,1924.

Ribeiro et al.(1980), registaram pela primeira vez, entre nós, a presença de duas outras espécies: Anopheles (A.) melanoon Hackett,1934 e Anopheles (C.) cinereus hispaniola (Theobald,1903). Capela et al. (1983), acrescentaram dois novos achados à lista: Culiseta (C.) litorea (Shute, 1928), Culiseta (C.) fumipennis (Stephens,1825).

Ramos et al. (1982), dão novo contributo ao assinalarem mais duas novas espécies: Anopheles (A.) algeriensis Theobald,1903 e Anopheles (A.) subalpinus Hackett e Lewis, 1935. Ribeiro et al. (1983), mencionam a presença de Culex (C.) molestus Forskal,1775. Ribeiro et al. (em impressão) e Ribeiro et al. (1983) assinalam mais duas espécies novas para a culicidaeofauna portuguesa: Anopheles (A.) marteri Senevet e Prunelle,1927 e Aedes (O.) punctor (Kirby,1837), respectivamente.

Ramos (1983) estuda as espécies de mosquitos limnodendrófilos e Janz et al. (1984) estabelecem uma função discriminante para a separação das larvas de Culex pipiens L. e Culex molestus Forskal.

Capela (1979), estudando do ponto de vista ecofisiológico populações de Culiseta (A.) longiareolata (Macquart,1838), detectou a presença do carácter autogénico, nesta espécie, em Portugal. O mesmo autor, Capela (1981), assinalou a presença da autogenia e da estenogamia em populações de Aedes (O.) detritus (Haliday,1833) da costa algarvia portuguesa. Capela et al. (1984), ao estudarem Culiseta (C.) annulata (Schrank,1776), assinalaram, pela primeira vez, nesta espécie, a presença do carácter autogénico, mencionando igualmente a presença do mesmo carácter em populações de Aedes (O.) caspius (Pallas,1771) e Culiseta (C.) subochrea (Edwards,1921) de Portugal.

2 - ESTADO ACTUAL DO CONHECIMENTO DOS CULICÍDEOS HALÓFILOS PORTUGUESES

2.1 - GENERALIDADES

Com as variações devidas à localização geográfica, pode considerar-se que as águas dos diferentes oceanos possuem, em média, um teor salino de aproximadamente 35 g/litro de NaCl. Como é do conhecimento geral, existem espécies de mosquitos que vivem em colecções de água parcialmente dependentes de tais oceanos (salinas, valas de abastecimento de salinas, sa-pais, paúis junto ao mar e outras). Assim sendo, sabe-se que as espécies

vivendo nestes biótopos desenvolveram mecanismos ecofisiológicos, de resposta ao meio, sobretudo nos estados prè-imaginais, que lhes permitem um desenvolvimento biológico completo. Tais espécies têm sido designadas por diversos autores como semi-halófilas ou halófilas, de acordo com o grau de salinidade das águas que frequentam.

Existem várias classificações destas espécies, mais ou menos arbitrárias, embora sempre baseadas no teor salino das águas. Em nossa opinião, de acordo com as experiências efectuadas e relativamente à fauna culicideológica portuguesa, consideramos como halófilas as espécies que completam facilmente o seu ciclo evolutivo em águas contendo a partir de 5 g/litro de NaCl. No entanto, apoiados na nossa experiência, aceitamos como lógica a subdivisão das espécies halófilas em dois grupos principais: semi-halófilas (5 a 15 g/l de NaCl) e halófilas (15 a 100 g/l de NaCl).

Apesar disso e como se poderá verificar na parte V deste trabalho, em experiências efectuadas no laboratório com Aedes detritus, pode inferir-se que estes critérios não são de todo marcantes uma vez que as espécies halófilas possuem uma "plasticidade" ecológica de tal modo eficaz que lhes permitem frequentar e desenvolverem-se em biótopos de salinidades variáveis que podem ir desde os dulçaquícolas aos típicamente halófilos.

Entre nós, consideramos como semi-halófila a espécie Aedes (O.) caspius (5 a 15 g/l de NaCl) e como halófilas as formas do complexo do Aedes detritus, para além do típicamente halófilo Aedes mariaae, espécie referenciada em Portugal apenas duas vezes (Braga, 1931, Ribeiro et al. 1977/78).

Cerca de 93% da culicideofauna portuguesa é constituída por espécies dulçaquícolas. A fracção restante inclui espécies que se podem considerar semi halófilas e/ou halófilas.

Aedes (O.) detritus e Aedes (O.) mariaae, desenvolvem a sua fase aquática, normalmente, em meios com salinidades variáveis, podendo suportar altos teores de concentração em NaCl, muito superiores aos da água do mar.

O conhecimento destas espécies, em Portugal, tem-se baseado quase exclusivamente em trabalhos de índole sistemática. Assim, Braga (1941) referiu, pela primeira vez, a existência de três espécies halófilas acima referidas. Trabalhos mais recentes de outros autores: Ribeiro et al. (1977/78), Pires et al. (1982), têm abordado o estudo destas espécies sobretudo do ponto de vista sistemático e ecológico. Capela (1981) e Capela et al. (1984), trataram alguns aspectos da ecofisiologia de Aedes detritus

e de Aedes caspius, respectivamente.

Dadas as lacunas existentes no estudo das espécies halófilas de mosquitos portugueses, dedicar-nos-emos a essa problemática, relativamente a Aedes caspius e Aedes detritus, espécies presentes em quase toda a extensão litoral do território e que constituem o objectivo fundamental do nosso trabalho.

2.2 - Morfologia de Aedes (O.) caspius

2.2.1 - Ovo

James (1922), Gabinaud (1974) e Gabinaud et al. (1975) descreveram com precisão a forma, o tamanho e a ornamentação coriônica do ovo de Aedes caspius. As observações por nós efectuadas estão de acordo com as características referidas por estes autores. Assim, o ovo é alongado e fusiforme na parte posterior, revelando uma ligeira assimetria dorso-ventral,

Segundo aqueles autores as dimensões médias são de cerca de 0,591 mm para o comprimento e 0,189 para a largura. Possui uma camada externa ou exocócion constituída por uma delgada membrana translúcida que ornamenta o ovo. A camada média ou endocócion é mais espessa e tem como função a protecção mecânica. A face interna possui uma membrana pelúcida que envolve o embrião. O endocócion apresenta reticulações conspícuas que desenham polígonos mais ou menos regulares, revelando um forte polimorfismo, segundo as faces. Estas características constituem um precioso auxiliar de diagnóstico, na distinção de espécies. A coloração clara do ovo, logo a seguir à postura, vai passando de cinzento a castanho escuro até negro, por oxidação de certos compostos químicos da teca, em contacto com a água e o ar atmosférico.

2.2.2 - Larva

A larva de Aedes caspius possui as sedas frontais internas e médias simples ou bífidas. O pente do oitavo segmento possui cerca de 20 escamas (18 a 28) com uma espinha mediana distinta e acerada. Os dentes do pente sifónico são de extremidade longa e acerada e têm três dentículos de reduzidas dimensões e tamanho decrescente, conforme figura 1.

2.2.3 - Pupa

A quetotaxia pupal de Aedes caspius, pouco estudada, não oferece informação de índole sistemática facilmente utilizável.

2.2.4 - Adulto

O adulto de Aedes caspius reconhece-se pela coloração castanho escuro da parte superior do mesotórax, pela banda clara longitudinal dos tergitos abdominais e pela presença de anéis de escamas brancas nas articulações tarsais. O lobo basal da genitália masculina possui duas espinhas fortes. A figura 2A, representa um exemplar adulto de Aedes (O.) caspius.

2.3 - Morfologia de Aedes (O.) detritus

2.3.1 - Ovo

É alongado, quase cilíndrico na parte mediana e afilado nas extremidade Gabinaud (1975), efectuando 250 medições, considera as seguintes dimensões médias: 0,625 mm para o comprimento e 0,192 mm para a largura. As medições por nós efectuadas, em 117 ovos, deram valores muito próximos: 0,610 mm \pm 0,037 e 0,190 mm \pm 0,026, respectivamente. O exocócion é fino e aderente. O endocócion apresenta reticulações que desenham polígonos finamente plissados no centro e delimitados por delgados bordalletes, levemente sinuosos e, por vezes, interrompidos. Tal como em Aedes caspius, a forma destes polígonos varia de acordo com as faces, permitindo um diagnóstico taxonómico diferencial entre estas duas espécies. O ovo de Aedes detritus é negro acetinado.

2.3.2 - Larva

A larva de Aedes detritus (figura 1) possui no fronto-clípeus sedas frontais internas e médias multífidas. O pente do oitavo segmento é constituído por um número de escamas variável (27 a 50, $\bar{X}=41,5$; $s=8,667$) e que são desprovidas de dente mediano distinto. Os dentes do pente sifónico apresentam quatro dentículos sensivelmente do mesmo tamanho.

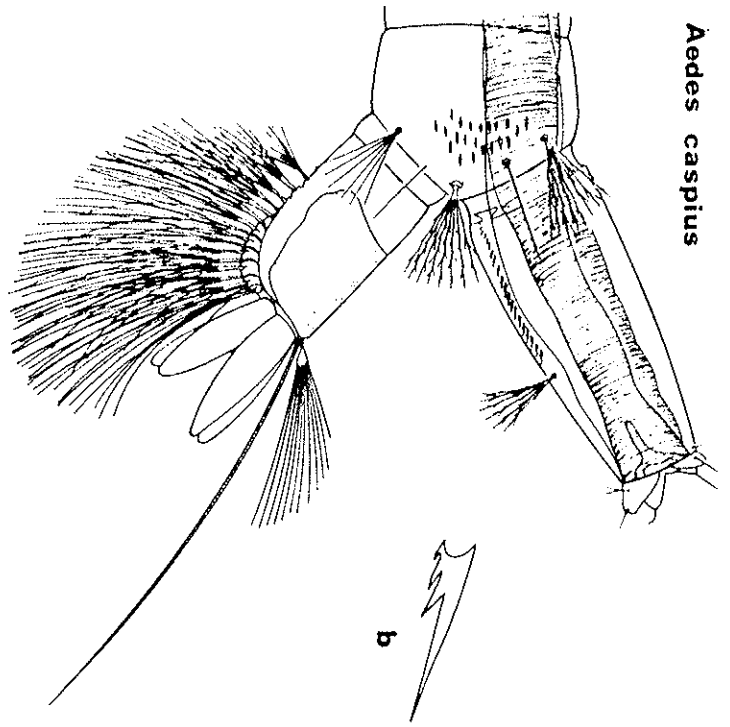
2.3.3 - Pupa

A pupa de Aedes detritus fornece poucos caracteres taxonómicos discriminativos. A sua forma e quetotaxia geral é bastante próxima da de Aedes caspius.

2.3.4 - Adulto

É um mosquito com patas escuras, de maior tamanho que Aedes caspius e que pode reconhecer-se pela coloração castanho enegrecido do mesonoto e pela presença de escamas brancas polvilhando as zonas escuras dos segmentos abdominais (figura 2B). O lobo basal da genitália masculina, de reduzidas dimensões, possui apenas uma forte e longa espinha.

Aedes caspius



Aedes detritus

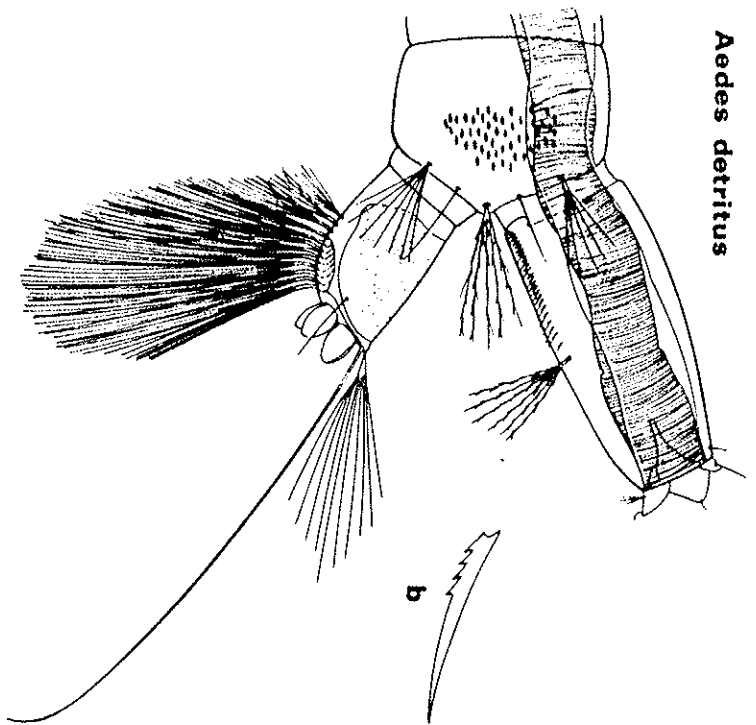


Figura 1 - Extremidade posterior da larva do 4º estado de Aedes (O.) caspius e da larva de Aedes (O.) detritus, mostrando, em pormenor, uma escama do VIII segmento abdominal (a) e um dente do pente sifónico (b). (Extraído de Gabinaud, 1975).

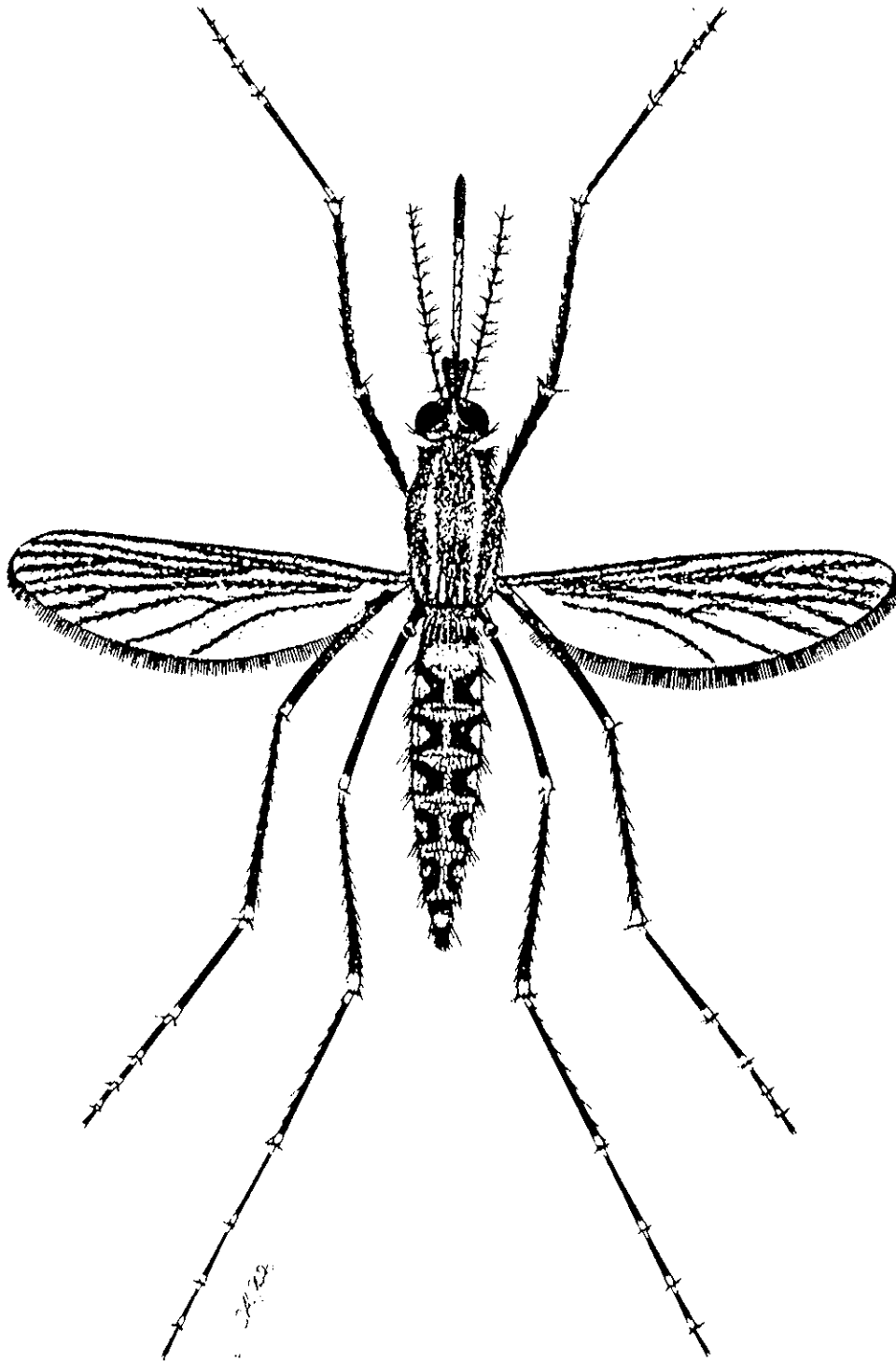


Figura 2A - Adulto de Aedes (O.) caspius
(Reproduzido de Gabinaud, 1975).

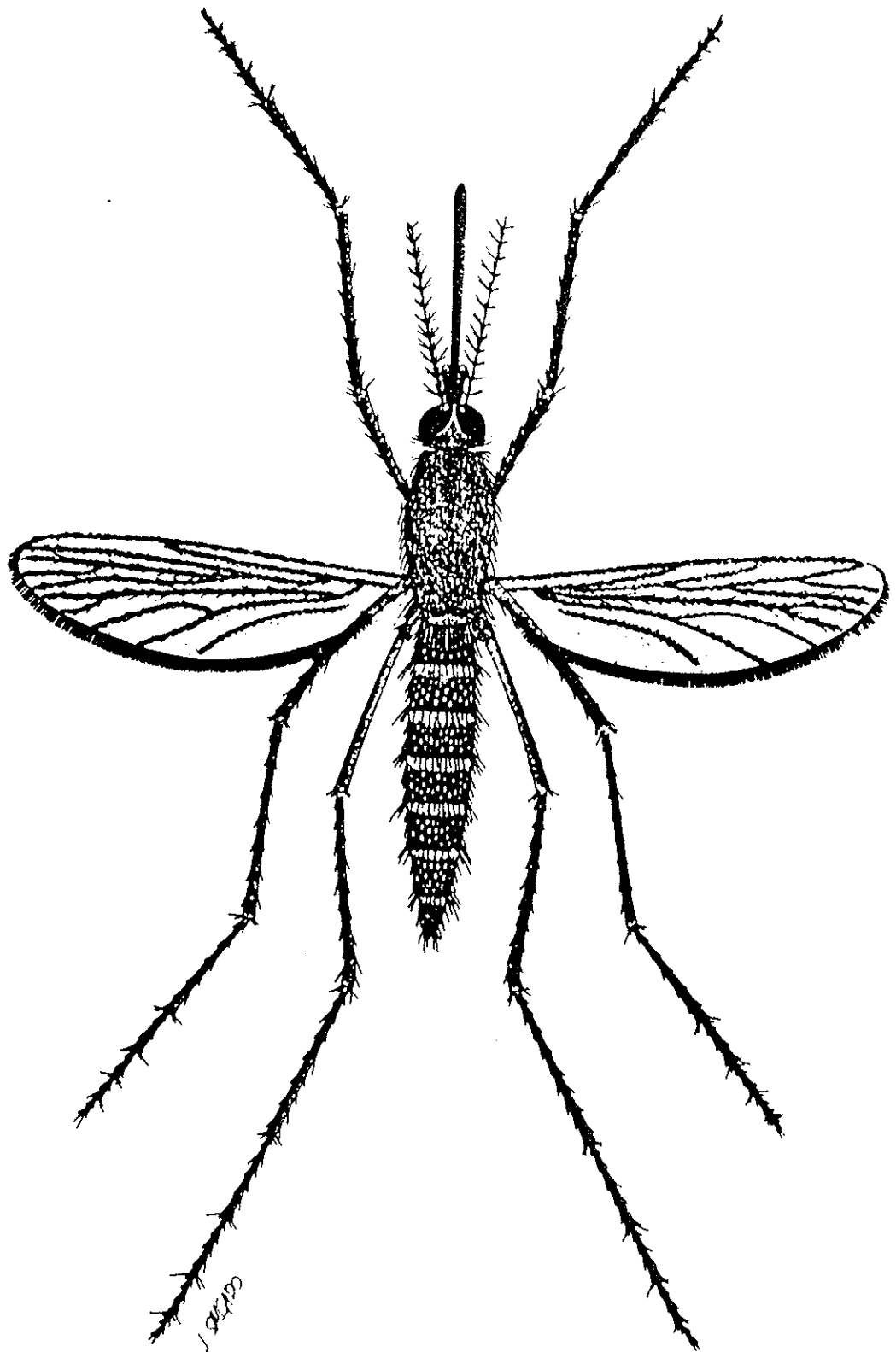


Figura 2B - Adulto de Aedes (O.) detritus
(Reproduzido de Gabinaud, 1975).

3 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO Aedes CASPIUS E DO Aedes DETRITUS

Aedes caspius e Aedes detritus estão presentes na quase totalidade da região Paleártica. A sua área de repartição é bastante semelhante, correspondendo os limites norte e sul sensivelmente a 60° e a 30° de latitude norte. O oceano Atlântico representa o limite oeste, sendo o limite este ainda bastante impreciso. Os mapas 1 e 2 assinalam a repartição geográfica mundial das duas espécies.

3.1 - Distribuição geográfica mundial do Aedes caspius (Pallas).

Conforme se pode verificar em Moussieght (1981) e Ribeiro *et al.* (1975) Aedes caspius s.l. é uma espécie Paleártica que se estende pela Europa, norte de África e Saara, desde Cabo Verde até ao golfo Pérsico, Punjab e deserto de Gobi, sendo particularmente frequente ao longo das costas e áreas salinas do interior.

Argélia (1) (Senevet e Andarelli, 1951) - Alemanha (2) (Martini, 1931) - Áustria (3) (Aspöck, 1968) - Bélgica (4) (Goetghebuer, *in*: Natvig, 1948) - Bulgária (5) (Theobald, *in*: Seguy, 1923) - Cabo Verde (5A) (Meira, 1952; Ribeiro *et al.* 1980) - Canárias (6) (Christophers, 1929) - Dinamarca (7) (Natvig, 1948) - Egipto (8) (Kirkpatrick, 1925) - Espanha (9) (Clavero, 1946) - Finlândia (10) (Natvig, 1948) - França (11) (Rageau *et al.*, 1970) - Grã-Bretanha (12) (Marshall, 1938) - Grécia (13) (Waterston, 1918) - Hungria (14) (Edwards, 1921) - Iraque (15) (Nielsen e Nielsen, 1958) - Israel (17) (Margalit e Tahori, 1970) - Itália (18) (Edwards, 1921) - Marrocos (19) (Senevet e Andarelli, 1951) - Mongólia (20) (Minar, 1971) - Portugal (22) (Braga, 1931) - Roménia (23) (Edwards, 1921) - Tunísia (25) (Senevet e Andarelli, 1951) - Turquia (26) (Edwards, 1921) - URSS-Arménia (27) (Ali-khnov, 1972) - URSS-Azerbaijão (28) (Stackelberg, 1937) - URSS-Casaquistão (29) (Anufrieva, 1968) - URSS-Kirgísistão (30) (Petrischtscheva, *in*: Natvig, 1948) - URSS - Oubequistão (31) (Zainiev, 1969) - URSS - Rússia (32) Dagestan ASSR (Stackelberg, 1937), Touva ASSR (Kukharchuk e Evstigneeva, 1971, Udmur ASSR (Mukanov, 1970) - URSS - Tadiquistão (33) (Stackelberg, 1937) URSS - Turquemenistão (34) (Babayants, 1970) - URSS - Ucrânia (35) (Edwards, 1921) - Jugoslávia (36) (Adamovic, 1974).

3.2 - Repartição geográfica mundial do Aedes detritus

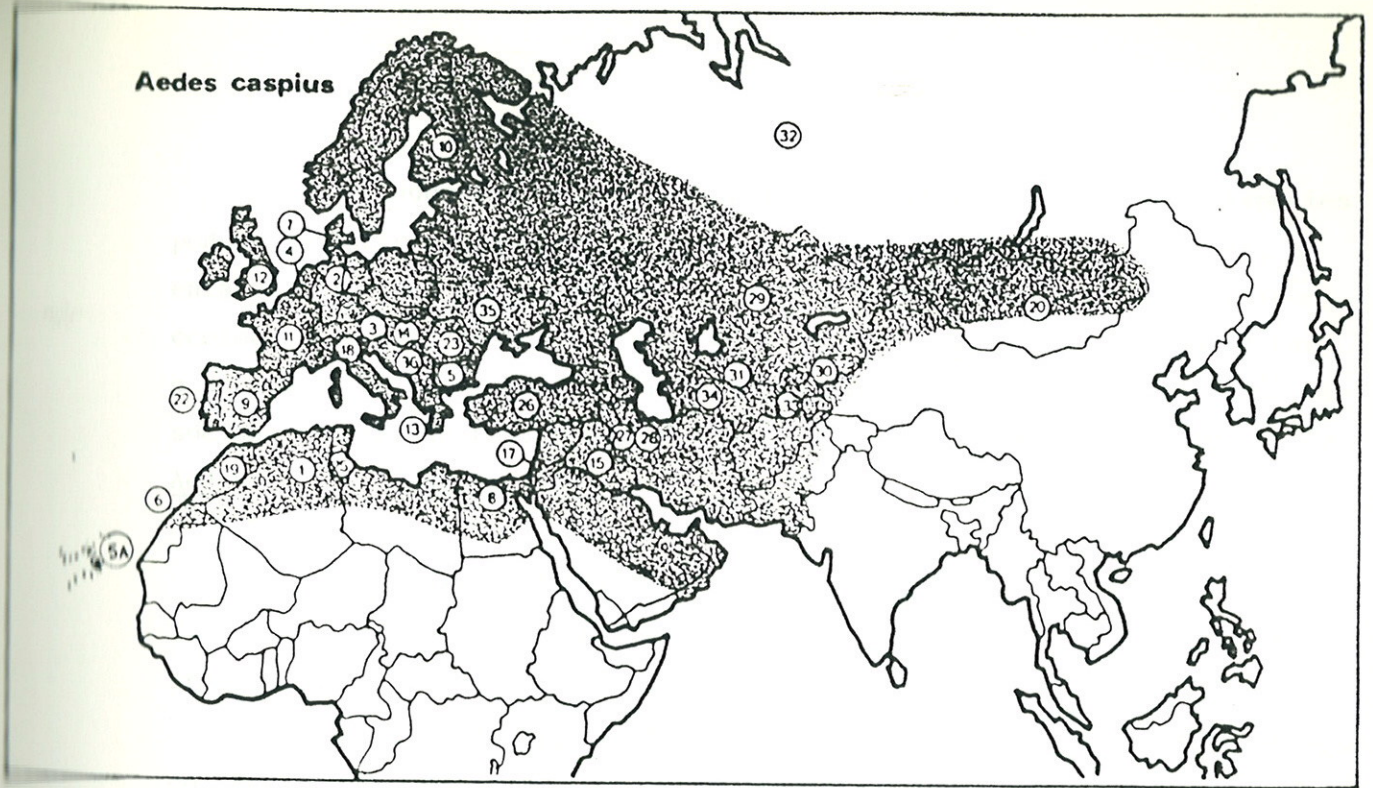
Aedes detritus é uma espécie essencialmente costeira, embora possa penetrar alguns quilômetros no interior, distribuindo-se pelas regiões litorais da Europa, norte de África e Ásia Menor.

Argélia (1) (Senevet e Andarelli, 1951) - Alemanha (2) (Martini, 1931) - Bélgica (4) (Goetghebuer, 1925) - Canárias (6) (Christophers, 1929) - Dinamarca (7) (Natvig, 1948) - Egipto (8) (Kirkpatrick, 1925) - Espanha (9) (Clavero, in. Senevet e Andarelli, 1951) - França (11) (Rageau et al. 1970) - Grã-Bretanha (12) (Marshall, 1938) - Grécia (13) (Waterston, 1918) - Hungria (14) (Mihalyi e Magdolna, 1963) - Irlanda (16) (Edwards, 1921) - Israel (17) (Margalit e Tahori, 1970) - Itália (18) (Martini, 1920) - Marrocos (19) (Senevet e Andarelli, 1951) - Noruega (21) (Natvig, 1948) - Portugal (22) (Braga, 1931) - Síria (24) (Martini, in. Natvig, 1948) - Tunísia (25) (Senevet e Andarelli, 1951) - Turquia (26) (Martini, in. Natvig, 1948) - URSS - Casaquistão (29) (Litvinova, 1972) - URSS - Ubequistão (31) (Stackelberg, 1937) - URSS - Rússia (32) Leningrad (Gutsevich et al., 1970), Baixo Volga (Stackelberg, 1937) - URSS - Tadiquistão (33) (Stackelberg, 1937) - URSS - Turquemenistão (34) (Stackelberg, 1937) - URSS - Ucrânia (35) (Gutsevich et al., 1970).

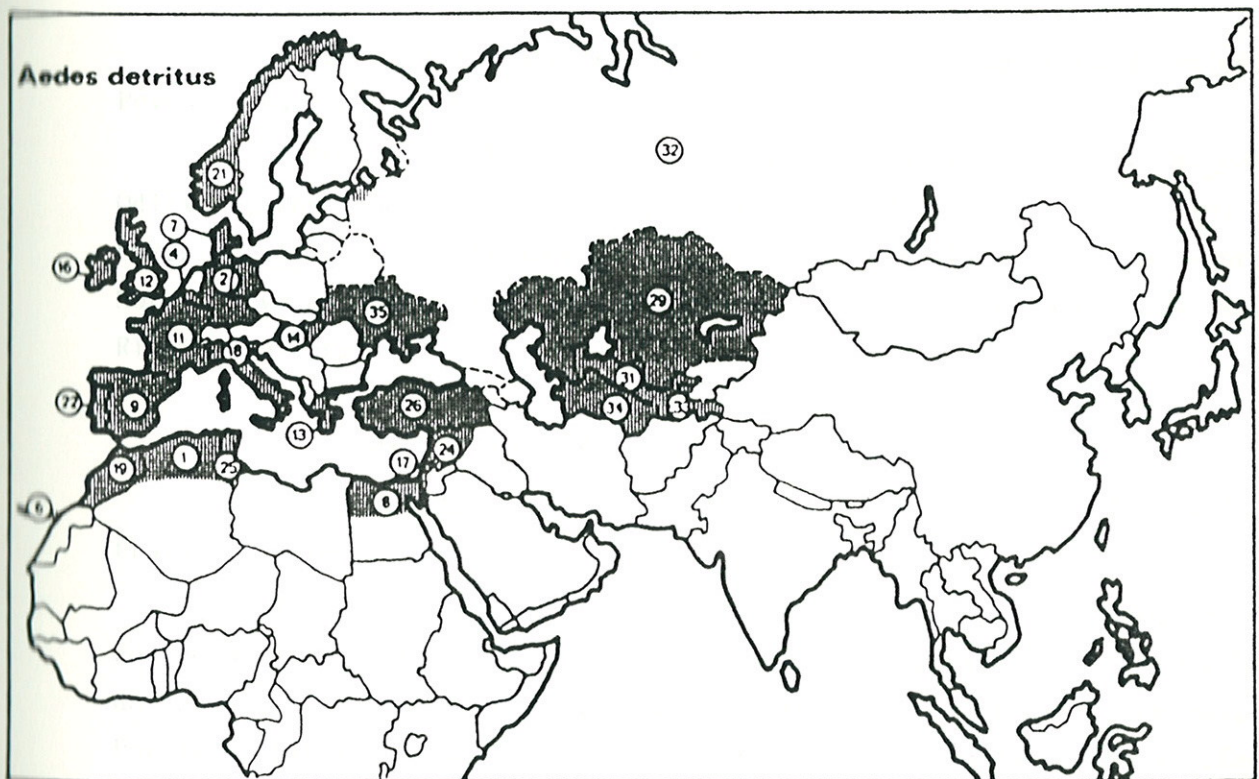
3.3 - Distribuição geográfica do Aedes caspius e do Aedes detritus, em Portugal

De um modo geral, estas duas espécies distribuem-se entre nós sobretudo nas regiões costeiras, de Caminha a Sagres e, na costa algarvia, de Sagres a Vila Real de Santo António. No entanto, Aedes caspius, devido ao seu forte poder de vôo aliado a uma elevada capacidade ecológica para frequentar criadouros menos salinos do que aqueles ocupados por Aedes detritus, penetra com relativa facilidade em zonas mais afastadas da costa e de altitudes mais elevadas.

Aedes detritus, apresenta-se como uma espécie essencialmente costeira, vivendo sobretudo em áreas de pouca altitude, geralmente ao nível do mar. Contudo, pode também colonizar biótopos mais interiores, como é o caso da estação constituída pelas marinhas de Rio Maior, distantes da costa, sensivelmente 25 a 30 quilômetros.



Mapa 1 - Distribuição conhecida de Aedes caspius s.l.
 Modificado de Gabinaud(1975). A numeração dos países está em conformidade com o texto.



Mapa 2 -Distribuição conhecida de Aedes detritus. Modificado de Gabinaud (1975). A numeração dos países está em conformidade com o texto.

Os dados que obtivemos permitem-nos afirmar que as duas espécies podem coexistir nos mesmos biótopos em vastas áreas, podendo ocorrer, no entanto, ligeiras diferenças na sua distribuição, em função das condições ecológicas prevalecentes nas colecções de água, de que se pode salientar o seu maior ou menor teor salino e bem assim a composição da vegetação associada aos criadouros. O mapa 3 assinala a distribuição, em Portugal, de Aedes caspius e de Aedes detritus s.l.

3.3.1 - Distribuição de Aedes caspius

3.3.1.1 - Colheitas efectuadas pelo autor, no âmbito do trabalho de tese.

Águas de Moura, Alcácer do Sal, Castro Marim, Esposende, Ferragudo, Ferrel, Foz do Arelho, Lagoa da Albufeira, Lagoa de Óbidos, Lagoa de Paramos, Ludo (Faro), Meia Praia (Lagos), Montijo, Olhão, Pancas, Peniche, Penina, Portimão, Praia da Areia Branca, Salir do Porto, Seixal, Torrão do Lameiro, Tróia, Vila Franca de Xira, Vila Nova de Milfontes, Vila Real de Santo António.

3.3.1.2 - Colheitas efectuadas por outros autores

Braga (1931) - Alcácer do Sal, Aveiro, Caminha, Leça da Palmeira, Póvoa do Varzim, Setúbal.

Ramos et al. (1977/78) - Castro Marim, Conceição de Tavira, Faro, Odiáxere, Portimão, Praia de Faro, Tavira, Vila Real de Santo António.

Pires et al. (1982) - Alcácer do Sal, Aviz (10 kms NW), Elvas, Montemor, Mora, Odivelas, Ribeira da Faniça, Ribeira da Gema, Ribeira de Odivelas, Ribeira de Tera.

3.3.2 - Distribuição de Aedes detritus

3.3.2.1 - Colheitas efectuadas pelo autor, no âmbito do trabalho de tese.

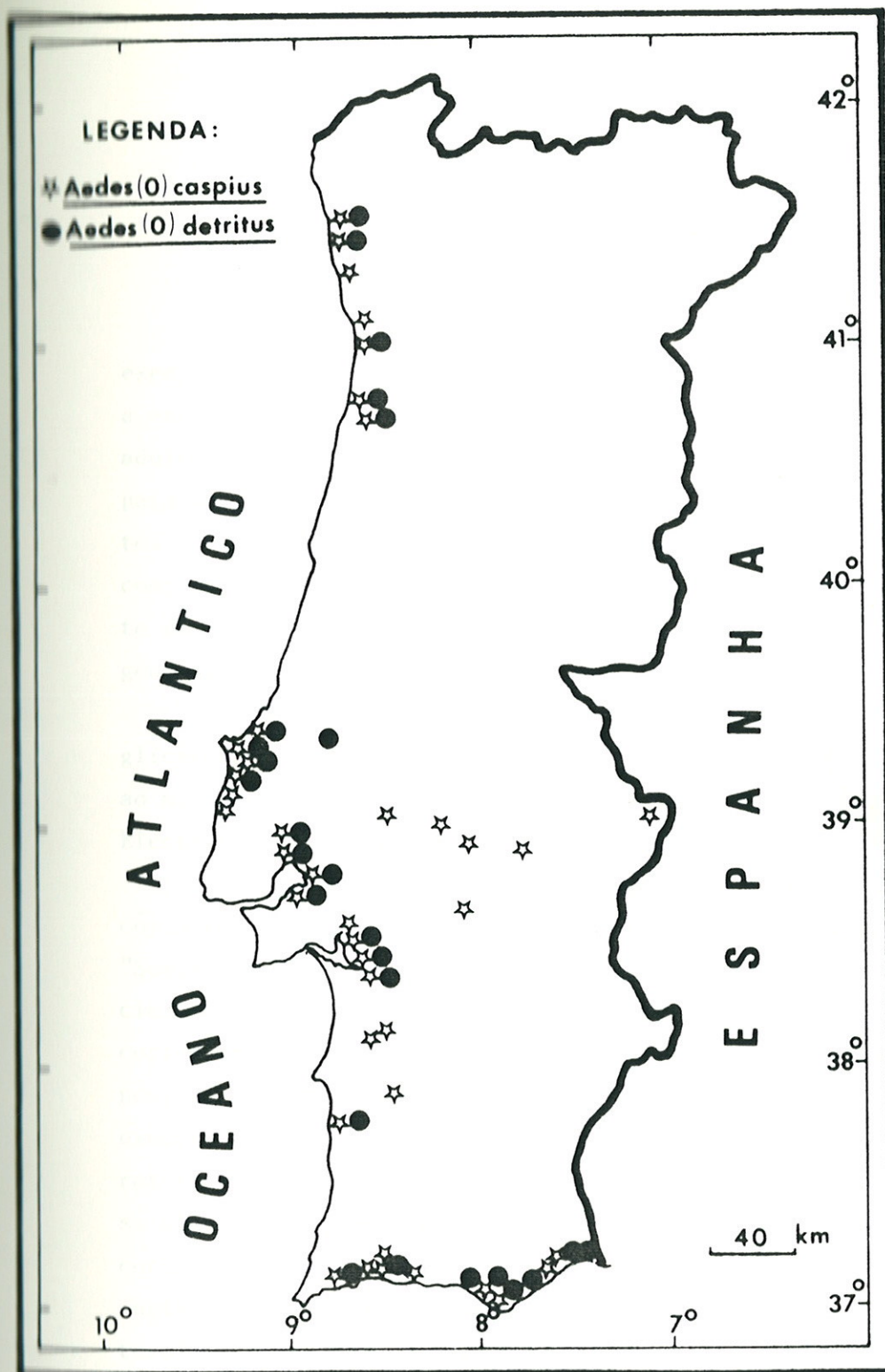
Águas de Moura, Alcácer do Sal, Castro Marim, Esposende, Ferrel, Foz do Arelho, Lagoa da Albufeira, Lagoa de Óbidos, Lagoa de Paramos, Ludo (Faro), Meia Praia (Lagos), Montijo, Olhão, Pancas, Peniche, Penina, Portimão, Ribeira de Alcantarilha, Rio Maior, Salir do Porto, Seixal, Tavira, Torrão do Lameiro, Tróia, Vila Franca de Xira, Vila Nova de Milfontes, Vila Real de Santo António.

3.3.2.2 - Colheitas efectuadas por outros autores.

Braga (1931) - Alcácer do Sal, Aveiro, Caminha, Leça da Palmeira.

Ramos et al. (1977/78) - Castro Marim, Lagos, Odiáxere, Portimão.

Pires et al. (1982) - Estuário do Sado, Rio Lavre.



MAPA 3 - Distribuição geográfica de Aedes (O.) caspius e de Aedes (O.) detritus, em Portugal.

PARTE IV

MATERIAL, TÉCNICAS E MÉTODOS

1 - TÉCNICAS GERAIS

O presente trabalho foi apoiado pelo estudo de cerca de 10 614 exemplares por nós colhidos. Destes, 6 324 correspondem a adultos e 4 290 a estados larvares e pupais. Para a análise taxonômica utilizaram-se 1 270 adultos e 4 290 larvas e pupas. Executaram-se 2 444 disseccões ováricas para detecção dos caracteres autogénico e/ou estenógamo e, em 2 610 adultos, foi ensaiada a análise electroforética de alguns sistemas enzimáticos, utilizando como substrato o gel de amido. Para o exame de grande parte do material foram feitas 4 290 preparações microscópicas e 1 270 montagens de adultos em duplo alfinete.

Os exemplares não preparados foram conservados em álcool a 70º glicerinado a 2%. As fotomicrografias dos ovos, foram obtidas com recurso ao microscópio electrónico de "varrimento", do Laboratório de Microscopia Electrónica da E.A.N.(Oeiras).

Para as fotomicrografias da nossa autoria, utilizámos um microscópio óptico Leitz SM LUX, equipado com máquina fotográfica ASHI PENTAX "Super A". Quanto às fotografias relativas aos locais de criação das espécies halófilas estudadas e aquelas efectuadas às manchas no gel de amido, correspondentes à migração das proteínas, foram igualmente efectuadas por nós, utilizando a máquina fotográfica acima referida. Os desenhos foram executados pela Sr^a. D^a. Maria Teresa Lopes, desenhadora do Museu e Laboratório Zoológico e Antropológico (Museu Bocage). Para a realização do nosso objectivo que envolvia a colheita, transporte, criação, preparação e conservação do material a estudar, tornava-se fundamental a existência de instalações adequadas. Sendo certo que existia já uma certa tradição entomológica no Museu Bocage e no Departamento de Zoologia, não é menos certo que no domínio dos insectos com interesse médico praticamente nada havia sido feito, nessas Instituições. Acresce ainda que no incêndio de 1978, que destruiu parte das instalações do Museu, foi destruído o insectário até então existente. Assim, foi necessário improvisarmos um pequeno insectário que constituiu um dos apoios fundamentais do nosso trabalho.

Para tal, adaptámos um vão de escada com duas divisões, cedido pelo Conselho Directivo da Faculdade de Ciências. Na primeira divisão, procedeu-se à instalação de um sistema automático regulável, permitindo efectuar variações do fotoperíodo, da humidade e da temperatura. Com material simples (relógio eléctrico para montras de estabelecimentos comerciais, humidificador, aquecedor eléctrico e termostatos) foi possível procedermos durante vários anos à criação e manutenção, em razoáveis condições das fases aquática e aérea dos mosquitos e outros insectos, especialmente no domínio das aulas práticas. Na segunda divisão, instalámos um pequeno laboratório, com duas bancadas, equipado com frigorífico, um estereomicroscópio, bem como com todo o material indispensável para as diferentes tarefas laboratoriais que se realizaram. Esta instalação serviu, simultâneamente de armazém para o material de colheita, preparação e conservação dos insectos. As adaptações e instalação de todo este sistema foram realizadas pelo autor com a colaboração gentil e graciosa do Sr. António Ribeiro, pai da Dr.^a Eugénia Ribeiro, ao tempo nossa aluna estagiária.

Para a fecundação artificial das fêmeas e confecção dos gels de amido, adaptámos a uma torneira uma trompa de vácuo em vidro, com duas saídas. Uma, de maior calibre, munida de um tubo de plástico com uma rolha de borracha na extremidade, servia para fazer a sucção sobre o gel de amido contido nos balões, a fim de extrair as bolhas de ar formadas aquando da "cozedura" do amido (desgazeificação). A outra, de menor calibre, ligada a um fino tubo de borracha flexível, tendo na extremidade uma pipeta de vidro, servia para "fixar" as fêmeas pelo tórax, a fim de se proceder à cópula artificial. A regulação da intensidade da sucção era feita através da maior ou menor abertura da torneira.

Não sendo nossa intenção desenvolvermos excessivamente esta parte do trabalho, achamos, no entanto, desejável e de utilidade abordar alguns aspectos de carácter geral relativos ao trabalho de campo e ao laboratorial, baseados na experiência adquirida ao longo do tempo, na execução do nosso trabalho.

Para o reconhecimento culicideológico geral de um território, que incluía uma forte componente laboratorial, como foi o caso do presente trabalho, são necessários gastos relativamente elevados em material de campo e de laboratório e a aplicação de algumas técnicas com um certo grau de elaboração. Assim, além da viatura para o exterior, é conveniente utili-

zar um estereomicroscópio e um microscópio de campanha. De grande utilidade é a adopção de uma bolsa entomológica de lona, onde se guardam fichas de campo, lanterna, algodão hidrófilo, bloco de apontamentos, lápis e borracha, tubo de captura bucal e/ou a pilhas, frascos que vedem bem com álcool a 70º glicerinado a 2%, soluto conservador para larvas e pupas, éter sulfúrico e água oxigenada. Uma bobine de adesivo, etiquetas autocolantes, sacos plásticos, lupa de bolso 10 a 15x, estojo com pinças, tesoura e pipetas de vidro com pera de borracha, de diversos tamanhos, são também indispensáveis. Alguns frascos de vidro de vários tamanhos são necessários para a fixação do material. O uso de bússula e mapas da região a prospectar são fundamentais. Para acesso às formas aquáticas dos mosquitos servimo-nos de botas de borracha de cano alto ou mesmo até à cintura. O vestuário deve ser simples e largo para facilitar os movimentos em terrenos acidentados. Como acessório indispensável deve transportar-se uma pequena caixa com material de primeiros socorros e uma máquina fotográfica para registar os locais de colheita

As formas imaturas dos mosquitos podem localizar-se numa grande variedade de habitats, como por exemplo, pequenos buracos de caranguejo em depressões no solo, axilas de plantas, folhas de árvore caídas, recipientes de uso doméstico e outros, até vastas colecções de água como rios, lagos, valas de irrigação, arrozais, salinas, paúis, etc.

As colheitas foram feitas geralmente com o auxílio de caços apropriados, em latão, com a forma aproximada de uma tijela de colo alto, munida com um cabo em madeira amovível, com cerca de 1,5 m de comprimento. O seu interior é pintado de branco a fim de facilitar a observação das larvas e pupas e possui uma rede para o escoamento da água, impedindo a saída do material. Por vezes, torna-se necessário recorrer a outro tipo de material, como tinas rectangulares de plástico ou esmalte branco, pipetas com pera de borracha, redes de malha apertada e frascos de sifonagem.

As larvas e pupas são delicadamente pipetadas para frascos de boca larga, com rolha de cortiça, tendo ao centro um orifício onde se introduz um tubo de vidro que coloca a água em contacto com o meio ambiente. Estes frascos são suportados por uma caixa em madeira, designada cêpo, que permite o seu transporte para o laboratório em boas condições.

Para a detecção dos caracteres autogénico e estenogâmico, nas populações de Aedes detritus e Aedes caspius, foi necessário proceder à criação laboratorial de larvas, pupas e adultos que consiste, fundamentalmente, no seguinte:

2 - CRIAÇÃO LABORATORIAL

2.1 - Criação das larvas e pupas

As larvas são pipetadas para tinas de plástico branco ou tijelas de esmalte da mesma cor, com a capacidade aproximada de 2 litros, contendo água com salinidade média de 15 gramas por litro de cloreto de sódio, que parece ser o ótimo para o desenvolvimento dos estados imaturos. Como alimento, é-lhes fornecida uma mistura moída em almofariz, de biscoito para cão, pó de fígado e levedura de cerveja. Estas tinas são cobertas com tule, provido de bainha, na qual se aplicam pedaços de chumbo que a tornam pesada, com o objectivo de evitar a entrada de agentes externos, na tina. O desenvolvimento do material processa-se no insectário com temperatura, humidade e fotoperíodo reguláveis. O termoperíodo (15°C de noite e 25°C de dia) é regulado por dois termostatos ligados a um mecanismo de relógio que igualmente controla o fotoperíodo (18 horas de luz, 6 horas de escuridão). A humidade (80%) é mantida por meio de um humidificador regulável de razoável sensibilidade. A água das tinas de criação é mudada três vezes por semana, renovando-se também o alimento. Este, não deve ser em excesso pois, desse modo, ocasiona a instalação de fungos que podem ser letais para as larvas. As pupas são retiradas com a utilização da pipeta e colocadas em boiões de vidro ou copos de plástico, contendo 2/3 de água, vedados com gaze fixada por meio de um elástico. Estas pupas são mantidas no insectário e os adultos resultantes eclodem numa atmosfera com cerca de 80% de humidade realtiva.

2.2 - Criação de adultos

Após eclosão, os adultos são separados por sexos. Os machos colocam-se numa gaiola de rede com 25x25x25 cm e as fêmeas são alojadas em copos de vidro, em que cerca de 1/8 do fundo é revestido com gesso. Este, coberto com uma folha de papel de filtro, destina-se à absorção de água, mantendo-se assim um ambiente húmido desejável para a sobrevivência das fêmeas. Para tapar os copos utiliza-se um pedaço de gaze fixada com um elástico. As fêmeas são alimentadas com uma solução açucarada de água e mel (3 colheres de chá de mel para 1 copo de água), com que se impregna um pequeno pedaço de algodão hidrófilo, colocando-o sobre a gaze da abertura.

Diariamente, os algodões são verificados e, se necessário, juntam-se algumas gotas da solução açucarada.

Para a realização dos testes da autogenia as fêmeas são mantidas

durante 20 dias, nestas condições. Ao mesmo tempo que se procede à criação das fêmeas assim isoladas, poderão criar-se machos e fêmeas conjuntamente, em gaiolas apropriadas de rede com 15 ou 25 cm de aresta. O procedimento para a manutenção é, em tudo, semelhante. As gaiolas suportam, em condições aceitáveis, 50 machos e 50 fêmeas ou 100 machos e 100 fêmeas, respectivamente. O algodão será colocado, neste caso, sobre a rede na parte superior da gaiola. Nas experiências que efectuámos utilizámos fêmeas isoladas e fêmeas mantidas conjuntamente com os machos. Este procedimento tem a vantagem de permitir, simultâneamente, a detecção dos caracteres autogénico e esténogamico.

3 - TÉCNICAS DE DISSECÇÃO DOS OVÁRIOS E DAS ESPERMATECAS

Ao fim de vinte dias, as fêmeas são anestesiadas com éter etílico ou clorofórmio e colocadas numa lâmina de vidro com uma gota, não muito abundante, de sorofisiológico. A dissecção é feita ao estereomicroscópio (Wild M₅), no nosso caso) com o auxílio de 2 agulhas. Com uma delas, segura-se o exemplar e, com a outra, faz-se uma ligeira pressão entre o VIII e o IX segmento abdominal de modo a separá-los. Esta operação é executada com a extremidade do abdómen mergulhada no líquido fisiológico. Fazendo uma ligeira tracção dos dois últimos segmentos, logo surgem os ovários e as espermatecas (no género Aedes em número de três). A iluminação do estereomicroscópio deve ser feita de modo a conseguir-se um contraste que favoreça a observação dos folículos ováricos e das espermatecas. Após procedermos à separação e limpeza do material dissecado, coloca-se uma lamela com uma gota de soro fisiológico sobre o todo e procede-se à sua observação, ao microscópio óptico (neste caso LEITZ SM LUX). Esta observação, permite determinar o grau de desenvolvimento dos ovócitos, de acordo com a escala de Christophers (1911) e verificar se as espermatecas se encontram cheias ou vazias de espermatozóides. Esta técnica permite também o isolamento e o exame dos ovariolos, separando-os do oviducto interno. Deste modo, pode contar-se o número de dilatações do folículo, avaliando-se assim quantos ciclos gonadotróficos a fêmea realizou.

A autogenia é determinada pela carga em vitelo nutritivo existente nos folículos ováricos ao vigésimo dia ou através das posturas que as fêmeas eventualmente efectuem, nesse período. Considera-se como autogénica toda a fêmea que apresente um ou mais ovariolos desenvolvidos para além do estado III da escala de Christophers, inclusivé.

Por vezes, é necessário fornecer-mos refeições sanguíneas às fêmeas em experimentação, recorrendo a coelhos, pombos ou outros animais de laboratório. No desenvolvimento do presente trabalho, alimentámos algumas dezenas de fêmeas nos nossos braços. A fêmea é aspirada e colocada num pequeno tubo de vidro e posta em contacto com o corpo do dador (geralmente na parte ventral dos pulsos) demorando de 1 a 3 minutos para se engorgitar, de acordo com a sua apetência.

Para obtenção das posturas procedemos ao isolamento das fêmeas em tubos de vidro com cerca de 2cm de diâmetro e 6 cm de comprimento, tendo no fundo um pedaço de algodão humedecido, coberto com uma rodela de papel de filtro. A abertura é tapada com um pedaço de gaze fixada com elástico.

As montagens e observação do material são realizadas ao estereomicroscópio e ao microscópio óptico. As larvas do 4º estado são montadas no meio de montagem polivinil-cloral-formo-fenol (PCFF) (Ribeiro, 1962), à base de álcool polivinílico, que se tem revelado de grande eficácia por aliar a uma secagem relativamente rápida um fácil manuseamento.

Procedemos também à montagem de ovos, neste meio, tendo obtido bons resultados. As lâminas são guardadas em livros porta lâminas apropriados com capacidade para 400 unidades. Os adultos são montados em duplo alinete, etiquetados e espetados com o auxílio de uma pinça de "Cresson" em caixas entomológicas que podem albergar cerca de 70 exemplares.

A fim de evitar a instalação de fungos ou a penetração de insectos nocivos para as colecções, as caixas são pinceladas interiormente, no início, e, periodicamente, com um soluto fungicida, composto por benzina, naftalina em pó, creosota e cristais de timol.

4 - TÉCNICA DE FECUNDAÇÃO ARTIFICIAL

Com a finalidade de obtermos posturas de ovos viáveis, procedemos à fecundação artificial ou cópula forçada das fêmeas usando a técnica de Mac Daniel e Horsfall (1957).

Para a sua execução devem utilizar-se machos jovens (48 horas) cuja genitália tenha feito a rotação completa e com algumas horas de jejum. Os machos são recolhidos com o auxílio de um tubo de borracha de pequeno calibre, munido de uma pipeta de vidro na extremidade, sendo ligado à trompa de vácuo já referida. São atravessados lateralmente, ao nível do tórax,

com uma agulha de dissecação. Seguidamente são decapitados e desprovidos das patas. As fêmeas, com cerca de 48 horas, são anestesiadas em vapores de éter. Durante a operação elas são "fixadas" e mantidas pelo mesonoto, com o auxílio do tubo capilar assinalado, ligado à trompa de vácuo, regulando-se a aspiração com suavidade, através da torneira de água. A cópula é realizada sob observação estereomicroscópica. O macho é colocado perpendicularmente ao eixo longitudinal da fêmea, colocando-se a extremidade ventral do abdómen desta, entre os forcípulos do macho. Estes, fecham-se rapidamente, abrindo-se em seguida, amplamente. A faloteca projecta-se para o exterior, o pênis desenvagina-se e penetra no orifício vaginal. O macho é então basculado dorsalmente no prolongamento da fêmea. Uma pequena tracção para trás permite a desenvaginação completa dos últimos segmentos do abdómen. A inseminação dura alguns segundos, sendo a fêmea seguidamente colocada numa gaiola ou em tubos servindo de berçários.

Com esta técnica, no nosso laboratório, obtivemos a inseminação de 4 fêmeas, utilizando 1 só macho.

Para além destas técnicas e métodos, procedemos ainda à análise biométrica e enzimática do material colhido.

5 - TÉCNICAS MORFOMÉTRICAS

Sendo aceite que o conjunto dos dados morfológicos, ecológicos, fisiológicos e outros, característicos de um determinado grupo taxonómico é de grande importância para a compreensão do seu passado e dos mecanismos responsáveis pelo seu "status" actual, facilmente nos apercebemos que para a caracterização de qualquer entidade taxonómica e para a comparação objectiva de várias entidades é imprescindível a utilização de métodos quantitativos de análise dos dados qualitativos ou quantitativos obtidos. Assim, do ponto de vista biométrico aplicámos às amostras recolhidas a análise monofactorial dos ovos, larvas do 4º estado, pupas e adultos. Para as larvas achámos de interesse a utilização da análise discriminante que permitiu a obtenção de uma função discriminante para as larvas do 4º estado de Aedes detritus (A) e Aedes detritus (B), espécies gémeas detectadas na nossa culicidaeofauna, através do presente estudo.

6 - TÉCNICAS ELECTROFORÉTICAS

A análise de alguns sistemas enzimáticos, efectuada sobretudo em exemplares adultos, foi feita por meio de electroforese, usando como substrato o gel de amido.

Esta permite a revelação de certas diferenças existentes na constituição química das proteínas. Uma vez que cada proteína ou cada cadeia polipeptídica está sob a dependência de um gene, é possível detectar modificações que ocorram no gene em si, isto é, ao nível da cadeia do ácido desoxiribonucleico. Efectivamente, cada cadeia polipeptídica resulta da concatenação de ácidos aminados. Sendo estas moléculas carregadas eléctricamente, as proteínas ^{substituídas ou alteradas} que os compoem são-no igualmente. Sujeitas a um campo eléctrico, elas deslocar-se-ão com velocidades tanto maiores quanto a sua carga seja elevada. Caso se produza uma mutação no interior de um gene (substituição de um nucleótido por outro, delecção ou adição de um ou mais nucleótidos), haverá lugar na proteína que ele codifica à mudança de pelo menos um ácido aminado. Se o ácido aminado original é substituído por um outro com uma carga eléctrica diferente, então a carga global (ou carga bruta) da proteína, será também modificada. Assim, a nova proteína terá uma mobilidade electroforética diferente. Segundo (Harris, 1970; Schaw, 1970) estima-se que sómente um terço das mutações modifica a carga global da proteína. As proteínas mudadas são designadas por aloproteínas ou proteínas alelomórficas ou ainda alozimas se a proteína possuir uma função enzimática (Prakash et al., 1969).

A técnica utilizada foi a seguinte:

A electroforese é realizada sobre um substrato de gel de amido "Sigma", hidrolizado. Cada gel é colocado num molde de plexiglass de 19x21x1 cm. As soluções tampões utilizadas são as descritas por Selander et al. (1971)

Tampão gel (pH 8,0) : 22,89 mM tris

5,22 mM ácido cítrico

ou seja: 2,77 g de tris

1,10 g de ácido cítrico monohidratado

diluição em um litro de água desionizada

Tampão eléctrodos (pH 8,0) : 0,687 M tris

0,157 M ácido cítrico

ou seja: 83,2 g tris

30,0 g ácido cítrico monohidratado

diluição em um litro de água desionizada

Tampão GOT e α -GPD (pH 8,0) : 0,2 M tris-HCl e Mdh

ou seja: 24,2 g tris

diluição em um litro de água desionizada, ajustar a pH 8,0 com HCl concentrado.

Mistura fixadora: uma parte de ácido acético
cinco partes de metanol
cinco partes de água desionizada

Preparação dos gels:

Num Erlenmeyer de 1 litro contendo 45 g de amido adicionado de alguns miligramas de E.D.T.A., vertem-se 450 ml de Tampão "Gel". Coloca-se o conjunto sobre uma chama forte, agitando constantemente. O tempo de "cozedura" óptimo depende, em parte, do amido utilizado. O gel é em seguida desgazeificado, com a utilização de uma trompa de vácuo e vertido para um molde em plexiglass. Deixa-se arrefecer e cobre-se com plástico fino a fim de evitar a dessecação. Estes gels, podem ser utilizados após exposição de cerca de 12 horas, à temperatura ambiente.

Preparação das amostras:

Cada mosquito é colocado numa cavidade de uma placa de plexiglass que contém 30 orifícios cilíndricos de 2 mm de diâmetro e 5 mm de profundidade. Em cada orifício são introduzidos 15 μ l de água desionizada, com o auxílio de uma micropipeta regulável ou uma seringa e agulha hipodérmica.

O mosquito é esmagado com uma vareta de vidro aplicada a um motor eléctrico com movimentos rotatórios rápidos e reguláveis. O mesmo efeito pode ser obtido, segurando firmemente a vareta entre os dedos polegar e indicador da mão e efectuando movimentos de rotação dextrógiros e levógiros, alternadamente. É necessário esmagar totalmente o insecto, mas não se deve prolongar este tratamento, pois uma elevação de temperatura poderá desnaturar certas proteínas. O extrato que assim se obtém é absorvido por pequenos rectângulos de papel de cromatografia Whatman nº3 de 3x10 mm, que se introduzem individualmente em cada cavidade. Logo que estes absorvam todo o extrato, são retirados com uma pinça e colocados, verticalmente, numa fenda praticada a 5 cm do bordo do gel que ficará do lado do cátodo. Nesta fenda depositam-se algumas gotas de azul de bromofenol (é suficiente molhar a ponta do bisturi), corante que tem a propriedade de migrar como a proteína mais rápida. Quatro ou cinco destes papéis contêm extrato de mosquitos testemunhas. A estes mosquitos servindo de testemunha, foi determinada a mobilidade electroforética da enzima estudada. No nosso caso, utilizámos, de início, exemplares adultos de Aedes (O.) caspius (pallas, 1771) estirpe do Cairo autógena, gentilmente cedida pelo Professor Rioux, da Faculdade de Medicina de Montpellier. Posteriormente, passámos a utilizar Aedes

(O.) detritus (Haliday, 1833) de Rio Maior, por apresentar mobilidade electroforética idêntica à da estirpe de Aedes caspius do Cairo, relativamente às enzimas ensaiadas.

Electroforese propriamente dita

O molde contendo o gel de amido é colocado sobre duas tinas com eléctrodos, cheias de solução tampão apropriada. Na nossa experiência usámos uma solução de "Tris-citrato" de pH 8,0. Os eléctrodos de platina, mergulham nesta solução e são ligados a bornes de uma fonte alimentadora de corrente contínua (modelo "Gelman" 500 V, 125 mA). O contacto entre o gel e a solução tampão é assegurado por intermédio de dois rectângulos, de tecido esponjoso sintético. Os rectângulos, dobrados em ângulo recto, mergulham uma parte na tina com os eléctrodos e a outra parte ao longo de todo o comprimento do gel.

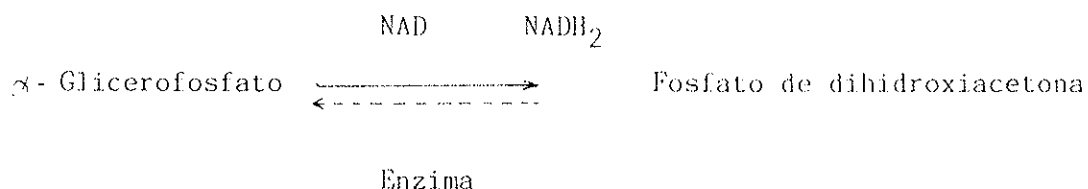
Com os valores de pH com que trabalhámos, as amostras foram colocadas do lado do cátodo e a electroforese decorreu com uma tensão aproximada de 100 volts. Durante a experiência, deve ajustar-se, continuamente, a intensidade da corrente a 100 mA.

Para evitar que as enzimas contidas em cada amostra se desnaturem, é necessário realizar a electroforese a baixas temperaturas. Para isso, cobre-se o gel com uma placa de vidro sobre a qual se coloca um tabuleiro metálico (alumínio, por exemplo) contendo gelo em pedaços a que se poderá adicionar sal de cozinha, para baixar o seu ponto de fusão. Nestas condições, a migração dura entre 5 a 8 horas, considerando-se como suficiente logo que o azul de bromofenol, tenha migrado cerca de 7 cm. O gel é então cortado em 4 fatias de 2 mm de espessura, utilizando uma espécie de "serrote" fabricado com corda de guitarra, bem esticada, por meio de um parafuso. As fatias superior e inferior (1mm) são eliminadas. Este processo, permite estudar quatro sistemas enzimáticos por gel, para as 30 amostras da experiência. No laboratório de electroforeses da Faculdade de Medicina de Montpellier (Prof. Rioux) e no Laboratório de electroforeses da Faculdade de Ciências de Montpellier (Doutora N. Pasteur) ensaiámos diversos sistemas enzimáticos. Porém, para o material em estudo, concluiu-se que era desnecessário prosseguir o trabalho com todos os sistemas até então postos em prática, uma vez que o α -GPD e o GOT-2 se revelaram suficientemente discriminantes para as espécies de mosquitos em análise. Assim, tornou-se mais fácil e muito menos onerosa a nossa tarefa.

Por tal motivo, em Portugal, ensaiámos sómente o α -GPD e o GOT-2 que abordaremos seguidamente, de modo sucinto.

α - Glicerofosfato dehidrogenase (α -GPD)

Nos invertebrados, em princípio, encontram-se na cadeia de oxidação celular duas α -Glicerofosfato dehidrogenase, uma no citoplasma e outra nas mitocôndrias. A reacção é a seguinte:

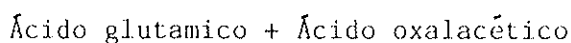
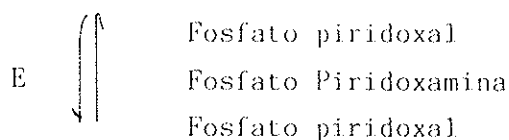
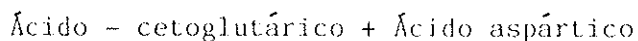


Técnica de coloração

Coloca-se a fatia de gel na tina que contém 40 ml de uma solução de tampão Tris-HCl 0,05 M com pH 8,0, à qual se acrescentam 100 mg de Glicerofosfato (Sigma), 1 ml de solução de Nicotinamida-Adenida-Dinucleotídeo (N.A.D.) (Boehringer) a 1% e 1 ml de solução a 1% de Nitro-Azul-Tetrazolio (N.B.T.) (Sigma) e 4 gotas de uma solução a 1% de Metasulfato de Fenazina (P.M.S.) (Sigma). Efectivamente, cora-se o íão H^+ que aparece. O NAD é a coenzima, o α -Glicerofosfato o substrato, sendo o PMS um transportador de electrões. As manchas correspondentes ao α -Glicerofosfato dehidrogenase, aparecem em cerca de meia hora. Finalmente, pode fixar-se o gel e arquivar-se num frigorífico.

- Glutamato-oxalacetato transaminase (GOT-2)

As transaminases catalizam a transferência de grupos aminas (processo chamado transaminação). Esta transaminação necessita da presença de uma coenzima, papel aqui desempenhado pelo 5' - Fosfato piridoxal que assegura a transferência, tornando-se transitóriamente Fosfato de Piridoxamina, segundo a reacção:



Técnica de coloração

Em 40 ml de tampão Tris-HCl 0,05 M, pH 8,0, dissolvem-se os seguintes produtos:

200 mg de Ácido aspártico (Boheringer)

100 mg de Ácido cetoglutárico (Boheringer)

10 mg de 5' Fosfato piridoxal (Sigma)

O pH desta solução não deve ser inferior a 7,0; os ajustamentos são feitos com uma solução de Tris. O gel é colocado em 40 ml desta solução à temperatura ambiente. Ao fim de 25 minutos, acrescenta-se 150 mg de "Fast blue BB" (Sigma) que dissolvemos o melhor possível. As manchas correspondentes aos dois Glutamato-oxalacetato-transaminase, surgem após cerca de cinco minutos. Passados quinze a vinte minutos, pode proceder-se à lavagem do gel em água corrente e à sua fixação e arquivo.

7 - DESCRIÇÃO DAS ESTAÇÕES DE COLHEITA DO MATERIAL ESTUDADO

O mapa 3 assinala as estações de colheita de Aedes detritus e de Aedes caspius.

A - Esposende

Criadouro de carácter temporário constituído por depressões no terreno, junto à foz do rio Cávado. Na bordadura existe vegetação diversa, predominando Juncus maritimus associado aos locais de postura. A água apresenta variações na salinidade ao longo do ano (figura 3), tendo-se registado um mínimo de 42,09 g/litro de NaCl, em Fevereiro e Maio, respectivamente. O local é inundado periódicamente pelas águas do rio. Porém, as colecções que subsistem mais tempo são originadas pelas águas das chuvas que se acumulam nas zonas mais elevadas e afastadas da foz. O local é utilizado para pastagem, sendo frequente a permanência de bovinos que constituem uma excelente fonte alimentar para os adultos de Aedes detritus e de Aedes caspius que vão acodindo.

B - Lagoa de paramos

Esta lagoa é de carácter permanente, embora em certos meses do ano haja um abaixamento significativo das suas águas, ficando reduzida praticamente a pequenas valas de drenagem. As águas são salôbras sofrendo a influência

das marés e de um pequeno ribeiro que nela desagua. A vegetação é exuberante e composta fundamentalmente por Juncus sp., em estreita associação com os locais de postura dos mosquitos. O local é frequentado por aves e mamíferos, sendo contíguo a um campo de aviação militar junto à praia. As salinidades encontradas no período em que se realizaram as colheitas (figura 4), oscilaram entre 0,93 e 13,0 g/litro de NaCl, em Setembro e Abril, respectivamente. Na foto nº.1 pode observar-se uma das muitas colecções de água da Lagoa de Paramos que constituem um excelente criadouro das espécies halófilas em estudo.

C - Torrão do Lameiro

Local situado nas margens da ria de Aveiro, constituindo extensos paúis, onde proliferam Juncus maritimus, Arthrocnemum perene, junto à raiz dos quais as fêmeas de Aedes detritus e de Aedes caspius depositam, frequentemente, os seus ovos. As águas são salôbras e os criadouros temporários. As depressões no terreno, quando secas, servem para pastagem e agricultura, sobretudo a cultura do milho. As chuvas aumentam substancialmente esta área de criação e, misturando as suas águas com água salôbra da ria, fazem baixar consideravelmente o seu teor em NaCl. As salinidades observadas (figura 5), variaram entre 0,23 e 30,74 g/litro de NaCl, em Janeiro e Abril, respectivamente.

D - Rio Maior

As marinhas de Rio Maior têm a particularidade de distar da costa atlântica cerca de 25 quilómetros. São exploradas há vários séculos e constituem um óptimo criadouro, no interior do território, para Aedes detritus que aí deve ter sido introduzido pelo Homem, nas formas imaturas (ovo, larva ou pupa). A paisagem circundante é tipicamente rural, com diversas culturas (vinha, árvores de fruto, produtos hortícolas variados). A exploração das salinas é feita a partir de águas interiores (minas de salgema) trazidas à superfície por meio de motores eléctricos, adaptados aos poços. Esta água é conduzida para tanques (talhos) em cimento, onde se dá a evaporação e formação do sal. Não existe qualquer tipo de vegetação associada aos tanques o que torna um tanto ou quanto incaracterístico o local de deposição das posturas, de Aedes detritus.

Aliás, esta é a única espécie presente nestas colecções de água, em que a salinidade é, geralmente, alta. Dadas as suas características um tanto peculiares (afastamento da costa, ausência de vegetação, alto teor salino das suas águas) decidimos estudar mais detalhadamente a variação da autogenia nesta estação, o que foi facilitado pela sua relativa proximidade de Lisboa. Os doseamentos de NaCl (figura 6) deram os valores de 69,56 e 18,1 g/litro, como máximo e mínimo, nos meses de Novembro e Fevereiro, respectivamente. A foto nº. 2 dá uma ideia do tipo de salinas e das diferentes colecções de água existentes.

E - Pancas

Criadouro constituído por valas de irrigação das salinas, do local denominado Vasa Sacos. Predominância de Phragmites sp., Atriplex portucaloides, Arthrocnemum fruticosum e Arthrocnemum perene na bordadura das valas, o que facilita excelente suporte para as posturas aí colocadas pelas fêmeas de Aedes detritus e de Aedes caspius. Toda a área é de pastagens e agricultura. Em Fevereiro as águas tinham um teor salino de 10,24 g/litro e, em Março, 16,13 g/litro de NaCl.

F - Águas de Moura

Local constituído por salinas servidas por valas de água salgada proveniente do oceano. Nas margens observa-se vegetação tipicamente halófila, sobretudo A. fruticosum e A. perene. Esta zona é essencialmente de carácter agro pecuário, com forte componente do sobreiro (Quercus suber) e de extensos arrozais. O teor das águas em NaCl doseado foi de 54,77 g/l em Fevereiro, 22,09 em Janeiro e 9,54 g/litro em Dezembro.

G- Milfontes

Este criadouro situa-se junto à foz do rio Mira, numa depressão com características de vale e é constituído, fundamentalmente, por valas profundas de abastecimento de água às salinas, aí existente. Além da água do oceano, algumas das valas são também supridas com a água das chuvas, por longos períodos. Das flutuações do nível das águas e da mistura água doce/água salgada, resulta uma acentuada variação do teor em NaCl, ao longo dos meses do ano, atingindo-se o valor máximo (73,7 g/l) em Junho e um mínimo (2,1 g/l) em Dezembro, conforme se pode verificar consultando a figura 7.

Pelas suas características particulares, esta estação serviu também, tal como a de Rio Maior, para estudos mais regulares sobre a variação da autogenia. A foto nº.3 fornece uma panorâmica dos locais de criação de Aedes detritus, espécie B e de Aedes caspius, espécie associada.

H- Lagos (Meia Praia)

Local constituído por valas de água salgada proveniente das marés. Nas suas margens existe Arthrocnemum perene e A. fruticosum em grande densidade e Juncus maritimus. As águas misturam-se facilmente com as das chuvas na época própria. Aquando da ocorrência de marés vivas, há inundação dos terrenos mais elevados em que a água permanece algum tempo, dando lugar à proliferação de locais de criação de mosquitos. Esta área é de natureza turística, embora ainda subsistam explorações agrícolas e alguma pecuária.

Os doseamentos efectuados ao longo de quatro anos consecutivos (figura 8), forneceram um valor máximo para o teor de NaCl em Novembro (71,20 g/l) e um mínimo em Janeiro (5,26 g/l). A foto nº. 4 ilustra os locais de criação, nesta zona.

I - Faro (Ludo)

Salinas existentes na reserva natural do Ludo, junto à faixa marítima em terrenos agro-pecuários. As valas de abastecimento são profundas e revestidas por Arthrocnemum perene e A. fruticosum. Existem ainda Juncus maritimus e Atriplex portucaloides. Há uma vasta área de sapal em que predominam A. fruticosum e A. perene servindo de excelente criadouro para Aedes detritus e Aedes caspius.

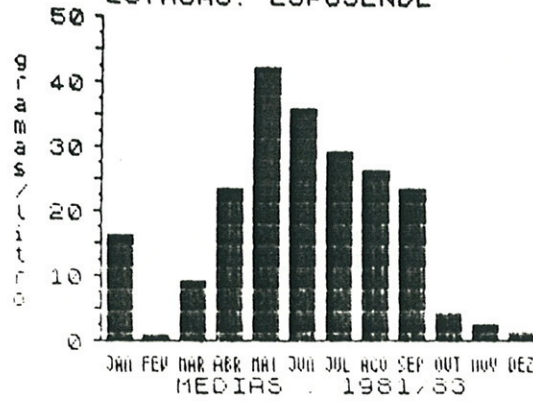
A influência das marés faz-se sentir periodicamente com abaixamento e subida do nível das águas nas valas mais profundas, o que reduz significativamente a presença das espécies halófilas. No sapal há mistura de água das chuvas que aí permanece acumulada, fazendo baixar o teor salino das águas. No entanto, é em pequenas colecções existente nestas zonas que melhor se desenvolvem as larvas dos mosquitos. A salinidade das águas (figura 9), revelou um mínimo de 2,45 g/l de NaCl em Janeiro e um máximo de 131,88 g/l, em Maio. A foto nº. 5 mostra o tipo de criadouros existentes nesta estação.

J - Castro Marim

Criadouro situado na reserva natural de Castro Marim, em grande parte constituido por sapal e salinas onde proliferam várias espécies vegetais halófilas, tais como: Atriplex portucaloides, Arthrocnemum perene, A.glaucum, A. fruticosum, Juncus maritimus e Juncus subulatus. Esta vegetação está repartida de acordo com o grau de salinidade dos terrenos. Nas zonas de maior concentração salina (valas e leito das salinas) existe A. glaucum, bem adaptado a estas salinidades altas, enquanto que Juncus maritimus se apresenta nas zonas de menor teor em NaCl. Tal diversidade florística, com sucessões ao longo do ano, confere um excelente suporte físico para as populações halófilas dos mosquitos (Aedes detritus e Aedes caspius que depositam os ovos nas anfractuosidades destes terrenos, preferencialmente junto às raízes das plantas.

Esta estação reúne boas condições para a criação, manutenção e propagação das espécies assinaladas, que aí atingem elevadíssimas densidades. O teor em NaCl (figura 10), nas amostras de água doseadas, deu valores de 4,79 g/l em Janeiro e o máximo de 50,97 g/l em Junho. A foto nº.6 mostra diversos aspectos das áreas de criação destas espécies halófilas.

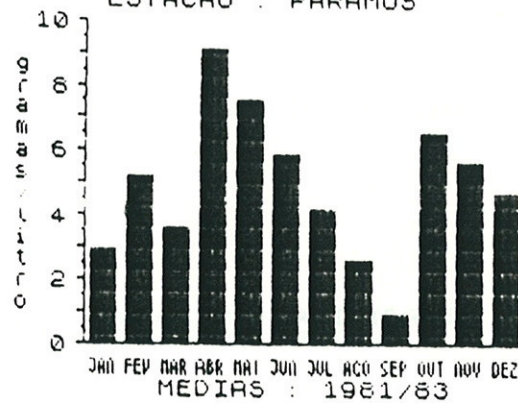
VARIACAO ANUAL DA SALINIDADE
ESTACAO: ESPOSENDE



CHAVE ■ = ESPOS.

Figura 3 - Variação anual da salinidade (NaCl) na estação de colheita de Esposende.

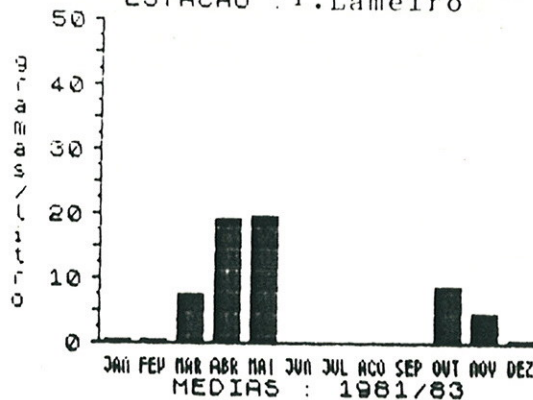
VARIACAO ANUAL DA SALINIDADE
ESTACAO: PARAMOS



CHAVE ■ = PARAMOS

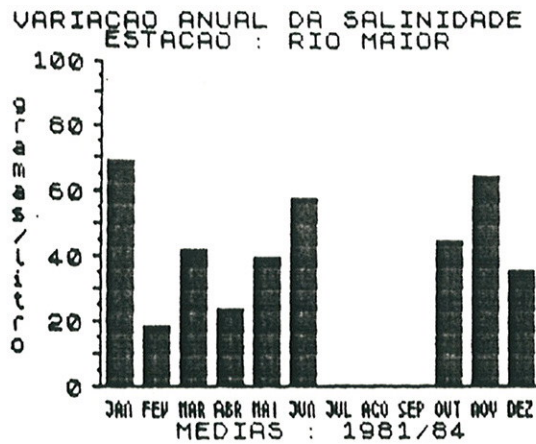
Figura 4 - Variação anual da salinidade (NaCl) na estação de colheita da Lagoa de Paramos.

VARIACAO ANUAL DA SALINIDADE
ESTACAO: Lameiro



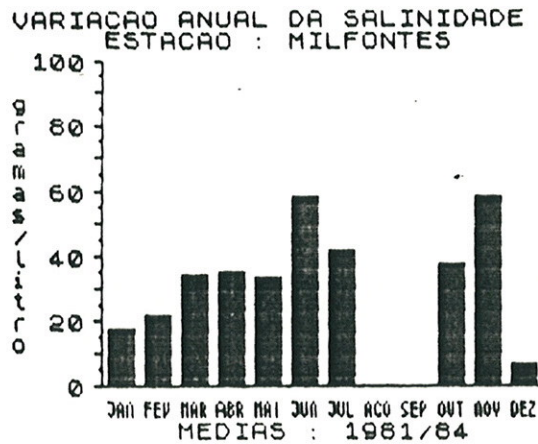
CHAVE ■ = LAMEIRO

Figura 5 - Variação anual da salinidade (NaCl) na estação de colheita do Torrão do Lameiro.



CHAVE ■ = R. MAIOR

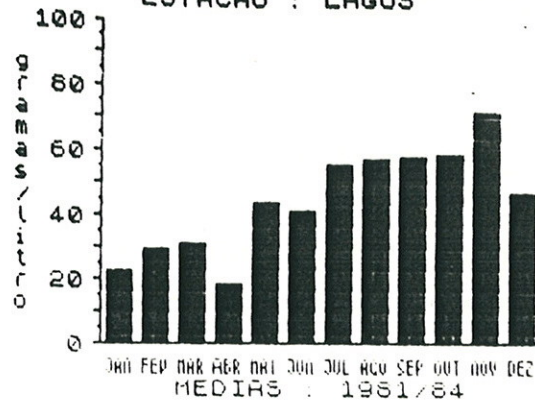
Figura 6 - Variação anual da salinidade (NaCl) na estação de colheita de Rio Maior.



CHAVE ■ = MILFONT

Figura 7 - Variação anual da salinidade (NaCl) na estação de colheita de Milfontes.

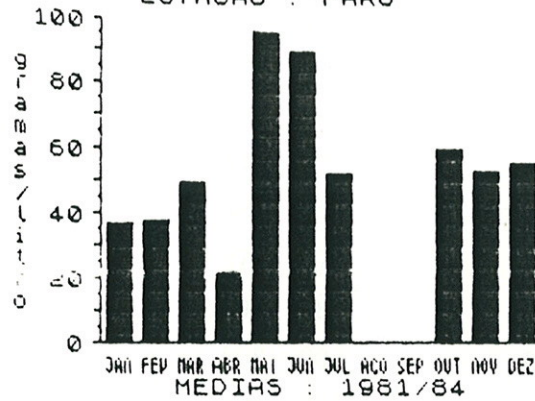
VARIACAO ANUAL DA SALINIDADE
ESTACAO : LAGOS



CHAVE ■ = LAGOS

Figura 8 - Variação anual da salinidade (NaCl) na estação de colheita de Lagos (Meia Praia).

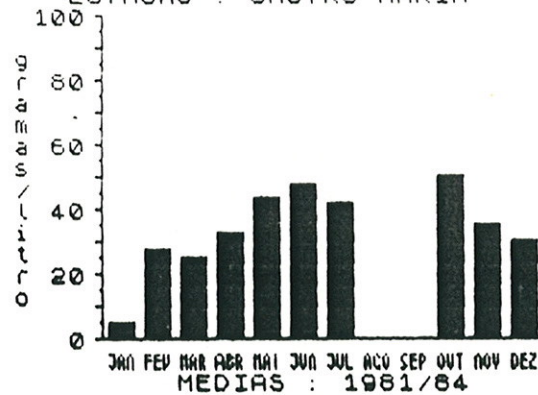
VARIACAO ANUAL DA SALINIDADE
ESTACAO : FARO



CHAVE ■ = FARO

Figura 9 - Variação anual da salinidade (NaCl) na estação de colheita de Faro (Ludo).

VARIACAO ANUAL DA SALINIDADE
ESTACAO : CASTRO MARIM



CHAVE ■ = C. MARIM

Figura 10 - Variação anual da salinidade (NaCl) na estação de colheita de Castro Marim.

Lista das localidades de colheita

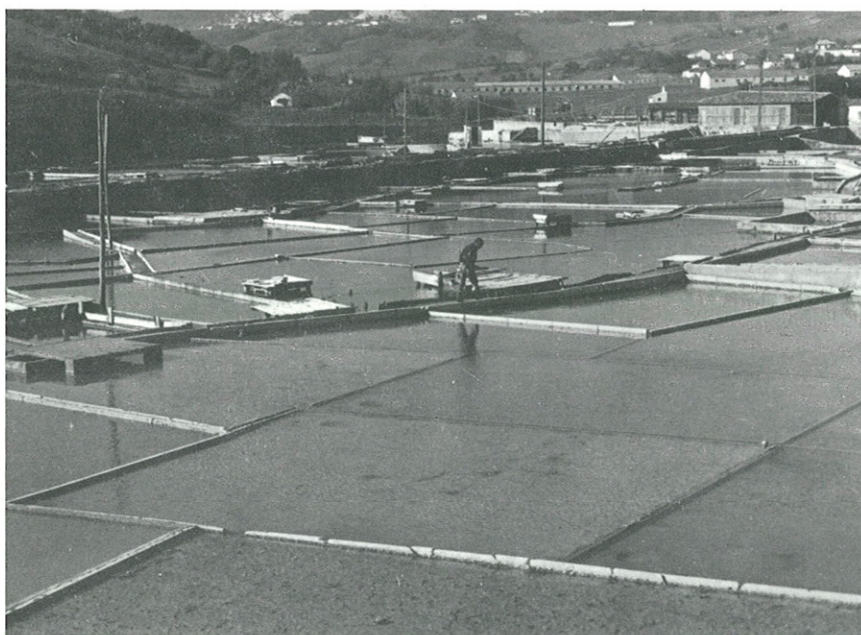
A lista abaixo, fornece as coordenadas e a altituda aproximadas dos locais de colheita citados no texto e assinalados no mapa 3.

<u>Localidades</u>	<u>Latitude</u> (N)	<u>Longitude</u> (W)	<u>Altitude</u> (m)
Águas de Moura	38° 35'	8° 41'	25
Alcácer do Sal	38° 22'	8° 31'	50
Aveiro	40° 40'	8° 43'	nível do mar
Aviz (10 kms NW)	39° 06'	7° 58'	150
Caminha	41° 22'	8° 55'	nível do mar
Castro Marim	37° 13'	7° 27'	" "
Conceição de Tavira	37° 09'	7° 37'	50
Elvas	38° 53'	7° 10'	200
Esposende	41° 30'	8° 48'	nível do mar
Estuário do Sado	38° 25'	8° 38'	50
Ferragudo	37° 07'	8° 31'	nível do mar
Ferrel	39° 18'	9° 15'	" "
Figueira da Foz	40° 08'	8° 52'	" "
Foz do Arelho	39° 20'	9° 10'	" "
Lagoa	37° 09'	8° 25'	" "
Lagoa de Albufeira	38° 35'	9° 00'	" "
Lagoa de Óbidos	39° 20'	9° 12'	50
Lagoa de Paramos	40° 57'	8° 40'	nível do mar
Leça da Palmeira	41° 10'	8° 37'	50
Ludo (Faro)	37° 01'	7° 57'	nível do mar
Meia Praia (Lagos)	37° 07'	8° 41'	nível do mar
Montemor	38° 38'	8° 11'	200
Montijo	38° 43'	9° 00'	50
Mora	38° 57'	8° 08'	100
Odiáxere	37° 09'	8° 39'	50
Odivelas	38° 10'	8° 07'	50
Olhão	37° 02'	7° 51'	nível do mar
Pancas	38° 52'	9° 08'	" "

Peniche	37° 02'	7° 51'	nível do mar
Penina	37° 06'	8° 30'	" "
Portimão	37° 08'	8° 32'	" "
Póvoa do Varzim	41° 24'	8° 50'	" "
Praia da Areia Branca	39° 15'	9° 32'	" "
Ribeira da Faniça	38° 50'	8° 12'	100
Ribeira da Gema	37° 50'	8° 28'	90
Ribeira de alcantarilha	37° 08'	8° 21'	50
Ribeira de Odivelas	38° 15'	8° 22'	50
Ribeira de Tera	38° 50'	7° 44'	200
Rio Lavre	38° 45'	8° 23'	200
Rio Maior	39° 22'	8° 43'	150
Salir do Porto	39° 19'	9° 10'	50
Seixal	38° 40'	9° 10'	nível do mar
Setúbal	38° 33'	8° 55'	" "
Tavira	37° 07'	7° 39'	" "
Torrão do Lameiro	40° 50'	8° 40'	" "
Tróia	38° 30'	8° 50'	" "
Vila Franca de Xira	39° 00'	9° 00'	50
Vila Nova de Milfontes	37° 42'	8° 47'	50
Vila Real de Santo António	37° 11'	7° 26'	nível do mar



Fot. nº 1 - Aspecto de uma colecção de água que constitui um local de criação de larvas de Aedes detritus e de Aedes caspius, na Lagoa de Paramos.



Fot. nº 2 - Marinhas de Rio Maior. Local de criação de Aedes detritus, nos tabuleiros (talhos) de fabricação do sal.



Fot. nº 3 - Local de criação de Aedes detritus e de Aedes caspius, em salinas existentes no rio Mira, Milfontes.



Fot. nº 4 - Vala de água salgada, em Lagos (Meia Praia), local de criação de Aedes detritus e de Aedes caspius.



Fot. nº 5 - Reserva do Ludo (Faro). Local de criação de Aedes detritus e de Aedes caspius.



Fot. nº 6 - Salinas de Castro Marim. Aspecto geral dos locais de criação de Aedes detritus e de Aedes caspius.

PARTE V

RESULTADOS

1 - ESTUDO ELECTROFORÉTICO DE SISTEMAS PROTEÍCOS EM AMOSTRAS DE POPULAÇÕES PORTUGUESAS DE AEDES DETRITUS E DE AEDES CASPIUS

Os resultados dos ensaios realizados em Montpellier com amostras da população de Aedes detritus de Rio Maior foram, em certa medida, animadores por se tratar de uma população interior, vivendo em águas provenientes de uma mina de sal gema, a cerca de 25 quilómetros da costa atlântica como já referimos o que é pouco comum nesta espécie, essencialmente restrita aos criadouros costeiros. Tais resultados, revelaram a presença de uma população altamente monomorfa, reflexo de um elevado grau de endogamia, provavelmente devido a uma introdução bastante antiga numa área que constitui como que um isolado geográfico relativamente à costa atlântica, concretamente à região de Peniche, onde esta espécie existe, com bastante frequência, nos criadouros habituais (sapais, paús, salinas e **outros**).

Esta população revelava características idênticas às da Camarga (França) e às do norte de África (Marrocos e Tunísia) relativamente aos loci α -Gpd, Got-1 e Got-2, correspondendo à espécie A do complexo do Aedes detritus, assinalado nestes últimos países. Dado saber-se também da existência da espécie B do mesmo complexo, nos países atrás referidos, haveria que saber se ocorria semelhante caso com as populações portuguesas de Aedes detritus, pois, caso se confirmasse essa suspeita, todo um vasto trabalho de sistemática morfológica e de ecologia, seria interessante desenvolver, com a finalidade de contribuímos para um melhor conhecimento da distribuição das duas espécies do complexo na região Paleártica e, igualmente, detectarmos eventuais diferenças a vários níveis (morfológico, ecofisiológicas e etológicas) que permitissem melhor discriminar estas espécies.

Assim, empreendemos o estudo electroforético de alguns sistemas enzimáticos nas populações portuguesas de Aedes detritus, apoiando-nos, entretanto, no trabalho por nós desenvolvido, em Montpellier.

Quanto ao Aedes caspius, não foi julgado oportuno o seu estudo a nível electroforético, dado termos canalizado os recursos técnicos e financeiros disponíveis para prosseguir-mos o trabalho já iniciado com Aedes detritus. Acresce ainda o facto de sobre Aedes caspius não existirem estudos

desenvolvidos, neste domínio, o que dificultaria a análise dos resultados que obtivéssemos, uma vez que não somos especialistas nesta matéria. Daí termos insistido na análise electroforética de Aedes detritus de diversas regiões geográficas de Portugal.

Os resultados obtidos constam nos quadros I a IX. Pela sua observação, pode verificar-se que foram ensaiados 2 204 mosquitos adultos resultantes das 10 estações de colheita, ao longo da costa portuguesa, de Esposende a Castro Marim. Nas estações de Rio Maior e de Milfontes procedeu-se à observação de 115 larvas e de 25 pupas e 78 larvas e 36 pupas, respectivamente, conforme consta no quadro VII. Na amostra ensaiada em Montpellier, foram estudados dez loci enzimáticos: uma esterase, a glicerofosfato desidrogenase, dois glutamato oxalacetato transaminases e uma fosfoglucose isomerase. Em Portugal, só se utilizaram a α -Gpd e a Got-2, que em França se revelaram 100% discriminativos para a amostra da população de Aedes detritus de Rio Maior ensaiada. Por este processo, conseguimos atingir os objectivos propostos, com um dispêndio de verbas significativamente menor.

Resultados

α . glicerofosfato desidrogenase (α -GPD)

Segundo Pasteur et al. (1977), nas espécies de mosquitos até agora estudados, existe sómente uma enzima com actividade de glicerofosfato desidrogenase. Esta enzima é codificada pelo locus α -Gpd e possui quatro alelos codominantes: α -Gpd^A, α -Gpd^B, α -Gpd^C, α -Gpd^D (1).

O α -Gpd (glicerofosfato desidrogenase) de Aedes detritus, é uma enzima de estrutura molecular dimérica: o fenótipo electroforético dos heterozigóticos manifesta, neste caso, três bandas.

Glutamato oxaloacetato transaminases (GOT)

Nos eucariotas, existem sempre duas glutamato oxaloacetato transaminases codificadas por loci distintos: um é específica das mitocôndrias e o outro do citoplasma. Em Aedes detritus, estas enzimas revelam uma mobilidade electroforética positiva, nas condições experimentais por nós utilizadas. A enzima de maior mobilidade electroforética aparece fortemente corada. Ela é codificada pelo locus Got-1 que possui quatro alelos codominantes: Got-1^A, Got-1^B, Got-1^C e Got-1^D (2). Esta enzima é dimérica: os

heterozigóticos, tal como com α -Gpd, manifestam três isozimas. A banda de menor mobilidade cora-se com certa dificuldade, nas condições que experimentámos. Ela é codificada pelo locus Got-2. Nas populações portuguesas estudadas, foram detectados dois fenótipos: um rápido (Got-2^R) e outro lento (Got-2^L). Não se detectou qualquer fenótipo (Got-2^{RL}) (3). Assim, o locus Got-2 revelou-se monomorfo para o alelo Got-2^R e para o alelo Got-2^L.

(1) - A mobilidade electroforética de cada alozima é, respectivamente, de: 1,80, 1,40, 1,00, 0,70. A mobilidade de referência corresponde aproximadamente à mobilidade da glicerofosfato desidrogenase de Aedes caspius (Pall.), estirpe do Cairo que é 1,00.

(2) - As mobilidades electroforéticas das alozimas codificadas por estes alelos são, respectivamente: 1,50, 1,25, 1,00 e 0,70. A mobilidade de referência é a de Aedes caspius (Pall.), estirpe do Cairo.

(3) - A enzima codificada pelo locus Got-2 em Aedes caspius (Pall.), estirpe do Cairo, apresenta uma mobilidade electroforética mais fraca que a codificada pelo Got-2^L.

Nas populações de Aedes detritus de Portugal, foram detectados cinco fenótipos para o locus α -Gpd, dois deles possuem uma única banda correspondendo aos homozigóticos α -Gpd^{BB} ou α -Gpd^{CC}. Os outros três comportam três bandas e correspondem aos heterozigóticos α -Gpd^{BC}, α -Gpd^{BD}, α -Gpd^{AB}. Pela observação dos quadros I a IX pode verificar-se que dos 2 204 adultos examinados, 1 172 (ou seja 53,2%) revelaram-se homozigóticos para o alelo α -Gpd^C e 1 024 (46,4%), manifestaram-se homozigóticos para o alelo α -Gpd^B. Foram detectados oito heterozigóticos (0,36%), para o alelo α -Gpd^{BC}.

Os resultados obtidos permitem concluir que, tal como em França (Camarga), como no norte de África (Marrocos e Tunísia), a espécie nominal Aedes detritus é, em Portugal, constituída por duas formas distintas. Para obedecer ao equilíbrio da lei de Wardy-Weinberg, sendo as populações panmíticas, elas deveriam conter cerca de 36% de heterozigóticos α -Gpd^{BC} o que está longe de se manifestar nas populações estudadas.

Todos os exemplares de α -Gpd^{BB} ensaiados possuem o fenótipo Got-2^L (lento), enquanto que todos os indivíduos α -Gpd^{CC}, são quer Got-2^R (rápido) quer Got-2^L (50% de cada). Não foi encontrado qualquer heterozigótico (Got-2^{RL}), o que parece indicar que as diferentes populações de Aedes detritus ensaiadas não se hibridizam facilmente, nas condições existentes nas áreas e épocas estudadas. A existência de heterozigóticos para o locus α -Gpd, embora muito reduzida revela um certo grau de polimorfismo para este locus,

nas populações tratadas.

Resumindo, e tal como consta nos quadros V e VI, pode concluir-se através da análise do locus Got-2 que as populações portuguesas de Aedes detritus são constituídas por dois conjuntos: o conjunto A, que corresponde ao fenótipo Got-2^R (rápido) e o conjunto B, correspondente ao fenótipo Got-2^L (lento). Na prática corrente e relativamente a estas espécies, é preferível utilizar o locus α -Gpd, uma vez que o locus Got-2 produz uma enzima de fraca actividade que torna, frequentemente, difícil a interpretação dos resultados. Pelo contrário, as alozimas codificadas pelo locus α -Gpd coram-se fortemente, eliminando praticamente o risco de erro na leitura e interpretação dos resultados. Além disso mais a quase ausência ou extrema raridade de heterozigóticos permite estabelecer a ligação a um ou outro grupo, de cerca de 999 indivíduos em 1 000.

Deste modo, utilizando o locus α -Gpd, podem distinguir-se dois tipos de população: o tipo A, em que domina o alelo α -Gpd^C e o tipo B, em que este alelo é substituído pelo alelo α -Gpd^B. Nos quadros VIII e IX, apresentamos um resumo das características das duas espécies portuguesas de Aedes detritus, relativamente aos locus α -Gpd e Got-2.

Assim, a espécie A, caracteriza-se por:

- Fenótipo Got-2^R
- Alelo α -Gpd^C 99 a 100%

e a espécie B, por:

- Fenótipo Got-2^L
- Alelo α -Gpd^B 99%

Por uma questão metodológica e por nos termos apercebido, aquando da análise dos resultados obtidos em França, de que a população de Rio Maior não apresentava heterozigotia, sendo praticamente monomorfa para o locus α -Gpd, o que pressupunha uma acentuada endogamia, procedemos a um estudo comparativo das frequências dos genótipos em Portugal s.l. e entre as populações de Rio Maior e de Milfontes. Os resultados obtidos, constantes nos quadros I e II revelaram-se com algum interesse. Assim, em Rio Maior existe uma população em que os indivíduos pertencem na totalidade à espécie A do complexo α -Gpd¹⁰⁰, Got-2^R e nenhum heterozigótico. Em Milfontes existe uma população pertencente à espécie B, α -Gpd¹⁴⁰, Got-2^L e 0,26% de heterozigóticos α -Gpd¹⁰⁰⁻¹⁴⁰.

Nas regiões norte do país (Esposende, Lagoa de Paramos, Torrão do Lameiro), as duas espécies A e B, apresentam uma distribuição em que predomina a espécie B, estando a A fracamente representada, tendo-se detectado

dois heterozigóticos α -Gpd¹⁰⁰⁻¹⁴⁰. No centro (Lagoa de Óbidos e Pancas), os dados obtidos são sensivelmente idênticos aos do norte, não se tendo detectado heterozigóticos. A sul (Águas de Moura, Lagos, Faro, Castro Marim), dá-se uma inversão nos dados obtidos, isto é, a espécie A, passa a ser predominante, estando a B menos representada, observando-se 4 heterozigóticos α -Gpd 100-140.

Pela análise dos resultados, pode inferir-se que existe uma certa tendência para uma segregação espacial, na repartição geográfica dos genótipos. A norte e ao centro (excluindo o caso particular de Rio Maior), há uma acentuada predominância da espécie B. A sul (exceptuando Milfontes) predomina a espécie A. Quanto a Rio Maior e Milfontes, estas estações albergam sómente a espécie A e a espécie B, respectivamente, constituindo-se aí como que dois isolados geográficos. Estas observações estão certamente relacionadas com as diferentes condições mesológicas existentes nas várias regiões prospectadas, o que será objecto de algumas considerações de carácter geral, nos capítulos seguintes. Todavia, esta aparente segregação geográfica não impede a presença simultânea das duas espécies, em alguns criadouros larvares, revelando desde logo que elas podem suportar as mesmas condições mesológicas e ocupar nichos muito semelhantes.

A simpatria exibida, em algumas estações de colheita, pode ser explicada eventualmente pela existência de ligeiras diferenças nos nichos ecológicos, pela letalidade dos híbridos (caso haja um certo grau de hibridização), ou, mais provavelmente, por intervenção de fortes mecanismos de isolamento reprodutor, de natureza prè-copulatória, como foi detectado por Coluzzi e Bullini (1971) no complexo do Aedes mariaae (Sergent, 1903), em que estes autores mostraram que as duas subespécies geográficas Aedes mariaae mariaae e Aedes mariaae zammittii Theo., 1903, que davam híbridos, constituindo de facto duas espécies válidas. Os nossos resultados com as populações naturais de Aedes detritus, utilizando o locus α -Gpd são comparáveis aos obtidos por Coluzzi e Bullini, nas condições experimentais com o locus Pgm (fosfoglucomutase). Às mesmas conclusões chegam Pasteur et al. (1977), relativamente a Aedes detritus da Camarga (França).

Como complemento às análises realizadas, procedemos ao exame electroforético das formas imaturas (larvas e pupas), provenientes de amostras de R. Maior e de Milfontes. Tal como para os adultos, como se pode verificar pela observação do quadro VII, os resultados foram perfeitamente coincidentes, revelando duas populações distintas, a A (α -Gpd¹⁰⁰, Got-2^R)

e a B (α -Gpd¹⁴⁰, Got-2^L), respectivamente, em Rio Maior e Milfontes.

Em síntese, podemos afirmar que estes resultados estão de acordo com os encontrados por Pasteur et al. (1977, 1978), para as populações francesa e norte africanas desta espécie e que, conseqüentemente, existem em Portugal, pelo menos dois grupos de populações sexualmente isoladas, aparentemente não diferenciáveis morfológicamente (espécies gêmeas) de Aedes detritus. Por não termos tido oportunidade de analisar exemplares do local tipo da espécie nominal Aedes detritus, entendemos ser de boa ética continuarmos a designar as duas espécies gêmeas por A e B, seguindo o critério adoptado pelos autores franceses referidos.

Através das conclusões a que chegámos, tornou-se necessário e de interesse empreender estudos de carácter morfológico, ecofisiológico e etológico, numa tentativa de estabelecermos critérios discriminantes entre as duas espécies gêmeas de Aedes detritus presentes em Portugal. As figuras A e B, mostram fotografias e esquemas dos fenótipos electroforéticos do α -Gpd, em diversas populações de Aedes detritus de Portugal.

QUADRO I

Frequências dos genótipos para o locus α -Gpd (Portugal s.l.)

Localidade	data de colheita	Frequências absolutas do genótipo α -Gpd					Total da amostra	% α -Gpd ^{CC}
		CC	BC	BB	BD	AB		
Esposende	25.1.82	-	-	60	-	-	60	0
	19.2.82	12	1	93	-	-	106	11,32
	26.3.82	1	-	23	-	-	24	4,16
	25.5.82	-	-	11	-	-	11	0
	21.7.83	1	-	26	-	-	27	3,70
	25.8.83	13	-	-	-	-	13	100
Lagôa de Paramos	25.1.82	3	-	10	-	-	13	23,07
	25.2.82	1	-	163	-	-	164	0,60
	25.3.82	-	-	7	-	-	7	0
	26.3.83	-	1	23	-	-	24	0
Torrão do Lameiro	25.1.82	2	-	76	-	-	78	2,56
	20.2.82	3	-	36	-	-	39	7,69
	30.4.82	-	-	2	-	-	2	0
	14.10.82	-	-	1	-	-	1	0
	26.3.83	-	-	5	-	-	5	0
Lagôa de Óbidos	14.5.83	-	-	77	-	-	77	0
Rio Maior	15.10.81	243	-	-	-	-	243	100
	12.1.82	4	-	-	-	-	4	100
	16.2.82	30	-	-	-	-	30	100
	30.3.82	43	-	-	-	-	43	100
	19.4.83	14	-	-	-	-	14	100
	25.4.83	10	-	-	-	-	10	100
	14.4.83	35	-	-	-	-	35	100

QUADRO I (Continuação)

	11.6.83	10	-	-	-	-	10	100
	17.2.83	64	-	-	-	-	64	100
Pancas	9.1.82	6	-	6	-	-	12	50
Águas de Moura	11.1.82	11	-	2	-	-	13	84,61
Milfontes	7.2.82	-	-	12	-	-	12	0
	2.3.82	-	-	3	-	-	3	0
	1.4.82	-	-	47	-	-	47	0
	11.6.82	-	-	11	-	-	11	0
	28.3.83	-	-	49	-	-	49	0
	27.4.83	-	1	29	-	-	30	0
	15.5.83	-	-	22	-	-	22	0
	10.12.83	-	-	12	-	-	12	0
	20.12.83	-	1	41	-	-	42	0
	17.2.84	-	-	37	-	-	37	0
	27.2.84	-	-	23	-	-	23	0
Lagos	12.11.81	61	-	13	-	-	74	82,43
	2.3.82	36	-	-	-	-	36	100
	1.4.82	46	-	1	-	-	47	97,87
	21.10.82	10	-	-	-	-	10	100
	27.3.83	19	-	8	-	-	27	70,37
	26.4.83	10	-	1	-	-	11	90,90
	12.6.83	9	-	-	-	-	9	100
	25.8.83	9	-	-	-	-	9	100
Faro	13.11.81	30	-	6	-	-	36	83,33
	10.2.82	11	1	1	-	-	13	84,61
	1.3.82	63	1	7	-	-	71	88,73
	1.4.82	39	-	36	-	-	75	52
	22.10.82	4	1	8	-	-	13	30,76
	3.11.82	98	1	10	-	-	108	90,74
	27.3.83	29	-	4	-	-	33	97,87
	27.4.83	49	-	14	-	-	63	77,77
	14.5.83	54	-	5	-	-	59	91,52

QUADRO I (Continuação)

Castro Marim	12.11.81	4	-	-	-	-	4	100
	10.2.82	47	-	1	-	-	48	97,91
	27.3.83	7	-	-	-	-	7	100
	26.4.83	6	-	-	-	-	6	100
	15.5.83	25	-	2	-	-	27	92,59

Dados de Campo	Valores absolutos observados	1172	8	1024	0	0	2204
	% observados	53	0,36	46	-	-	

Hipótese de panmixia	Valores absolutos teóricos	619	1098	487	-	-	2204
	% de teóricos	28	50	22	-	-	

QUADRO II

Frequência dos genótipos para o locus α -Gpd (R.Maior e Milfontes)

Localidade	Data de colheita	Frequências absolutas do genótipo α -Gpd					Total da amostra	% α -Gpd ^{CC}
		CC	BC	BB	DD	AB		
R. Maior	15.10.81	243	-	-	-	-	243	100
	12.1.82	4	-	-	-	-	4	100
	16.2.82	30	-	-	-	-	30	100
	30.3.83	43	-	-	-	-	43	100
	19.4.83	14	-	-	-	-	14	100
	25.4.83	10	-	-	-	-	10	100
	14.5.83	35	-	-	-	-	35	100
	11.6.83	10	-	-	-	-	10	100
	17.2.84	64	-	-	-	-	64	100
Milfontes	7.2.82	-	-	12	-	-	12	0
	2.3.82	-	-	3	-	-	3	0
	1.4.82	-	-	47	-	-	47	0
	11.6.82	-	-	11	-	-	11	0
	28.3.83	-	-	49	-	-	49	0
	27.4.83	-	1	29	-	-	30	0
	15.5.83	-	-	22	-	-	22	0
	10.12.83	-	-	12	-	-	12	0
	20.12.83	-	1	41	-	-	42	0
	17.2.84	-	-	37	-	-	37	0
	27.2.84	-	-	23	-	-	23	0
Dados de campo	Valores absolutos observados	453	2	286	0	0	741	
	% observados	61,1	0,26	38,59	-	-		
Hipótese de panmixia	Valores absolutos teóricos	276	352	113	-	-	741	
	% de teóricos	37	48	15	-	-		

QUADRO III

Distribuição dos fenótipos electroforéticos no locus α -Gpd, nas populações portuguesas de Aedes detritus (Portugal s.l.). Os efectivos calculados correspondem à hipótese da panmixia.

α -Gpd	Norte				Centro				Sul			
	Observed	Calculated	Observed	Calculated	Observed	Calculated	Observed	Calculated	Observed	Calculated	Observed	Calculated
	ef.	%	ef.	%	ef.	%	ef.	%	ef.	%	ef.	%
α -Gpd ⁷⁰⁻¹⁰⁰	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
α -Gpd ¹⁰⁰	36 (6,27)				459 (98,70)				677 (68,28)			
α -Gpd ¹⁰⁰⁻¹⁴⁰	2 (0,34)				0 0				5 (0,45)			
α -Gpd ¹⁴⁰	536 (93,37)				6 (1,29)				405 (37,25)			
α -Gpd ¹⁴⁰⁻¹⁸⁰	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

QUADRO IV

Distribuição dos fenótipos no locus α -Gpd, nas populações portuguesas de Aedes detritus (R. Maior e Milfontes). Os efectivos calculados correspondem à hipótese da panmixia.

α -Gpd	Rio Maior				Milfontes			
	Observed	Calculated	Observed	Calculated	Observed	Calculated	Observed	Calculated
	ef.	%	ef.	%	ef.	%	ef.	%
α -Gpd ⁷⁰⁻¹⁰⁰	0	0	0	0	0	0	0	0
α -Gpd ¹⁰⁰	453 (100)				2			
α -Gpd ¹⁰⁰⁻¹⁴⁰	0	0	0	0	0	0	0	0
α -Gpd ¹⁴⁰	0	0	0	0	286 (0,69)			
α -Gpd ¹⁴⁰⁻¹⁸⁰	0	0	0	0	0	0	0	0

QUADRO IV

Distribuição dos fenótipos no locus α -Gpd, nas populações portuguesas de Aedes detritus (R. Maior e Milfontes). Os efectivos calculados correspondem à hipótese da panmixia.

α -Gpd	Rio Maior				Milfontes			
	Observed		Calculated		Observed		Calculated	
	ef.	%	ef.	%	ef.	%	ef.	%
α -Gpd ⁷⁰⁻¹⁰⁰	0	0	0	0	0	0	0	0
α -Gpd ¹⁰⁰	453 (100)				2			
α -Gpd ¹⁰⁰⁻¹⁴⁰	0	0	0	0	0	0	0	0
α -Gpd ¹⁴⁰	0	0	0	0	286 (0,69)			
α -Gpd ¹⁴⁰⁻¹⁸⁰	0	0	0	0	0	0	0	0

QUADRO V

Distribuição dos fenótipos electroforéticos no locus GOT-2, em função do genótipo α -Gpd, nas populações portuguesas de Aedes detritus (Portugal s.l.).

	α -Gpd ¹⁰⁰	α -Gpd ¹⁰⁰⁻¹⁴⁰	α -Gpd ¹⁴⁰
GOT-2 ^R	1485	3	0
GOT-2 ^L	0	3	1653
GOT-2 ^{RL}	0	0	0

QUADRO VI

Distribuição dos fenótipos electroforéticos no locus GOT-2, em função do genótipo α -Gpd, nas populações portuguesas de Aedes detritus (R. Maior e Milfontes).

	α -Gpd ¹⁰⁰	α -Gpd ¹⁰⁰⁻¹⁴⁰	α -Gpd ¹⁴⁰
GOT-2 ^R	473	0	0
GOT-2 ^L	0	1	272
GOT-2 ^{RL}	0	0	0

QUADRO VII

Distribuição dos fenótipos electroforéticos nos locus α -Gpd e GOT-2, em amostras larvares e pupais das populações de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes.

	α -Gpd ¹⁰⁰	α -Gpd ¹⁰⁰⁻¹⁴⁰	α -Gpd ¹⁴⁰	GOT-2 ^R	GOT-2 ^L	Total da amostra	%
R. Maior	140	0	0	140	0	140	100 α -Gpd ¹⁰⁰
Milfontes	0	0	114	0	114	114	100 α -Gpd ¹⁴⁰ 100 GOT-2 ^L

QUADRO VIII

Resumo das duas espécies. Portugal s. l.

Espécie α -Gpd ¹⁰⁰		Espécie α -Gpd ¹⁴⁰	
Fenótipo	GOT-2 ^R	Fenótipo	GOT-2 ^L
Alelo α -Gpd ¹⁰⁰	99%	Alelo α -Gpd ¹⁴⁰	99%

QUADRO IX

Resumo das características das duas espécies. Rio Maior e Milfontes.

Espécie α -Gpd ¹⁰⁰		Espécie α -Gpd ¹⁴⁰	
Fenótipo	GOT-2 ^R	Fenótipo	GOT-2 ^L
Alelo α -Gpd ¹⁰⁰	a 100%	Alelo α -Gpd ¹⁴⁰	99%

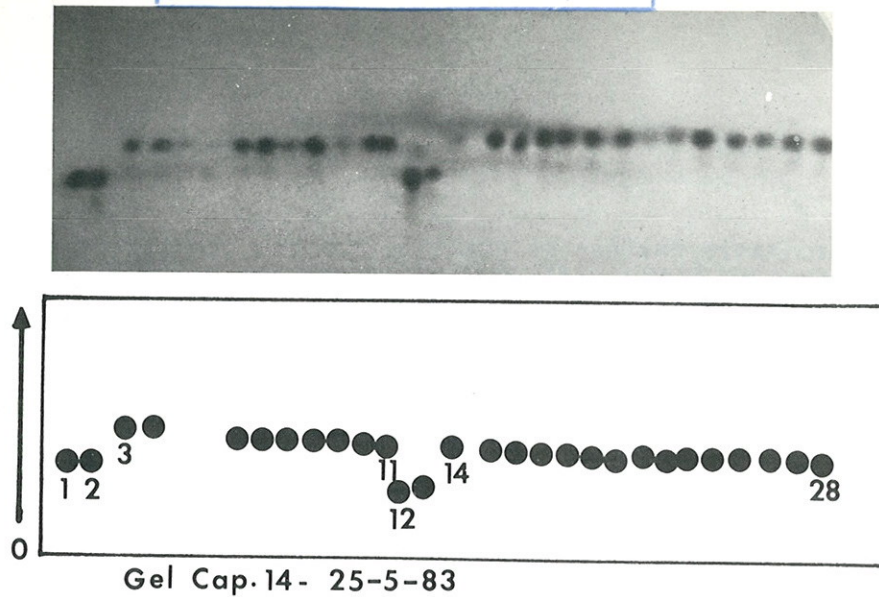


Figura A - Fotografia e esquema dos fenótipos electroforéticos do α -Gpd de Aedes detritus, populações de Rio Maior e de Óbidos.

- | | |
|-----------------------------------|-----------------------|
| 1 - Rio Maior, espécie A | |
| 2 - L. de Óbidos, espécie A | |
| 3 a 11 - L. de Óbidos, espécie B | 0 - origem |
| 12 - L. de Óbidos, espécie A | → sentido da migração |
| 13 - Rio Maior, espécie A | |
| 14 a 28 - L. de Óbidos, espécie B | |

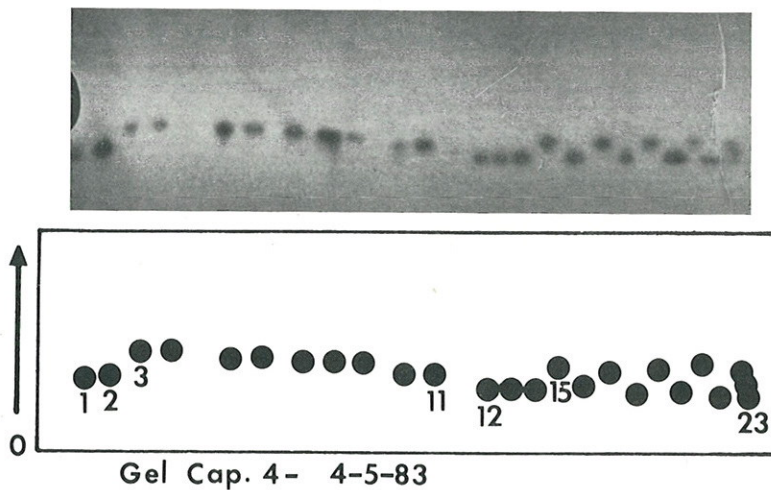


Figura B - Fotografia e esquema dos fenótipos electroforéticos do α -Gpd de Aedes detritus, populações de Rio Maior, Milfontes, Ludo (Faro) e Castro Marim. Nesta migração ensaiaram-se também alguns exemplares de Aedes caspius.

- | | |
|-------------------------------|---|
| 1 e 2 - Rio Maior, espécie A | 19 - Ludo, espécie B |
| 3 a 11 - Milfontes, espécie B | 20 - Ludo, espécie A |
| 12 a 14 - Ludo, espécie A | 21 - Ludo, espécie B |
| 15 - Ludo, espécie B | 22 - Ludo, <u>Aedes caspius</u> |
| 16 - Ludo, espécie A | 23 - Ludo, <u>Aedes caspius</u> , hetero-
zigótico |
| 17 - Ludo, espécie B | 0 - origem |
| 18 - Ludo, espécie A | → sentido da migração |

2 - ESTUDO MORFOMÉTRICO

Os resultados obtidos por meio de análise electroforética de algumas proteínas enzimáticas de Aedes (O.) detritus, permitiu-nos concluir da existência de duas espécies gêmeas nas populações portuguesas destes mosquitos. Esta descoberta, despertou-nos para as tarefas subsequentes, numa tentativa de detectarmos eventuais diferenças e/ou semelhanças discriminatórias entre as duas espécies a vários níveis (morfológico, ecofisiológico, etológico e outros). Nesta perspectiva, procedemos a um estudo biométrico comparativo, recorrendo a amostras das populações de Rio Maior e de Milfontes que se haviam revelado electroforeticamente como espécies A e B, respectivamente. As amostras foram seleccionadas a partir de exemplares recolhidos sempre nas mesmas colecções de água de criação.

2.1 - Análise univariada

Recolhidos e seleccionados os dados relativos a cada indivíduo, procedemos à observação e análise dos valores quantificáveis, cuja expressão traduzirá, de certo modo, a variabilidade que resulta da acção conjugada de diversos factores, por vezes de difícil controlo e identificação (Sokal e Rohlf, 1969).

A comparação entre duas quaisquer amostras foi feita através do resultado comparativo das respectivas médias (\bar{X}) de cada carácter que as definem. Para tal, utilizámos o teste T de Student. A análise dos dados foi processada por meio de um microcomputador TMX 2 048, ligado a uma unidade de memória FDD 3 000, tendo utilizado os seguintes programas:

- a) - gráficos de gestão - P.B. Cunha, Copyright Astor Software
- b) - Bioestatística 1 de L. Vicente, Copyright groupi Software
- c) - Bioestatística 2 de L. Vicente, Copyright groupi Software

Na estatística univariada calcularam-se: a média, o erro padrão, o desvio padrão, a simetria e a curtose. Na estatística bivariada, calcularam-se: a regressão, a correlação e o erro padrão da estimativa, utilizando ainda o teste T de Student de significância de coeficientes de relação. Para os níveis de significância dos testes, aplicaram-se as designações em que o grau de diferença encontrado para qualquer carácter será: Não significativo, se $p \geq 0,05$

pouco significativo, se $0,02 \leq p < 0,05$

significativo, se $0,01 < p < 0,02$

muito significativo, se $p < 0,01$

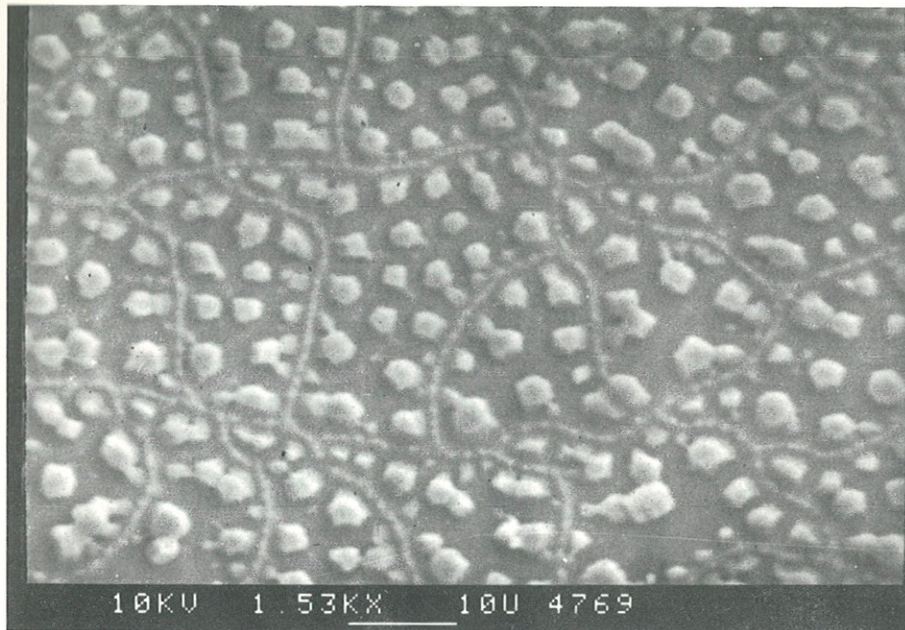
altamente significativo, se $p < 0,001$ ao nível de confiança de 95%. Nas medidas efectuadas ao microscópio óptico LEITZ SM LUX e ao estereomicroscópio WILD M₅, foram utilizadas oculares micrométricas. Os símbolos constantes do texto são os usuais em trabalhos de biometria N para o tamanho da amostra, X para o valor da variável, \bar{X} para a média, s para o desvio padrão e v para a variância.

2.1.1 - Ovo

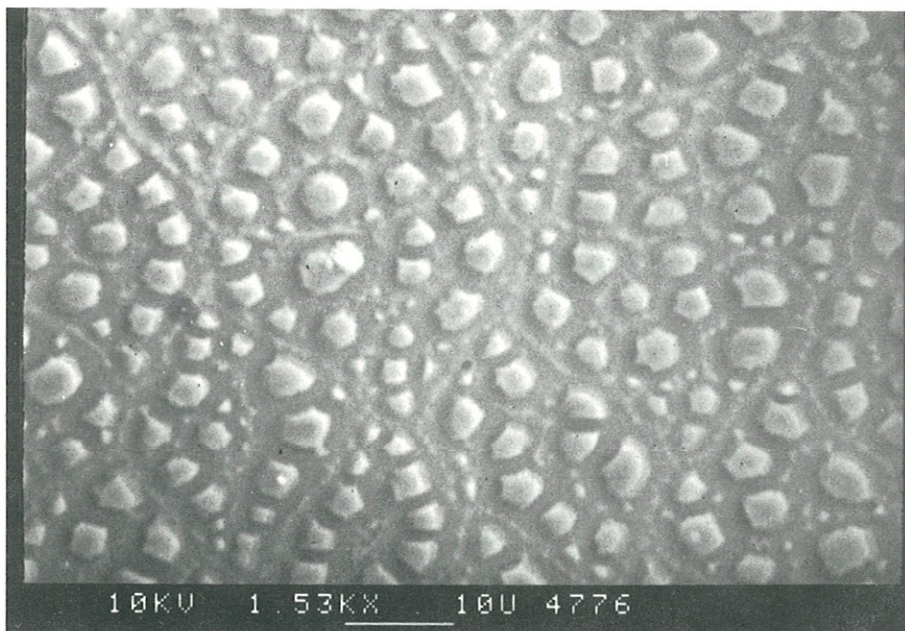
Num trabalho de Gabinaud et al. (1975), são assinaladas diferenças significativas na estrutura coriônica dos ovos de Aedes (O.) caspius e Aedes (O.) detritus, o que permitiu a estes autores o estabelecimento de critérios seguros de identificação destas duas espécies, no estado de ovo.

Animados de semelhante propósito, procedemos à preparação dos ovos de Aedes detritus, espécies A e B, segundo a técnica de Craig (1955), e à execução de fotomicrografias ao microscópio óptico LEITZ SM LUX, equipado com máquina fotográfica, nos nossos laboratórios, e ao microscópio de "scanning" na Estação Agronómica Nacional de Oeiras. As fotografias obtidas nos dois tipos de aparelho (fotos 11 e 12), revelam algumas diferenças subtis na estrutura coriônica dos ovos das duas espécies A e B de Aedes detritus, sobretudo na face ventral. Porém, tais diferenças não nos permitem o estabelecimento de qualquer critério válido de identificação pelo que não achámos desejável, nesta fase, tecer mais comentários acerca das mesmas. Assim, recorrendo a medições ao microscópio óptico, procedemos à análise comparativa da relação comprimento/largura (número de divisões da ocular micrométrica) dos ovos provenientes das populações de Rio Maior e de Milfontes cujos resultados se apresentam nas figuras 11 e 12 e quadro síntese 1. A observação deste último permite concluir que existe uma diferença altamente significativa ($p < 0,001$), entre a relação comprimento/largura dos ovos de Aedes detritus A, de Rio Maior e Aedes detritus B, de Milfontes. Por outro lado, pela análise de regressão, detecta-se uma correlação nítida entre a largura e o comprimento dos ovos, nas populações de Milfontes o que não sucede com as amostras de Rio Maior.

Podemos pois concluir que, morfológicamente e a nível biométrico, se achou uma diferença assinalável entre os ovos de Aedes detritus A e os de Aedes detritus B, pelo menos nas amostras das populações portuguesas destas duas espécies.



Fot. 11 - Pormenor da face ventral de um ovo de Aedes (O.) detritus de Milfontes, mostrando uma delimitação nítida da bordadura dos polígonos e uma maior densidade de corpúsculos internos, relativamente aos ovos das fêmeas provenientes de Rio Maior. X 1 400.



Fot. 12 - Pormenor da face ventral de um ovo de Aedes (O.) detritus de Rio Maior, mostrando a delimitação pouco nítida da bordadura dos polígonos e uma menor densidade de corpúsculos internos, relativamente aos ovos provenientes das fêmeas de Milfontes. X 1 400.

Analise de Regressao

©1984 by L. Vicente

MILFONTES

Aedes detritus (OVOS)

Comp#Larg

-----RESULTADOS-----

n*n

MEDIA DE X=57.839286
VARIANCIA=13.273411
DESVIO PADRAO=3.6432693

MEDIA DE Y=22.488095
VARIANCIA=4.0477622
DESVIO PADRAO=2.0119051

C. CORRELACAO=0.29018599
T=3.9064566
GRAUS DE LIBERDADE=166
PROB. EXACTA=.00033379378
P<0.001 ***

RECTA DE REGRESSAO

$y = 13.220423 + 0.16023145 * x$

ERRO P. PREVISTO=1.9311422

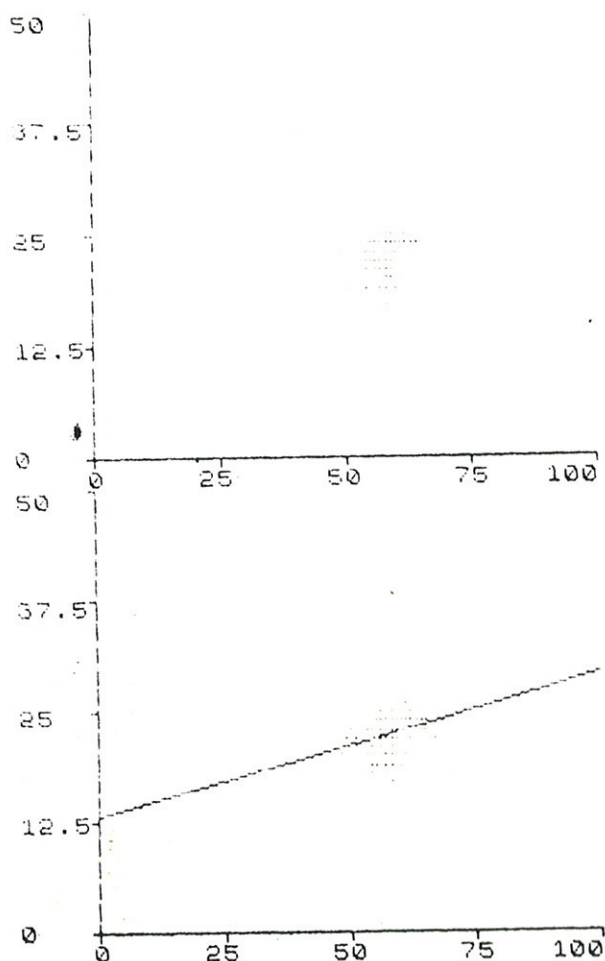


Figura 11-Correlação comprimento/largura nos ovos de Aedes detritus de Milfontes. Altamente significativa ($P < 0,001$).

RIO MAIOR

Aedes detritus (OU05)

Comp*Larg

-----RESULTADOS-----

n*n

MEDIA DE X=60.905983
 VARIANCIA=13.430711
 DESVIO PADRAO=3.6647935

MEDIA DE Y=19.051282
 VARIANCIA=7.0145887
 DESVIO PADRAO=2.6465069

C. CORRELACAO=0.17102779
 T=1.8614956
 GRAUS DE LIBERDADE=115
 PROB. EXACTA=.061827274
 P>0.05 -NS-

RECTA DE REGRESSAO:

$$Y=11.523306+0.12359995*X$$

ERRO P. PREVISTO=2.6208054

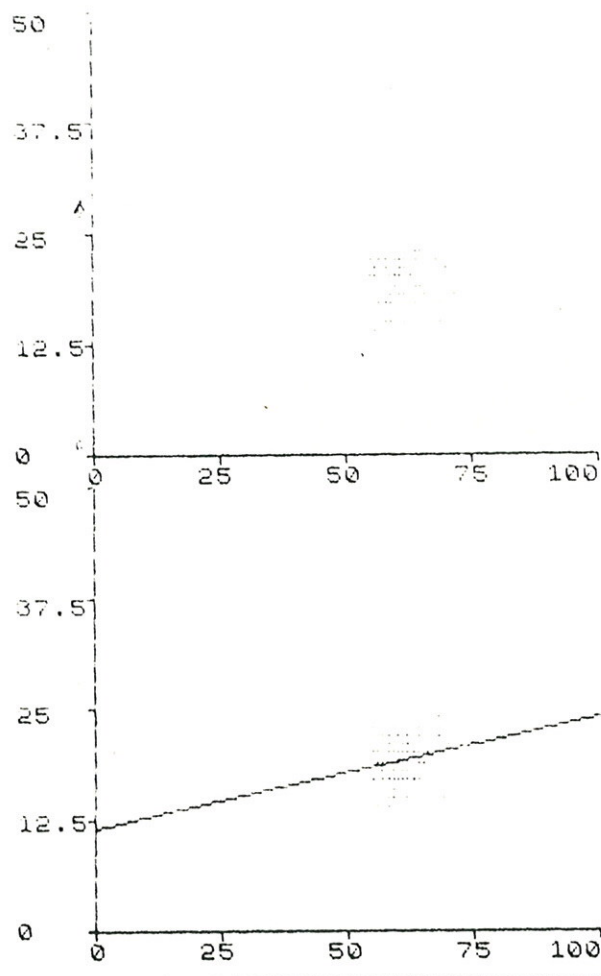


Figura 12-Correlação Comprimento/largura nos ovos de *Aedes detritus* de R. Maior. Não significativa ($P > 0.05$).

NUMERO DE ITEMS = 110
MEDIA = 3.274
DESVIO PADRAO = 0.4693
VARIANCIA = 0.2182

NUMERO DE ITEMS = 111
MEDIA = 2.546
DESVIO PADRAO = 0.2546
VARIANCIA = .0642

→ TESTE-T →

T= 14.285632
GL= 219
P= 2.3410971E-10
P<0.001 ***

Quadrosíntese 1 - Relação comprimento/largura entre os ovos de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

2.1.2 - Larva do 4º estado

Foram seleccionados e observados dezanove caracteres, usualmente utilizados na sistemática das larvas. Destes dezanove caracteres escolhemos treze que apresentavam ligeiras e/ou acentuadas diferenças nas amostras estudadas. Conforme se pode verificar pela análise dos resultados incluídos nos quadros X e XI e quadros síntese 2,3,4 e 5 existem diferenças altamente significativas ($p < 0,001$) entre as larvas das duas espécies gêmeas (Aedes detritus A e Aedes detritus B) ensaiadas, nomeadamente no comprimento das sedas prè-clipeais, no número de ramos da seda cefálica d, no número de sedas metatorácicas e no número de espinhos do pente sifónico. Os elementos colhidos nesta primeira análise, serão tratados mais detalhadamente, na parte do trabalho relativa à análise discriminante das larvas das duas espécies.

2.1.3 - Pupa

Para a comparação das pupas utilizaram-se peles (exúvias) provenientes de amostras de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes, resultantes da eclosão dos adultos no insectário. Foram observadas as sedas cefalotorácicas e as dos oito segmentos abdominais. Simultâneamente, determinaram-se alguns índices nas trompetas respiratórias e o das paletas natatórias.

Conforme se pode verificar consultando os quadros XII, XIII, os quadros anexos 1 a 15 e os quadros síntese 6 a 12, existem diferenças altamente significativas ($p < 0,001$) entre Aedes detritus A de Rio Maior e Aedes detritus B de Milfontes. concretamente nos: Índice do pavilhão, comprimento à base/comprimento total (pinna/meatus), número de ramos da seda 1 do V segmento abdominal, número de ramos da seda cafalotorácica 12, número de ramos da seda 4 do III segmento abdominal e o número de ramos da seda 6 do III segmento abdominal.

QUADRO X

Análise biométrica das larvas do 4º estado de *Aedes (O.) detritus*, espécie A de Rio Maior.

Nº. prep. sif.	Sedas cefálicas (nº. ramos)						Índice sif.	Dist. base tufo inserção tufo (nº. div.)	Compr. sedas pré-clipeais (nº. div.)	Sedas met. (nº. ramos)	VIII seg. (nº. ramos)	Pente sif. (nº. e formato)	Tufo do sifão (nº. ramos)
	A	B	C	d	e	f							
1	-	2-2	3-3	-	-2	-2	1,860	37	65	-15	41	14-12	9-10
2	10-8	-	-	-	2	-	1,734	45	-	16-13	27	18-17	10-11
3	10-12	2-2	3-4	-	-	-	1,744	40	55	-	-	19-20	9-8
4	13-10	1-1	3-3	7	2-2	-4	1,972	34	65	-9	28-28	15-11	8-8
5	10-10	2-2	4-3	-	2-3	4-4	2,234	48	70	11-14	36-37	25-	7-8
6	-	2-2	3-3	4-4	2-2	4-	2,325	45	65	10-10	49-43	21-18	9-8
7	10-10	2-2	3-3	-	2-2	4-	2,325	48	65	13-	34-36	20-18	8-8
8	10-10	3-3	4-4	7-	1-1	3-3	1,961	52	63	-	47-42	28-28	9-8
9	10-10	2-2	4-4	8-6	2-2	4-3	2,173	48	68	11-	52-40	18-18	8-8
10	11-11	3-3	4-3	-7	2-3	2-3	2,255	46	60	13-13	-	21-20	11-11
11	10-10	2-	5-4	5-	2-	-	1,914	42	70	13-	40-	21-21	10-10
12	9-10	2-	4-4	4-	2-2	3-3	1,978	45	68	13-	40-	20-20	10-10
13	10-10	2-2	3-4	5-7	3-3	4-4	2,040	50	63	-15	67-	23-23	10-10
14	10-10	2-2	-3	-	2-2	3-3	2,000	45	65	-	50	20-20	8-8
15	-	2-3	4-3	4-4	1-1	3-4	2,567	42	60	-	32-34	18-19	8-9
16	10-10	2-	-4	-	1-1	4-4	2,631	48	-	-	34-	19-18	7-8
17	-	2-3	3-4	-	-	-	2,100	50	-	-14	50-	20-18	10-10
18	10-10	3-3	3-3	5-6	3-3	3-	2,229	52	60	-14	50-	23-23	10-9
19	10-11	2-2	-3	6-	-	-	2,564	45	60	-	53-	20-20	9-9
20	11-12	2-2	4-3	5-5	2-1	3-3	2,333	48	-	-14	40-	22-18	9-8
21	-	2-2	2-3	4-6	2-	3-2	2,023	40	-	14-	32-	24-19	11-10
22	11-11	2-3	3-3	6-6	1-1	3-3	2,088	45	-	13-13	50-50	18-17	10-9
23	10-10	2-2	3-4	-	2-2	3-3	2,162	43	-	-13	34-	17-13	9-7
24	11-10	1-2	3-3	6-6	-	-	1,933	-	-	-	50-	20-20	9-9
25	11-10	2-2	3-3	-	-	-	2,111	40	-	12-12	40-	17-17	9-9
26	12-12	2-2	3-3	-	3-2	-	2,040	-	-	12-10	40-	22-19	8-8
27	10-10	2-2	3-3	6-6	3-2	3-3	1,764	48	-	-11	57-	23-21	8-8
28	12-11	2-2	3-4	5-6	2-2	2-3	1,979	47	-	15-15	40-40	19-19	9-8
29	11-11	2-	3-	-	2-2	3-4	2,125	45	-	13-13	40-	19-19	8-8
30	11-11	2-2	-3	6-6	2-2	3-4	-	48	-	12-	36-38	21-20	8-
	N=50 X=10,46 v=0,728 s=0,862	N=54 X=2,111 v=0,209 s=0,462	N=53 X=3,339 v=1,106 s=0,552	N=30 X=5,6 v=1,106 s=1,069	N=46 X=1,978 v=0,369 s=0,614	N=39 X=3,23 v=0,331 s=0,583	N=29 X=2,109 v=0,0523 s=0,232	N=29 X=45,206 v=17,129 s=4,212	N=15 X=64,133 v=15,982 s=4,138	N=31 X=12,746 v=27,84 s=1,696	N=38 X=41,5 v=73,144 s=8,667	N=60 X=19,5 v=9,383 s=3,089	N=59 X=8,864 v=1,066 s=1,041

QUADRO XI

Análise biométrica das larvas do 4º estado
de Aedes (O.) detritus, espécie B de Milfontes.

Nº. prep. micr.	Sedas cefálicas (nº. ramos)						Índice sif.	Dist. base tufo inserção tufo (nº. div.)	comp. sedas pré-clipeais (nº. div.)	Sedas met. (nº. ramos)	VIII (nº. escovas)	Pente sif. (nº. e formato)	Tufo do sifão (nº. ramos)
	A	B	C	d	e	f							
1	9 -	2 -	3 - 2	2 - 4	1 -	2 - 2	2,857	50	55	-	22 -	24 - 25	9 - 9
2	-	-	-	-	-	-	2,111	45	55	13 -	48 - 45	18 - 20	7 - 9
3	1 - 10	2 - 2	2 - 3	4 - 5	1 - 1	2 - 2	2,214	42	60 - 65	12 -	30 -	23 - 24	7 - 8
4	9 - 9	3 - 2	3 - 3	-	1 - 2	3 - 2	2,111	45	60 - 60	13 -	29 - 36	24 - 22	8 - 8
5	8 - 8	2 - 2	2 - 2	3 - 4	1 - 1	2 - 2	2,105	40	-	10 - 10	27 - 29	23 - 22	6 - 7
6	8 - 9	2 - 2	2 -	-	2 - 1	4 - 2	2,125	40	40 - 45	-	55 - 53	25 - 23	9 - 7
7	9 - 8	2 - 2	3 - 3	4 - 5	2 - 1	4 - 3	2,075	40	55 - 55	-	35 -	22 - 23	-
8	8 - 8	2 - 2	3 - 2	4 - 4	2 -	-	1,976	40	60 - 53	8 -	43 - 53	20 - 20	10 - 9
9	8 - 9	4 - 2	5 - 3	4 - 5	2 - 2	4 - 4	2,125	40	63 - 63	- 13	46 -	23 - 23	9 - 9
10	9 -	2 -	3 -	4 - 2	2 - 1	-	1,976	40	60 - 60	9 - 9	36 -	25 - 25	10 - 8
11	11 - 11	2 - 2	3 - 3	4 - 5	2 - 2	-	2,170	42	60 - 60	11 - 11	43 - 38	27 - 24	7 - 7
12	10 - 10	2 - 2	2 - 3	- 4	3 - 3	-	1,976	40	55 - 55	-	49 - 45	25 - 27	9 - 8
13	12 - 11	2 - 2	3 - 3	4 - 4	1 - 1	3 - 4	2,261	43	60 - 60	11 - 10	45 - 4?	21 - 22	9 - 9
14	10 - 10	2 - 3	3 - 3	4 - 4	2 - 2	3 -	2,000	40	-	11 - 12	-	23 - 23	9 - 8
15	-	2 - 3	3 - 3	-	1 - 1	3 - 2	1,851	38	60 - 60	12 -	-	24 - 24	9 - 8
16	15 - 12	2 - 2	3 - 4	-	-	-	2,250	42	60 - 60	14 - 15	40 - 45	23 - 22	10 - 9
17	9 - 10	- 2	- 4	-	2 - 1	3 - 2	2,023	40	60 - 60	8 -	33 - 38	22 - 19	9 - 9
18	10 - 10	2 - 2	3 - 3	3 - 3	2 - 2	4 - 3	1,956	43	-	12 -	35 - 37	25 - 23	9 - 9
19	-	2 - 2	3 - 3	-	2 - 2	3 - 3	2,093	42	60 - 50	-	33 -	23 - 23	10 - 9
20	- 11	2 - 2	3 - 3	-	2 - 2	3 - 3	2,086	44	63 - 60	10 - 11	45 - 37	23 - 23	7 - 7
21	10 - 10	2 - 2	2 - 3	-	2 - 2	4 - 4	2,219	44	-	11 -	43 - 40	26 - 23	8 - 8
22	11 - 12	2 -	3 - 3	-	3 - 2	2 - 2	2,195	41	-	10 -	40 - 36	29 - 24	8 -
23	10 - 10	- 2	3 -	4 - 3	2 - 2	3 - 2	2,000	42	-	10 -	54 - 40	22 - 22	8 - 8
24	- 10	-	3 - 3	- 5	-	-	2,250	50	-	13 - 12	48 -	25 - 24	6 -
25	10 - 11	2 - 2	2 - 3	-	- 1	- 3	1,957	43	-	11 - 11	32 - 32	23 - 23	9 -
26	10 - 11	2 - 2	3 - 3	- 4	1 - 1	3 - 3	2,142	42	-	- 13	50 -	21 - 21	8 -
27	10 - 11	2 - 2	3 - 3	-	1 - 2	6 -	2,250	40	-	13 -	-	25 - 21	8 - 8
28	-	2 - 2	3 - 3	4 -	2 - 2	4 - 4	2,350	46	-	11 -	37 - 40	25 - 25	11 - 9
29	10 - 10	2 - 2	3 - 4	5 - 5	2 - 1	4 -	2,368	45	-	11 - 11	-	21 - 21	10 - 10
30	10 - 10	3 - 2	6 - 3	-	1 - 3	2 - 4	2,021	45	-	14 - 11	40 - 45	24 - 21	10 -
	N=48 $\bar{X}=9,916$ $v=1,368$ $s=1,182$	N=52 $\bar{X}=2,115$ $v=0,140$ $s=0,378$	N=54 $\bar{X}=3,00$ $v=0,444$ $s=0,672$	N=30 $\bar{X}=3,966$ $v=0,632$ $s=0,808$	N=51 $\bar{X}=1,686$ $v=0,372$ $s=0,616$	N=42 $\bar{X}=3,023$ $v=0,832$ $s=1,923$	N=30 $\bar{X}=2,136$ $v=0,032$ $s=0,184$	N=30 $\bar{X}=42,46$ $v=8,048$ $s=2,885$	N=33 $\bar{X}=57,93$ $v=2,616$ $s=5,110$	N=37 $\bar{X}=11,24$ $v=2,616$ $s=1,639$	N=44 $\bar{X}=40,20$ $v=56,299$ $s=7,590$	N=60 $\bar{X}=23,1$ $v=3,823$ $s=1,971$	N=54 $\bar{X}=8,462$ $v=1,137$ $s=1,076$

NUMERO DE ITEMS = 15
MEDIA = 64.133
DESUIO PADRAO = 4.138
VARIANCIA = 15.982

NUMERO DE ITEMS = 33
MEDIA = 57.93
DESUIO PADRAO = 5.11
VARIANCIA = 25.329

*** TESTE-T ***

T = 4.0395776
GL = 46
P = .00040633527
P < 0.001 ***

Quadro síntese 2 - Comparação do comprimento das sedas pré-clipeais das larvas do 4º estado entre Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$)

NUMERO DE ITEMS = 30
MEDIA = 5.6
DESUIO PADRAO = 1.069
VARIANCIA = 1.106

NUMERO DE ITEMS = 30
MEDIA = 3.966
DESUIO PADRAO = 0.808
VARIANCIA = 0.632

*** TESTE-T ***

T = 6.5666403
GL = 58
P = 3.2082781E-6
P < 0.001 ***

Quadro síntese 3 - Comparação do número de ramos da seda cafálica d, nas larvas do 4º estado, entre Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$)

NUMERO DE ITEMS = 31
MEDIA = 12.746
DESUIO PADRAO = 1.696
VARIANCIA = 2.784

NUMERO DE ITEMS = 37
MEDIA = 11.24
DESUIO PADRAO = 1.639
VARIANCIA = 2.616

*** TESTE-T ***

T = 3.6592646
GL = 66
P = .00060445869
P < 0.001 ***

Quadro síntese 4 - Comparação do número de sedas metatorácicas das larvas do 4º estado, entre Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

NUMERO DE ITEMS = 60
MEDIA = 19.5
DESUIO PADRAO = 3.089
VARIANCIA = 9.383

NUMERO DE ITEMS = 60
MEDIA = 23.1
DESUIO PADRAO = 1.971
VARIANCIA = 3.823

*** TESTE-T ***

T = 7.5464526
GL = 118
P = 3.7157911E-7
P < 0.001 ***

Quadro síntese 5 - Comparação do número de espinhos do pente sifônico, das larvas do 4º estado de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

QUADRO XII

Resultados da observação das sedas cefalotorácicas e das sedas abdominais das pupas de Aedes detritus A, de Rio Maior.

Cefalotorax: seda 10: N= 7; \bar{X} = 15,42; v= 6,53; s= 2,76
 seda 11: N= 8; \bar{X} = 2,125 v= 0,109 s= 0,353
 seda 12: N= 8; \bar{X} = 4,00 v= 0,000 s= 0,000

I segmento abdominal:

seda 2: N=10; \bar{X} = 1,2; v= 0,16; s= 0,421
 seda 3: N= 8; \bar{X} = 2,5 v= 0,25; s= 0,534
 seda 4: N= 9; \bar{X} = 3,11; v= 0,987; s= 1,054
 seda 5: N=10; \bar{X} = 8,5; v= 2,85 ; s= 1,779
 seda 6: N=10; \bar{X} = 1,3 ; v= 0,41 ; s= 0,674
 seda 7: N= 9; \bar{X} = 3,333; v= 0,888; s= 1,000

II segmento abdominal:

seda 1: N=10; \bar{X} = 17,7; v= 7,21 ; s= 2,830
 seda 2: N=10; \bar{X} = 1,1; v= 0,09 ; s= 0,316
 seda 3: N= 8; \bar{X} = 3,875; v= 0,609; s= 0,834
 seda 4: N=10; \bar{X} = 2,8; v= 0,56 ; s= 0,788
 seda 5: N=10; \bar{X} = 7,7; v= 1,61 ; s= 1,337
 seda 6: N= 9; \bar{X} = 1,222; v= 0,172; s= 0,440

III segmento abdominal:

seda 1: N=10; \bar{X} = 6,7; v= 1,01 ; s= 1,059
 seda 2: N=16; \bar{X} = 1,0; v= 0,00 ; s= 0,00
 seda 3: N=10; \bar{X} = 2,7; v= 0,41 ; s= 0,674
 seda 4: N=10; \bar{X} = 7,6; v= 2,44 ; s= 1,646
 seda 5: N=10; \bar{X} = 4,2; v= 1,16 ; s= 1,135
 seda 6: N=10; \bar{X} = 1,8; v= 0,36 ; s= 0,638

IV segmento abdominal:

seda 1: N= 9; \bar{X} = 4,222; v= 0,839; s= 0,971
 seda 2: N=10; \bar{X} = 1,0; v= 0,0 ; s= 0,0
 seda 3: N= 9; \bar{X} = 5,222; v= 0,839; s= 0,971
 seda 4: N=10; \bar{X} = 3,6; v= 1,24 ; s= 1,173
 seda 5: N=10; \bar{X} = 2,6; v= 0,44 ; s= 0,699
 seda 6: N=10; \bar{X} = 1,5; v= 0,45 ; s= 0,707

V segmento abdominal:

seda 1: N= 9; \bar{X} = 3,888; v= 0,765; s= 0,927
 seda 2: N=10; \bar{X} = 1,1 ; v= 0,09 ; s= 0,316
 seda 3: N=10; \bar{X} = 3,5; v= 0,25 ; s= 0,527
 seda 4: N= 9; \bar{X} = 6,888; v= 0,987; s= 1,054
 seda 5: N= 8; \bar{X} = 2,25 ; v= 0,437; s= 0,707
 seda 6: N= 9; \bar{X} = 1,111; v= 0,098; s= 0,333

VI segmento abdominal:

seda 1: N= 10; \bar{X} = 3,3; v= 0,61 ; s= 0,823
 seda 2: N= 10; \bar{X} = 1,4; v= 0,64 ; s= 0,843
 seda 3: N= 10; \bar{X} = 1,8; v= 0,36 ; s= 0,632
 seda 4: N= 10; \bar{X} = 4,3; v= 0,41 ; s= 0,674
 seda 5: N= 9; \bar{X} = 2,333; v= 0,222; s= 0,500
 seda 6: N= 10; \bar{X} = 1,3; v= 0,210; s= 0,483

QUADRO XII (Continuação)

VII Segmento abdominal:

seda 1:	N= 9;	\bar{X} = 2,222;	v= 0,839;	s= 0,971
seda 2:	N= 9;	\bar{X} = 1,222;	v= 0,172;	s= 0,440
seda 3:	N= 9;	\bar{X} = 3,111;	v= 0,320;	s= 0,600
seda 4:	N= 8;	\bar{X} = 2,00 ;	v= 0,00 ;	s= 0,00
seda 5:	N= 9;	\bar{X} = 3,222;	v= 3,061;	s= 1,855
seda 6:	N=10;	\bar{X} = 6,4;	v= 1,24 ;	s= 1,173
seda 9:	N= 9;	\bar{X} = 4,111;	v= 3,654;	s= 2,027

VIII segmento abdominal:

seda 4:	N=10;	\bar{X} = 2,2;	v= 0,96;	s= 1,032
seda 9:	N= 8;	\bar{X} = 7,25;	v= 2,187;	s= 1,581

QUADRO XIII

Resultados da observação das sedas cefalotorácicas e das sedas abdominais das pupas de Aedes detritus B, de Milfontes.

Cefalotorax:

seda 10: N= 13; \bar{X} = 16,46; v= 8,094; s= 2,961
 seda 11: N= 14; \bar{X} = 2,285; v= 0,346; s= 0,611
 seda 12: N= 15; \bar{X} = 2,866; v= 0,248; s= 0,516

I segmento abdominal:

seda 2: N= 20; \bar{X} = 1,45 ; v= 0,247; s= 0,510
 seda 3: N= 20; \bar{X} = 3,15 ; v= 0,627; s= 0,812
 seda 4: N= 17; \bar{X} = 3,705; v= 0,678; s= 0,848
 seda 5: N= 20; \bar{X} = 7,85 ; v= 1,027; s= 1,039
 seda 6: N= 18; \bar{X} = 1,777; v= 0,617; s= 0,808
 seda 7: N= 19; \bar{X} = 3,052; v= 3,052; s= 1,795

II segmento abdominal:

seda 1: N= 20; \bar{X} = 16,2 ; v= 8,36 ; s= 2,966
 seda 2: N= 19; \bar{X} = 1,0 ; v= 0,0 ; s= 2,966
 seda 3: N= 19; \bar{X} = 4,84 ; v= 1,711; s= 1,344
 seda 4: N= 17; \bar{X} = 3,47 ; v= 3,47 ; s= 1,920
 seda 5: N= 19; \bar{X} = 7,263; v= 1,667; s= 1,326
 seda 6: N= 19; \bar{X} = 1,684; v= 0,216; s= 0,477

III segmento abdominal:

seda 1: N= 20; \bar{X} = 5,05 ; v= 2,747; s= 1,700
 seda 2: N= 20; \bar{X} = 1,0 ; v= 0,0 ; s= 1,700
 seda 3: N= 17; \bar{X} = 3,176; v= 1,086; s= 1,074
 seda 4: N= 18; \bar{X} = 5,5 ; v= 2,361; s= 1,581
 seda 5: N= 18; \bar{X} = 4,722; v= 3,089; s= 1,808
 seda 6: N= 15; \bar{X} = 3,133; v= 0,515; s= 0,743

IV segmento abdominal:

seda 1: N= 18; \bar{X} = 3,5 ; v= 0,25 ; s= 0,514
 seda 2: N= 20; \bar{X} = 1,0 ; v= 0,0 ; s= 0,0
 seda 3: N= 16; \bar{X} = 5,75 ; v= 0,687; s= 0,856
 seda 4: N= 17; \bar{X} = 2,705; v= 1,031; s= 1,046
 seda 5: N= 18; \bar{X} = 2,444; v= 0,802; s= 0,921
 seda 6: N= 18; \bar{X} = 2,222; v= 0,506; s= 0,732

V segmento abdominal:

seda 1: N= 19; \bar{X} = 3,052; v= 0,155; s= 0,404
 seda 2: N= 20; \bar{X} = 1,00 ; v= 0,0 ; s= 0,0
 seda 3: N= 19; \bar{X} = 2,578; v= 0,559; s= 0,768
 seda 4: N= 20; \bar{X} = 6,2 ; v= 2,06 ; s= 1,472
 seda 5: N= 18; \bar{X} = 2,166; v= 0,25 ; s= 0,514
 seda 6: N= 19; \bar{X} = 1,894; v= 0,199; s= 0,458

QUADRO XIII (Continuação)

VI segmento abdominal:

seda 1:	N= 18;	\bar{X} = 2,5 ;	v= 0,472;	s= 0,707
seda 2:	N= 20;	\bar{X} = 1,0 ;	v= 0,0 ;	s= 0,0
seda 3:	N= 20;	\bar{X} = 1,5 ;	v= 0,25 ;	s= 0,512
seda 4:	N= 18;	\bar{X} = 3,722;	v= 0,5333;	s= 0,751
seda 5:	N= 19;	\bar{X} = 2,157;	v= 0,4448;	s= 0,688
seda 6:	N= 20;	\bar{X} = 1,90;	v= 0,39 ;	s= 0,640

VII segmento abdominal:

seda 1:	N= 19;	\bar{X} = 2,421;	v= 0,349;	s= 0,606
seda 2:	N= 20;	\bar{X} = 1,0 ;	v= 0,0 ;	s= 0,0
seda 3:	N= 20;	\bar{X} = 2,55 ;	v= 0,247;	s= 0,510
seda 4:	N= 20;	\bar{X} = 1,9 ;	v= 0,39 ;	s= 0,640
seda 5:	N= 19;	\bar{X} = 2,526;	v= 0,459;	s= 0,696
seda 6:	N= 20;	\bar{X} = 8,15 ;	v= 4,427;	s= 2,158
seda 9:	N= 15;	\bar{X} = 3,133;	v= 0,382;	s= 0,639

VIII segmento abdominal:

seda 4:	N= 20;	\bar{X} = 1,7 ;	v= 0,41 ;	s= 0,656
seda 9:	N= 12;	\bar{X} = 7,166;	v= 1,138;	s= 1,114

MEDIA = 0.312
DESVIO PADRAO = .046
VARIANCIA = .001

NUMERO DE ITEMS = 8
MEDIA = 0.216
DESVIO PADRAO = .021
VARIANCIA = .0004

*** TESTE-T ***

T = 4.7021142
GL = 11
P = .00090658262
P < 0.001 ***

Quadro síntese 6 - Comparação dos índices do pavilhão das pupas de Aedes detritus de Rio Maior e Aedes detritus de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

NUMERO DE ITEMS = 5
MEDIA = 0.71
DESVIO PADRAO = .036
VARIANCIA = .001

NUMERO DE ITEMS = 9
MEDIA = 0.817
DESVIO PADRAO = .054
VARIANCIA = .002

*** TESTE-T ***

T = 3.6735288
GL = 12
P = .0034232866
P < 0.01 **

Quadro síntese 7 - Comparação das relações comprimento à base/comprimento total (pinna/meatus) das pupas de Aedes detritus de Rio Maior e de Aedes detritus de Milfontes. Diferença muito significativa ($P < 0.01$).

MEDIA = 3.688
DESUIO PADRAO = 0.927
VARIANCIA = 0.765

NUMERO DE ITEMS = 19
MEDIA = 3.052
DESUIO PADRAO = 0.404
VARIANCIA = 0.155

*** TESTE-T ***

T= 5.2003408
GL= 26
P= .0038364536
P<0.01 **

Quadro síntese 8 - Comparação entre o número de ramos da seda 1 do V segmento abdominal das pupas de Aedes detritus de Rio Maior e Aedes detritus de Milfontes. Diferença significativa (P<0,01).

NUMERO DE ITEMS = 9
MEDIA = 1.111
DESUIO PADRAO = 0.333
VARIANCIA = .096

NUMERO DE ITEMS = 19
MEDIA = 1.894
DESUIO PADRAO = 0.458
VARIANCIA = 0.199

*** TESTE-T ***

T= 4.4197683
GL= 26
P= .00032439965
P<0.001 ***

Quadro síntese 9 - Comparação entre o número de ramos da seda 6 do V segmento abdominal, das **pupas** de Aedes detritus de Rio Maior e de Aedes detritus de Milfontes. Diferença altamente significativa (P<0.001).

MEDIA = 4
DESUIO PADRAO = 0
VARIANCIA = 0

NUMERO DE ITEMS = 15
MEDIA = 2.866
DESUIO PADRAO = 0.516
VARIANCIA = 0.248

*** TESTE-T ***

T = 5.9395573
GL = 21
P = .000043433497
P < 0.001 ***

Quadro síntese 10 - Comparação do número de ramos da seda cefalotorácica 12 das pupas de Aedes detritus de Rio Maior e de Aedes detritus de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

NUMERO DE ITEMS = 10
MEDIA = 7.6
DESUIO PADRAO = 1.646
VARIANCIA = 2.44

NUMERO DE ITEMS = 16
MEDIA = 5.5
DESUIO PADRAO = 1.581
VARIANCIA = 2.361

*** TESTE-T ***

T = 3.1977166
GL = 26
P = .0038584754
P < 0.01 **

Quadro síntese 11 - Comparação do número de ramos da seda 4 do III segmento abdominal das pupas de Aedes detritus de Rio Maior e de Aedes detritus de Milfontes. Diferença muito significativa ($P < 0.01$).

NUMERO DE ITEMS = 10
MEDIA = 1.8
DESVIO PADRAO = 0.636
VARIANCIA = 0.36

NUMERO DE ITEMS = 15
MEDIA = 3.133
DESVIO PADRAO = 0.743
VARIANCIA = 0.515

*** TESTE-T ***

T= 4.455696
GL= 23
P= .00035669051
P<0.001 ***

Quadrosíntese 12 - Comparação do número de ramos da seda 6 do III segmento abdominal das pupas de Aedes detritus de Rio Maior e de Aedes detritus de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

2.1.4 - Adultos

Nas observações efectuadas nos adultos, as amostras foram separadas em lotes de machos e fêmeas, devidamente referenciados e etiquetados. Nas genitálias masculinas procurámos encontrar eventuais diferenças que permitissem uma discriminação segura das duas espécies em estudo. Porém, como sucede frequentemente em espécies de diversos grupos de insectos, mosquitos incluídos, para além de ligeiras dissemelhanças, não detectámos quaisquer afastamentos significativos ao nível da genitália masculina.

Assim, optámos por diversas determinações, correntemente empregues na sistemática morfológica destes insectos, estendendo ao género Aedes algumas análises (por exemplo, o número de sensilla coeloconica dos palpos maxilares das fêmeas) habitualmente feitas nos mosquitos do género Anopheles o que se traduziu em resultados que consideramos francamente satisfatórios.

Para as duas espécies e localidades estabeleceram-se os seguintes índices e/ou relações:

- Relação entre o comprimento total da fúrcula anterior da asa e o comprimento da haste nas fêmeas;
- Relação entre os comprimentos das asas das fêmeas e dos machos de Rio Maior versus fêmeas e machos de Milfontes;
- Relação entre o comprimento da tromba ou probóscida e o comprimento do fémur anterior das fêmeas e dos machos de Rio Maior e de Milfontes;
- Relação número de sensilla coeloconica do III palpo maxilar e o comprimento dos palpos respectivos das fêmeas;
- Comparação entre o número de sensilla coeloconica do III palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e as de Milfontes;
- Relação entre o número de macrosetas nos I, II e III palpos maxilares das fêmeas de Rio Maior e de Milfontes;
- Comparação do número de sedas por lobo do IX tergito abdominal dos machos de Rio Maior e de Milfontes;
- Comparação do número de sedas diferenciadas dos lobos basais das genitálias masculinas dos exemplares de Rio Maior e de Milfontes;
- Comparação das medidas das claspets da genitália dos machos de Rio Maior e de Milfontes.

Os resultados destas observações estão representados nos quadros síntese 13 a 34, figuras 13 a 34 e quadros anexos 16 a 25, incluídos no presente trabalho.

Conforme se pode verificar pela sua consulta, revelaram-se algumas

diferenças assinaláveis entre as duas espécies, tais como:

- a) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre o número de sedas diferenciadas dos lobos basais das genitálias masculinas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes (quadrosíntese 13).
- b) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre o número de sedas por lobo do IX tergito abdominal das genitálias masculinas dos exemplares de Rio Maior e de Milfontes (quadro síntese 14).
- c) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre o comprimento da fúrcula anterior da asa e o comprimento da haste, nas fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes (quadro síntese 16).
- d) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre o comprimento da fúrcula anterior da asa, nas fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes (quadro síntese 17).
- e) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre as relações dos comprimentos dos II e III segmentos dos palpos maxilares das fêmeas de A. detritus de Rio Maior e de Milfontes (quadro síntese 19).
- f) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre o comprimento das asas das fêmeas de A. detritus de Rio Maior e de Milfontes (quadro síntese 20).
- g) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre o comprimento das asas nos machos de A. detritus de Rio Maior e de Milfontes (quadro síntese 21).
- h) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre o número de sensilla coeloconica do III segmento palpal das fêmeas de A. detritus (espécie halófila) de Milfontes e o número de sensilla coeloconica do segmento homólogo nas fêmeas de Aedes vittatus (espécie dulçaquícola) do Alentejo (quadro síntese 24).
- i) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre o número de macro-sedas do III segmento palpal das fêmeas de A. detritus de Rio Maior e de Milfontes (quadro síntese 25).
- j) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre o número de sensilla coeloconica do III segmento palpal das fêmeas de A. detritus (espécie halófila) de Rio Maior e o número de sensilla coeloconica do segmento homólogo nas fêmeas de Aedes echinus (espécie arborícola) do Alentejo (quadro síntese 26).

k) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre o número de sensilla coeloconica do II segmento palpal nas fêmeas de A. detritus de Rio Maior e de Milfontes (quadro síntese 29).

l) - Diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre o número de sensilla coeloconica do III palpo maxilar nas fêmeas de A. detritus de Rio Maior e de Milfontes (quadro síntese 30).

Numa tentativa de contribuir para o esclarecimento do papel ecofisiológico das sensilla coeloconica dos palpos maxilares nas espécies estudadas, efectuámos a comparação do seu número entre as amostras de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes e duas outras espécies do mesmo género, Aedes echinus e Aedes vittatus, ambas dulçaquícolas existentes na província do Alentejo, sendo a primeira arborícola. Os resultados que serão analisados mais detalhadamente do ponto de vista ecológico, no capítulo dedicado à ecofisiologia, revelaram-se de algum interesse, como se pode verificar pela observação dos quadros síntese 24, 26 e 30.

O somatório das diferenças detectadas entre os adultos, pupas e larvas dos exemplares provenientes de Rio Maior e a amostra de Milfontes, revela uma vez mais que este complexo de espécies gêmeas parece susceptível de discriminação morfológica. Com esta finalidade, procedemos a uma análise discriminante utilizando larvas do 4º estado que nos forneceram resultados que consideramos importantes para a separação segura das duas espécies ocorrendo em Portugal. A figura C, compara o número de sensilla coeloconica e o comprimento do III segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes, revelando uma diferença altamente significativa entre as amostras.

N= 50 média grupo 1= 2.08
N= 52 média grupo 2= 1.078

desvio padrão g.1= 0.651
desvio padrão g.2= 0.334
P<0.001

t = 9.8587929

graus de liberdade = 100

Quadro síntese 13 - Comparação entre o número de sedas diferenciadas dos lobos basais das genitálias masculinas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa (P<0.001).

N= 92 média grupo 1= 8.978
N= 102 média grupo 2= 5.17

desvio padrão g.1= 1.452
desvio padrão g.2= 1.458
P<0.001

t = 8.6413384

graus de liberdade = 192

Quadrosíntese 14 - Comparação do número de sedas por lobo do IX tergito abdominal entre a genitália masculina dos exemplares de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa (P<0.001).

N= 92 média grupo 1= 0.535
N= 96 média grupo 2= 0.525

desvio padrão g.1= .0757
desvio padrão g.2= .00838

P>0.1

t = 1.286254

graus de liberdade = 186

Quadro síntese 15 - Comparação das medidas das claspets nas genitálias masculinas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença não significativa (P>0.1).

N= 30 média grupo 1= 2.021
N= 30 média grupo 2= 1.521
desvio padrão g.1= 0.1252
desvio padrão g.2= 0.1117

$P < 0.001$

t = 11.291722

graus de liberdade = 58

Quadro síntese 16 - Comparação entre o comprimento total da fúrcula anterior da asa e o comprimento do stem, nas fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

* TESTE-T *

-ENTRE AS AMOSTRAS 1 E 3

T= 13.079518

GL= 58

P= 5.7803343E-9

$P < 0.001$ ***

Quadro síntese 17 - Comparação entre o comprimento da fúrcula anterior da asa das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

* TESTE-T *

-ENTRE AS AMOSTRAS 2 E 4

T= 1.7952842

GL= 58

P= .074252959

$P > 0.05$ -NS-

Quadro síntese 18 - Comparação entre o comprimento do stem das asas das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença não significativa ($P > 0.05$)

N= 43 média grupo 1= 2.2386 R. Maior
N= 38 média grupo 2= 2.05 Milfontes

desvio padrão g.1= 0.1673

desvio padrão g.2= 0.14609

P < 0.001

t = 5.3707361

graus de liberdade = 79

Quadro síntese 19 - Comparação entre as relações dos comprimentos dos II e III segmentos dos palpos maxilares das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa (P < 0.001).

N= 29 média grupo 1= 4.476
N= 30 média grupo 2= 3.63
desvio padrão g.1= 0.441
desvio padrão g.2= 0.369

$P < 0.001$

$t = 8.0022657$

graus de liberdade = 57

Quadro síntese 20 - Comparação entre o comprimento das asas das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

N= 30 média grupo 1= 4.474
N= 27 média grupo 2= 3.71
desvio padrão g.1= 0.457
desvio padrão g.2= 0.348

$P < 0.001$

$t = 7.0397984$

graus de liberdade = 55

Quadro síntese 21 - Comparação entre o comprimento das asas dos machos de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

N= 29 média grupo 1= 1.618
 N= 30 média grupo 2= 1.575

 desvio padrão g.1= .0822
 desvio padrão g.2= 0.108

 0.05 < P < 0.1

 t = 1.7184848

 graus de liberdade = 54

Quadro síntese 22 - Comparação entre as relações comprimento da tromba/
 comprimento do fêmur anterior das patas nas fêmeas
 de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes.
 Diferença não significativa (0.05 < P < 0.1)

N= 30 média grupo 1= 1.689
 N= 27 média grupo 2= 1.629

 desvio padrão g.1= .084
 desvio padrão g.2= 0.104

 0.02 < P < 0.05

 t = 2.2964923

 graus de liberdade = 50

Quadro síntese 23 - Comparação entre as relações comprimento da tromba/
 comprimento do fêmur anterior das patas nos machos
 de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes.
 Diferença não significativa (0.02 < P < 0.05).

N= 171 média grupo 1= 69.144 Milfontes

N= 30 média grupo 2= 30.733

desvio padrão g.1= 16.553

desvio padrão g.2= 2.9353

$P < 0.001$

$t = 12.649691$

graus de liberdade = 199

Quadro síntese 24 - Comparação do número de sensilla coeloconica do III segmento palpal entre as fêmeas de Aedes detritus (espécie halofila) de Milfontes e as fêmeas de Aedes vittatus (espécie dulçaquicola) do Alentejo.. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

N= 85 média grupo 1= 8.211 Rio Maior
 N= 95 média grupo 2= 2.421 Milfontes

 desvio padrão g.1= 0.619
 desvio padrão g.2= 0.4825
 P < 0.001

 t = 7.155541

 graus de liberdade = 178

Quadro síntese 25 - Comparação do número de macrosetas do III segmento palpal entre as fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa (P < 0.001).

N= 171 média grupo 1= 100.918 Rio Maior
 N= 30 média grupo 2= 35.878 Alentejo

 desvio padrão g.1= 12.642
 desvio padrão g.2= 2.1674

 t = 27.971422

 graus de liberdade = 199

 P < 0.001

Quadro síntese 26 - Comparação do número de sensilla coeloconica do III segmento palpal entre as fêmeas de Aedes detritus (espécie halófila) de Rio Maior e as fêmeas de Aedes echinus (espécie arborícola) do Alentejo. Diferença altamente significativa (P < 0.001).

N= 82 média grupo 1= 2 Rio Maior
 N= 92 média grupo 2= 2.868 Milfontes

 desvio padrão g.1= 0.222
 desvio padrão g.2= 0.5463

 $0.05 < P < 0.02$

 $t = 2.1970863$

 graus de liberdade = 172

Quadro síntese 27 - Comparação do número de macrosetas do I segmento palpal entre as fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença não significativa ($0.05 < P < 0.02$).

N= 86 média grupo 1= 3.72 Rio Maior
 N= 94 média grupo 2= 3.893 Milfontes

 desvio padrão g.1= 1.94
 desvio padrão g.2= 1.041

 $0.4 < P < 0.5$

 $t = -0.76414128$

 graus de liberdade = 178

Quadro síntese 28 - Comparação do número de macrosetas do II segmento palpal entre as fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença não significativa ($0.4 < P < 0.5$)

N= 92 média grupo 1= 42.566 Rio Maior
 N= 92 média grupo 2= 48.593 Milfontes

 desvio padrão g.1= 4.488
 desvio padrão g.2= 1.005

 P < 0.001

 t = -12.571575

 graus de liberdade = 182

Quadro síntese 29 - Comparação entre o número de sensilla coeloconica do II segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa (P < 0.001).

N= 171 média grupo 1= 100.918 Rio Maior
 N= 171 média grupo 2= 69.144 Milfontes

 desvio padrão g.1= 12.642
 desvio padrão g.2= 16.553

 P < 0.001

 t = 19.94858

 graus de liberdade = 340

Quadro síntese 30 - Comparação entre o número de sensilla coeloconica do III segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa.(P < 0.001).

-ENTRE AS AMOSTRAS 1 E 3

T= 10.820515

GL= 62

P= 2.5030734E-8

P<0.001 ***

Quadro síntese 31 - Relação entre o número de sensilla coeloconica do III segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

→ TESTE-T →

-ENTRE AS AMOSTRAS 2 E 4

T= 14.754439

GL= 62

P= 1.8281252E-9

P<0.001 ***

Quadro síntese 32 - Relação entre o comprimento do III segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

→ TESTE-T →

-ENTRE AS AMOSTRAS 5 E 7

T= 6.658744

GL= 62

P= 2.5787553E-6

P<0.001 ***

Quadro síntese 33 - Relação entre o número de sensilla coeloconica do II segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

→ TESTE-T →

-ENTRE AS AMOSTRAS 6 E 8

T= 11.654029

GL= 62

P= 1.2989568E-8

P<0.001 ***

Quadro síntese 34 - Relação entre o comprimento do II segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes. Diferença altamente significativa ($P < 0.001$).

- AMOSTRA NO. 3 -

N. SENSILLA III - MILFONT
MILFONTES
AEDES DETRITUS
N. SENSILLA III SEGM. PAL

- AMOSTRA NO. 3 -

NUMERO DE ITEMS = 32
MEDIA = 81.71875
DESUIO PADRAO = 6.9432463
ERRO PADRAO = 1.2274041
VARIANCIA = 46.208669

#

SKEWNESS = -0.19576238

KURTOSIS = 1.2003393

AMOSTRA NO. 3	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
62.083-67.916	2
67.916-73.749	1
73.75-79.583	6
79.583-85.416	16
85.416-91.249	6
91.25-97.083	0
97.083-102.916	1

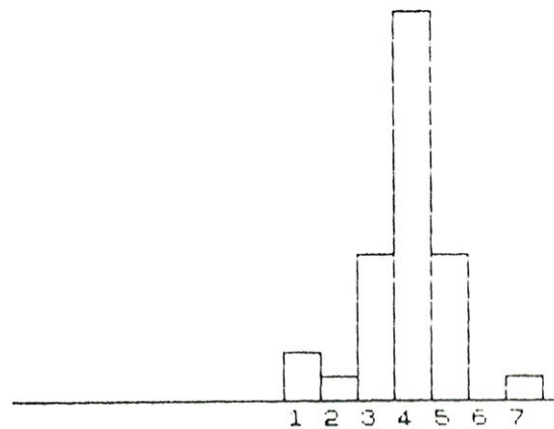


Figura 13- Número de sensilla coeloconica do III segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Milfontes.

- AMOSTRA NO. 1 -

SENSILLA III - RIO MAIOR
 RIO MAIOR
 REDES DETRITUS
 N. SENSILLA III PALPO

- AMOSTRA NO. 1 -

NUMERO DE ITEMS = 32
 MEDIA = 108.21875
 DESVIO PADRAO = 11.735621
 ERRO PADRAO = 2.0745643
 VARIANCIA = 137.7248

#

SKEWNESS = .099052022

KURTOSIS = -0.73582763

AMOSTRA NO. 1	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
81.25-88.75	2
88.75-96.25	3
96.25-103.75	5
103.75-111.25	10
111.25-118.75	8
118.75-126.25	7
126.25-133.75	2

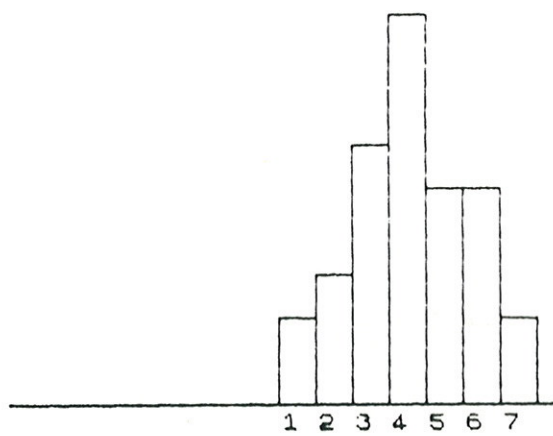


Figura 14 - Número de sensilla coeloconica do III segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior.

- AMOSTRA NO. 6 -

C. II SEGM. PALPAL -
RIO MAIOR
REDES DETRITUS
C. II SEGM. PALPAL

- AMOSTRA NO. 6 -

NUMERO DE ITEMS = 32

MEDIA = 11.625

DESVIO PADRAO = 0.94185815

ERRO PADRAO = 0.16649857

VARIANCIA = 0.88709677

#

SKEWNESS = 0.80903983

KURTOSIS = 0.68561983

AMOSTRA NO. 6	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
9.666-10.332	2
10.333-10.999	14
11-11.666	0
11.666-12.332	12
12.333-12.999	6
13-13.666	0
13.666-14.333	0

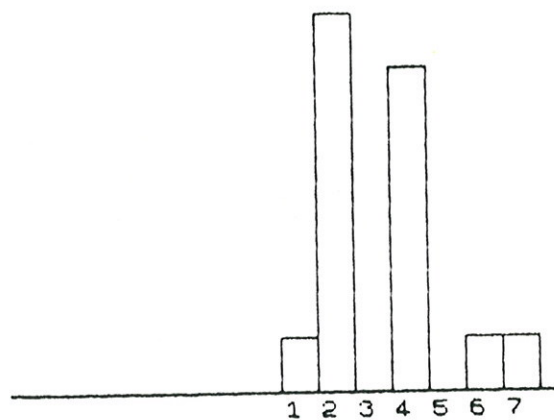


Figura 15 - Comprimento do II segmento palpal nas fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior.

-----RESULTADOS-----

n*n

MEDIA DE X=48.5
VARIANCIA=27.548391
DESUIO PADRAO=5.2486561

MEDIA DE Y=11.625
VARIANCIA=0.86709696
DESUIO PADRAO=0.94185825

C. CORRELACAO=0.6786377
T=5.0608406
GRAUS DE LIBERDADE=30
PROB. EXACTA=.000086124388
P<0.001 ***

RECTA DE REGRESSAO:

$Y=5.7186777+0.12177984*X$

ERRO P. PREVISTO=0.70320462

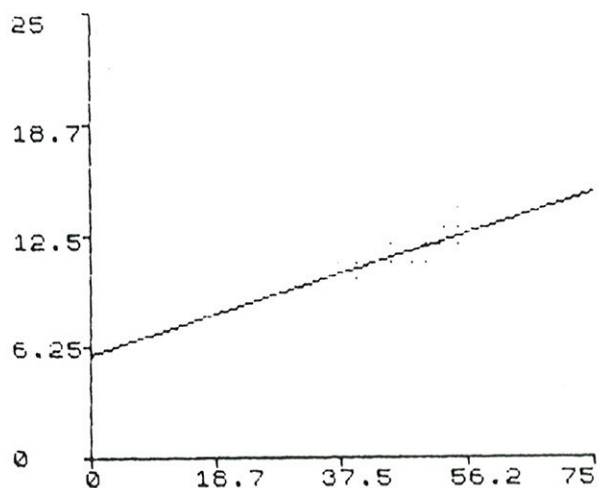


Figura 16 - Relação entre o número de sensilla coeloconica e o comprimento do II segmento do palpo maxilar nas fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior. Correlação altamente significativa ($P < 0.001$).

- AMOSTRA NO. 4 -

C. III PALPO - MILFONTES
MILFONTES
REDES DETRITUS
COMP. III SEGM. PALPAL

- AMOSTRA NO. 4 -

NUMERO DE ITEMS = 32
MEDIA = 18.84375
DESVIO PADRAO = 0.98731879
ERRO PADRAO = 0.17453495
VARIANCIA = 0.97479839

#

SKEWNESS = 0.11195719

KURTOSIS = -0.73593837

AMOSTRA NO. 4	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
16.666-17.332	2
17.333-17.999	0
18-18.666	11
18.666-19.332	10
19.333-19.999	0
20-20.666	8
20.666-21.333	1

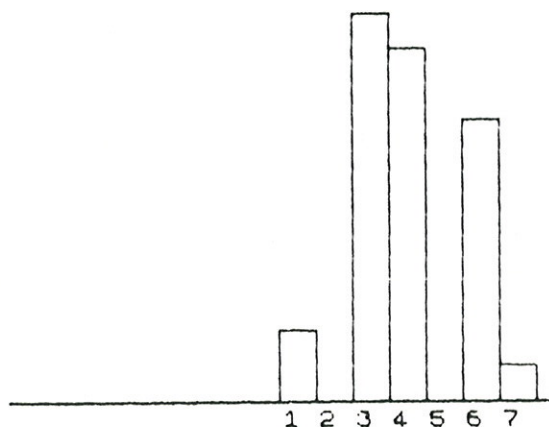


Figura 17 - Comprimento do III segmento palpal nas fêmeas de Aedes detritus de Milfontes.

-----RESULTADOS-----

n*n

MEDIA DE X=81.71875
VARIANCIA=48.208656
DESVIO PADRAO=6.9432453

MEDIA DE Y=18.84375
VARIANCIA=0.97479888
DESVIO PADRAO=0.98731904

C. CORRELACAO=-0.37365687
T=2.2064206
GRAUS DE LIBERDADE=30
PROB. EXACTA=.033170213
P<0.05 *

RECTA DE REGRESSAO:

$Y=23.185749+-0.053133445*X$

ERRO P. PREVISTO=0.93094285

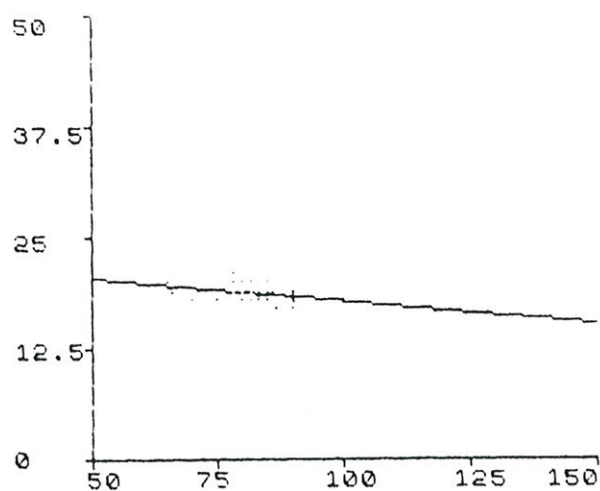


Figura 18 - Relação entre número de sensilla coeloconica e o comprimento do III segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Milfontes. Correlação não significativa ($P < 0.05$).

- AMOSTRA NO. 7 -

N. SENSILLA II SEGM. MILF
MILFONTES
REDES DETRITUS
N. SENSILLA II SEGM. PALP

- AMOSTRA NO. 7 -

NUMERO DE ITEMS = 32
MEDIA = 40.6875
DESVIO PADRAO = 3.8890873
ERRO PADRAO = 0.6875
VARIANCIA = 15.125

#

SKEWNESS = -0.60938888

KURTOSIS = -0.26467268

AMOSTRA NO. 7	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
30.833-33.166	2
33.166-35.499	2
35.5-37.833	2
37.833-40.166	10
40.166-42.499	10
42.5-44.833	2
44.833-47.166	4

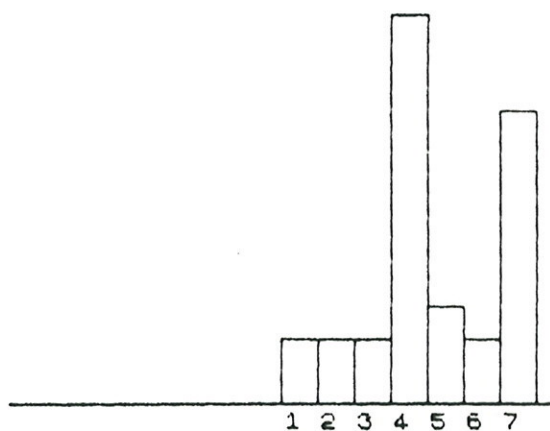


Figura 19 - Número de sensilla coeloconica do II segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Milfontes.

- AMOSTRA NO. 5 -

N. SENSILLA II - R. MAIOR
RIO MAIOR
AEDES DETRITUS
NUM. SENSILLAS II PALPO

- AMOSTRA NO. 5 -

NUMERO DE ITEMS = 32

MEDIA = 48.5

DESVIO PADRAO = 5.2486557

ERRO PADRAO = 0.92784002

VARIANCIA = 27.548387

#

SKEWNESS = -0.51376068

KURTOSIS = -0.7273171

AMOSTRA NO. 5	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
35.5-38.5	1
38.5-41.5	4
41.5-44.5	1
44.5-47.5	5
47.5-50.5	10
50.5-53.5	5
53.5-56.5	6

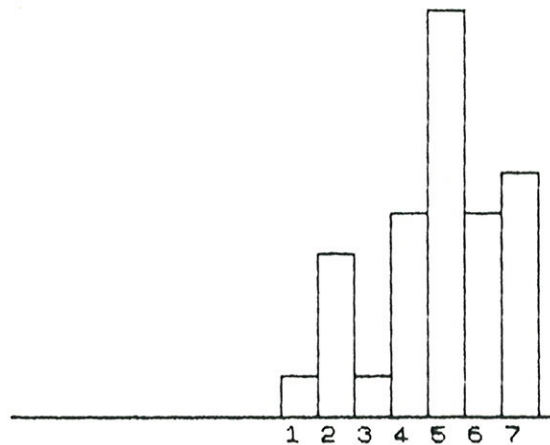


Figura 20 - Número de sensilla coeloconica do II segmento do palpo maxilar das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior.

-----RESULTADOS-----

n*n

MEDIA DE X=108.21875
VARIANCIA=137.72477
DESVIO PADRAO=11.73562

MEDIA DE Y=26.65625
VARIANCIA=7.7167349
DESVIO PADRAO=2.7779012

C. CORRELACAO=0.87511934
T=9.9052598
GRAUS DE LIBERDADE=30
PROB. EXACTA=3.356261E-7
P<0.001 ***

RECTA DE REGRESSAO:

$Y=4.2390921+0.20714671*X$

ERRO P. PREVISTO=1.3664667

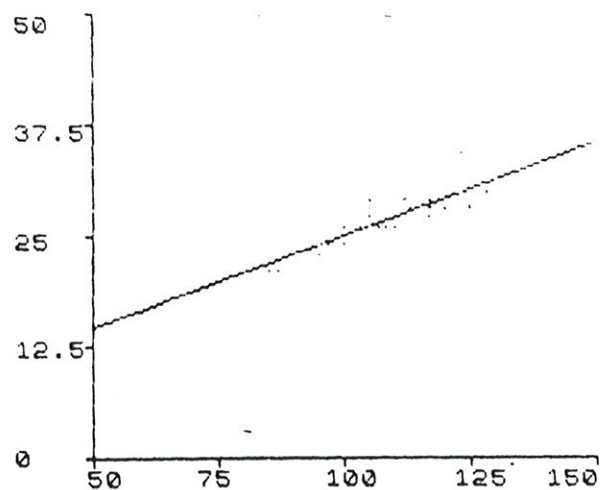


Figura 21 - Relação entre o número de sensilla coeloconica e o comprimento do III segmento do palpo maxilar nas fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior. Correlação altamente significativa ($P < 0.001$).

- AMOSTRA NO. 2 -

COMP. III SEG. R. MAIOR
RIO MAIOR
REDES DETRITUS
C. III SEGMENTO PALPAL

- AMOSTRA NO. 2 -

NUMERO DE ITEMS = 32
MEDIA = 26.65625
DESUIO PADRAO = 2.777901
ERRO PADRAO = 0.49106816
VARIANCIA = 7.7167339

#

SKEWNESS = 0.15135323

KURTOSIS = 0.41185726

AMOSTRA NO. 2	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
19.916-22.082	2
22.083-24.249	0
24.25-26.416	0
26.416-28.582	0
28.583-30.749	5
30.75-32.916	11
32.916-35.083	1

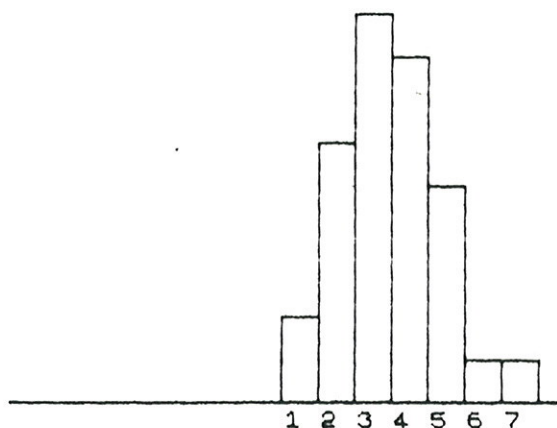


Figura 22- Comprimento do III segmento palpal nas fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior.

C. II SEGM. - MILFONTES
MILFONTES
REDES DETRITUS
C. II SEGM. PALPAL

- AMOSTRA NO. 8 -

NUMERO DE ITEMS = 32
MEDIA = 9.21875
DESUIO PADRAO = 0.65914779
ERRO PADRAO = 0.11652197
VARIANCIA = 0.43447561

#

SKEWNESS = -0.24877844

KURTOSIS = -0.7185188

AMOSTRA NO. 8	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
7.833-8.166	4
8.166-8.499	0
8.5-8.833	0
8.833-9.166	17
9.166-9.499	0
9.5-9.833	0
9.833-10.166	11

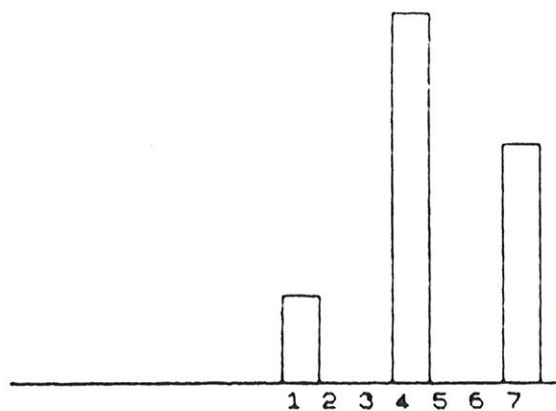


Figura 23 - Comprimento do II segmento palpal nas fêmeas de Aedes detritus de Milfontes.

-----RESULTADOS-----

n*n

MEDIA DE X=40.6875
VARIANCIA=15.125
DESVIO PADRAO=3.8890872

MEDIA DE Y=9.21875
VARIANCIA=0.43447596
DESVIO PADRAO=0.6591479

C. CORRELACAO=-.060558971
T=0.33230505
GRAUS DE LIBERDADE=30
PROB. EXACTA=0.7408978
P>0.05 -NS-

RECTA DE REGRESSAO:

$Y=9.6363637+-0.01026393*X$

ERRO P. PREVISTO=0.66881387

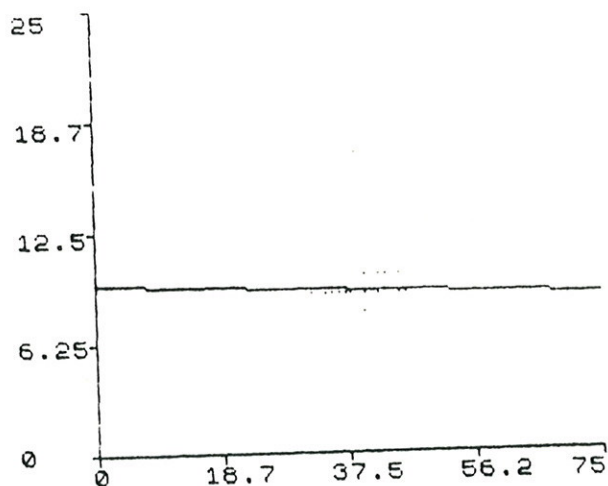


Figura 24 - Relação entre o número de sensilla coeloconica e o comprimento do II segmento do palpo maxilar nas fêmeas de Aedes detritus de Milfontes. Correlação nao significativa ($P > 0.05$).

- AMOSTRA NO. 1 -

COMP. FURCULA - R.MAIOR
RIO MAIOR
Aedes detritus
C. FURCULA DA ASA

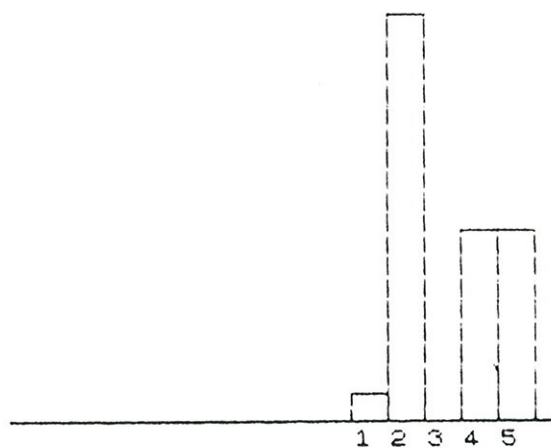
- AMOSTRA NO. 1 -

NUMERO DE ITEMS = 30
MEDIA = 93.333333
DESUIO PADRAO = 4.4204333
ERRO PADRAO = 0.60705701
VARIANCIA = 19.540231

#

SKEWNESS = 0.39476141

KURTOSIS = -1.0795848



AMOSTRA NO. 1	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
83.125-86.875	1
86.875-90.625	15
90.625-94.375	0
94.375-98.125	7
98.125-101.875	7

Figura 25- Comprimento da fúrcula anterior da asa das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior.

- AMOSTRA NO. 3 -

C. FURCULA (MILFONTES
MILFONTES
REDES DETRITUS (F)
COMP. DA FURCULA DA ASA

- AMOSTRA NO. 3 -

NUMERO DE ITEMS = 30
MEDIA = 68.833333
DESVIO PADRAO = 9.0671189
ERRO PADRAO = 1.6554218
VARIANCIA = 82.212644

#

SKEWNESS = -0.45792305

KURTOSIS = -1.3207333

AMOSTRA NO. 3	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
51.675-58.125	6
58.125-64.375	3
64.375-70.625	5
70.625-76.875	12
76.875-83.125	4

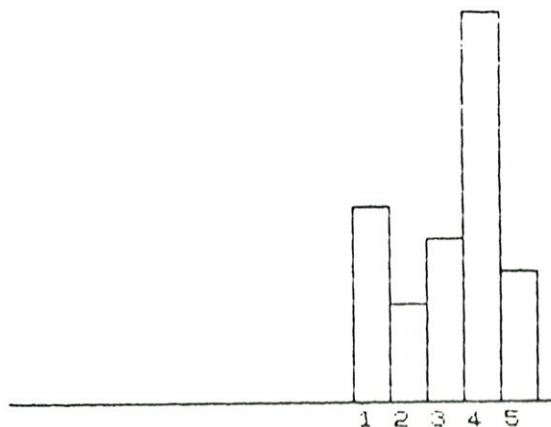


Figura 26 = Comprimento da fúrcula anterior da asa das fêmeas de Aedes detritus de Milfontes.

- AMOSTRA NO. 4 -

C. STEM (MILFONTES)
MILFONTES
REDES DETRITUS (F)
COMPRIMENTO DO STEM

- AMOSTRA NO. 4 -

NUMERO DE ITEMS = 30
MEDIA = 43.666667
DESVIO PADRAO = 6.8144539
ERRO PADRAO = 1.2441434
VARIANCIA = 46.436782

#

SKEWNESS = -0.66967973

KURTOSIS = -0.96005294

AMOSTRA NO. 4	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
27.5-32.5	2
32.5-37.5	6
37.5-42.5	2
42.5-47.5	8
47.5-52.5	12

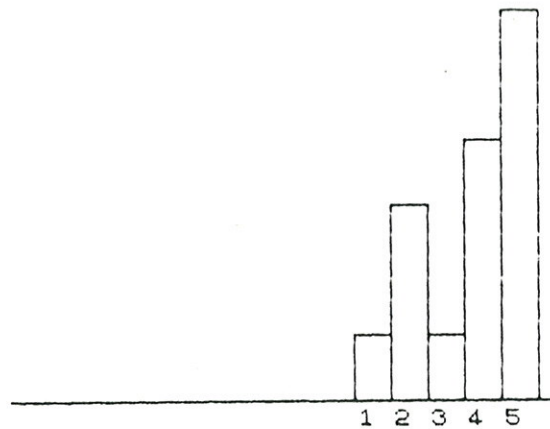


Figura 27- Comprimento da haste das asas nas fêmeas de Aedes detritus de Milfontes.

-----RESULTADOS-----

n*n

MEDIA DE X=68.833333
VARIANCIA=82.212644
DESUIO PADRAO=9.0671189

MEDIA DE Y=43.666667
VARIANCIA=46.436788
DESUIO PADRAO=6.8144543

C. CORRELACAO=0.92270321
T=12.664971
GRAUS DE LIBERDADE=28
PROB. EXACTA=7.8545482E-8
P<0.001 ***

RECTA DE REGRESSAO:

$Y = -4.0667598 + 0.69346382 \cdot X$

ERRO P. PREVISTO=2.6735476

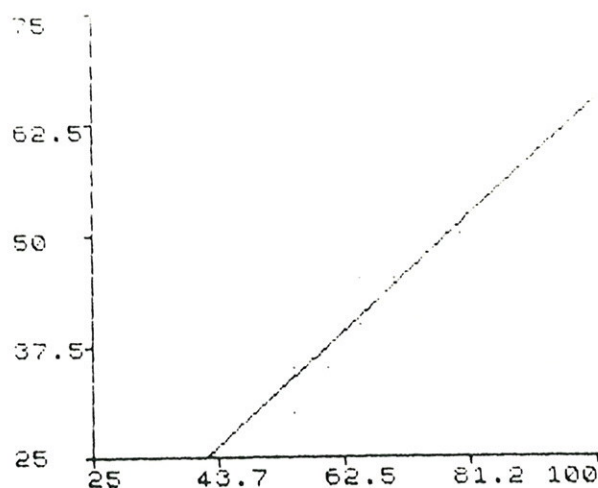


Figura 28- Correlação entre o comprimento da fúrcula anterior da asa e o comprimento da haste, nas fêmeas de Aedes detritus de Milfontes. Correlação altamente significativa ($P < 0.001$).

- AMOSTRA NO. 2 -

COMP. STEM (R.MAIOR)
RIO MAIOR
REDES DETRITUS (F)
COMPRIMENTO DO STEM

- AMOSTRA NO. 2 -

NUMERO DE ITEMS = 30
MEDIA = 46.166667
DESUIO PADRAO = 3.1303116
ERRO PADRAO = 0.57151409
VARIANCIA = 9.7988507

#

SKEWNESS = -0.19120609

KURTOSIS = -0.57135007

AMOSTRA NO. 2	
TABELA DE FREQUENCIAS	
INTERVALO DE CLASSE	FREQUENCIA
37.5-42.5	3
42.5-47.5	17
47.5-52.5	10

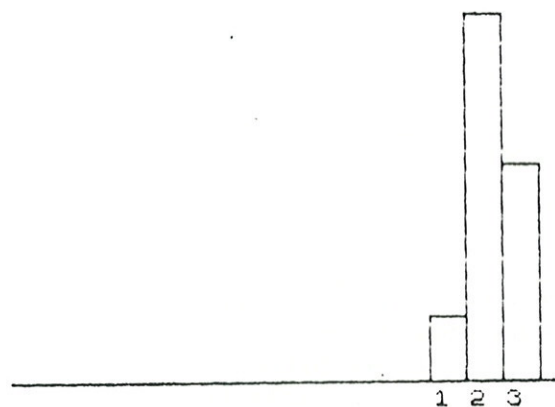


Figura 29 - Comprimento da haste das asas nas fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior.

-----RESULTADOS-----

n*n

MEDIA DE X=93.333333
VARIANCIA=19.540256
DESUIO PADRAO=4.4204362

MEDIA DE Y=46.166667
VARIANCIA=9.7968523
DESUIO PADRAO=3.1303119

D. CORRELACAO=-0.22843396
T=1.2415672
GRAUS DE LIBERDADE=28
PROB. EXACTA=0.22268679
P>0.05 -NS-

RECTA DE REGRESSAO:

$Y=61.264684+-0.16176447*X$

ERRO P. PREVISTO=3.1014876

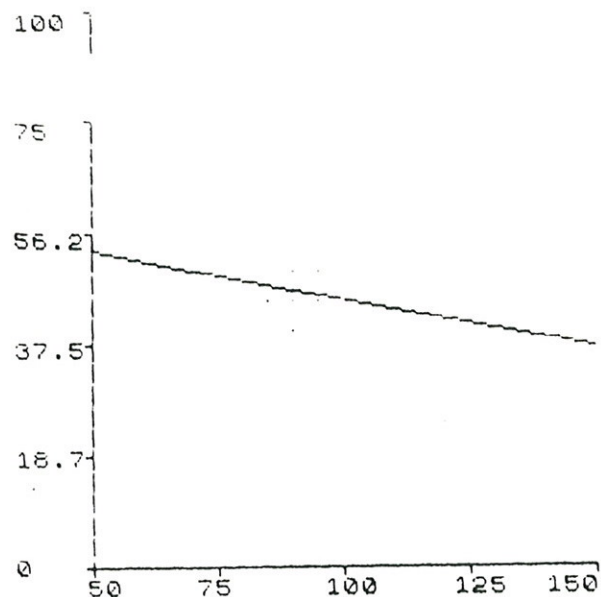


Figura 30 - Correlação entre o comprimento da fúrcula anterior da asa e o comprimento da haste nas fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior. Correlação não significativa ($P > 0.05$).

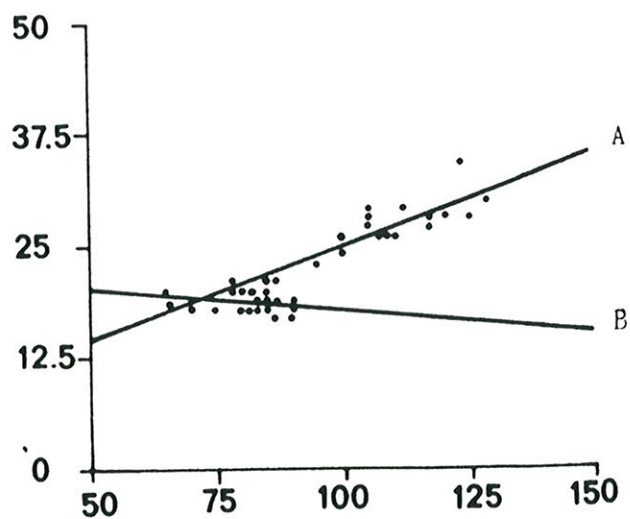


Figura C - Comparação do número de sensilla coelocônica e do comprimento do III segmento do palpo maxilar entre as fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior (A) e de Milfontes (B). Como se pode verificar, conjugando com os dados das figuras 18 e 21, as duas espécies revelam uma diferença altamente significativa, relativamente a estes caracteres.

2.2 - Análise discriminante das larvas

Uma vez que a análise univariada efectuada nas larvas do 4º estado das espécies A e B do complexo do Aedes detritus, revelou algumas diferenças altamente significativas e dado que o material larvar é relativamente fácil de colher, preparar e observar ao microscópio, achámos de interesse encontrar uma possível função discriminante que nos permitisse separar, com êxito, as larvas das duas espécies. Assim, socorremo-nos do auxílio do Dr. Gonçalo Janz do Instituto de Higiene e Medicina Tropical, da Universidade Nova de Lisboa, que gentilmente tratou estatisticamente os dados por nós recolhidos, relativos às larvas de Aedes detritus A e Aedes detritus B, de Rio Maior e de Milfontes, respectivamente.

Os caracteres escolhidos para este estudo foram os correntemente utilizados e referidos na literatura clássica (Marshall, 1938) e outros por nós seleccionados.

A amostra foi constituída por 18 exemplares de cada uma das espécies (A e B), confirmados por análise electroforética efectuada ao conjunto de onde foram retirados.

QUADRO A

Variáveis testadas pelo seu poder discriminante.

V₂ - Comprimento das sedas prè-clipeais * (μ)

V₃ - Número de ramos da seda cefálica d *

- Número de espinhos do pente sifónico *

- Número de ramos das sedas metatorácicas *

V₂ e V₃ : Variáveis seleccionadas

* : Média dos dois lados

A fim de se obterem as variáveis mais susceptíveis de discriminar as duas amostras foi necessário encontrar o melhor discriminante linear para duas variáveis e dois grupos. Este método foi utilizado por Janz et al. (1983), ao estudarem o complexo do Culex pipiens.

Todos os cálculos foram executados num microcomputador Apple II^R, utilizando programas escritos pelo Dr. G. Janz.

Os resultados, constantes da figura 31, mostram que existem zonas de sobreposição que variam de 36% a 39%, relativamente às variáveis ensaiadas, não podendo, conseqüentemente, ser utilizadas separadamente para identificação de espécimes. Assim, foi calculada a melhor função linear discriminante (figura 32) com as variáveis seleccionadas, assumindo a forma representada no quadro B.

QUADRO B

Melhor função linear discriminante

$$D = V_2 + 14 V_3 - 245$$

V_2 - Comprimento das sedas prè-clipeais (μ)

V_3 - Número de ramos da seda cefálica d

Conforme se observa no quadro C e na figura 32, os valores discriminantes não se sobrepõem. Contudo, achou-se de interesse estimar o risco teórico de tal evento, a menos de 0,005 o que, na prática, pode ser negligenciado.

QUADRO C

		X	s	icm 5%		icm 5%	
V_2 / V_1	A	188,7	9,4	184,0	193,3	168,9	208,4
	B	169,8	6,5	166,6	178,1	156,0	183,6
V_3 / V_2	A	5,7	0,8	5,3	6,1	4,0	7,4
	B	3,8	0,5	3,5	4,1	2,7	5,0
D	A	23,4	12,6	17,1	29,7	- 3,2	50,0
	B	- 21,9	10,2	- 27,0	-116,8	- 43,4	- 0,4

X: Média

s: Desvio padrão

icm: 5% limite de confiança da média

Riscos

$A < 0\varepsilon = 1,857$ $p < 0,035$

$B > 0\varepsilon = 2,197$ $p < 0,02$

$A < -5\varepsilon = 2,254$ $p < 0,015$

$B > 5\varepsilon = 2,637$ $p < 0,005$

Os resultados são apenas válidos para as populações de que foram recolhidas as amostras ensaiadas. Serão necessárias novas colheitas cobrindo as várias regiões de distribuição das duas espécies, a fim de se poder confirmar a eficácia deste método na discriminação das larvas do 4º estado das espécies A e B do complexo do Aedes detritus de Portugal.

Ficou, no entanto, demonstrada a possibilidade de separar as larvas das duas espécies, através de uma função discriminante baseada em duas variáveis morfológicas, nomeadamente o comprimento das sedas prè-clipeais e o número de ramos da seda cefálica d.

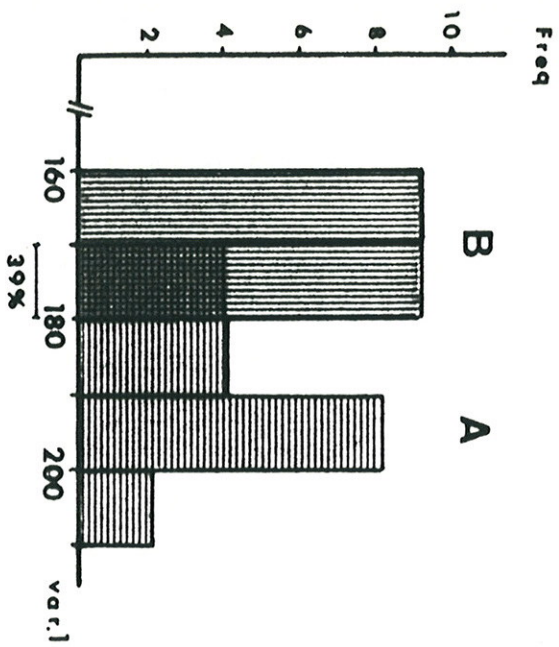


Figura 31 - Distribuição separada das variáveis seleccionadas.

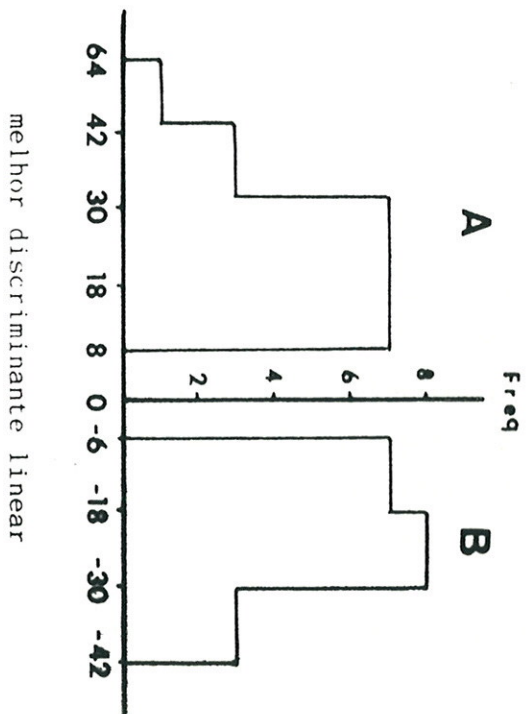
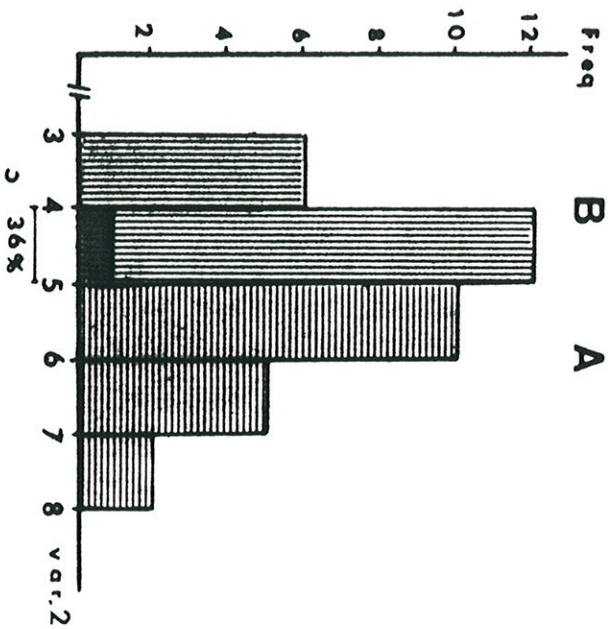


Figura 32 - Distribuição discriminante, melhor discriminante linear

3 - ESTUDOS ECOFISIOLÓGICOS

Os elementos provenientes das observações realizadas em amostras das populações portuguesas de Aedes detritus, apresentados nos capítulos precedentes, evidenciam a existência no nosso país de um complexo de espécies, constituído, pelo menos, por duas espécies gêmeas, conforme temos vindo a assinalar. Deste modo, e na prossecução dos nossos objectivos, efectuámos um estudo da carácter ecofisiológico com a finalidade de detectar-mos eventuais diferenças e/ou semelhanças na ecologia, fisiologia e etologia destas espécies, de modo a podermos estabelecer mais alguns critérios válidos de diagnose que permitam uma identificação a estes níveis.

Embora tenhamos estendido o estudo ao conjunto das amostras das populações de Aedes detritus das diferentes regiões geográficas prospectadas, fizémos incidir a nossa atenção fundamentalmente sobre as populações de Rio Maior e de Milfontes, pelas razões já apontadas de elas constituírem como que isolados geográficos de caracterização aparentemente mais fácil e apresentando uma certa estabilidade nas condições mesológicas do meio.

Os resultados achados parecem-nos significativos e esclarecedores quanto a algumas diferenças ecofisiológicas entre as duas espécies gêmeas.

Por metodologia, apresentaremos separadamente os elementos relativos aos estados adultos e às formas imaturas.

3.1 - ADULTOS

Procurámos estudar e reunir o máximo de informação possível sobre Aedes detritus, espécies A e B, tanto no campo como em experiências laboratoriais. As prospecções levadas a cabo no campo tornaram-se, por vezes, difíceis devido aos fracos recursos materiais e humanos de que dispúnhamos. No laboratório, as tarefas foram simplificadas por termos conseguido improvisar o insectário anteriormente referido e por podermos contar com a preciosa colaboração de uma auxiliar técnica. Dispondo de processos de criação e manutenção razoavelmente equilibrada dos estados imaturos (larvas e pupas) e das formas adultas, procedemos a vários ensaios sobre: autogenia/anautogenia, eurigamia/estenogamia, alocronia/sincronia, potencial biótico (número de posturas, número de ovos/postura, longevidade) e antropofilia/zoo-filia, cujos resultados serão apresentados e discutidos neste capítulo.

Simultâneamente, e uma vez que havíamos detectado, pela primeira vez o carácter autogénico em populações portuguesas de Aedes (O.) caspius (Pallas, 1771) como se pode observar em Capela et al. (1984), fizémos um

estudo da sua variação mensal, nesta espécie.

3.1.1 - Autogenia/anautogenia nos insectos hematófagos com particular relevo para os mosquitos.

O "desencadear" do ciclo gonadotrófico nos insectos hematófagos está geralmente associado a uma refeição sanguínea. A ingestão e a digestão das proteínas do sangue tomado pelas fêmeas está intimamente ligada à maturação dos ovócitos. A este fenómeno chamou Swellengrebel (1929), "concordância trofagónica". No entanto, são conhecidas espécies com a capacidade de realizar o primeiro ciclo gonadotrófico e a correspondente postura, sem interrupção, na ausência de refeição sanguínea. A estas espécies dá-se o nome de autogénicas, sendo o fenómeno designado por autogenia. Em oposição às primeiras, existem as chamadas espécies anautogénicas, nas quais o ciclo gonadotrófico é interrompido desde que a fêmea não efectue uma refeição sanguínea. Assim, nos mosquitos as fêmeas autogénicas desenvolvem o ciclo ovárico, desde a eclosão até à postura final, enquanto que nas anautogénicas este é interrompido por um estado de diapausa e só prossegue através da refeição sanguínea. Sabe-se actualmente que a autogenia/anautogenia corresponde a um conjunto de fenómenos complexos, controlados geneticamente, por meio de mecanismos hormonais, e é influenciada por diversos factores ecofisiológicos, tais como: temperatura, humidade, ventos, pluviosidade, fotoperíodo, região geográfica, regime alimentar dos estados imaturos e outros.

Analisado de um ponto de vista epidemiológico, este fenómeno revela-se de extrema importância, uma vez que permite a subsistência de espécies eventuais transmissoras de doenças ao Homem e outros animais, em condições mesológicas desfavoráveis, até mesmo na ausência de hospedeiros.

De entre os insectos hematófagos que manifestam o carácter autogénico, destacam-se os Psicodídeos, os Ceratopogonídeos, os Simulídeos, os Tabanídeos, os Muscídeos e os Culicídeos.

Guilvard (1977), dá-nos uma excelente perspectiva dos diferentes fenómenos ecofisiológicos ligados à autogenia especialmente no chamado complexo do Aedes detritus.

Detecção do carácter

Faremos um breve resumo histórico da detecção do fenómeno e teremos algumas considerações de carácter geral, dando conta, simultaneamente, dos estudos até agora desenvolvidos no nosso país.

Desde o início do século, vários investigadores se vinham interrogando sobre se seria obrigatória ou facultativa uma refeição sanguínea para que as fêmeas dos mosquitos desenvolvessem o primeiro ciclo gonadotrófico até final, com conseqüente postura. Diversos trabalhos foram realizados com o objectivo de dar resposta a esta questão. Porém, os resultados apresentavam-se muitas vezes contraditórios. Assim, Theobald (1901), refere a possibilidade de Culex (C.) pipiens Linnaeus, 1758 efectuar posturas férteis sem prévia refeição sanguínea, o que veio a ser confirmado por Smith (1904). Mitchell (1907) confere ao fenómeno observado pelos autores acima referidos um carácter excepcional na natureza e refere como indispensável para a maturação dos ovos, nos mosquitos, que haja uma refeição sanguínea. Apesar desta aparente discordância, alguns investigadores vinham conseguindo criar laboratorialmente gerações sucessivas de Culex pipiens, sem ingestão de sangue, observando paralelamente muitas populações de mosquitos, na natureza, em regiões bastante pobres ou mesmo desprovidas de hospedeiros vertebrados.

Neumann (1912), *fide* Guilvard (*op.cit.*), criou em laboratório, durante dois anos, várias gerações de Culex pipiens sem lhes fornecer refeição sanguínea; enquanto que Howard, Dyar e Knab, obtiveram duas gerações sucessivas de Aedes atropalpus, alimentadas exclusivamente com água açucarada. Fielding (1919), consegue posturas de Aedes aegypti, alimentando as fêmeas com substâncias peptonadas. Gordon (1922), utilizando unicamente hemácias ou soro, como alimento, não conseguiu que nas fêmeas se efectuasse a maturação dos ovos. Huffa (1929) e Boissezon (1929), realizando experiências nos Estados Unidos e em França, respectivamente, que pareciam confirmar a possibilidade de um primeiro ciclo gonodotrófico sem refeição sanguínea, afirmando Huff que Culex pipiens poderia manter-se na natureza, sem picar os animais. Esta capacidade foi finalmente demonstrada por Roubaud (1929;1930;1933) que a ligou a certas populações geneticamente distintas. Deste modo, surgiu a ideia de formas biológicas diferentes, tendo Roubaud criado o termo autogenia, com a descrição de uma forma autogénica,

homodinâmica⁽¹⁾ e esténogama⁽²⁾ a que chamou (Culex pipiens "autogenicus") e uma outra anautogénica, heterodinâmica⁽³⁾ e eurígama⁽⁴⁾ (Culex pipiens "pipiens").

- (1) - Homodinâmico: Diz-se do insecto cujo desenvolvimento não sofre uma verdadeira diapausa.
- (2) - Heterodinâmico: Diz-se do insecto cujo desenvolvimento apresenta uma verdadeira diapausa, sob influência de factores extrínsecos diversos.
- (3) - Esténogama: Diz-se da espécie que tem a possibilidade de realizar a cópula em espaços restritos, sem vôo nupcial.
- (4) - Eurígama: Cópula só possível em espaços amplos, com vôo nupcial.

De Buck (1935), dissecando fêmeas de Culex pipiens, mantidas algum tempo sem refeição sanguínea, registou a presença de ovos retidos nos ovários. Weyer (1935), refere como "fêmeas autogénicas" as que possuem os folículos desenvolvidos para além dos estado II de Christophers (1911).

Demonstrou-se, então, que as espécies autogénicas efectuem a primeira postura sem refeição sanguínea, mas necessitam dela para as posturas subsequentes. Spielman e Weyer (1965), estenderam o conceito de autogenia a outros insectos hematófagos. A designação "anautogénica" passou a estar ligada a uma situação em que se observa uma paragem do desenvolvimento ovário, estritamente ligada à alimentação. Nas fêmeas ~~anautogénicas~~ autogénicas esta diapausa nunca existe. Com o evoluir dos trabalhos ligados às experiências sobre esta matéria, a lista das espécies de diversos géneros portadoras do carácter autogénico, tem vindo a aumentar. Esta realidade leva-nos a encarar o fenómeno como mais generalizado do que à partida se poderia supôr.

Rioux et al. (1975) publicaram uma lista das espécies autogénicas de culicídeos conhecidas até então e que incluía 129, para além dos géneros Toxorhynchites e Malaya, desprovidos de aparelho picador funcional e, conseqüentemente, autogénicas de facto.

Smith e Corbet (1975) acrescentaram à lista Aedes fryeri. Capela e M.E. Ribeiro (1984) contribuíram para o incremento deste conhecimento juntando ao conjunto destas espécies Culiseta (C.) annulata (Schrank, 1776) passando a lista, tanto quanto julgamos saber, a incluir 131 taxa.

Genética da autogenia

Numerosos trabalhos de genética foram produzidos a partir da descoberta feita por Roubaud (op.cit.) de duas formas biológicas, a autogénica e a anautogénica, no complexo do Culex pipiens.

Várias hipóteses foram postas defendendo, ora a transmissão monofactorial do carácter autogénico ora a sua transmissão plurifactorial. Recentemente, estes estudos estenderam-se ao género Aedes em que ambas as hipóteses são aceitáveis, dependendo das espécies presentes. Dado que o nosso trabalho incide fundamentalmente sobre as espécies halófilas, Aedes caspius e Aedes detritus, a elas nos referiremos com mais pormenor. Em certas espécies do género Aedes, a autogenia manifesta-se como um carácter monofactorial dominante. O'Meara e Craig (1969), estudaram o processo de transmissão deste carácter cruzando populações autogénicas e anautogénicas de Aedes atropalpus. Na primeira geração todos os híbridos são autogénicos. Cruzamentos entre indivíduos da F₁ e indivíduos parentais mostram que o carácter autogénico é dominante, monofactorial e autosomal.

Em Aedes detritus, Rioux et al. (1973), cruzaram uma estirpe anautogénica do sul de França com outra anautogénica proveniente da Tunísia, verificando que nesta espécie, a autogenia se comporta igualmente como um carácter comandado por um único gene, representado por dois alelos, existentes num dos dois autosomas.

Hoyer e Rozeboom (1976), efectuaram cruzamentos entre três populações autogénicas e duas populações anautogénicas do complexo Aedes scutellaris. Os resultados mostravam que a transmissão é complexa e está provavelmente ligada a vários alelos. Na maior parte dos casos o modo de transmissão da autogenia continua por determinar. Porém, os investigadores destes assuntos, estão de acordo em que, de um modo geral, o carácter autogénico é dominante.

Controlo hormonal da autogenia

Várias escolas europeias se vêm debruçando sobre a interpretação dos mecanismos hormonais que desencadeiam e controlam a vitelogénese nos insectos hematófagos, particularmente nos mosquitos, pelo seu importante papel em saúde pública. Wigglesworth (1936), pôs em evidência a existência de ~~em~~ controlo hormonal da actividade dos insectos no Triatomídeo Rhodnius prolixus. Através de estudos histológicos e experimentais (decapitação e

e parabiose) este autor mostrou que a actividade dos ovários é controlada por uma hormona produzida na região posterior da cabeça, ao nível dos corpora allata. Trabalhos posteriores de Raabe (1952), em Fasmídeos, Thomsen (1952), num Muscídeo e Engelman (1957), em Blataria, evidenciaram a existência de uma relação entre um centro cerebral da pars intercerebralis e o desenvolvimento ovárico. Nos mosquitos, as fêmeas geralmente efectua posturas de algumas dezenas ou mesmo centenas de ovos, várias vezes, durante a vida. Exceptuando a primeira postura, que pode ser autogénica, a maturação dos ovos requer uma refeição sanguínea. A ingestão do sangue estimula os processos endócrinos gonadotróficos.

Experiências baseadas em técnicas de ligação e decapitação de indivíduos alimentados e não alimentados, demonstraram a existência, na hemolinfa, de um factor hormonal gonadotrófico determinado pela refeição sanguínea. Permanece indeterminada a natureza do órgão secretor responsável, embora se tivesse suscitado o papel dos corpora allata no controlo dos últimos estados da vitelogénese (Detinova, 1945; Gillet, 1958). Porém, nos mosquitos, os corpora allata regulam os primeiros estados da vitelogénese. Gwadz e Spielman (1973), procedendo à ablação destas glândulas na primeira hora após a emergência dos adultos, verificaram uma paragem no desenvolvimento ovárico.

As células neurosecretoras medianas são de capital importância para o desenvolvimento dos ovos nas fêmeas anautogénicas alimentadas e nas fêmeas autogénicas. A sua remoção a seguir à emergência faz cessar o desenvolvimento ovárico nas fêmeas ~~anautogénicas~~ alimentadas e nas autogénicas. Se esta operação se realizar em fêmeas com várias horas de vida, não se fará notar grandemente o efeito, uma vez que a hormona segregada pelas referidas células é armazenada nos axónios das células, ao nível do corpus cardiacum.

Segundo Lea (1972), a refeição sanguínea estimula a descarga da hormona armazenada, 8 a 16 horas mais tarde. Estudos histológicos levados a cabo por Larsen e Broadbent (1968) e por Meola e Lea (1970) confirmaram o papel das células neurosecretoras e do corpus cardiacum no desenvolvimento dos ovócitos.

Os corpora allata e as células neurosecretoras produzem hormonas fundamentais para o desenvolvimento dos ovos. A hormona segregada pelos corpora allata é libertada nas primeiras horas após emergência dos adultos e controla, portanto, as primeiras fases da vitelogénese. A hor-

mona produzida pelas células neurosecretoras medianas é lançada logo após a emergência, nas fêmeas autogênicas, enquanto que nas anautogênicas é armazenada no corpus cardiacum e será a refeição sanguínea que regulará a sua descarga.

Após a descoberta da vitelogenina efectuada por Pau, Bell e Telfer (1969), em Periplaneta americana (Blattoptera) e Hyalophora cecropia (Lepidoptera) pensou-se que este precursor do vitelo segregado pelo corpo adiposo se devia encontrar em todos os insectos incluindo os mosquitos. Simultaneamente, descobriu-se que o precursor das ecdisonas está bastante espalhado na natureza. Deste modo, as fito-ecdisonas chegam a representar 10% do peso seco de certas plantas. Aceita-se que os culicídeos podem colher estas substâncias nos vegetais, Patterson, Smith e Dewere (1969). Spielman e Gwadz (1971) juntando β -ecdisona a uma refeição açucarada de Aedes aegypti e Culex pipiens provocaram a emissão de alguns ovos nestas fêmeas anautogênicas. O mesmo resultado foi obtido por meio de injeção da mesma hormona na hemolinfa de Aedes aegypti anautogênicas, privadas de sangue.

Em 1973, Hagedorn et al. demonstraram em Aedes aegypti a intervenção de um factor desconhecido no desenvolvimento da vitelogênese e que actuava a partir do ovário de fêmeas alimentadas com sangue, induzindo a produção de vitelogênese ao nível do corpo adiposo. Fallon e Coll. (1974) e Schlaeger e Coll. (1974), identificaram esta hormona como sendo a β ecdisona. Até então pensava-se que os adultos não possuíam ecdisona, pois haveria lugar à degenerescência das glândulas de ecdisona ou glândulas da muda após a última metamorfose (Burgess e Rempel, 1966). A ablação das células neurosecretoras medianas suprime a secreção da ecdisona pelo ovário após uma refeição sanguínea. O corpo adiposo é, portanto, incapaz de, por si só, elaborar a vitelogenina. Segundo Lea e Hagedorn (1974), a hormona produzida pelas células neurosecretoras medianas e libertada a partir do corpus cardiacum tem uma acção ecdisiotrófica, isto é, estimularia a secreção da ecdisona nos ovários. Hagedorn e coll. (1975) retomam o estudo das hormonas segregadas pelo ovário e emitem a hipótese da elaboração por este órgão de uma proto-hormona, a α ecdisona que se converteria em β -ecdisona e que teria um papel importante no desenvolvimento dos ovos nas fêmeas, estimulando a vitelogenina.

Nos mosquitos, a taxa de ecdisona já alta antes da refeição sanguínea (1×10^{-7} M/g) aumenta seguidamente até atingir (3×10^{-7} M/g).

A fonte de ecdisona nas fêmeas em jejum é ainda desconhecida. Antes da refeição, o corpo adiposo não responde à estimulação da ecdisona em virtude da intervenção de um factor inibidor que desaparece após a refeição. As glândulas protorácicas libertam também α ecdisona que pode transformar-se em β ecdisona por hidroxidação. Deste modo, ao longo de toda a vida do mosquito, α ecdisona está implicada tanto no processo de muda como no desenvolvimento ovárico. Fide Guilvard (1977), a hormona juvenil parece ter uma função importante no processo do desenvolvimento larvar e na ovogénese.

Concluindo poderá afirmar-se que nos mosquitos, a vitelogénese está sob a dependência de três hormonas, conforme figura D:

- Hormona juvenil, segregada pelos corpora allata
- Hormona cerebral, elaborada pelas células neurosecretoras do pars intercerebralis
- Ecdisona, produzida pelo ovário.

Estas hormonas controlam a vitelogénese, que se decompõe em duas fases:

Prè-vitelogénese - controlada durante a primeira hora após emergência, através da hormona juvenil. Esta hormona permite o crescimento dos folículos e a deposição dos primeiros grãos de vitelo (estado II_a), preparando o ovário para as fases seguintes.

Vitelogénese - sob controlo da hormona cerebral e da ecdisona. A hormona cerebral elaborada pelas células neurosecretoras do pars intercerebralis é armazenada ao nível das próprias células e no órgão neurohemal. É descarregada automaticamente nas fêmeas autógenicas. Tem por objectivo o ovário que responde elaborando a ecdisona sob a forma de uma proto hormona a α ecdisona que, por sua vez, é transformada por hidroxilação em hormona activa, a β ecdisona. O órgão a atingir por esta hormona é o corpo adiposo que sintetiza uma proteína específica "a vitelogenina". Uma vez libertada na hemolinfa, a vitelogenina, é transportada ao ovário e penetra no ovócito a fim de constituir o vitelo. Os folículos amadurecidos libertam um factor inibidor para o desenvolvimento dos folículos menos avançados. Para além dos factores de ordem genética e endócrina, a autogenia é igualmente influenciada, como já referimos, por diversos factores ecológicos, como sejam, o alimento, a temperatura, o fotoperíodo e outros.

Factores ecológicos influenciando a autogenia

- Alimentação larvar

Regra geral, a fecundidade de nos insectos é influenciada significativamente pela riqueza da dieta alimentar nos estados larvares. Os mosquitos não fogem a esta regra e, particularmente nas espécies autogénicas, a qualidade e a quantidade dos alimentos ingeridos pelas larvas pode modificar acentuadamente a frequência e a manifestação do carácter. Boissezon (1929, 1930, 1932), em experiências realizadas com Culex sp. provenientes de larvas bem nutridas com gemas de ovo ou com coágulos de sangue e privados de alimento no estado adulto, verificou que eles faziam posturas tão grandes quanto as das fêmeas que haviam sido alimentadas com sangue. Simultaneamente, Gashen (1932) assinala em Culex pipiens posturas com uma média de 63 ovos em adultos provenientes de larvas com uma dieta alimentar rica, enquanto que os testemunhos, alimentados com farinha de trigo, punham cerca de 29 ovos. De Buck (1935), Tate e Vincent (1936), Laurence (1964) reforçaram estes conceitos através de experiências laboratoriais. Este último, demonstrou que uma nutrição larvar à base de biscoito para cão enriquecido com ácido glutâmico e caseína, fazia elevar a percentagem de fêmeas autogénicas de 28 para 99%. Também a quantidade de alimento ingerido nos estados larvares influencia a expressão e a frequência do carácter autogénico. Para Kardos (1959), existe um limiar de carência alimentar das larvas abaixo do qual as fêmeas autogénicas perdem a capacidade para a postura. Por exemplo, as larvas de Culex tarsalis submetidas a um regime de 0,4 g de substância **nutritiva** por unidade de volume de água, sómente originam 16% de fêmeas autogénicas, enquanto que os mesmos lotes com 1,6 a 2,5 g, ocasionam um número de fêmeas autogénicas que pode atingir 93%. Por sua vez, a fecundidade das fêmeas passa de 53 ovos no primeiro caso, para 98 no segundo (Kardos, 1959).

Spielman (1957), assinala uma estreita correlação entre a quantidade de alimento ingerido pelas larvas e o tamanho das fêmeas resultantes, bem como o número de ovos emitidos numa postura autogénica.

Em conclusão, pode afirmar-se que existe uma dependência entre a fecundidade das fêmeas autogénicas e a qualidade e quantidade dos nutrientes ingeridos pelas larvas de onde foram originárias.

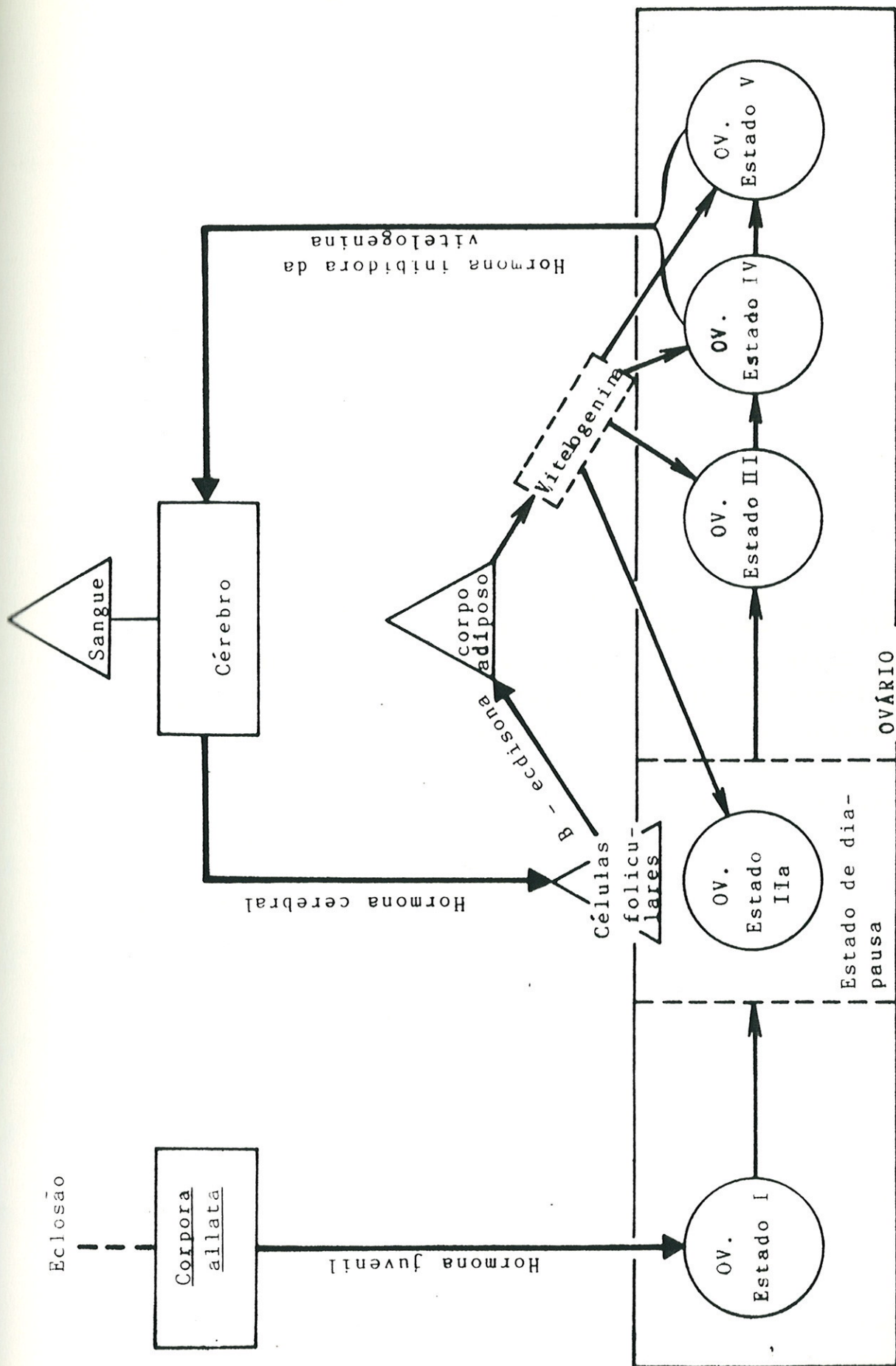


Figura D

Figura D - Controlo hormonal da vitelogenese.

Aquando da eclosão das fêmeas anautogénicas, os corpora allata segregam a hormona juvenil que permite o crescimento dos folículos e o início da vitelogénese até ao estado IIa. A vitelogénese cessa neste estado até que ocorra a refeição sanguínea. A ingestão do sangue desencadeia a descarga da hormona cerebral que induz a secreção da ecdisona pelas células foliculares. A ecdisona actua ao nível do corpo adiposo que produz a vitelogenina, proteína específica que entra na composição do vitelo. Os ovócitos maduros inibem o desenvolvimento daqueles que não tenham terminado a sua maturação. Os mesmos processos passam-se, sem interrupção, nas fêmeas autogénicas.

- Temperatura

Das várias experiências efectuadas por diversos autores, concluiu-se que a temperatura favorece a expressão e a frequência da autogenia, agindo igualmente sobre a fecundidade das fêmeas autogênicas.

Dobrotworsky (1954) assinala que a fecundidade das fêmeas de Culex pipiens é reduzida com altas temperaturas. A 20° C, uma fêmea põe, em média, 72 ovos; enquanto que só porá 57, a 31 °C. No norte da Califórnia a autogenia em Culex tarsalis é mais elevada em Maio do que em Setembro, enquanto o número de ovos varia de 116 em Maio, para 27 em Setembro. Assim sendo, e segundo Moore (1936), existe uma forte ligação entre a temperatura do meio larvar e o número de ovos postos pelas fêmeas originárias de tais larvas.

Nas regiões tropicais e sub-tropicais da Florida, O'Meara e Edman (1975) detectaram em Aedes taeniorhynchus, uma alta frequência de autogenia e uma fecundidade elevada, concluindo, neste caso, que as variações da autogenia estariam ligadas a temperaturas mais elevadas, existentes nestas regiões.

- Fotoperíodo

A expressão da autogenia é também influenciada pelo fotoperíodo. Harwood (1966), estudando populações de Culex tarsalis, verificou que um fotoperíodo longo aumenta a frequência da autogenia bem assim como a fecundidade. A sua expressão máxima obtém-se entre 10 e 16 horas de luz natural, com temperaturas altas. Podemos pois concluir que a autogenia é condicionada pela temperatura e pelo fotoperíodo e se exprime a um nível tanto mais elevado quanto maior fôr a capacidade trófica do meio.

Distribuição geográfica da autogenia

Como anteriormente referimos, a autogenia foi assinalada até ao presente, em cerca de 131 espécies de culicídeos, pertencentes a 13 géneros. Geograficamente, a autogenia tem sido assinalada em todos os climas, sendo mais frequente nas zonas temperadas e circumpolares. Todavia, já foi detectada nas regiões tropicais e equatoriais. É o caso de Aedes fryeri da Tanzânia onde o carácter foi detectado por Smith e Corbet (1975). Esta, foi a primeira referência à autogenia em culicídeos tropicais.

este um
o fotoperíodo baixo
temperatura
autogenia
em 2 Aedes

Estamos de acordo com Guilvard (1977) ao pôr a hipótese de que a aparente diferença observada entre mosquitos tropicais e temperados não seja mais do que um reflexo da pouca atenção que os entomologistas têm dedicado a este domínio da biologia dos mosquitos, nas regiões tropicais.

De facto, os investigadores das regiões temperadas e árticas, têm desenvolvido um notável esforço na tentativa de compreensão deste fenómeno, nas espécies existentes nessas regiões. Em nossa opinião, parece lógico admitir que o carácter autogénico deve estar presente na grande maioria das espécies de mosquitos das diferentes regiões zoogeográficas do globo. Sendo vantajoso para a espécie, existirá num certo estado de "latência", só despertado por condições ecológicas bastante rigorosas que possam pôr em causa a manutenção e sobrevivência da espécie. Como referimos, alimento, temperatura e fotoperíodo actuam no desenvolvimento larvar, influenciando a autogenia, enquanto que a ausência de hospedeiros e condições climáticas extremas favorecem a manifestação do carácter nos adultos.

3.1.2 - A autogenia em Aedes detritus

Vermeil (1953), foi o primeiro autor a assinalar a autogenia em populações de aedes detritus da Tunísia. Chinaev (1964), detectou-a no Uzbequistão. Albanese, Smiraglia e Lavanino (1971), registaram-na na Sicília. Rioux et al. (1974), encontraram-na em mosquitos do sul de França. Pasteur et al. (1977) e Pasteur et al. (1978), em trabalhos publicados sobre esta matéria relativos ao litoral mediterrânico francês (Camarga) e à África do norte (Tunísia e Marrocos), estudando por meio de análise electroforética a variabilidade de quatro loci codificando as enzimas Est-2, α -Gpd, Got-1 e Got-2, demonstraram que Aedes detritus é composta, pelo menos, por dois grupos de populações simpátricas reprodutivamente isoladas, ou seja, por duas espécies gêmeas que designaram por espécie A e espécie B.

Verdier (1978), empregando o mesmo método para distinguir as espécies presentes e das áreas referidas, concluiu que na espécie A o carácter autogénico está presente e tem frequências variáveis em função das regiões geográficas, enquanto que na espécie B ele não existe, sendo a mesma estritamente anautogénica.

Sendo conhecidos alguns factores que podem fazer variar a frequência e a própria manifestação da autogenia, empreendemos o estudo da mesma, em populações da espécie referida, ao longo da costa atlântica

portuguesa. Com esta iniciativa pretendíamos saber se Aedes detritus revelava a autogenia em toda a área de repartição no nosso país. De acordo com os objectivos que pretendíamos atingir no sentido de contribuirmos para um melhor conhecimento das espécies halófilas de mosquitos portugueses, iniciámos o mesmo tipo de observações em Aedes caspius, espécie halófila que surge, frequentemente, associada ou alternado com Aedes detritus.

Para a realização destas tarefas torna-se necessária a aplicação de algumas das técnicas assinaladas na Parte I, do nosso trabalho.

3.1.1.2 - A autogenia em Aedes detritus de Portugal

Os adultos provenientes de Rio Maior e de Milfontes à medida que iam sendo dissecados para a detecção da autogenia eram congelados a -120°C para posterior análise electroforética, no sentido de se determinar se pertenciam à espécie A ou à espécie B, do complexo do Aedes detritus.

Por razões de ordem económica, dos lotes destinados a dissecções, eclodidos das restantes estações de colheita, separámos alguns exemplares que sofreram igualmente congelação e foram mais tarde sujeitos a electroforese para efeitos taxonómicos. O critério adoptado permitiu-nos saber com segurança que as fêmeas de mosquitos de Rio Maior dissecadas pertenciam à espécie A e as de Milfontes à espécie B. Quanto às fêmeas representativas dos lotes dissecados e originárias das restantes estações, foram também analisadas por meio de electroforese, verificando-se, em alguns casos, a existência simultânea das espécies A e B, no mesmo criadouro, o que torna mais difícil a interpretação dos resultados da autogenia nestas estações.

Verdier (1978), no numeroso material que estudou analisando por meio de electroforese as fêmeas que previamente dissecara para a detecção da autogenia, verificou que entre as fêmeas anautogénicas examinadas, umas pertenciam à espécie A e outras à espécie B, ao passo que todas as fêmeas autogénicas pertenciam unicamente à espécie A. Deste modo concluiu que, muito provavelmente, o carácter autogénico estaria ausente nas populações testadas da espécie B, enquanto que a sua frequência seria mais ou menos elevada na espécie A. No nosso trabalho, como já tivemos oportunidade de referir, torna-se rigorosamente impossível interpretar correctamente os resultados nas estações em que o material ensaiado na electroforese não é o mesmo que foi dissecado para a autogenia. Porém, dado que as amostras

para a electroforese foram retiradas dos mesmos lotes de fêmeas eclodidas para a autogenia, consideraremos este factor na interpretação da variação da autogenia, nestas estações, seguindo o mesmo critério para a distribuição espaço/temporal das duas espécies, no nosso país.

Os dados das experiências levadas a cabo sobre a autogenia em Aedes detritus e Aedes caspius de Portugal estão representados nas figuras 33 a 53, que correspondem às dez estações de colheita. Analisaremos os resultados em cada estação, terminando com uma parte destinada à discussão e conclusões.

Esposende - Principiando pela figura 33 relativa a esta estação, verifica-se que no período estudado só se detectou a manifestação da autogenia no mês de julho em que coexistiam as espécies A e B, no mesmo criadouro. Muito provavelmente a taxa de autogenia encontrada de 12,5% (3 fêmeas em 24) corresponde à presença da espécie A do complexo.

Lagoa de Paramos - Tal como em Esposende, a taxa de autogenia encontrada foi de 12,5 % (5 fêmeas em 40) igualmente no mês de Julho, estando presentes na mesma colecção de água as espécies A e B, de Aedes detritus. Embora um pouco mais a sul, esta estação apresenta características climáticas mais ou menos semelhantes às da anterior pelo que não será de estranhar a concordância dos dados observados, pela análise da figura 34.

Torrão do Lameiro - Foi a estação prospectada mais a sul, da região norte. A figura 35 mostra o valor da taxa de autogenia no mês de Janeiro (4,76%). Nos restantes meses não se detectou a manifestação do carácter. Presentes as espécies A e B. Nos meses de Outubro e Março, em que estava sómente a espécie B, não se revelou a autogenia nas fêmeas ensaiadas.

Rio Maior - Analisando as figuras 36, 54 e 55, verifica-se que a autogenia se manifesta nesta população de Aedes detritus A, ao longo de todos os meses do ano em que o criadouro está activo. Sómente em Julho, Agosto e Setembro, meses em que se procede à extracção do sal, não pudemos obter informação, por falta de material. O carácter apresenta a sua máxima expressão nos meses mais frios de Outono e do Inverno, que são igualmente os de menor fotoperíodo. Novembro (61,43%) e Janeiro (39,18%) fo-

Há aqui contradições d a usad de que a um > patopostido
Corresponde uma maior taxa de autogenia!

ram os meses com valores mais elevados da taxa de autogenia, enquanto que o mês de Março (0,87%) foi aquele em que se registou o menor valor. Torna-se evidente que estes resultados sugerem os meses de Primavera e início do Verão como os menos favoráveis para a expressão da autogenia, enquanto que no Outono e Inverno ela se manifesta com valores bastante elevados.

Pancas - As fêmeas observadas provenientes de material colhido nesta estação não revelaram autogenia, comose pode verificar através da figura 37.

Águas de Moura - A figura 38 dá-nos conta da detecção do carácter autogénico, nas amostras estudadas desta estação, no mês de Dezembro (13,63%), estando presentes, em associação, as espécies A e B do complexo.

Milfontes - Como já referimos, esta estação dadas as suas características, serviu, tal como a de Rio Maior, para estudos mais regulares sobre a autogenia.

Dos exames feitos por meio de electroforese, constatou-se que sómente existe, nesta estação, a espécie B do complexo do Aedes detritus. Por tal motivo e de acordo com os elementos obtidos, não se registou a detecção do carácter na população de Milfontes o que parece confirmar que esta espécie B é, exclusivamente, anautogénica, pelo menos no nosso país. Idênticos resultados foram assinalados por Guilvard (1977) e Verdier (1978), em material do sul de França (Camarga). A figura 39 mostra os resultados.

Lagos (Meia Praia) - A figura 40, assinala a autogenia nos meses de Inverno: Novembro (50,00%), Janeiro (3,57%) e Fevereiro (5,26%) ao passo que nos restantes meses do ano ela nunca foi encontrada. Mais uma vez se verifica que em amostras em que só esteja presente a espécie A, como foi o caso do mês de Novembro, a taxa de autogenia surge com valores mais altos o que nos parece lógico se admitirmos que aquando das dissecções poderemos estar a trabalhar eventualmente com fêmeas da espécie A e da espécie B, indistintamente. Só a confirmação, por electroforese, feita às amostras do mesmo lote que entretanto foram alvo de congelação, pode auxiliar na interpretação dos dados. Nessa perspectiva, ensaiámos todo o material congelado por via electroforética, a fim de podermos melhor compreender os resultados obtidos.

Faro (Ludo) - A figura 41 mostra-nos que Fevereiro (3,03%) e Abril (3,12%) foram os meses favoráveis para a expressão da autogenia, nesta estação. Curiosamente, as taxas foram baixas e, para isso, deve ter contribuído a presença simultânea das espécies A e B de Aedes detritus, nos mesmos criadouros. Aliás, no período em que decorreu o estudo que se estendeu de Novembro de 1981 a Fevereiro de 1984, só em Julho de 1983 se encontrou unicamente a espécie A, nesta estação.

Castro Marim - Foi nesta localidade que assinalámos (Capela, 1981) pela primeira vez em Portugal a presença da autogenia e da estenogamia, em amostras das populações locais de Aedes detritus. As colheitas foram efectuadas em Março e Abril de 1979, tendo-se obtido os resultados de 50% e 7,6%, pela análise de 22 e 13 fêmeas, respectivamente. Neste trabalho colocava-se a hipótese de estarmos na presença da espécie A do complexo o que só poderia confirmar-se utilizando o método electroforético. Pelo desenvolvimento do nosso trabalho de investigação, isso veio realmente a confirmar-se. Na figura 42, pode verificar-se que a autogenia só voltou a ser reencontrada em Fevereiro de 1982, com o valor de 15,30%, tendo-se colhido nesse mês somente a espécie A do complexo.

A autogenia é uma das características biológicas intimamente ligada à espécie A de Aedes detritus. Isso mesmo foi evidenciado, por nós, através da dissecação de 2 444 ovários de fêmeas mantidas nas condições habituais para este tipo de experiências (ausência de qualquer refeição sanguínea). A análise electroforética de alguns sistemas enzimáticos, conjugada com a observação dos estados de maturação ovárica, permitiu-nos concluir pela não existência de autogenia na espécie B do complexo. Efectivamente, em Milfontes, onde ao longo de três anos se colheram larvas e pupas de Aedes detritus, jámais se detectou a autogenia nas fêmeas daí provenientes, tendo-se confirmado paralelamente a ocorrência somente da espécie B, conforme figura 39. Por outro lado, em Rio Maior, onde existe apenas a espécie A, identificada igualmente por análise electroforética, quase sempre se revelou o carácter autogénico, com frequências que variaram em função da época do ano, conforme se pode comprovar pela análise das figuras 36, 53 e 54. Podemos afirmar que em Portugal as populações de Aedes detritus exibem a autogenia em toda a sua área de distribuição, sendo a mesma mais frequente em Rio Maior, local exclusivo da espécie A, em que o carácter só

não se manifestou em Julho, Agosto e Setembro, em virtude dos criadouros servirem nesses meses para a extracção do sal.

Parece evidente uma maior frequência do carácter nas populações da costa atlântica algarvia, o que está certamente relacionado com condições mesológicas mais rigorosas nos criadouros aí existentes. Realmente é notória a grande instabilidade das colecções de água nestes locais, sempre sujeitas a alterações provenientes do regime das marés e a uma rápida evaporação devido às temperaturas mais elevadas que se fazem sentir. Na região norte, o mês de Julho (pleno Verão) foi aquele em que se detectou o carácter (Esposende e Paramos) e, paradoxalmente, em Janeiro, no Torrão do Lameiro (relativamente perto de Paramos).

No centro (exceptuando Rio Maior), verificou-se a sua ocorrência em Dezembro (Águas de Moura). Na costa atlântica algarvia o fenómeno manifestou-se entre Novembro e Abril (Inverno e início da Primavera).

Estas variações só poderão explicar-se pelas diferentes condições mesológicas que actuam tanto nos estados imaturos como nas formas adultas. Os criadouros apresentam-se com características bem diferenciadas tanto na sua extensão, como no teor em NaCl das águas e na vegetação associada. Assim, os criadouros da região norte, desprovidos da vegetação tipicamente halófila e com águas menos salinas, favorecem a existência da espécie B, anautogénica.

Os locais de criação existentes na costa atlântica algarvia, constituídos por salinas e sapais onde prolifera vegetação halófila e em que as águas apresentam elevados teores em NaCl, favorecem a existência da espécie A, autogénica.

Por outro lado, as formas adultas são influenciadas pelos diferentes factores climáticos, tais como, o vento que condiciona o seu comportamento.

Na região sul, os criadouros situam-se em áreas costeiras fustigadas pelo vento, limitando em certa medida a capacidade de vôo, a procura de fontes alimentares e a formação de enxames nupciais indispensáveis para o acasalamento das populações anautogénicas e eurígamas (espécie B). Nestas condições, as populações autogénicas e esténogamas (espécie A) subsistirão melhor, embora sendo "forçadas" a exhibir as suas características genéticas (capacidade autogénica).

No norte, apesar de um certo rigor climático, os criadouros localizam-se em zonas mais abrigadas dos ventos, com vegetação circundante

de maior porte, permitindo refúgio para as formas adultas o que favorece o vôo nupcial e a existência de populações da espécie B, anautogênicas e eurígamas.

Rio Maior e Milfontes constituem dois excelentes "laboratórios" experimentais na natureza. No primeiro local, nunca se encontrou a espécie B de Aedes detritus. É um criadouro, por excelência, da espécie A. Esta estação, serviu para comprovar que a autogenia, sempre presente ao longo de quase todos os meses do ano, é característica exclusiva desta espécie.

Em Milfontes, nunca se detectou a autogenia nas amostras ensaiadas ao longo dos anos de colheita. Aqui, somente existe a espécie B do complexo, que se revelou tipicamente anautogênica. Guilvard (1977) coloca a hipótese de existirem profundas diferenças hormonais entre as populações autogênicas e as anautogênicas. Os ovos da espécie A teriam um estado de diapausa menos acentuado que os da espécie B, que teria necessidade de condições de fotoperíodo e de temperatura diferentes para responder aos estímulos de eclosão, condições essas só conseguidas no Inverno (fotoperíodo mais curto e temperaturas mais baixas). Efectivamente e em relação ao material por nós estudado, consultando a figura 44, parece confirmar-se a hipótese avançada por Guilvard (1977), uma vez que a espécie B ocorre em Portugal sobretudo na Primavera, Outono e Inverno, épocas de menores fotoperíodo e temperatura, estando ausente no Verão. Esta parece constituir uma diferença fisiológica significativa entre as espécies A e B do complexo do Aedes detritus.

Os estudos por nós levados a cabo não se esgotaram, como é óbvio. Muitas dúvidas ficam por esclarecer. Seria importante prosseguir estas actividades de modo a tentar melhor compreender quais os factores que influenciam a manifestação da autogenia, tais como: características físico químicas da água dos criadouros, estrutura e textura do solo, vegetação associada, riqueza/pobreza em nutrientes, influência do clima (regime das chuvas, temperaturas, fotoperíodo, regime dos ventos), presença/ausência de fontes alimentares, acção de predadores sobre as formas imaturas e adultos, presença/ausência de agentes patogénicos e parasitas das formas imaturas e outros.

Permanece por esclarecer qual ou quais os factores que fazem com que a autogenia não se manifeste em todas as populações da espécie nas suas áreas de repartição geográfica.

Em nossa opinião, esta última interrogação é de difícil resposta pois consideramos a autogenia como um carácter resultante de um longo processo adaptativo-evolutivo de ordem genética existindo sob a uma forma "latente" nas diferentes populações da espécie, só se manifestando quando sujeitas a condições mesológicas desfavoráveis que ponham em causa a manutenção e sobrevivência da espécie.

Recentemente, discute-se sobre o grau de importância a atribuir a diferentes estratégias manifestadas por espécies distintas, designando-as por estratégia do tipo "k" ou estratégia do tipo "r", de acordo com a maior ou menor capacidade de manutenção e sobrevivência das espécies em função das pressões exercidas pelas diferentes condições ecológicas do meio que frequentam. Assim, as espécies com uma estratégia do tipo r-selecção atingiriam mais cedo o estado adulto, teriam uma população composta por maior percentagem de indivíduos jovens, fariam um maior esforço de reprodução e teriam um período de vida mais curto. Em oposição, nas espécies de estratégia tipo k-selecção a maturidade seria atingida mais tarde, havendo menor número de indivíduos jovens na população, um esforço reprodutor menor e uma vida mais longa. Um recente trabalho de Pité et al. (1985) faz uma síntese do estado actual dos conhecimentos neste domínio.

Este será mais um tema a desenvolver em futuros trabalhos, na tentativa de compreender o significado destas hipóteses, em termos biológicos, nas populações portuguesas de Aedes detritus A e B e, eventualmente, de Aedes caspius. A figura 54, dá-nos conta da variação da autogenia em Aedes detritus de Rio Maior. A figura 55, mostra a variação da autogenia em Aedes detritus e da salinidade, temperatura máxima atmosférica e precipitação, na estação de Rio Maior.

As fotos 7 a 10, ilustram vários estados de desenvolvimento ovárico nas fêmeas de Aedes detritus, provenientes de Rio Maior.

3.1.3 - A autogenia em Aedes caspius

Segundo Mattingly (1953), fide Rioux et al. (1975) foi O. Theodor quem, pela primeira vez, assinalou o carácter autogénico em Aedes caspius da Palestina. Chinaev (1964) e Vinogradova (1965), registaram a sua presença em populações de Aedes caspius do Uzbequistão. Babayants et al. (1970), deram nota da sua ocorrência em populações do Turquemenistão. Abdel-Malek et al. (1974), assinalaram-na no Egipto. Rioux et al. (1975), referem a sua ocorrência no sul de França, em Marrocos, na Tunísia e na Grécia.

Capela et al. (1984), apontam esta característica em populações de Aedes caspius do centro e do norte de Portugal. Abdel-Malek et al. (1974), dão conta da influência das dietas alimentares das larvas e dos adultos na expressão da autogenia em Aedes caspius do Egipto.

Conforme referimos no início deste capítulo, procedemos ao estudo da variação da autogenia nesta espécie nas estações assinaladas para Aedes detritus. A observação das figuras 45 a 53, após 550 dissecções permite verificar-se que, nesta espécie, o fenómeno foi assinalado mais frequentemente nas estações a norte e ao centro do país. Na costa atlântica algarvia nunca foi detectado.

Assim, nas populações de Esposende não se encontrou o carácter nos meses estudados. Em Paramos, Torrão do Lameiro, Pancas, Águas de Moura e Alcácer do Sal, detectou-se a autogenia com taxas variáveis, quase sempre elevadas.

Lagos, Faro e Castro Marim foram estações negativas para a autogenia nas populações locais de Aedes caspius. Aparentemente, a autogenia, nesta espécie, seria favorecida por um fotoperíodo menos longo e por temperaturas mais baixas, no norte e centro do país, ao passo que nas estações do sul um fotoperíodo e uma temperatura mais elevados não seriam benéficos para a sua manifestação. Assim, as populações de Aedes caspius da costa algarvia, nunca revelaram o carácter autogénico no período em que decorreram as experiências. No entanto, há uma discrepância relativamente a Águas de Moura e Alcácer do Sal, esta última estação francamente mais a sul. Daí, não ser de todo possível tirar conclusões definitivas quando estão em jogo mecanismos ecofisiológicos complexos de diferentes respostas a condições variáveis do meio nas diferentes regiões geográficas estudadas.

Data de colheita	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
10,12,81	4	0	0	0 - 65,83	A + B
13,1,82	44	0	0	0 - 8,49	B
10,2,82	55	0	0	0 - 7,42	A ≠ B
16,3,82	20	0	0	0 - 18,87	A + B
11,5,82	25	0	0	0 - 14,51	B
16,6,82	30	0	0	0 - 12,20	B
16,3,83	10	0	0	0 - 33,17	A
11,7,83	24	3	12,50	4,12-32,18	A + B
11,10,82					
16,3,83					
11,7,83					

Figura - 33
 Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
 detritus, na estação de Espcsende

Data de colheita	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
11.12.81	34	0	0	0 - 10,91	A + B
21.1.82	11	0	0	0 - 30,57	A + B
20.2.82	40	0	0	0 - 9,27	B
25.3.83	17	0	0	0 - 20,75	B
29.4.82	2	0	0	0 - 90,25	A + B
31.5.82	20	0	0	0 - 17,87	B
19.8.82	17	0	0	0 - 20,75	A
13.10.82	28	0	0	0 - 12,94	B
26.3.83	20	0	0	0 - 17,87	B
20.7.83	40	5	12,50	5,33- 26,62	A + B

Figura - 34

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
detritus , na estação de Lagoa de Paramos

Data de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
09,12,81	4	0	0	0 - 65,83	A + B
01,1,82	21	1	4,76	0,78- 24,20	A + B
09,7,82	39	0	0	0 - 9,49	A + B
09,8,82	13	0	0	0 - 26,41	A + B
01,10,82	18	0	0	0 - 19,69	B
01,3,83	9	0	0	0 - 36,25	B
01,4,83					
01,5,83					
01,6,83					
01,7,83					
01,8,83					
01,9,83					
01,10,83					
01,11,83					
01,12,83					
02,1,84					
02,2,84					
02,3,84					
02,4,84					
02,5,84					
02,6,84					
02,7,84					
02,8,84					
02,9,84					
02,10,84					
02,11,84					
02,12,84					

Figura - 35

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
detritus , na estação de Torrão do Lameiro

Data de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
09,10,81	30	4	13,33	5,12 - 30,50	A
09,11,81	26	15	56,20	38,11- 75,12	A
09,12,81	7	1	14,22	1,94- 58,35	A
10,1,82	6	3	50,00	14,66- 85,34	A
10,2,82	51	9	17,64	9,42- 30,62	A
10,3,82	34	0	0	0 - 10,81	A
10,4,82	35	1	2,85	0,48- 15,16	A
10,5,82	50	2	4,00	1,07- 13,81	A
10,6,82	37	1	2,70	0,46- 14,34	A
10,10,82	40	5	12,50	5,33-26,62	A
11,11,82	3	2	66,66	10,46-97,16	A
10,12,82	10	2	20,50	4,86-55,08	A
10,1,83	20	6	28,36	13,88-53,27	A
11,2,83	4	1	18,50	2,66-20,25	A
11,3,83	38	1	2,63	0,81-25,27	A
11,4,83	60	2	3,00	0,90-11,60	A
11,5,83	39	2	5,12	1,37-17,39	A
11,6,83	30	1	3,33	0,56-17,50	A
10,2,84	12	1	8,33	1,94-58,35	A
10,3,84	12	0	0	0 -28,35	A
10,4,84	39	1	2,56	0,44-13,68	A

Figura - 36

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
detritus , na estação de Rio Maior

Data de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
11.02	3	0	0	0 - 77,14	A + B
16.02	17	0	0	0 - 20,75	A

Figura - 37
 Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
detritus , na estação de Pancas

Mês de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
11.02	8	0	0	0 - 39,93	A + B
12.02	8	0	0	0 - 39,93	A
1.02	22	3	13,63	4,48 - 34,68	A + B
2.02					
3.02					
4.02					
5.02					
6.02					
7.02					
8.02					
9.02					
10.02					
11.03					
12.03					
1.04					
2.04					
3.04					

Figura - 38
 Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
detritus , na estação de Águas de Moura

Data de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
1,82	22	0	0	0 - 16,35	B
3,82	31	0	0	0 - 11,84	B
5,82	30	0	0	0 - 12,20	B
15,82	35	0	0	0 - 10,53	B
10,82	8	0	0	0 - 39,93	B
11,82	13	0	0	0 - 26,41	B
12,82	6	0	0	0 - 49,95	B
1,83	30	0	0	0 - 12,20	B
2,83	20	0	0	0 - 17,87	B
3,83	10	0	0	0 - 33,17	B
4,83	11	0	0	0 - 30,57	B
5,83	30	0	0	0 - 12,20	B
6,83	13	0	0	0 - 26,41	B
7,83	14	0	0	0 - 24,74	B
12,84	15	0	0	0 - 23,24	B
13,84	19	0	0	0 - 18,74	B
14,84	9	0	0	0 - 36,25	B

Figura - 39

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
detritus , na estação de Milfontes

Data de colheita	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
11.1.81	4	2	50,00	9,43 - 90,57	A
16.1.82	32	0	0	0 - 11,51	A
19.2.82	25	0	0	0 - 14,51	A
1.3.82	32	0	0	0 - 11,51	A + B
1.4.82	30	0	0	0 - 12,20	A + B
1.5.82	25	0	0	0 - 14,51	A + B
7.7.82	40	0	0	0 - 9,27	A
1.8.82	30	0	0	0 - 12,20	A
19.8.82	16	0	0	0 - 21,93	A
1.10.82	7	0	0	0 - 44,41	A
1.11.82	27	1	3,70	0,62 - 19,28	A + B
10.1.83	28	1	3,57	0,59 - 18,65	A
17.2.83	19	1	5,26	0,85 - 26,44	A
17.3.83	8	0	0	0 - 39,93	A + B
16.4.83	4	0	0	0 - 65,83	A + B
15.7.83	16	0	0	0 - 21,93	A
18.2.84	16	0	0	0 - 21,93	A

Figura - 40
 Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
detritus , na estação de Lagos (Meia Praia)

Data de colheita	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
01,11.81	13	0	0	0 - 26,41	A + B
06,1.82	30	0	0	0 - 12,20	A + B
10,2.82	66	2	3,03	0,82- 10,59	A + B
13,3.82	33	0	0	0 - 11,20	A + B
14,4.82	32	1	3,12	0,52- 16,52	A + B
17,10.82	24	0	0	0 - 15,07	A + B
18,11.82	30	0	0	0 - 12,20	A + B
19,1.83	30	0	0	0 - 12,20	A + B
27,3.83	32	0	0	0 - 11,51	A + B
15,5.83	11	0	0	0 - 30,57	A + B
17,6.83	30	0	0	0 - 12,20	A
20,2.84	4	0	0	0 - 65,83	A + B

Figura - 41

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
detritus , na estação de Faro (Ludo)

Data de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
10,3.79	22	11	50,00	29,82 - 70,18	A
10,6.79	13	1	7,60	1,19 - 36,54	A + B
10,11.81	23	0	0	0 - 15,69	A + B
10,1.82	32	0	0	0 - 11,51	A + B
10,2.82	19	3	15,30	5,16 - 39,23	A
1,3.82	17	0	0	0 - 20,75	A
1,4.82	22	0	0	0 - 16,35	A
10,5.82	17	0	0	0 - 20,75	A + B
10,6.82	23	0	0	0 - 15,69	A + B
11,10.82	13	0	0	0 - 26,41	A + B
1,11.82	15	0	0	0 - 23,24	A
19,1.83	30	0	0	0 - 12,20	A + B
17,3.83	12	0	0	0 - 27,72	A
15,5.83	30	0	0	0 - 12,20	A + B
18,2.84	11	0	0	0 - 30,57	A

Figura - 42

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
detritus , na estação de Castro Marim

Mês de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
Outubro	70	9	12,86	6,85 - 22,84	A
Novembro	29	17	58,96	40,02 - 75,05	A
Dezembro	17	3	17,64	5,74 - 42,98	A
Janeiro	26	9	34,67	18,85 - 54,69	A
Fevereiro	67	11	16,41	9,34 - 27,24	A
Março	84	1	1,19	0,21 - 6,59	A
Abril	134	4	2,98	1,16 - 7,49	A
Mai	89	4	4,49	1,74 - 11,13	A
Junho	67	2	2,98	0,80 - 10,46	A
Julho - Ausência de criadouros					
Agosto	" "				
Setembro	" "				
Outubro					

Figura - 43

Varição mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
detritus , na estação de Rio Maior de 1981 a 1984

Mês de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
fevereiro	0	0	0	-	B
março	0	0	0	-	B
abril	0	0	0	-	B
maio	0	0	0	-	B
junho - Ausência de material					
julho - "	"				
agosto - "	"				
setembro - "	"				
outubro	0	0	0	-	B
novembro	0	0	0	-	B
dezembro	0	0	0	-	B
janeiro	0	0	0	-	B

Figura - 44

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
detritus , na estação de Milfontes, de 1982 a 1984

Data de colheita	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
26,3.82	13	0	0	0 - 26,41	-
23,4.82	37	0	0	0 - 9,93	-
31,5.82	17	0	0	0 - 20,75	-
15,9.82	4	0	0	0 - 65,83	-
26,4.83	30	0	0	0 - 12,20	-
21,7.83	20	0	0	0 - 17,87	-

Figura - 45

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
caspius , na estação de Esposende

Data de colheita	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
16,3.81	10	3	30,00	9,42 - 63,85	-
19,4.82	5	0	0	0 - 56,93	-
13,10.82	7	0	0	0 - 44,41	-
14,4.83	20	0	0	0 - 17,87	

Figura - 46

Varição mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
caspius , na estação de Lagoa de Paramos

Data de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
10,7.82					
11,1.82					
13,3.81	23	8	34,80	18,15 - 56,19	-
10,4.82	25	0	0	0 - 14,51	-
17,5.82	14	0	0	0 - 24,74	-
16,10.82	5	0	0	0 - 56,93	-

Figura - 47

Varição mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
caspius , na estação de Torrão do Lameiro

Data de colheita	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electrofor
		Nº de fêmeas positivas	%		
16.2.82	4	0	0	0 - 65,83	-
4.3.82	37	0	0	0 - 9,93	-
1.4.82	35	1	2,94	0,48 - 15,16	-
1.1.82					

Figura - 48

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
caspius , na estação de Pancas

Data de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
13.7.81	4	1	25,00	2,66 - 80,25	-
11.1.82	4	0	0	0 - 65,83	-

Figura - 49

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
caspius , na estação de Águas de Moura

Data de colheita	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
15,7.81	17	1	5,90	0,94 - 29,14	-

Figura - 50

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
caspius , na estação de Alcácer do Sal

Data de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
11.1.82	4	0	0	0 - 65,83	-
11.4.82	4	0	0	0 - 65,83	-
11.5.82	5	0	0	0 - 56,93	-
11.6.82	10	0	0	0 - 33,17	-
11.8.82	30	0	0	0 - 12,20	-
11.10.82	4	0	0	0 - 65,83	-
11.4.83	3	0	0	0 - 77,14	-
11.6.83	4	0	0	0 - 65,83	-

Figura - 51
 Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
caspius , na estação de Lagos (Meia Praia)

Data de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
10,1,82	2	0	0	0 - 90,25	-
10,2,82	5	0	0	0 - 56,93	-
1,4,82	3	0	0	0 - 77,14	-
11,10,82	3	0	0	0 - 77,14	-
17,3,83	6	0	0	0 - 49,95	-
18,5,83	6	0	0	0 - 49,95	-
12,6,83	12	0	0	0 - 27,72	-
20,2,84	2	0	0	0 - 90,25	-

Figura - 52

Variação mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
caspius , na estação de Faro (Ludo)

Data de coleta	Nº. de fêmeas observadas	Autogenia		IC 95%	Espécies presentes de acordo com os dados da electroforese
		Nº de fêmeas positivas	%		
10,2.82	5	0	0	0 - 56,93	-
1,3.82	19	0	0	0 - 18,74	-
1,4.82	15	0	0	0 - 23,24	-
16,5.82	7	0	0	0 - 44,41	-
11,10.82	2	0	0	0 - 90,25	-
1,11.82	7	0	0	0 - 44,41	-
16,4.83	48	0	0	0 - 7,76	-
12,6.83	3	0	0	0 - 77,14	-

Figura - 53

Varição mensal da taxa de autogenia em Aedes (Q).
caspius , na estação de Castro Marim

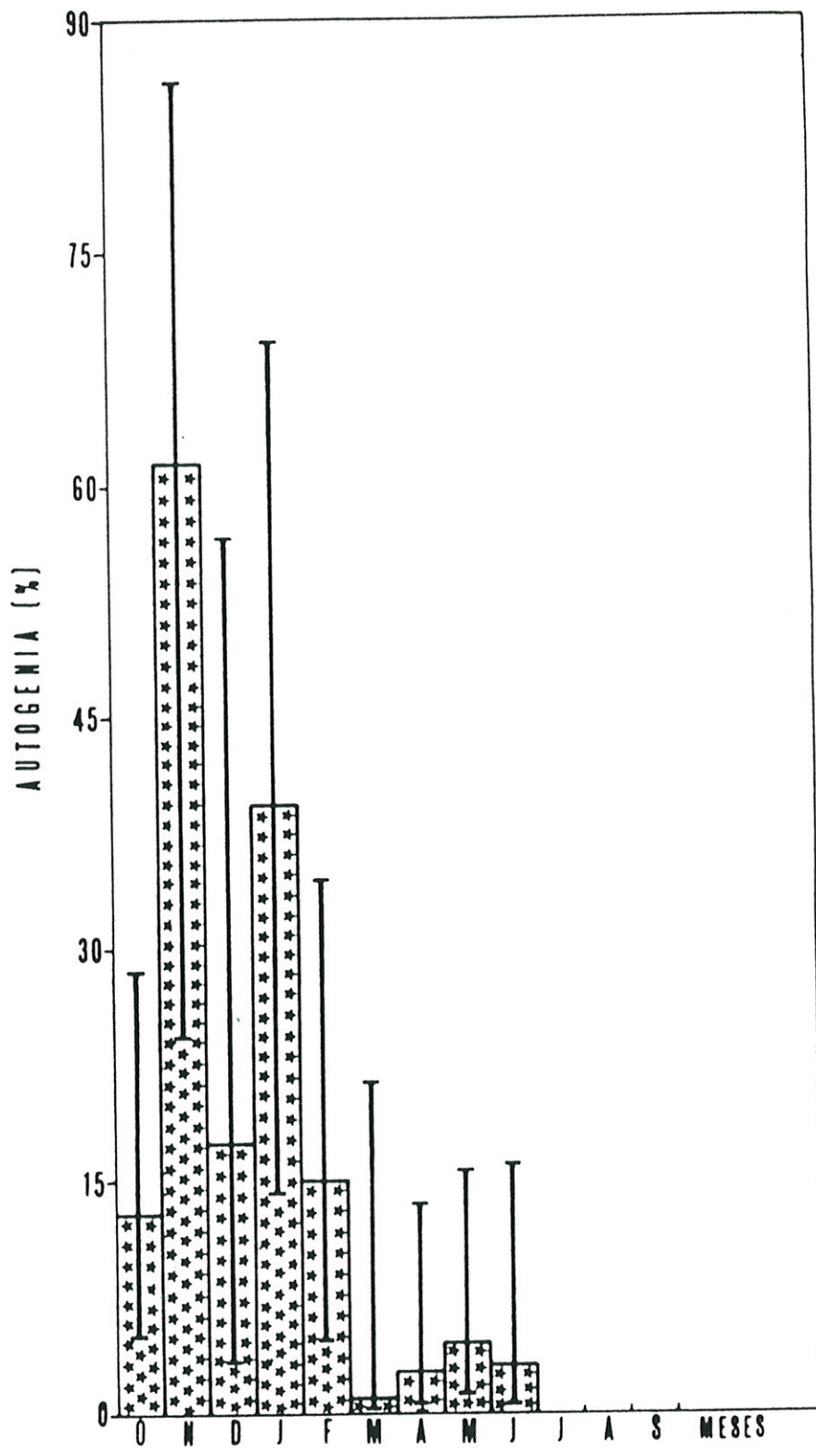
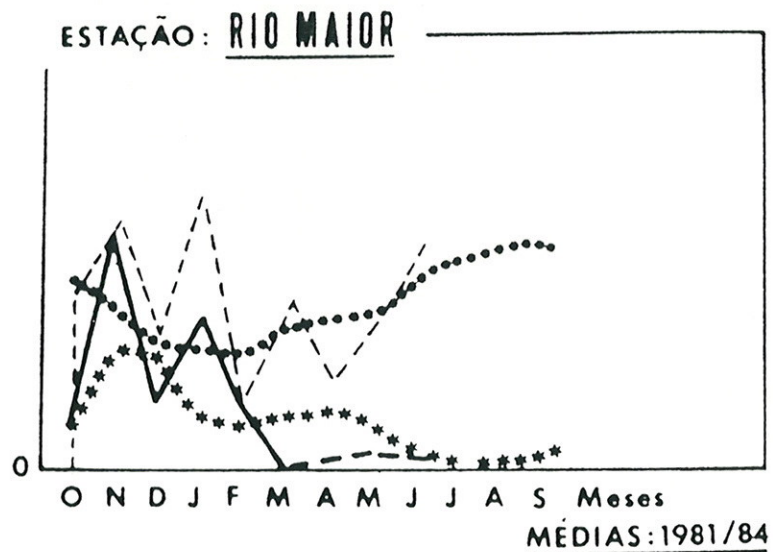


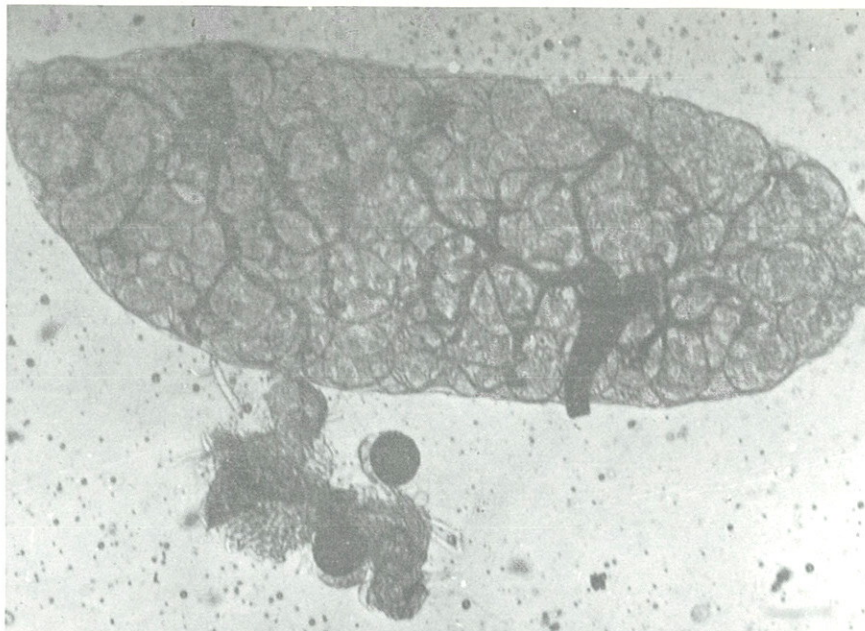
Figura 54 - Variação mensal da autogenia em Aedes detritus de Rio Maior, mostrando as médias e os limites de intervalo para o nível de confiança de confiança de 95%. Em Julho, Agosto e Setembro: ausência de material.



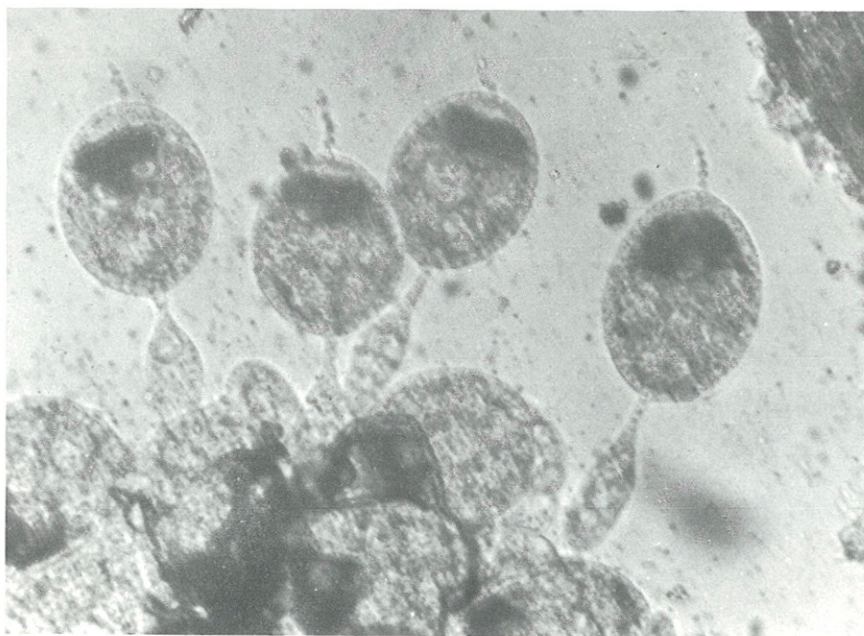
LEGENDA:

- SALINIDADE (g/l)
- TEMPERATURA Máxima (°C)
- **** PRECIPITAÇÃO (mm)
- AUTOGENIA (%)

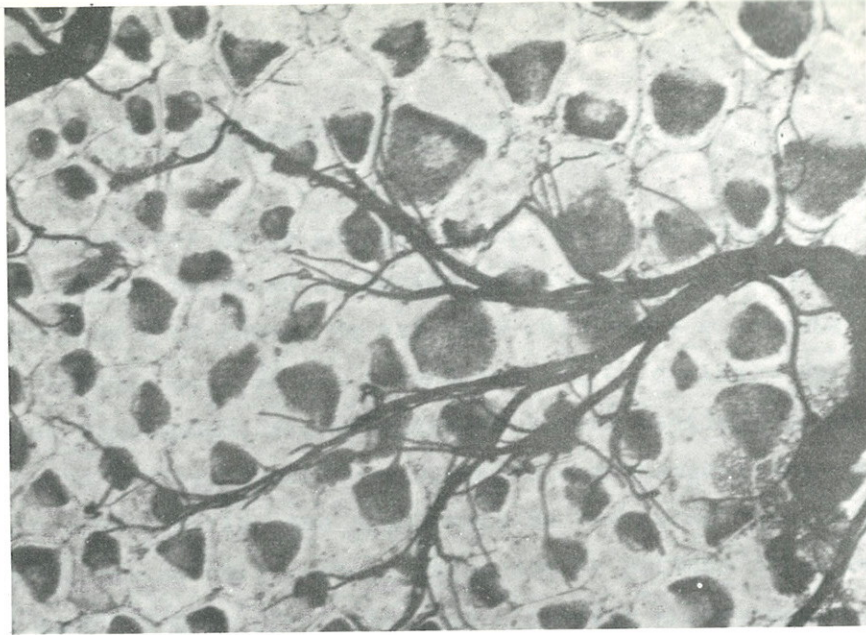
Figura 55 - Variação anual da autogenia em Aedes detritus e da salinidade, temperatura máxima atmosférica e precipitação na estação de Rio Maior.



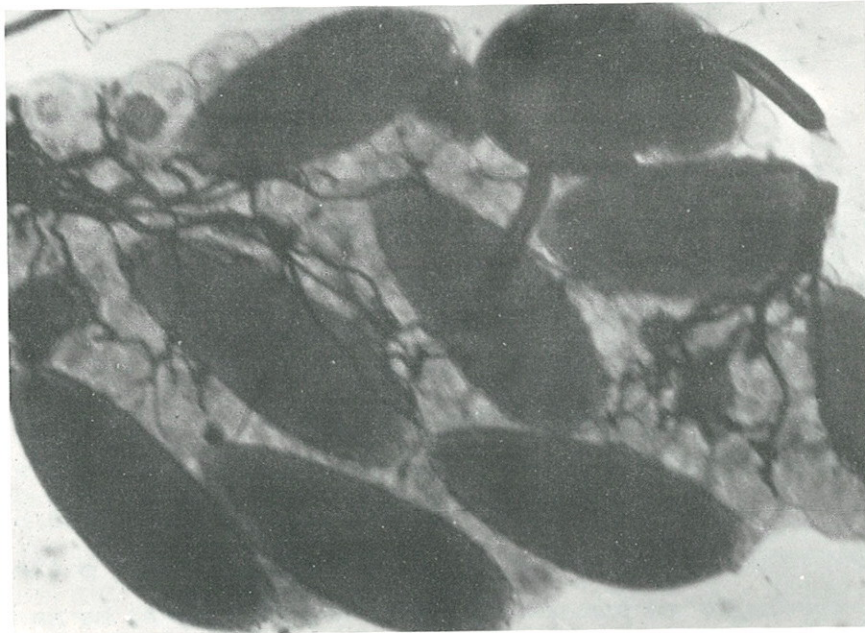
Fot. nº 7 - Ovário de fêmea de Aedes detritus de Rio Maior, no estado I da escala de Christophers, observando-se duas espermatecas inteiras e uma fragmentada.



Fot. nº 8 - Ovariólos destacados dos ovários de uma fêmea de Aedes detritus de Rio Maior.



Fot. 9 - Ovariólos de fêmea de Aedes detritus de Rio
Maior, no estado II de Christophers.



Fot. 10 - Ovariólos de fêmea de Aedes detritus de Rio
Maior, no estado V de Christophers.

usos de Eurigamia e
Eiteurogamia, na p. 16.
relativa a' copula

3.1.4 - Eurigamia/estenogamia

No decorrer deste estudo, sempre que procedíamos à dissecação dos ovários das fêmeas sujeitas ao estudo da autogenia, analisávamos as respectivas espermatecas (em número de três nos culicíneos e sómente uma nos anofelíneos), tomando nota do seu estado (vazias ou cheias). Nas cerca de 7 000 espermatecas examinadas, provenientes de fêmeas mantidas em gaiolas, conjuntamente com os machos, somente se detectou a estenogamia em amostras de Aedes detritus de Castro Marim, que igualmente se revelaram autogénicas (Capela, 1981). Conjugando estes primeiros dados com os obtidos no desenvolvimento do trabalho, parece lógico admitir-se que a espécie A do complexo possui a capacidade estenógama, pelo menos em certas zonas da sua área de distribuição geográfica, no nosso país. Quanto à espécie B, não se tendo observado qualquer caso de estenogamia, no numeroso material observado, é de prevêr que as populações portuguesas desta espécie sejam eurígamas.

Os trabalhos de vários autores a que tivémos acesso não fazem menção a esta característica adaptativa, relativamente a Aedes detritus.

3.1.5 - Locais de postura

De um modo geral as fêmeas das espécies A e B do complexo do Aedes detritus, por nós estudado, depositam os seus ovos no solo, junto às raízes da vegetação halófila que delimita, normalmente, os criadouros. Existem, porém, algumas diferenças subtis relativamente à escolha dos locais de postura. Assim, pudemos verificar que a espécie A tem uma acentuada preferência por locais de maior salinidade, onde predominam Arthrocnemum perene e A. fruticosum na bordadura das coleções de água. Os seus ovos são colocados quer nas anfractuosidades do solo quer junto às raízes das referidas plantas. Recolhendo amostras de solo e partes de plantas halófilas existentes nas áreas de estudo e colocando-as em tabuleiros com água no laboratório, observámos a eclosão de numerosas larvas, em várias experiências, confirmando assim a natural predisposição da espécie A, para a escolha deste tipo de criadouros. O mesmo não se passou relativamente à estação de Rio Maior que apresenta características ecológicas bastante diferentes das que prevalecem nos restantes locais de criação larvar, de que salientamos a total ausência de vegetação na bordadura dos tabuleiros de fabricação do sal (talhos). Estes, são construídos em cimento e delimitados por madeira, o que torna difícil detectar zonas restritas de deposição dos ovos.

Efectuámos várias raspagens nas paredes internas dos tabuleiros e igualmente nas tábuas de delimitação, nunca tendo obtido eclosões a partir deste material assim colhido. Observações persistentes in loco, permitiram-nos observar algumas fêmeas em aparente acto de postura, directamente na água. Algumas destas fêmeas, entretanto capturadas e transportadas para o laboratório, foram colocadas em gaiolas dispendo de tijelas com água salgada tendo aí efectuado as suas posturas.

A partir de então e ao longo de vários anos, detectámos diversas posturas realizadas em condições semelhantes. Esta constatação confirma que as populações portuguesas de Aedes detritus A, podem depositar os seus ovos tanto na vegetação e no solo halófilos como directamente na água dos criadouros. (pelo menos a população de Rio Maior).

Quanto à espécie B do complexo, as suas fêmeas fazem a postura em criadouros com vegetação considerada pelos especialistas como menos halófila (Juncus maritimus e Atriplex portucaloides), junto às raízes e no solo circundante. Em raízes de Arthrocnemum fruticosum e A. perene, é igualmente frequente a detecção de ovos de Aedes detritus B. Não assinalámos posturas directamente na água dos criadouros nem nas experiências laboratoriais levadas a cabo com exemplares desta espécie.

3.1.6 - Alocronia/sincronia

Conforme se pode verificar pela consulta às figuras 56 e 57, as duas espécies, A e B, do Aedes detritus coexistem em todas as estações estudadas à excepção de Rio Maior e de Milfontes. Consequentemente, torna-se difícil registar diferenças, entre as duas espécies, quanto às épocas de postura. Os dados recolhidos dão-nos a informação de que a espécie B será mais sensível aos meses quentes do Verão (Julho e Agosto) chegando a estar ausente neste último mês, sendo ainda mais rara que a espécie A, no Outono (Outubro e Novembro).

Quanto à espécie A, ela manter-se-á ao longo de todo o ano. Poderíamos resumir, afirmando que a espécie A, suporta fotoperíodos e temperaturas atmosféricas e da água dos criadouros mais elevadas do que a espécie B, estando presente em todos os meses do ano, mesmo no período estival, enquanto que a última é pouco frequente no Verão e no Outono. Embora não muito nítidamente, a uma diminuição da densidade e frequência da espécie B, em alguns

meses do ano, corresponde um aumento da densidade e da frequência da espécie A, o que torna mais evidente as discrepâncias existentes nos meses de Julho, Agosto (B ausente), Outubro e Novembro. Porém, independentemente das diferenças de densidade e exceptuando o mês de Agosto, as duas espécies permanecem em todas as estações de colheita ao longo do ano, pelo que não existe uma verdadeira alocronia das mesmas, nas populações portuguesas estudadas.

3.1.7 - Comparação de alguns parâmetros demográficos, entre Aedes detritus A e Aedes detritus B.

As experiências levadas a cabo com a finalidade de se obter informação relativa à biologia das duas espécies, no que diz respeito à longevidade número de ovos por postura e número de posturas por fêmea, forneceram resultados que revelam algumas diferenças significativas, como se poderá verificar pela análise dos testes T de Student, efectuados para cada caso. As observações foram feitas no laboratório, a partir de fêmeas eclodidas provenientes de material originário de Rio Maior e de Milfontes e que foram isoladas em tubos apropriados (berçários) e acompanhadas diariamente. As refeições sanguíneas foram oferecidas diariamente no nosso braço, anotando-se o número das mesmas tomado por cada fêmea, bem como o número de posturas e de ovos por postura.

Os exemplares que sucumbiram antes da primeira postura foram suprimidos dos cálculos. Das amostras ensaiadas foram retirados alguns exemplares que, electroforéticamente, foram identificados como espécie A e espécie B, de Rio Maior e de Milfontes, respectivamente.

Os resultados encontrados estão expressos nos quadros síntese 35, 36 e 37, que se seguem. A sua análise mostra-nos que as fêmeas pertencentes às amostras da espécie B do complexo do Aedes detritus revelaram uma maior longevidade relativamente às da espécie A do mesmo complexo, traduzida numa diferença muito significativa ($p < 0,01$).

Quanto ao número de ovos por postura, a sua comparação nas amostras estudadas provenientes das populações A e B do complexo citado, embora com ligeira diferença deram resultados estatisticamente não significativos ($p > 0,05$).

O número de posturas por fêmea estudado nas amostras das duas populações A e B do complexo do Aedes detritus forneceu resultados comparativos que apontam para uma diferença significativa ($0,01 < p < 0,02$) entre as respectivas fêmeas.

Número de dias de vida (d)

Espécie A

Σ total = 494 = Σ

$N_A = 16$

$\bar{d}_A = 30,875$

$s_A = 4,66$

Espécie B

$\Sigma B = 798$

$N_B = 16$

$\bar{d}_B = 49,875$

$s_B = 22,44$

n.g.l. = 30

$|t| = 3,3161$

$P < 0,01$

ao nível de confiança de 95%

Quadro síntese 35

Comparação do número de dias de vida (d), entre as fêmeas de Aedes detritus A de Rio Maior e as fêmeas de Aedes detritus B de Milfontes. Diferença muito significativa ($P < 0,01$)

Número de ovos/postura (o)

Espécie A

$\Sigma A = 1\ 156$

$N_A = 20$

$\bar{O}_A = 57,80$

$s_A = 37,475$

Espécie B

$\Sigma B = 1\ 307$

$N_B = 29$

$\bar{O}_B = 45,07$

$s_B = 19,78$

n.g.l. = 47

$|t| = 1,5477$

$P > 0,05$

ao nível de confiança de 95%

Quadro síntese 36

Comparação do número de ovos por postura, entre as fêmeas de Aedes detritus A, de Rio Maior e as fêmeas de Aedes detritus B, de Milfontes. Diferença não significativa ($P > 0,05$).

Número de posturas /fêmea (P)

Espécie A

$\bar{x}_A = 18$
 $N_A = 13$
 $\bar{P}_A = 1,385$
 $s_A = 0,506$

Espécie B

$\bar{x}_B = 30$
 $N_B = 14$
 $\bar{P}_B = 2,143$
 $s_B = 0,864$

n.g.l. = 25

$|t| = 2,75284$

$0,01 < P < 0,02$

ao nível de confiança de 95%

Quadro síntese 37

Comparação do número de posturas por fêmea, entre os exemplares de Aedes detritus A de Rio Maior e os exemplares de Aedes detritus B de Milfontes. Diferença significativa ($0,01 < P < 0,02$).

3.1.8 - Antropofilia/zoofilia. Endofilia/exofilia

Embora não tivéssemos procedido à reação das precipitinas, classicamente utilizada para a detecção do tipo de sangue contido no estômago das fêmeas colhidas na natureza, capturámos algumas fêmeas das espécies A e B do Aedes detritus, picando o Homem, no exterior. Igualmente, foram observadas fêmeas das duas espécies a picar animais (bovídeos) nas pastagens junto aos respectivos criadouros (Rio Maior e Milfontes). Por outro lado, as experiências feitas no laboratório, confirmaram a apetência das duas espécies para o sangue humano. Assim, as fêmeas da espécie A realizaram 24 refeições no nosso braço, num tempo médio de 1,42 minutos (1,00 a 3,50 minutos), enquanto que as fêmeas da espécie B, se alimentaram 48 vezes, num tempo médio de 1,50 minutos (25 segundos a 2,40 minutos). Com estes resultados e através das observações feitas no campo pode concluir-se que as duas espécies picam indiferentemente o Homem e os animais, ficando por saber quais as suas preferências alimentares (para além do Homem e dos bóvídeos).

Quanto aos locais de alimentação, apesar de várias tentativas, nunca capturámos exemplares adultos alimentando-se no interior de habitações (humanas ou de animais). As colheitas realizadas incidiram sobre adultos,

em repouso na vegetação próxima dos locais de criação, no gado quando em pastorícia e nas paredes exteriores de diversas construções. Assim, não nos parece arriscado afirmar que as populações portuguesas das espécies A e B do complexo do Aedes detritus revelam um elevado grau de exofilia, o que está de acordo com as observações realizadas no sul de França por Guilvard (1975), ao estudar populações de Aedes detritus locais.

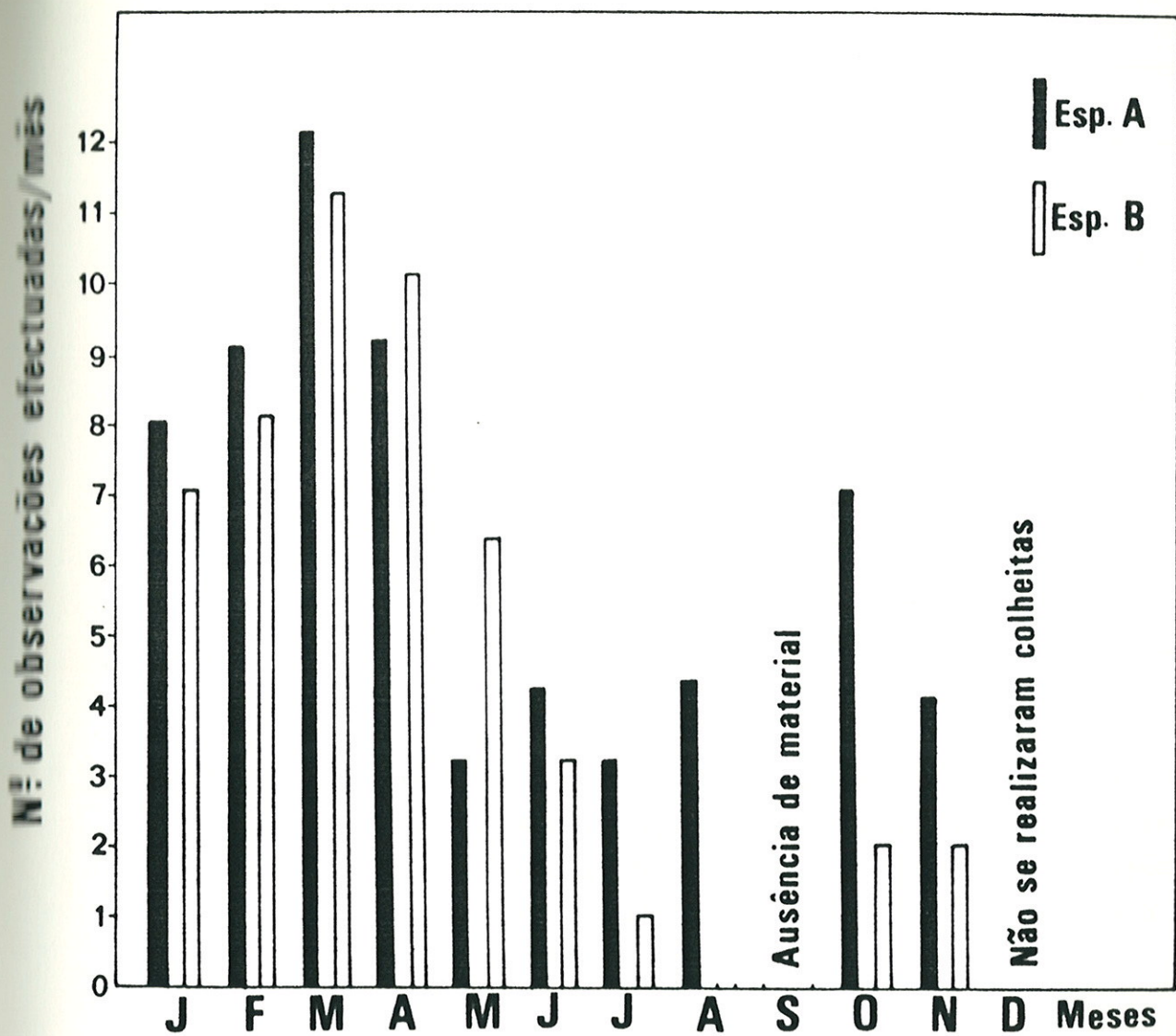


Figura 56- Frequência das espécies A e B do complexo do Aedes detritus, ao longo do ano. Período de 1981 a 1984.

ESTAÇÕES	ESPÉCIES	
Esposende	A	B
Torrão do Lameiro	A	B
Lagoa de Paramos	A	B
Rio Maior	A	-
Pancas	A	B
Águas de Moura	A	B
Milfontes	-	B
Meia Praia (Lagos)	A	B
Ludo (Faro)	A	B
Castro Marim	A	B

Figura 57 - Distribuição das espécies A e B do complexo do Aedes detritus, por estações de colheita. Período de 1981 a 1984. Dados relativos às espécies, confirmados por análise enzimática por meio de electroforese.

3.2 - LARVAS

3.2.1 - Tolerância das espécies A e B de Aedes detritus a diferentes concentrações de NaCl.

Independentemente dos aspectos ligados aos mecanismos fisiológicos de adaptação das larvas dos mosquitos a colecções de água com elevados teores em NaCl, estudados por vários autores, de entre os quais se podem destacar Wigglesworth (1933) e Beadle (1939), achámos de interesse testar laboratorialmente a reacção das duas espécies a diferentes concentrações de cloreto de sódio na água. Para tal, inspirámo-nos no trabalho de Ribbands (1944) sobre Anopheles melas (A. gambiae var. melas) e Anopheles gambiae.

Para esta experiência tornou-se necessária a obtenção de larvas do I estado o que se conseguiu por meio da fecundação artificial das fêmeas e subsequente alimentação e manutenção no insectário, até à efectivação da postura. As larvas foram alimentadas com uma mistura de biscoito para cão, pó de fígado e levedura de cerveja, moídas em almofariz. O insectário foi mantido a uma temperatura diurna de 20°C e nocturna de 15°C. A humidade foi de 80%. As larvas logo a seguir à eclosão, foram separadas por lotes e colocadas em recipientes apropriados com água a diferentes concentrações de NaCl. A fim de manter a salinidade destas águas, adicionavam-se, diariamente, algumas gotas de água corrente e procedia-se a um doseamento de controlo a fim de se acertar o teor inicialmente proposto para a experiência, em NaCl. A primeira leitura da mortalidade larvar, em cada concentração, ocorreu ao fim de 2 horas.

De um modo geral, Aedes (O.) detritus é considerada uma espécie tipicamente halófila, podendo suportar águas com elevadas concentrações de NaCl. Por exemplo, Rioux (1958) assinala esta espécie vivendo em águas salinas com valores de 1,5 a 103 g/litro de NaCl, em criadouros da região de Montpellier. Berger et al. (1979), consideram igualmente esta espécie como podendo viver em meios povoados por vegetação halófila e, como tal, consideram-na igualmente halófila.

Quanto a nós, pelas observações e colheitas efectuadas na natureza, teremos de estar de acordo com as observações destes autores. Efectivamente, tanto em rio Maior como em Milfontes, localidades onde sempre se colheram larvas de Aedes detritus A e de Aedes detritus B, respectivamente, as salinidades foram de 18 g/litro (mínima) e de 70 g/litro (máxima) em Rio Maior e de 2 g/litro (mínima) e de 60 g/litro (máxima) no período de 1981

a 1984, conforme se pode verificar pela análise das figuras 6 e 7 contidas na parte IV do texto na página 93.

O resultado destas experiências laboratoriais consta nos quadros XIV e XV. A sua observação revela-nos que não existem diferenças significativas quanto à tolerância das duas espécies às várias concentrações salinas ensaiadas. Assim, na leitura efectuada ao fim de 2 horas (larvas recém-eclodidas) exceptuando a concentração de 90 g/litro para Aedes detritus B, todas as larvas sobreviveram numa taxa de 100%. Por conseguinte, não é possível discriminar com segurança, por este método clássico, as larvas das duas espécies, após eclosão. Aedes detritus A parece susceptível de suportar facilmente maiores teores em NaCl, uma vez que a 50 g/litro houve uma eclosão de adultos na ordem dos 81%, o que não sucedeu com Aedes detritus B, cujas larvas sucumbiram na totalidade ao quarto dia da experiência. Para Aedes detritus A, as concentrações de 20 a 50 g/litro de NaCl parecem ser boas para conclusão do seu ciclo evolutivo que, nestas condições, durou em média 22 dias. Quanto a Aedes detritus B, os valores apurados mostraram-se ligeiramente diferentes, ou seja, 20 a 40 g/litro e um ciclo evolutivo de 16 dias, em média. Curiosa é também a verificação de que, em Aedes detritus A ocorreu primeiro a eclosão de machos ao passo que em Aedes detritus B se passou o inverso. Estes dados estão, de certo modo, em desacordo com o que normalmente é conhecido para as eclosões na natureza, em que surgem primeiro os machos e, posteriormente, as fêmeas. Tal acontecimento parece mais lógico a nível dos processos da reprodução das espécies, uma vez que os machos têm, normalmente, uma vida mais curta e necessitam de cerca de 2 dias para rodarem a genitália, de modo a poderem efectuar a cópula, com êxito.

As larvas de Aedes detritus A, criadas em água doce, não atingiram o estado adulto, tendo perecido ao décimo dia. Quanto a Aedes detritus B, nas mesmas circunstâncias, deu origem a um macho ao vigésimo dia o que parece reforçar a ideia de que esta espécie possui maior capacidade para viver e completar o seu ciclo evolutivo em águas menos salinas que Aedes detritus A.

Para finalizar, podemos afirmar que as ligeiras diferenças encontradas, nesta experiência, serão provavelmente o reflexo de uma diferente capacidade de adaptação às condições dos criadouros larvares, manifestada pelas duas espécies, não constituindo, por si só, factor determinante de discriminação. Contudo, tais diferenças aliadas a outras por nós observadas a nível morfológico, fisiológico e enzimático, parecem confirmar, uma vez

mais, que hipoteticamente é sempre viável encarar frontalmente a possibilidade de discriminar espécies gêmeas, a estes níveis, pelo menos no grupo dos mosquitos.

QUADRO XIV

Teste de salinidade de Ribbands efectuado em Aedes detritus A, de Rio Maior. Primeira leitura ao fim de 2 horas.

Estado larvar	Nº.de larvas	g/litro NaCl	Leitura (2 horas) Nº.sobr.	% sobr.	Nº.ecl. % ecl.	Ciclo evolutivo(dias)
I	10	20	10	100	Mortas ao 9º dia	
I	10	30	10	100	5♂ 2♀	70 22
I	16	40	16	100	10♂ 2♀	75 22
I	16	50	16	100	12♂ 1♀	81 22
I	8	70	8	100	Morte de 4 larvas ao 3º dia e das restantes ao 6º dia	
I	9	80	9	100	Morte da totalidade das larvas ao 2º dia	
I	4	90	4	100	Morte da totalidade das larvas ao 6º dia	
I	10	-	-	Água doce	Morte da totalidade das larvas ao 10º dia	

QUADRO XV

Teste de salinidade de Ribbands efectuado em Aedes detritus B, de Milfontes. Primeira leitura ao fim de 2 horas.

Estado larvar	Nº.de larvas	g/ litro NaCl	Leitura (2 horas)		Nº.ecl.	% ecl.	ciclo evolutivo (Dias)
			Nº.sobr.	% sobr.			
I	5	20	5	100	1 ♀	20	15
I	4	30	4	100	3 ♀	75	17
I	4	40	4	100	3 ♀ 1 ♂	100	17
I	5	50	3	100	2 mortas ao 3º dia e a restante morta no 4º estado ao 9º dia		
I	10	70	10	100	Todas mortas e decompostas ao 2º dia		
I	13	80	13	100	Todas mortas e decompostas ao 2º dia		
I	3	90	2	67	2 mortas e decompostas ao 4º dia		
I	9	Água doce			1 ♂	11	20

3.2.2 - Classificação ecológica dos criadouros larvares de Aedes detritus.

Conforme foi referido em 4.5 da primeira parte do nosso trabalho, de entre as diversas classificações de criadouros larvares publicadas, destaca-se a de Bates (1949), adoptada por Rioux (1958) e que nos parece a mais ajustada às características ecológicas dos criadouros larvares das espécies de mosquitos portugueses.

Tratando-se, neste caso, do estudo de espécies halófilas, restringiremos a nossa apreciação, quanto ao tipo de criadouros frequentados por estas espécies.

Os principais locais de criação das espécies halófilas de mosquitos portugueses são constituídos:

A - Por terrenos mais ou menos planos geralmente na foz dos rios, sofrendo influência das marés, parcialmente cobertos por vegetação halófila, são frequentemente de carácter temporário e ocupam grandes extensões, como é o caso dos vastos sapais de Pancas, Ludo (Faro) e Castro Marim. Biótopos que se podem considerar eurítomos, são ocupados por Aedes detritus A, Aedes detritus B e, igualmente, por Aedes caspius.

B - Por valas de irrigação de água para abastecimento das salinas, com vegetação halófila nas margens constituindo igualmente criadouros eurítomos de carácter temporário. Estes criadouros, conjuntamente com os arrozais de águas com algum teor salino, são frequentados por Aedes caspius, Aedes detritus A e B e também por outras espécies de mosquitos do género Anopheles e do género Culex. É o caso das regiões de Águas de Moura, Milfontes, Meia Praia (Lagos) e as valas de irrigação de Castro Marim.

C - Por tabuleiros de fabricação do sal em diversas salinas do país, principalmente no início das operações e nos primeiros tabuleiros em que a água é ainda pouco salina. Este tipo de criadouro pode considerar-se estenótopo, artificial e temporário. Um bom exemplo deste biótopo são as salinas de Rio Maior, de Pancas e de Águas de Moura.

Em resumo, podemos concluir que, relativamente às espécies halófilas de mosquitos portugueses, existem principalmente dois tipos de criadouros:

A - grandes extensões de terreno geralmente na foz dos rios, sofrendo influência nítida do regime das marés, parcial ou totalmente cobertos de vegetação tipicamente halófila e normalmente designados por sapais ou paúis de carácter semi-permanente.

B - Colecções de água salôbra e/ou salgada de carácter temporário, com dimensões mais reduzidas do que as anteriores, localizadas em zonas de salinas, podendo ser constituídas pelas valas de abastecimento das mesmas ou por terrenos alagadiços subjacentes em que prolifera uma vegetação caracteristicamente halófila.

As duas espécies gêmeas do complexo do Aedes detritus e o Aedes caspius que são objecto do nosso trabalho ocorrem nestas colecções de água, não parecendo, em termos gerais, revelar preferências acentuadas por um ou outro tipo de criadouro.

PARTE VI

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Ao concluirmos o presente trabalho e atendendo aos objectivos que nos propuzémos atingir enunciados na Introdução pensamos legitimamente que os mesmos foram fundamentalmente alcançados. Efectivamente, nas partes I a III abordaram-se as generalidades, a sistemática e a história dos mosquitos recorrendo a uma bibliografia extensa e o mais actualizada possível utilizando simultâneamente elementos colhidos ao longo da nossa experiência no estudo destes insectos, tanto em Portugal continental e Insular como na África ocidental.

As partes IV e V constituíram como que o corolário de todo o trabalho desenvolvido. Através do mesmo foi possível comprovar a existência em Portugal das espécies gêmeas A e B do complexo do Aedes detritus detectado no sul de França (Camarga) Pasteur et al. (1977) e no norte de África (Tunísia e Marrocos) Pasteur et al. (1978). Tendo a espécie nominal Aedes detritus sido descrita a partir de material colhido em Inglaterra (Knight e Stone, 1977), entendemos ser de todo o interesse saber se a mesma se revelava como um complexo de espécies na totalidade da sua área de distribuição geográfica. A análise electroforética de vários sistemas enzimáticos utilizando como material exemplares adultos, permitiu-nos seleccionar dois, a Glicerofosfato desidrogenase (α -GPD) e a glutamato oxaloacetato transaminases (GOT-2), suficientemente discriminativas a nível específico com excelentes resultados, conforme se pode verificar pela consulta dos quadros I a VIII.

Aplicando estas técnicas, verificámos que Aedes detritus A e Aedes detritus B podem frequentar os mesmos criadouros larvares e se distribuem por todo o território ao longo da costa atlântica portuguesa de Esposende a Castro Marim, conforme se pode verificar pela observação do mapa 1. No entanto, na estação de colheita de Rio Maior (Marinhas de Rio Maior), durante o período de 1981 a 1984, apenas se colheu a espécie A do complexo, certamente aí introduzida pelo Homem, revelando um elevado grau de endogamia (Fenótipo GOT-2^R, Alelo α .GPD¹⁰⁰ a 100%), não revelando as amostras ensaiadas heterozigotia conforme consta do quadro IX. Facto semelhante ocorreu

em relação à espécie B única presente na estação de Milfontes (foz do Rio Mira) onde no mesmo período jámais se encontrou a espécie A. Porém, nesta localidade as amostras das populações ensaiadas (quadro IX) revelaram uma ligeira heterozigotia (Fenótipo GOT-2^L, Alelo α -GPG¹⁴⁰ a 99%). Em todas os restantes locais de colheita ao longo da costa as espécies A e B do complexo do Aedes detritus coexistem naturalmente em alguns meses do ano.

Em nossa opinião, a estação de Rio Maior, com águas fortemente salinas provenientes de minas de salgema, distando da costa cerca de 25 quilómetros e não possuindo vegetação halófila característica para a deposição e abrigo de posturas de Aedes detritus, contribuiu para a selecção de uma população da espécie A com características ecofisiológicas ligeiramente diferentes das restantes frequentando outros locais. Assim, as fêmeas da espécie A da população de Rio Maior depositam os ovos directamente na água em oposição às da mesma espécie A que efectuam a postura preferencialmente nos terrenos e junto às raízes da vegetação halófila da bordadura dos criadouros. No entanto, do ponto de vista sistemático, incluindo a análise de sistemas enzimáticos por electroforese, não se detectaram diferenças assinaláveis entre os exemplares provenientes das diferentes populações de Aedes detritus A estudadas, pelo que nos parece legítimo atribuir esta diferente estratégia de postura possivelmente à "plasticidade" ecológica que certas espécies exibem no sentido da sua manutenção e perpetuação na natureza.

Relativamente à espécie B do complexo que foi a única que colhemos no mesmo período em Milfontes, poderemos inferir do mesmo modo que as condições ecológicas do meio favorecem a sua presença nesta estação inserida na foz de um rio em que as águas são menos salinas, onde existe vegetação halófila de suporte para que as fêmeas efectuem as suas posturas e bons locais de abrigo para os adultos. Mesmo assim e aparentemente estão reunidas nesta estação as condições para que a espécie A do complexo aí se desenvolva.

Contrariamente à estação de Rio Maior que não nos parece reunir condições para a existência da espécie B, não encontramos resposta clara para esta aparente "anomalia", uma vez que as duas espécies se distribuem e coexistem ao longo de toda a costa atlântica. No entanto, podemos admitir que fundamentalmente devido a diferenças das condições ecológicas dos criadouros aliadas a uma certa descontinuidade do ponto de vista geográfico e/ou climático entre Lagos, onde se encontram as espécies A e B, e Milfontes e entre esta última localidade e Alcácer do Sal, onde elas igualmente coexistem, poderá estar na origem do não aparecimento de Aedes detritus A em

Milfontes. Por processos de introdução pelo Homem e/ou dispersão natural por vôo, as duas espécies podem ter frequentado este local em tempos recuados tendo aí permanecido a B que teria sido aquela que melhor se adaptou às condições ecológicas deste biótopo.

Da posse de elementos seguros obtidos por meio da análise electroforética que confirmaram a nossa suspeita de que em Portugal Aedes detritus constituía realmente um complexo formado por, pelo menos, duas espécies gêmeas, encetámos o seu estudo ecofisiológico e morfométrico a fim de contribuirmos para um melhor conhecimento da biologia das mesmas.

Com esta perspectiva e após termos detectado o carácter autogénico em Aedes detritus conforme se pode verificar em 3.1.1 da parte V do nosso trabalho, procedemos ao estudo da variação da autogenia nas duas espécies tendo obtido resultados insofismáveis que permitem afirmar que a espécie A possui a capacidade autogénica e estenogâmica enquanto que a B não a exhibe, considerando-se consequentemente como anautogénica e eurigâmica. Às mesmas conclusões chegaram Guilvard (1977) e Verdier (1978) relativamente a material do sul de França (Camarga) e do norte de África (Tunísia e Marrocos), respectivamente.

De acordo com os dados obtidos e que constam das figuras 33 a 55, existe uma acentuada diferença na variação da taxa de autogenia em Aedes detritus A em função da variação geográfica e/ ou climática, para além de outros factores, tais como diferentes condições alimentares dos estados imaturos nas várias estações de colheita que igualmente podem influenciar a autogenia. Estes dados concordam mais uma vez com os achados em França por Guilvard (1977).

Ainda no domínio da ecofisiologia, procedemos à comparação de alguns parâmetros demográficos entre as duas espécies que nos ofereceram resultados interessantes e que, tanto quanto julgamos saber, são inéditos. Assim, as fêmeas testadas da espécie B revelaram uma maior longevidade traduzida numa diferença muito significativa ($p < 0,01$) ao nível de confiança de 95% conforme quadro síntese 35. Resultados semelhantes foram encontrados relativamente ao número de posturas por fêmea verificando-se que os exemplares pertencentes à espécie B realizam maior número de posturas, sendo a diferença significativa ($0,01 < p < 0,02$) ao nível de confiança de 95%, segundo quadro síntese 37.

Embora não tivéssemos feito colheitas na natureza de fêmeas alimentadas para a clássica reacção das precipitinas que nos permitiria saber com segurança das preferências alimentares manifestadas pelas fêmeas das duas espécies, elas picam indiferentemente o Homem e os animais (bovídeos), como pudemos verificar frequentemente no terreno. Por outro lado e reforçando a observação de campo, alimentámos em laboratório no nosso braço fêmeas de ambas as espécies, com relativa facilidade.

As larvas recém-eclodidas de Aedes detritus A e B foram sujeitas ao teste de salinidade de Ribbands (1944) com a finalidade de se detectarem eventuais diferenças relativamente à tolerância a concentrações variadas de cloreto de sódio, nas águas de criação. Os quadros XIV e XI apontam para algumas diferenças na referida tolerância, sendo no entanto inconclusivos uma vez que o teste do qui quadrado deu valores não significativos. Ficámos no entanto com a sensação de que se tivéssemos tido a oportunidade de ensaiar maior número de larvas em cada concentração estudada poderíamos obter resultados mais convincentes quanto a esta agora ligeira diferença fisiológica.

Com o volume de dados obtidos, tanto por meios electroforéticos como por avaliação de diferenças ecológicas e biológicas que acentuavam as diferenças entre as duas espécies do complexo em estudo, encetámos a observação morfométrica dos estados imaturos e dos adultos de ambos os sexos, recorrendo aos métodos de análise univariada e multivariada (análise discriminante das larvas do 4º estado). A abordagem destes métodos em Aedes detritus A e B, tanto quanto julgamos saber ainda não havia sido feita por outros autores. Assim, os resultados obtidos parecem-nos de inegável valor, pois as diferenças entre as duas espécies, tanto nas formas imaturas (ovo, larva do 4º estado e ninfa) como nos adultos (machos e fêmeas) encontradas nos caracteres usualmente utilizados no estudo da morfologia dos culicídeos e em outros por nós estudados pela primeira vez no género Aedes (sensilla coeloconica) dos palpos maxilares das fêmeas, por exemplo), foram na maior parte dos casos altamente significativas.

A observação cuidada das figuras, gráficos e quadros síntese incluídos na parte correspondente a esta matéria no texto e ainda nos quadros anexos permite-nos definitivamente encarar do ponto de vista da morfologia as duas espécies A e B do complexo do Aedes detritus como claramente distintas.

Reforçando ainda mais estas conclusões, obtivemos através da análise multivariada das larvas do 4º estado um discriminante linear para as duas espécies utilizando algumas variáveis previamente seleccionadas que permitiram obter a melhor função discriminante referida no quadro B e figuras 31 e 32 de 2.2. Através da função discriminante: $D = V_2 + 14 V_3 - 245$, baseada em duas variáveis morfológicas que são o comprimento das sedas pré-clipeais (em μ) e o número de ramos da seda cefálica d, ficou demonstrada a possibilidade de separar com segurança as larvas das duas espécies. Estes resultados são apenas seguros para as populações de onde provieram as amostras testadas, pelo que será de todo o interesse examinar deste ponto de vista amostras de material de diferentes regiões da área de distribuição de Aedes detritus, a fim de podermos diagnosticar as espécies sem o recurso necessário e constante à onerosa técnica electroforética.

Tendo o grande volume de dados que obtivemos a todos os níveis (morfológicos, fisiológicos, etológicos) posto de facto em evidência a existência de diferenças significativas entre as duas espécies ditas A e B de Aedes detritus, poder-se-á pôr o problema do nome a atribuir a cada uma delas. No entanto, por não termos tido a possibilidade de estudar amostras da população do local tipo (Inglaterra) e compará-las com as populações de Portugal terão de ser mantidas designações provisórias dos autores franceses Pasteur et al. (1977) os primeiros a considerar a espécie nominal Aedes detritus como um complexo de duas espécies a A e a B.

Várias foram as questões que gostaríamos e desejaríamos ter abordado no presente estudo e que nos foram surgindo ao longo da sua realização. Porém, este como qualquer outro trabalho científico, não se esgotou com a nossa contribuição. Assim sendo, ficaram em aberto para posterior estudo algumas questões que tentaremos desenvolver e esclarecer quando nos fôr possível. De entre elas destacaremos o estudo da eventual hibridização entre as populações de Aedes detritus A e B, através da cópula forçada, e o acompanhamento da evolução dum hipotética descendência. Seria igualmente interessante o estabelecimento de critérios distintivos entre elas a nível da tolerância das formas imaturas ao NaCl das águas de criação. Um outro aspecto que julgamos de interesse prende-se com a necessidade da elaboração de uma carta fitoecológica dos criadouros larvares, que teria uma importância decisiva em termos de epidemiologia e controlo químico e/ou biológico das duas

espécies em zonas afectadas ao turismo.

O estudo de predadores e parasitas das duas espécies poderia igualmente realizar-se com vista ao seu aproveitamento como auxiliar de controlo em programas de luta integrada. Um trabalho em colaboração com outros investigadores com a finalidade de se conhecer o papel das duas espécies na transmissão de vírus e ou/ outros agentes patogénicos era sumamente importante. A análise enzimática por electroforese de alguns sistemas proteicos (ϕ -GPD e GOT-2), bem como o estudo morfométrico de amostras de populações de Aedes detritus provenientes do local tipo da espécie permitiria saber-se concretamente qual ou quais as espécies do complexo presentes nessas regiões, o que facilitaria e resolveria o problema da sua correcta designação a nível específico.

Considerando este trabalho como não mais do que um simples contributo para um melhor conhecimento da biologia de Aedes detritus e Aedes caspius estamos, no entanto, confiantes de que os nossos objectivos foram de algum modo alcançados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, J.D., RODEN, T.A., YOELY, M. (1946) - "Anophelini Mosquitoes as natural Vectors os Equine Dermal Filariasis". Nature, 158: 913
- ABDEL-MALEK, A.A., ADHAM, F.K. (1974) - Larval and adults diets as factors influencing autogeny im Aedes caspius (Diptera). Acta ent. Bohemosl., 71(5):294-297
- ABDEL-MALEK, A.A., ADHAM, F.K. (1974) - Laboratory rearing os Aedes caspius (Diptera, Culicidae). Acta ent. Bohemosl., 71(3):201-204
- ALEXANDER, R.D. (1968) - Life cycles origins, speciation, and related phenomena in Crickets. Quart. Rev. Biol., 43:1-41
- ALMAÇA, C. (1973) - Sur la structure des populations des Pitymis ibériques Rev. Fac. Ciênc. Lisboa, 2ª Série C, 17(8):383-426
- AVISE, J.C. (1974) - Systematic Value of electrophoretic data. Syst. Zool. 23(4): 465-481
- AYALA, F.J., POWELL, J.R. (1972) - Allozymes as diagnostic characters of sibling species of Drosophila. Proc. Nat. Acad. Sci., 69 (5):1094-1096
- BAR_ZEEV, M. (1957) - The effects of density on the larval of a mosquito and its influence on fecundity. Bull. Res. Council. Israel, Sér. B, 6: 220-228
- BARTOLI, P. (1974) - Recherches sur les Gymnophallidae F.N. Morozov, 1955 (Digenea) parasites d'oiseaux des côtes de Camargue: Systématique, Biologie et Ecologie. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Marseille: 338 p. (dactylog.)
- BATES, M. (1949) - "The Natural Histiry of Mosquitoes". The Mac Millan Comp. N.Y.

- BEADLE, J., PASTEUR, N., THALER, L. (1976) - Les souris du Midi de France: distinction biochimique de deux groupes de populations sympatriques. C.R. Acad. Sci. 283:515-518
- BECKEL, W.E. (1958) - Investigation of permeability, diapause and hatching in the eggs of the mosquito Aedes hexodontus Dyar. Canad. J. Zool., 36: 541-554
- BENMEHDI, F., BRITTON-DAVIDIAN, J., THALER, L. (1980) - Premier apport de la génétique Biochimique des populations à la Systématique des Mulots de France continentale et de Corse. Biochemical Systematics and Ecology, 8:309-315
- BERGER, A., CHAMPEAU, A., GABINAUD, A., GUILVARD, E., HEIM, G., PASTEUR, N. (1979) - Réponse des végétaux et des invertébrés au régime hydrique et aux variations de la salinité dans les communautés halophiles de Camargue. Terre Vie, Rev. Ecol., Suppl. 2
- BERTINI, F., CEI, J.M. (1962) - Seroprotein patterns in the Bufo marinus Complex Herpetologica, 17: 231-238
- BRAGA, J.M. (1931) - Culicídeos de Portugal. Inst. Zool. Univ. Porto
- BREWER, G.Y. (1970) - An introduction to isozyme techniques. Academic Press, N.Y.
- BRITTON-DAVIDIAN, J. (1978) - Premières données sur la structure génétique du complexe d'espèces de Mus musculus L. dans le Bassin méditerranéen. Thèse de Doctorat de spécialité, Université de Montpellier II.
- BRITTON, J., THALER, L. (1978) - Evidence for the presence of two sympatric species of mice (genus Mus L.) in southern France, based on biochemical genetics. Biocem. Genet. 16(3/4): 213-225
- BRITTON, J., PASTEUR, N., THALER, L. (1976) - Les souris du Midi de la France; distinction biochimique de deux groupes de populations sympatriques. C. R. Acad. Sci. 283:515-518

- BULLINI, L., COLUZZI, M. (1972 b) - Natural selection and genetic drift in protein polymorphism. Nature, 239: 160-161
- BULLINI, L., COLUZZI, M. (1973) - Electrophoretic studies on gene-enzyme systems in mosquitoes (Diptera, Culicidae). Parassitologia, vol. XV, n^o. 3
- BULLINI, L., SBORDONI, V. (1980) - Electrophoretic studies of gene-enzyme systems: microevolutionary processes and phylogenetic influence. Bull. Zool., 47:95-112
- BUTH, G.D. (1984) - The application of electrophoretic data in systematic studies. Ann. Rev. Ecol. Syst. 15:501-522
- CAMBOURNAC, F.J.C. (1943) - "Orthopodomyia pulchripalpis" Rondani (Diptera, Culicidae); sua ocorrência em Portugal. An. Inst. Med. Trop. 1:71-77
- CANTRAL, I.J. (1943) - The ecology of the Orthoptera and Dermaptera of the Reserve Michigan. Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Mich., 54:1-182
- CAPELA, R.A. (1979) - Nouvelle localisation géographique du caractère autogène pour Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata (Macquart, 1838) (Diptera, Culicidae). Arg. Mus. Boc. (2^e Série) notas e suplementos 40: 1-3
- CAPELA, R.A. (1981) - Présence des caractères autogène et sténogame dans les populations d'Aedes (Ochlerotatus) detritus (Haliday, 1833) de la cote sud (Algarve) du Portugal. Annales de Parasitologie (Paris), t. 56 n^o. 6:623-624
- CAPELA, R.A., RIBEIRO, M.E.B. (1984) - Présence du caractère autogène chez Culiseta (C.) annulata (Schrank, 1776) et nouvelles mentions géographiques pour Aedes caspius (Pallas, 1771) et Culiseta (c.) annulata (Edwards, 1921). Ann. Parasitol. Hum. Comp. t. 59, n^o. 5:535-538

- CAPELA, R.A., RIBEIRO, H., PIRES, C.A., RAMOS, H.C., RIBEIRO, M.E.B. (1983) - Research on the mosquitoes of Portugal (Diptera, Culicidae). V - Two new culicine records. Arq. Mus. Boc. (Série A) vol. II, n.º. 2: 13-27
- CARION, M.L. (1976) - Variations de la Malate déshydrogénase dans quatre espèces du genre Jaera albifrons: Étude génétique et variation géographique. Biochemicals Systematics and Ecology " : 123-129
- CEI, J.M. (1962) - Electroforesis en papel de proteínas séricas y su contribución a la interpretación de un conjunto específico controverso: Odontophrynus. Comuni. Se. Cient. Biologia, Cordoba 25/27 Octubre
- CEI, J.M. (1969) - Niveles actuales de la aproximación de la sistemática no morfológica. Acta Zoológica Lilloana, t. XXIV: 293-308
- CEI, J.M., BERTINI, F. (1961) - Seroproteins in allopatric and sympatric populations of Leptodactylus ocellatus and L. chaquensis. Copeia, 3: 336-340
- CHRISTOPHERS, S.R. (1911) - The development of the egg follicle in Anopheles. Paludism, 2: 73-88
- CIANCHI, R., URBANELLI, S., SABATINI, A., COLUZZI, M., TORDI, M.P., BULLINI, L. (1980) - Due entità riproduttivamente isolate sotto il nome di Aedes caspius (Diptera, Culicidae). Atti XII Congr. Naz. Ital. Entomol. Roma, vol. II: 269-279
- CLEMENTS, A.N. (1963) - The physiology of mosquitoes. Pergamon Press. Oxford New York: 393
- COLESS, P.H., CHELLAPAH, W.T. (1960) - Effects of body weight and size of blood-meal upon egg production in Aedes aegypti (Linnaeus) (Diptera, Culicidae). Ann. Trop. Med. Parasit. 54: 475-482
- COLUZZI, M. (1966) - Osservazioni comparative sul cromosoma X nelle specie A e B del complesso Anopheles gambiae. Rendi conti della Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali, 8, 40, 4: 671-678

- COLUZZI, M., SACCA', G., FELICIANGELI, D. - (1965) - Il complesso A. claviger nella sottoregione Mediterranea. Cahiers ORSTOM, Sér. Ent. Méd. 3 e 4:97-102
- COLUZZI, M., BULLINI, L. (1971) - Enzyme variants as markers in the study of isolating mechanisms. Nature, 231:455-456
- CRAIG, G. B. (1955) - Preparation of the chorion of Aedini mosquitoes for microscopy. Mosquito News, 15:228-231
- CRESPO, E. G. (1976) - Contribuição para o estudo das espécies ibéricas do género Alytes (Alytes cisternasii) Boscá e Alytes obstetricans Lataste - Amphibia, Salientia). Bolm. Soc. Nat., 17:39-54
- CRESPO, E. G. (1979) - Contribuição para o conhecimento da biologia dos Alytes ibéricos, Alytes obstetricans Lataste, 1879 e Alytes cisternasii Boscá, 1879 (Amphibia salientia): - a problemática da especiação de Alytes cisternasii. Tese. Universidade de Lisboa
- CRESPO, E. G., VIEGAS, A. M. (1975) - Sobre as proyeínas dos Ranídeos da fauna portuguesa (Rana iberica Boul. e Rana ridibunda perezii Seoane) Estudos Fauna Portuguesa, 7:1-26
- CRONQUIST, A. (1964) - "The old systematics". in: Taxonomic Biochemistry and Serology. Ed. Charles A. Leone, The Ronald Press Company-N.Y.
- CUENOT; L. (1911) - L'espèce. G. Doin et Cie, Ed., Paris
- DECOURSEY, J. D., WEBSTER, A. P. (1952) - A method of cleaning the corion of Aedes sollicitans (Walker) eggs preliminary observations on there embryonic development. Ann. Ent. Soc. Amer., 45:625-632
- DE GEER (1976) - Des Cousins. Memoires pour servir a l'histoire des insects, 6:298-324

- DOBZHANSKY, Th., EPLING, C. (1944) - Contributions to the genetics, taxonomy and ecology of Drosophila pseudoobscura and its relatives. Carnegie Inst. Washington Publ., 554:1-183
- DOBZHANSKY, Th. (1961) - A further study of fitness of chromosomally polymorphic and monomorphic populations of Drosophila pseudoobscura Heredity 16:1-179
- FRIZZI, G. (1949) - Génétique di popolazioni in Anopheles maculipennis. Studi preliminari sur riordinamenti cromosomici del grupo. La Ricerca Scientifica 6: 544-552
- FRIZZI, G. (1953) - Etude cytogénétique d'Anopheles maculipennis en Italie. Extension de recherches à d'autres espèces d'Anopheles. Bull. Or. Mond. Santé, 9:335-344
- FRIZZI, G. (1958) - Incroci fra Anopheles freeborni (specie neoartica) ed Anopheles mac. maculipennis (typicus), messeae, subalpinus (specie paleoartiche). "Simposia Gen.", 6: 141-149
- FROHNE; W.C. (1953) - Natural history of Culiseta impatiens (Wlk.) (Diptera, Culicidae), in Alaska. Trans. Amer. Micr. Sci., 72:103-118
- GABINAUD, A. (1974) - Ecologie des deux Aedes halophiles du littoral méditerranéen français Aedes (Ochlerotatus) caspius (Pallas, 1771), Aedes (Ochlerotatus) detritus (Haliday, 1833) (Nematocera, Culicidae) Utilisation de la vegetation comme indicateur biotique pour l'établissement d'une carte écologique. Application en dynamique des populations. Thèse Fac. Sci., Montpellier:451
- GABINAUD, A., CROSET, H., COUSSERANS, J., RIOUX, J.-A. (1975) - Ecologie de deux Aedes halophiles, Aedes (O.) caspius (Pallas, 1775) et Aedes (O.) detritus (Haliday, 1833) dans le midi de la France. I- Structure chorionique et critères d'identification des deux au stade oeuf. Ann. Parasit. hum. Comp., 50(1):123-130

- GANDER, R. (1951) - Experimentelle und oekologische untersuchungen über das schliipfvermögen der larven von Aedes aegypti L. Rev. Suisse Zool., 58:215-278
- GISIN, H. (1967) - La systematique idéale. Zeitschrift Zool. Syst. Evolutionsforschung. 5:2 S:11-128
- GJULLIN, C.M., HEGARTY, C.P., BOLLEN, W.B. (1941) - The necessity of a low concentration for the hatching of Aedes mosquito eggs. J. Cell. Comp. Physiol., 17: 193-202
- GRASSLE, J.P., GRASSLE, J.F. (1976) - Sibling species in the marine pollution indicator Capitella (Polychaeta). Science, 192: 567-569
- GUILLAUME, C.P., PASTEUR, N., BONS, J. (1976) - Distinction par électrophorèse sur gel d'amidon des espèces de Lézards Lacerta muralis Laurenti 1768 et Lacerta hispanica Steindachner 1870 dans des populations sympatriques d'Espagne et du Languedo-Roussillon. C.R. Acad. Sc. Paris t.228, Série D:285.288.
- GUILLAUMIN, M. (1971) - Etude de la variabilité morphologique et biométrique des populations naturelles de Pyrgus malvae L. et P. malvoides (Eliv e Edu) dans leur zone de contact (Lep.Hesperidae). Discussion sur les rapports taxonomiques entre les deux formes.. Vie et Milieu, 21:91-151
- HARRIS, H. (1970) - The principles of Human Biochemical Genetics. North-Holland, Amsterdam (2^o.ed.)
- HIGHBY, P.R. (1943a)- "Mosquito vectors and larval development of Dipetalonema arbuta (Nematoda) from the Porcupine, Erethizon dorsatum J. Parasit., 29:243-252
- HIGHBY, P.R. (1943b) - "Vectors, Transmission, Development, and Incidence of Dirofilaria scapiceps (Nematoda) from the Snowshoe Hare in Minnesota. J. Parasit., 29:253-259

- HORSFALL, W.R., LUM, P.T.M., HENDERSON, L.M. (1958) - Eggs of floodwater mosquitoes. V. Effects of oxygen on hatching of intact eggs. Ann.ent.Soc. Amer., 51:209-213
- HUFFAKER, C.B. (1944) - The temperature of the immature stages of the malarial mosquito Anopheles quadrimaculatus Say, with a comparison of the developmental power of constant and variable temperatures in insect metabolism. Ann. ent. Soc. Amer. 37:1-27
- HUNTER, R.L., MARKERT, C.L. (1957) - Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. Science, 125:1294-1295
- HSU (1949) - The external genital apparatus of male Drosophilidae in relation to systematics. Univ.Texas Publ., 4290:80-142
- IDRIS, B.E.M. (1960) - Die Entwicklung im geschnürten Ei von Culex pipiens L. (Diptera) . Z. Morph. Okol. Tiere, 49:387-429
- JAMES, S.P. (1922) - Notes on the eggs of Culicine mosquitoes found in England. Trans. R.Soc.trop.Med. 16(5/6):267-269
- JANZ, J.G., RIBEIRO, H., PIRES, C.A., RAMOS, H.C. (1983) - A discriminant function for the separation of larval Culex molestus from Culex pipiens L. J. Soc.Cienc.Méd.(Lisboa), 147:235-238
- JOHNSON, G. (1973) - Importance of substrate variability to enzyme polymorphisms. Nature New. Biol., 243:151
- JORGE, R., SARMENTO, M. (1906) - La malaria en Portugal, premier résultats d'une enquête. Ann. S. Publ. Reino. Lisboa
- JUDSON, C.L., HOKAMA, Y., KLIEWER, J.W. (1966) - Embryogeny and hatching of Aedes serriensis eggs. Ann.ent.Soc.Amer., 59:1181-1184
- KEILIN, D. (1932) - On the water reservoir of a horse chestnut tree. Parasitology, 24:200-282

- KIMURA, M., OHTA, T. (1971) - Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. Nature, 229:467
- KITZMILLER, J.B., FRIZZI, G., BAKER, R.H. (1967) - Evolution and speciation within the maculipennis complex of the genus Anopheles. In: Genetics of insects Vectors of Disease, 151-210. J.W. Wright e R. Pal. eds., Elsevier, Amsterdam
- KITZMILLER, J.B., LAVEN, H. (1959) - Tests for multiple fertilization in Culex mosquitoes by the use of genetic markers. Amer. J. Hyg., 67:207-213
- KNIGHT, K.L., STONE, A. (1977) - "A Catalog of the Mosquitoes of the World (Diptera: Culicidae)", 2^a. ed. The Thomas Say Foundation, vol. VI
- KNIGHT, K.L. (1978) - "Supplement to a Catalog of the Mosquitoes of the world (Diptera: Culicidae)". The Thomas Say Foundation, Supp. vol. VI
- KURIHARA, Y. (1959) - Synecological analysis of the biotic community microcosm. VIII - Studies on the limiting factor in determining the distribution of mosquito larvae in the polluted water of bamboo container, with special reference to relation of larva to bacteria. Jap. J. Zool. 12:391-400
- LAKOVAARA, S., SAURA, A., LANKINEN, P., POHJOLAL, LOKKI, J. (1976) - The use of isoenzymes in tracing evolution and in classifying Drosophilidae Zoologica Scripta, 5: 173-179
- LANDEIRO, F., CAMBOURNAC, F.J.C. (1933) - O sezonismo em Portugal. Agência Geral das Colônias. Lisboa
- LITTLEJOHN, R.J., OLDHAM, R.S. (1968) - Rana pipiens Complex: mating call structure and taxonomy. Science, 162:1003-1005
- MAC DANIEL, J.N., HORSFALL, W.R. (1975) - Induced copulation of Aedini mosquitoes. Science, 125:745

- MAC GREGOR, M.E. (1921) - The influence of the hydrogen ion concentration in the development of mosquito larvae (preliminary communication) Parasitology, 13: 348-351
- MAHON, R.J., GREEN, C.A., HUNT, R.H. (1976) - Diagnostic allozymes routine of adults of the Anopheles gambiae complex (Diptera, Culicidae) Bull.ent.Res., 66:25-31
- MANWELL, C., BAKER, C.M.A. (1963) - A sibling species of sea cucumber discovered by starch electrophoresis. Comp. Biochem. Physiol, 10:39-53
- MARKERT, C. M., MØLLER, F. (1959) - Multiple forms of enzymes. Tissue, ontogenetic and species specific patterns. Proc.Nat.Acad.Sci. U.S.A., 45: 753-763
- MARSHALL, J.F., STALEY, J. (1932) - On the distribution of air in the oesophageal diverticule and intestine of mosquitoes; its relation to emergence Feeding and Hypopygial Rotation. Parasitology, 24 (3): 368-381
- MARSHALL, J.F. (1938) - "The British Mosquitoes". The Trustees of the British Museum, London.
- MATTINGLY, P.F. (1973) - Insects and other Arthropods of Medical Importance. Ed. Kenneth G.V. Smith (B.M.N. History)
- MAYR, E. (1963) - Animal species and evolution. Cambridge, Massachusetts Belknap Press of Harvard Univ. Press :797 pp.
- MAYR, E. (1964) - "The new systematics". In: Taxonomic Biochemistry and Serology Ed. Charles A. Leone, The Ronald press Company - N.Y.
- MAYR, E. (1974) - Populations, espèces et évolution. Ed. Hermann, Paris 496 pp.
- MAYR, E., LINSLEY, E.G., USINGER, R.L. (1953) - Methods and principles of systematic Zoology. Mac Graw Hill Book Co., New York, U.S.A.

- MERY, A. (1976) - Etude de trois locus codant des enzymes chez Aedes caspius Pallas, 1771: Genetique formelle et liaisons. Academie de Montpellier U.S.T.L. Diplome d'etudes approfondies en evolution et systematique.
- MERY, A., PASTEUR, N., GUILVARD, E. (1979) - Glutamate-oxaloacetate transaminase et Glycerophosphate dehydrogenase chez le moustique Aedes (Ochlerotatus) caspius: Genetique formelle et etude de populations. Can. J. genet. Cytol., 21:25-32
- MOUSSEI EGHT, O. (19
- NATH, V. (1924) - Egg follicle of Culex. Quart. J. Micr. Sci., 69:151-175
- NICULESCU, E.V. (1978) - Les critères de l'espèce. Le critère mixiologique. Rev. Roum. Biol. Anim., t. 23 n° 2:109-112
- NUTTAL, G.H. (1904) - Blood immunity and blood relationship. Cambridge Univ. Press.
- OELHAFEN, F. (1961) - Zur embryogenese von Culex pipiens: Markierungen und Extirpationem mit UV - Strahlentich. Wilhelm Roux Arch. Entw. Mech. Organ. 153:120-157
- OGITA, Z. (1968) - Genetic control of isozymes. Ann. N.Y. Acad. Sci., 151:243-262
- PASTEUR, G. (1974) - Genetique biochimique et populations ou: Pourquoi sommes nous Multi-Polymorphes? Ext. des Mém. Soc. Zool. France, 37: 473-531
- PASTEUR, G., PASTEUR, N. (1980) - Les critères biochimiques et l'espèce animale. Mem. Soc. Zool. Fr., 40: 99-150
- PASTEUR, N., RIOUX, J.A., GUILVARD, E., PECHE-PÉRIÈRES, M.J., VERDIER, J.M. (1977) - Existence chez Aedes (Ochlerotatus) detritus (Haliday, 1833) (Diptera, Culicidae) de Camargue de deux formes sympatriques et sexuellement isolées (espèces jumelles). Ann. Parasit. Hum. Comp., 52: 325-337

- PASTEUR, N., SINEGRE, G., GABINAUD, A. (1981) - Est-2 and Est-3 Polymorphisms in Culex pipiens L. from southern France in Relation to Organophosphate resistance. Biochemical genetics, Vol. 19, n^os. 5/6: 499-508
- PASTEUR, N., VERDIER, J.M., RIOUX, J.A., GUILVARD, E., PERIÈRES, J. (1978) - Le complex Aedes detritus (Haliday, 1833): Existence des deux espèces jumelles en Afrique du Nord. Annals de Parasitologie (Paris), t. 53, 6: 761-763
- PITÉ, M.T.R., AVELAR, T., MATOS, M. (1985) - The "r-k selection on model" and life-history strategies. Ciênc. Biol. Ecol. Syst. (Portugal), 5: 269-297
- POLOVODOVA, V.P. (1947) - Modifications dues à l'âge dans l'appareil reproducteur femelle d'Anopheles et composition par âge des populations de moustiques. Rostov-sur-le-Don, Thèse.
- POWELL, J.R. (1971) - Genetic polymorphisms in varied environments. Science, 174: 1035-1036
- PRAKASH, S., LEWONTIN, R.C., HUBBY, J.L. (1969) - A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. IV. Patterns of genic variation in central, marginal and isolated populations of Drosophila pseudoobscura. Genetics, 61: 841-868
- RAMOS, H.C. (1983) - Contribuição para o estudo dos mosquitos limnodendrófilos de Portugal (Diptera: Culicidae). Garcia de Orta, Sér. Zool. 11(1-2): 133-154.
- RAMOS, H.C., RIBEIRO, H., PIRES, C.A., CAPELA, R.A. (1982) - Research on the mosquitoes of Portugal (Diptera, Culicidae). VII - Two new anopheline records. An. do Inst. de Hig. e Med. Trop. 8: 103-109
- RAVEN, P.A., BERLIN, B., BREEDLOVE, D.E. (1971) - The origins of Taxonomy Science, 174(4015): 1210-1213
- REAUMUR (1738) - Histoire des Cousins. Memoir pour servir à l'histoire des insects, 4: 573-636.

- RIBBANDS (1944) - Differences between Anopheles melas (A.gambiae, var. melas)
Ann. Trop. Med. Parasitology, 38:85-99
- RIBEIRO, A. (1962) - Un nouveau milieu de montage pour microscopie avec
l'alcool vinylique polymerisé. Ann. Parasit. Hum. Comp. 37(4):677-681
- RIBEIRO, H., RAMOS, H.C., CAPELA, R.A., PIRES, C.A. (1980) - Os mosquitos de Cabo
Verde (Diptera, Culicidae). Sistemática, Distribuição, Bioecologia
e Importância Médica. Estudos Ensaios e Documentos, nº. 135, JICU,
Lisboa.
- RIBEIRO, H. (1981) - Os Anopheles do complexo gambiae e a transmissão do
paludismo em África. Separata do Jornal da Sociedade das Ciências
Médicas de Lisboa, t. CXLV, nº. 7
- RIBEIRO, H., RAMOS, H.C., CAPELA, R.A., PIRES, C.A. (1977) - Research on the mos-
quitoes of Portugal (Diptera, Culicidae). III - Further five new
records. Sep. Garcia de Orta, Sér. Zool. 6(1-2):51-60
- RIBEIRO, H., RAMOS, H.C., PIRES, C.A., CAPELA, R.A. (1977/78) - Research on the
mosquitoes of Portugal (Diptera, Culicidae). I - Four New culicine
records.
An. do Instituto de Higiene e Med. Trop. 5: nºs 1-4.
- RIBEIRO, H., RAMOS, H.C., PIRES, C.A., CAPELA, R.A. (1980) - Research on the mos-
quitoes of Portugal (Diptera, Culicidae) IV - Two new anophelini
records. Sep. Garcia de Orta, Sér. Zool. 9(1-2):129-138
- RIBEIRO, H., PIRES, C.A., RAMOS, H.C., CAPELA, R.A. (1983) - Research on the
mosquitoes of Portugal (Diptera, Culicidae). VIII - On the occu-
rence of Culex (Culex) molestus Forskal, 1755. Sep. jornal da
Sociedade das ciências Médicas de Lisboa t. CXLVII, nº. 3:185-188
- RIBEIRO, H., RAMOS, H.C., CAPELA, R.A., PIRES, C.A. (1983) - Research on the mos-
quitoes of Portugal (Diptera, Culicidae). X - A new aedini record:
Aedes punctor (Kirby, 1837). An. do Inst. de Hig. e Med. Trop. vol. 9:37-40

- RIBEIRO, H., RAMOS, H.C., PIRES, C.A., CAPELA, R.A. (em impressãõ)
 Research on the mosquitoes of Portugal (Diptera, Culicidae)
 IX - a new anophelini record. Sep. Garcia de Orta, Sér. Zool.
- RIOUX, J.A. (1958) - Les Culicides du "Midi mediterranéen". Paris, Lechevalier ed., 304 p.
- RIZKI, M.T.M. (1951) - Morphological differences between two sibling species
Drosophila pseudoobscura and Drosophila perssimilis.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 37: 156-159.
- ROUBAUD, E. (1933) - Essai synthétique sur la vie du moustique commun (Culex pipiens). L'évolution humaine et les adaptations biologiques du moustique. Ann. Sc. Nat. Zool., 16: 1-168
- SACARRÃO, G.F. (1978) - Espécie e Essência. Arq. Mus. Boc. Sér. Ext. Cult. Ens. n.º. 12.
- SACARRÃO, G.F. (1980) - Critical Remarks on classification and species. Arq. Mus. Boc., 2.ª Série, vol. VIII, 16: 279-289.
- SALKELD, E.H. (1969) - Electrophoretic patterns of egg proteins from several insect taxa. The Canadian Entomologist, vol. 101, n.º. 12.
- SARMENTO, M., FRANÇA, C. (1901) - Nota sobre alguns culicideos portugueses. Rev. Port. Med. Cir. Prat. (Separatum). Lisboa.
- SARMENTO, M., FRANÇA, C. (1902) - Sur quelques culicines portugais. Compt. Rend. Hebd. Scéan. Mém. Soc. Biol., 54: 152-153.
- SAUL, S.H., SINSKO, M.J., GRIMSTADT, P.R., CRAIG Jr., G.B. (1971). Identification of sibling species Aedes triseriatus and A. hendersoni by electrophoresis. J. med. Ent., 13: 705-708.
- SAVAGE, J.M., CEI, J.M. (1965) - A review of the leptodactylid frog genus Odontophrynus. Herpetologica, 21: 178-195.

- SCHAW, C.L. (1970) - How many genes evolve? Bioch.Genetics, 4:275-283
- SELANDER, R.K., SMITH, M.H., YANG, P.M., JOHNSON, W.E., GENTRY, J.B. (1971) - Biochemical polymorphism in the genus Peromyscus. I - Variation of the old field mouse (Peromyscus polionotus). Stud.Genet. 4:49-90
- SIDEL, B.D., OTTO, R.G., POWERS, D.A. (1978) - A biochemical method for distinction of striped bass and white perch larvae. Copeia (2):340-343
- SINEGRE, G. (1974) - "Contribution à l'étude physiologique d'Aedes (Ochlerotatus) caspius (Pallas, 1771) (Nematocera-Culicidae) Ecllosion-Dormance-Developpement-Fertilité". Thèse- Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Académie de Montpel
- SOKAL, R., ROHLF, F. (1969) - Biometry. The principles and Practice of Statistics in Biological Research. W.H. Freeman and Co., San Francisco, 771
- STEINER, W.W.M., JOSLYN, D.J. (1979) - Electrophoretic techniques for the genetic study of mosquitoes. Mosquito News, vol. 39, n^o. 1:35-54
- STEPHEN, W.P. (1974) - Insects. In: Biochemical and Immunological taxonomy of Animals. Ed. by C.A. Wright, Acad.Press. London-New York.
- TEISSIERI, G. (1954) - Conditions d'équilibre d'un couple d'allèles et supériorité des hétérozygotes. Compt.Rend., 238: 621-623.
- TELFORD, A.D. (1957) - The parture Aedes of central and northern California. The egg stage: gross embryology and resistance to desiccation. Ann.ent.soc.Amer., 50:537-543.
- TRPIS, M., HAUFE, W.D., SHEMANCHUK, J.A. (1973) - Embryonic development of Aedes (O.) sticticus (Diptera, Culicidae) in relation to different constant temperatures. Canad.Entomologist, 105(1):43-50
- TSACAS, L., DAVID, J. (1975) - Les Drosophilidae de l'île de la Réunion et de l'île Maurice. II. Trois nouvelles espèces du genre Drosophila et Zaprionus. Bull.Soc.Lim.Lyon., 44:373-380.
- TYBAYRENC, M. (1979) - Les isoenzymes et l'Entomologie médicale. Cah. ORSTOM., Sér. Ent. méd. et Parasit. vol. XVII, 4:242-256.

- VANDEHEY, R.C., CRAIG, G.B. (1958) - Multiple fertilisation demonstrated in Aedes aegypti. Bull. ent.Soc.Amer. 4:102.
- VERDIER, J.M. (1978) - Biologie comparée de deux espèces jumelles. Un exemple chez les Arthropodes hématophages: les espèces A et B du Complexe Aedes (Ochlerotatus) detritus (Haliday, 1833) (Diptera, Culicidae) Thèse de Doctorat de Spécialité, U.S.T.L., Montpellier, 109 pp.
- VIEGAS, A.M. (1980) - Isozimas da desidrogenase láctica de Rana iberica Boulenger e de Rana ridibunda perezii Seoane. Arq.Mus.Boc.(2ª Série) 7(6):81-94.
- VIEGAS, A.M., OLIVEIRA, M.E., VICENTE, L.A., CRESPO, E.G. (1982a) - Fenotipos electroforéticos das hemoglobinas e isozimas da desidrogenase láctica dos adultos e girinos de Pelobates cultripes (Cuvier, 1829) - Amphibia, Salientia. Arq.Mus.Boc.(Série A), vol.I, nº.12:311-324.
- VIEGAS; A.M., VICENTE; L.A., OLIVEIRA, M.E., CRESPO, E.G. (1982b) - Spectre isozymatique de la LDH de Pelodytes punctatus(Daudin), 1802 (Amphibia-Pelodytidae) Bull.Soc.Herp.Fr., 22:43-49.
- VIEGAS, A.M., CRESPO, E.G. (1985) - Sur la structure génétique de deux "populations" allopatriques d'Alytes obstetricans boscai et d'Alytes cisternasii (Amphibia, Discoglossidae) du Portugal. Alytes, 4(1):1-11.
- VOEGELÉ, J., BERGÉ, J.B. (1976) - Les trichogrammes (Insects Hyménop. Chalcidiens Trichogrammatidae). Caractéristiques isoestérasiques de deux espèces Trichogramma evenescens Westw., et T. acheae Nagaraja. C. R., 238: 1501-1503.
- WARD, R.D., PASTEUR, N., RIOUX, J.A. (1981) - Electrophoretic studies on genetic polymorphism and differentiation of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) from France and Tunisia. Ann.of Trop.Med.and Parasitology, vol.75, nº. 2:235-245.
- WEBSTER, T.P., BURNS, J.M. (1973) - Dewlop. color variation and electrophoretically detected sibling species in Haitian lizard, Anolis brevirostris Evolution, 27:368-377.

WIGGLESWORTH, V.B. (1933) - The adaptation of mosquito larvae to salt water.
Jl.Exp.Biol.,10:27.

WIGGLESWORTH,V.B. (1976) - Insects and life of Man.London, Chapman and
Hall. John Wiley Sons Inc. N.Y.

WRIGHT,J.W., PAL,R. (1967) - Genetics of insects Vectors of disease.
World Health Organisation Ed. 794 pp.

APENDICE

QUADRO ANEXO 1

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus A., de Rio Maior.

Local: R. Maior

Data: 18.12.83

Pele nº. 1

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{50}{14} = 3,571$$

Índice do pavilhão:

$$\frac{\text{compr. abertura}}{\text{compr. trombeta}} = \frac{15}{50} = 0,30$$

$$\frac{\text{compr. à base}}{\text{compr. total}} = \frac{35}{50} = 0,70$$

Paleta natatória:

$$\text{Índice da paleta: } \frac{L}{W} = \frac{80}{69} = 1,15$$

Sedas protorácicas abdominais:

Seda nº.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto													
Cefalotorax											18-18	3-2	4 -
I segmento abdominal	M	2-1	2-2	3-2	8-7	1-1	3-3			1-1			
II " "		14-12	1-1	-	2-2	7-5	1-1						
III " "		5-5	1-1	3-3	4-6	3-4	1-2						
IV " "		3-3	1-1	5-3	4-5	3-3	1-1						
V " "		3-3	1-1	4-3	8-5	2-2	1-1						
VI " "		2-2	3-3	1-1	4-5	2-2	2-2						
VII " "		1-1	2-2	3-2	2-2	2-2	6-5	-	-	4-2			
VIII " "		=	-	-	2-2	-	-	-	-	7-6			

Bordo da paleta: ponteados como em Culiseta litorea

Seda terminal: simples, bifurcando-se no terço apical

Seda acessória: ausente

QUADRO ANEXO 2

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus A. de Rio Maior.

Local: Rio Maior

Data: 6.4.84

Pele nº. 5

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{75}{20} = 3,75$$

Índice do navilhão:

$$\frac{\text{compr. abertura}}{\text{compr. trombeta}} = \frac{27}{75} = 0,36$$

$$\frac{\text{compr. à base}}{\text{compr. total}} = \frac{50}{75} = 0,66$$

Paleta natatória:

$$\text{Índice da paleta: } \frac{L}{W} = \frac{105}{95} = 1,10$$

Setas notorácicas abdominais:

Seda nº.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto													
Cefalotorax											15-15	2-2	4-4
I segmento abdominal	M	1-1	- 2	2-2	6-9	1-1	3-4						
II	"	20-20	1-1	5-4	3-3	9-8	- 1						
III	"	7-7	1-1	2-2	9-7	4-3	2-1						
IV	"	4-4	1-1	5-6	5-5	2-2	2-1						
V	"	- 4	1-1	3-4	- 8	- 2	- 1						
VI	"	4-3	2-1	2-2	4-5	2-3	1-1						
VII	"	2 -	1-1	3-3	-	- 3	6-6			- 3			
VIII	"	-	-	-	2-2	-	-			- 6			

Bordo da paleta: como em Culiseta litorea

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

QUADRO ANEXO 3

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus A., de Rio Maior.

Local: Rio Maior

Data: 6.4.84

Pele nº. 4

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{70}{16} = 4,37$$

Índice do navilhão:

$$\frac{\text{compr.abertura}}{\text{compr.trombeta}} = \frac{20}{70} = 0,28$$

$$\frac{\text{compr.à base}}{\text{compr.total}} = \frac{50}{70} = 0,71$$

Paleta natatória:

$$\text{Índice da paleta: } \frac{L}{W} = \frac{98}{86} = 1,13$$

Setas protorácicas abdominais:

Seda nº.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto				6	3-	4-	3-		-2			
Cefalotorax										18-	2-2	4-
I segmento abdominal	M	2-1	2-3	3-	8-1	1-2	4-2					
II " "	18-19	1-2	5-3	4-4	7-8	1-1						
III " "	7-7	1-1	3-4	8-8	6-4	2-1						
IV " "	5-4	1-1	5-6	2-2	2-2	2-1						
V " "	4-3	2-1	3-4	6-6	2-2	1-1						
VI " "	4-3	1-1	2-2	4-4	2-2	1-1						
VII " "	2-2	1-1	4-4	2-2	3-2	6-6			5-4			
VIII " "	-	-	-	2-2	-	-			6-6			

Bordo da paleta: como nas anteriores

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

QUADRO ANEXO 4

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus A., de Rio Maior.

Local: Rio Maior

Data: 18.12.83 6.4.84

Pele nº. 3

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{68}{19} = 3,57$$

Índice do navilhão:

$$\frac{\text{compr. abertura}}{\text{compr. trombeta}} = \frac{25}{68} = 0,36$$

$$\frac{\text{compr. à base}}{\text{compr. total}} = \frac{49}{68} = 0,72$$

Paleta natatória:

$$\text{Índice da paleta: } \frac{L}{W} = \frac{96}{82} = 1,17$$

Sedas protorácicas abdominais:

Seda nº.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto				5-7	3-3	3-3	4-4	4-4	3-3			
Cefalotorax										11-13	2-2	4-4
I segmento abdominal	M	1-1	3-3	3-4	8-7	1-3	5--					
II "	16-18	1-1	4-3	2-3	7-6	2-2						
III "	7-8	1-1	2-2	10-8	4-3	2-2						
IV "	5-4	1-1	6-6	3-3	3-2	1-3						
V "	6-4	1-1	3-4	7-7	2 -	1-1						
VI "	4-4	1-1	2-2	4-3	2 -	2-2						
VII "	4-3	1-1	3-3	2-2	3-3	9-8			3-3			
VIII "	-	-	-	2-2					8-10			

Bordo da paleta: como nas anteriores

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

QUADRO ANEXO 5

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus A., de Rio Maior.

Local: Rio Maior

Data: 6.4.84

Pele nº. 2

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{65}{20} = 3,25$$

Índice do pavilhão:

$$\frac{\text{compr. abertura}}{\text{compr. trombeta}} = \frac{17}{65} = 0,26$$

$$\frac{\text{compr. à base}}{\text{compr. total}} = \frac{50}{65} = 0,76$$

Paleta natatória:

Índice da paleta: $\frac{L}{W} = \frac{105}{87} = 1,20$

Sedas protorácicas abdominais:

Seda nº.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto												
Cefalotorax										-	-	4-4
I segmento abdominal	M	1-1	3-3	5-4	10-12	1-1	4-2					
II " "	20-20	1-1	3-4	3-2	10-9	1-1						
III " "	8-6	1-1	3-3	8-8	5-6	2-3						
IV " "	- 6	1-1	5 -	3-4	3-4	2-1						
V " "	4-4	1-1	3-4	7-8	2-4	1-2						
VI " "	4-3	1-1	3-1	5-5	3-3	2-1						
VII " "	2-3	1-1	3 -	2-2	3-2	6-6			4-4			
VIII " "				- 2					- 9			

Bordo da paleta: como nas anteriores

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

RESULTADOS:

$\frac{\text{compr. total (a)}}{\text{largura (b)}}$	N=5; X=3,702; v=0,137; s=0,414
$\frac{\text{compr. abertura}}{\text{compr. trombeta}}$	N=5; X=0,312; v=0,001; s=0,046
$\frac{\text{Compr. à base}}{\text{compr. total}}$	N=5; X=0,71 ; v=0,001; s=0,036
$\frac{L}{W}$	N=5; X=1,15 ; v=0,001; s=0,038

QUADRO ANEXO 6

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus B., de Milfontes.

Local: Milfontes

Data: 20.12.83

Pele nº. 1

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{62}{15} = 4,13$$

Índice do navilhão:

$$\frac{\text{compr. abertura}}{\text{compr. trompeta}} = \frac{15}{62} = 0,24$$

$$\frac{\text{compr. à base}}{\text{compr. total}} = \frac{46}{62} = 0,74$$

Paleta natatória:

$$\text{Índice da paleta: } \frac{L}{W} = \frac{90}{79} = 1,13$$

Sedas protorácicas abdominais:

Seda nº.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto				4 -	4 -	4 -	5 -					
Cefalotorax										15 -	2-3	3-3
I segmento abdominal	M	2-2	3-3	4-3	9-9	2-4	3-2					
II " "	18-20	1-1	5-5	4-4	9-6	1-1						
III " "	8-8	1-1	3 -	4-4	10-9	4-4						
IV " "	4 -	1-1	6-7	5-5		4-4						
V " "	- 4	1-1	3-3	8-8		3-2						
VI " "	3 -	1-1	2-2		5 -	4-2						
VII " "	- 4	1-1	3-3	2-2	- 3	14-13			5 -			
VIII " "				3-3								

Bordo da paleta: como nas anteriores

Seda terminal: simples com bifurcação terminal

Seda acessória: ausente

QUADRO ANEXO 7

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus B, de Milfontes.

Local: Milfontes

Data: 20.12.83

Pele nº. 2

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{61}{17} = 3,58$$

Índice do navilhão:

$$\frac{\text{compr.abertura}}{\text{compr.trombeta}} = \frac{14}{61} = 0,22$$

$$\frac{\text{compr.à base}}{\text{compr.total}} = \frac{47}{61} = 0,77$$

Paleta natatória:

$$\text{Índice da paleta: } \frac{L}{W} = \frac{90}{75} = 1,20$$

Sedas protorácicas abdominais:

Seda nº.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto				3-	3-	2-	3-					
Cefalotorax										16-14	2-2	3-3
I segmento abdominal	M	2-2	4-3	4-5	8-9	2-2	4-3		1-1			
II " "	16-14	1-1	3-5	3-	6-8	2-2						
III " "	5-5	1-1	3-3	5-5	4-4	4-3						
IV " "	3-4	1-1	5-4	4-3	5-4	2-2						
V " "	3-3	1-1	4-2	6-7	2-2	2-2						
VI " "	2-3	1-1	2-2	4-5	2-2	2-2						
VII " "	2-3	1-1	3-3	2-3	2-2	7-8						
VIII " "				2-2					8-8			

Bordo da paleta: idêntico ao da espécie A.

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

QUADRO ANEXO 8

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus B., de Milfontes.

Local: Milfontes

Data: 28.12.83

Pele nº. 3

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total(a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{58}{17} = 3,41$$

Índice do navilhão:

$$\frac{\text{compr.abertura}}{\text{compr.trombeta}} = \frac{10}{58} = 0,17$$

$$\frac{\text{compr.à base}}{\text{compr.total}} = \frac{49}{58} = 0,86$$

Paleta natatória:

$$\text{Índice da paleta: } \frac{L}{W} = \frac{90}{71} = 1,26$$

Sedas protorácicas abdominais:

Seda nº.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto				2 -	2 -	2 -						
Cefalotorax										16 -	2 -	2-3
I segmento abdominal	M	2-1	3-2	5-5	7-7	2-2	3-4					
II " "	14-14	1-1	4 -	3 -	7-8	1-2						
III " "	4-5	1-1	2-3	4-4	4-4	3-3						
IV " "	3-3	1-1	5-6	2-2	2-2	2-2						
V " "	3-3	1-1	3-2	5-6	2-2	1-2						
VI " "	2-3	1-1	1-1	3-3	2-2	2-1						
VII " "	2-3	1-1	3-2	2-2	3-2	9-7			3-3			
VIII " "				2-2					6-7			

Bordo da paleta: como nas anteriores.

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

QUADRO ANEXO 9

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus B, de Milfontes.

Local: Milfontes

Data: 20.12.83

Pele nº. 4

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total(a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{58}{19} = 3,05$$

Índice do navilhão:

$$\frac{\text{compr.abertura}}{\text{compr.trombeta}} = \frac{12}{58} = 0,20$$

$$\frac{\text{compr.à base}}{\text{compr.total}} = \frac{48}{58} = 0,84$$

Paleta natatória:

$$\text{Índice da paleta: } \frac{L}{W} = \frac{81}{73} = 1,10$$

Sedas protorácicas abdominais:

Seda nº.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto													
Cefalotorax											16 -	2 -	4 -
I segmento abdominal	M	2-2	5-4	4-4	8-8	2-1	4-4						
II	"	14-16	1 -	7-5	3-3	9-7	2-2						
III	"	6-8	1-1	2-4	7-7	5-6	4 -						
IV	"	3-3	1-1		- 3	2-2	3-2						
V	"	3-3	1-1	3-4	7-8	3-2	2-2						
VI	"	3-2	1-1	2-1	3-5	2-2	2-2						
VII	"	2-2	1-1	3-2	3-2	3-2	7-7			3-3			
VIII	"				2-2					9-9			

Bordo da paleta: como nas anteriores

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

QUADRO ANEXO 10

Análise biométrica das pupas de Aedes detritusB., de Milfontes.

Local: Milfontes

Data: 20.12.83

Pele nº. 5

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{52}{18} = 2,94$$

Índice do navilhão:

$$\frac{\text{compr.abertura}}{\text{compr.trombeta}} = \frac{12}{52} = 0,23$$

$$\frac{\text{compr.à base}}{\text{compr.total}} = \frac{41}{52} = 0,78$$

Paleta natatória:

$$\text{Índice da paleta: } \frac{L}{W} = \frac{86}{70} = 1,22$$

Sedas protorácicas abdominais:

Seda nº.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto												
Cefalotorax										20-22	3-4	3-2
I segmento abdominal	M	1-1	4-3	-2	8-9	1-1	3-3					
II " "	20-20	1-1	7-7	3-3	7-9	1-1						
III " "	6-5	1-1	6-4	7-5	3-4	2-2						
IV " "	3-4	1-1	7-7	2-2	2-2	2-2						
V " "	3-3	1-1	2-2	6-8	2-4	2-2						
VI " "	3-2	1-1	1-2	4-5	2-2	2-2						
VII " "	3-3	1-1	2-2	2-3	2-2	9-9			3-3			
VIII " "				2-2					7-6			

Bordo da paleta: como nas anteriores

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus B, de Milfontes.

Local: Milfontes

Data: 20.12.83

Pele nº. 6

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{50}{19} = 2,63$$

Índice do navilhão:

$$\frac{\text{compr. abertura}}{\text{compr. trombeta}} = \frac{11}{50} = 0,22$$

$$\frac{\text{compr. à base}}{\text{compr. total}} = \frac{44}{50} = 0,88$$

Faleta natatória:

$$\text{Índice da naleta: } \frac{L}{W} = \frac{81}{59} = 1,37$$

Sedas notorácicas abdominais:

Seda nº.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto													
Cefalotorax											20-18	2-2	2-3
I segmento abdominal	M	1-1	2-2		7-5	1-2	2-3						
II " "	20-21	1-1	6-5	6-4	7-9	2-2							
III " "	4-6	1-1	3-4	7-8	4-5	3-4							
IV " "	4-4	1-1	6-5	2-2	4-2	2-2							
V " "	3-3	1-1	3-3	7-7	2-2	2-2							
VI " "	4-2	1-1	2-2	4-4	2-2	2-2							
VII " "	3-3	1-1	3-3	2-2	2-3	8-8				3-3			
VIII " "				2-2						7-6			

Bordo da naleta: como nas anteriores

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus B., de Milfontes.

Local: Milfontes

Data: 20.12.83

Pele nº. 7

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{50}{18} = 2,77$$

Índice do navilhão:

$$\frac{\text{compr. abertura}}{\text{compr. trombeta}} = \frac{11}{50} = 0,22$$

$$\frac{\text{compr. à base}}{\text{compr. total}} = \frac{44}{50} = 0,88$$

Paleta natatória:

Índice da paleta: $\frac{L}{W} = \frac{86}{70} = 1,22$

Sedas protorácicas abdominais:

Seda nº.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto												
Cefalotorax										16-12	2-2	3-3
I segmento abdominal	M	1-2	4-3	4-3	7-7	1-1	3-					
II " "	16-15	1-1	4-5	3-3	8-7	2-2						
III " "	5-5	1-1	3-4	7-6	4-4	3-2						
IV " "	4-4	1-1	5-6	2-2	2-2	2-2						
V " "	3-2	1-1	2-1	3-3	2-2	1-1						
VI " "	3-2	1-1	2-1	3-3	2-2	1-1						
VII " "	2-2	1-1	3-3	1-1	2-3	7-8			3-4			
VIII " "				1-1					-7			

Bordo da paleta: como nas anteriores

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

QUADRO ANEXO 13

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus B, de Milfontes.

Local: Milfontes

Data: 20.12.83

Pele nº. 8

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} \quad \text{-----}$$

Índice do navilhão:

$$\frac{\text{compr. abertura}}{\text{compr. trombeta}} \quad \text{-----}$$

$$\frac{\text{compr. à base}}{\text{compr. total}} \quad \text{-----}$$

Paleta natatória:

Índice da paleta: $\frac{L}{W} = \frac{85}{70} = 1,21$

Sedas protorácicas abdominais:

Seda nº.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto													
Cefalotorax											14-15	2-2	3-3
I segmento abdominal	M	1-1	2-4	4-3	8-9	2-3	3-3						
II " "		13-12	1-1	4-5	3-3	6-8	2-2						
III " "		5-5	1-1	2-4	3-3	4-4	3-						
IV " "		4-3	1-1	6-6	2-2	2-2	2-1						
V " "		3-3	1-1	2-3	5-5	2-2	2-2						
VI " "		1 -	1-1	1-2	3-3	2-2	2-1						
VII " "		2-2	1-1	2-2	1-1	3-1	9-9			3-3			
VIII " "					1-1								

Bordo da paleta: como nas anteriores

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

QUADRO ANEXO 14

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus B, de Milfontes.

Local: Milfontes

Data: 20.12.83

Pele nº. 9

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{52}{20} = 2,6$$

Índice do navilho:

$$\frac{\text{compr.abertura}}{\text{compr.trombeta}} = \frac{12}{52} = 0,23$$

$$\frac{\text{compr.à base}}{\text{compr.total}} = \frac{40}{52} = 0,76$$

Paleta natatória:

$$\text{Índice da paleta: } \frac{L}{W} = \frac{90}{70} = 1,28$$

Sedas protorácicas abdominais:

Seda nº.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto												
Cefalotorax												
I segmento abdominal	M	1-1	3-3	3-3	8-8	2-1	3-3					
II " "	12-13	1-1	6-3	4-3	6-7	2-2						
III " "	4-3	1-1	2-2	7-6	4-3	3-						
IV " "	3-3	1-1	5-6	3-3	2-3	2-2						
V " "	3-3	1-1	3-2	6-6	2-2	2-2						
VI " "	2-3	1-1	1-1	4-3	2-2	2-2						
VII " "	2-2	1-1	2-3	2-1	3-4	6-5						
VIII " "				1-1					-6			

Bordo da paleta: como nas anteriores

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

QUADRO ANEXO 15

Análise biométrica das pupas de Aedes detritus B., de Milfontes.

Local: Milfontes

Data: 20.12.83

Pele nº. 10

Trompetas respiratórias:

$$\frac{\text{comprimento total (a)}}{\text{largura (b)}} = \frac{55}{19} = 2,89$$

Índice do navilho:

$$\frac{\text{compr.abertura}}{\text{compr.trombeta}} = \frac{10}{19} = 0,52$$

$$\frac{\text{compr.à base}}{\text{compr.total}} = \frac{47}{55} = 0,85$$

Paleta natatória:

Índice da paleta: $\frac{L}{W} = \frac{86}{74} = 1,16$

Sedes protorácicas abdominais:

Seda nº.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Metanoto												
Cefalotorax												
I segmento abdominal	M	1-2	3-3	4-3	9-7		3-2					
II " "	18-18	1-1	3-3	4-	4-	1-						
III " "	2-2	1-1										
IV " "	4-	1-1			2-2							
V " "	3-4	1-1	-2	6-3	2-2	-2						
VI " "	3-2	1-1	2-	4-4	2-2	2-2						
VII " "	2-2	1-1	2-2	2-2	3-3	7-6			3-2			
VIII " "				1-1								

Bordo da paleta: como nas anteriores

Seda terminal: simples

Seda acessória: ausente

RESULTADOS:

$$\frac{\text{compr.total (a)}}{\text{largura (b)}} \quad N=9; X=3,111; v=0,226; s=0,504$$

$$\frac{\text{compr.abertura}}{\text{compr.trombeta}} \quad N=8; X=0,216; v=0,0004; s=0,021$$

$$\frac{\text{compr.à base}}{\text{compr.total}} \quad N=9; X=0,817; v=0,002; s=0,054$$

$$\frac{L}{W} \quad N=10; X=1,215; v=0,005; s=0,077$$

QUADRO ANEXO 16

Análise biométrica das genitálias masculinas de Aedes
(Q.) detritus de Rio Maior.

Data	Nº.do exemplar	Lobos IX tergito (nº sedas/lobo)		Nº.sedas diferenciadas dos lobos basais	Claspetes (nº.div.oc.micr.)				
		esqº	dtº		a		b		c
					esqº	dtº	esqº	dtº	
25.4.83	2384	6	6	2	25	24	40	40	0,625 0,600
17.3.83	2305	6	6	2	22	-	36	-	0,611
21.2.83	2260	5	5	2	23	25	39	37	0,589 0,675
"	2261	6	6	2	21	20	38	38	0,552 0,526
17.3.83	2307	7	9	3	25	25	36	36	0,694 0,694
"	2306	7	6	3	21	22	42	40	0,500 0,550
"	2309	6	6	3	25	22	41	45	0,609 0,488
"	2319	6	5	2	23	23	44	45	0,522 0,511
21.2.83	2259	6	6	1	23	21	36	39	0,638 0,538
11.11.82	2201	6	5	2	21	24	40	37	0,525 0,648
"	2202	6	6	1	24	24	40	37	0,600 0,648
21.2.83	2262	6	6	3	20	21	42	40	0,476 0,525
.4.81	351	10	9	2	18	18	40	40	0,450 0,450
"	349	9	9	2	18	18	40	40	0,450 0,450
11.6.83	2496	10	10	2	18	18	40	40	0,450 0,450
"	2492	8	8	2	20	21	45	44	0,444 0,477
14.5.83	2247	8	9	2	19	16	40	42	0,475 0,380
"	2458	8	8	3	22	22	40	41	0,550 0,536
11.6.83	254	8	9	3	22	22	39	37	0,564 0,594
25.7.79	255	7	8	2	25	25	37	37	0,675 0,675
"	256	8	9	1	23	23	37	39	0,621 0,589
"	257	7	8	2	-	21	-	38	0,552 -
"	258	5	5	2	22	23	36	38	0,611 0,605
.4.81	353	7	6	1	20	20	39	39	0,512 0,512
"	352	5	5	3	16	18	41	39	0,390 0,461
11.11.82	2203	7	7	3	-	-	-	-	-
14.5.83	2590	7	5	3	-	-	-	-	-
11.11.82	2000	8	8	2	22	23	37	35	0,594 0,657
25.5.79	272	6	5	1	21	-	37	-	0,567
10.6.79	294	8	8	2	20	20	39	39	0,512 0,512

.4.81	348	7	7	3	20	20	40	39	0,500 0,512
.4.81	350	9	9	2	20	21	36	37	0,555 0,567
.4.81	355	6	6	1	15	18	42	40	0,357 0,450
25.4.83	2385	9	7	1	20	21	38	38	0,526 0,526
"	2386	8	6	1	21	21	39	39	0,512 0,512
"	2388	7	8	1	21	20	40	41	0,525 0,487
"	2389	6	7	2	21	20	37	39	0,567 0,512
"	2390	-	-	2	19	20	42	40	0,452 0,500
26.5.83	2399	7	7	3	20	22	38	35	0,526 0,628
"	2400	6	6	2	15	15	40	37	0,375 0,405
"	2401	-	-	2	16	16	39	36	0,410 0,444
14.5.83	2457	7	4	2	22	-	39	-	0,564
"	2458	9	10	2	22	22	38	39	0,578 0,564
15.5.83	2460	7	7	2	17	17	39	39	0,435 0,435
11.6.83	2493	4	6	2	21	22	37	36	0,567 0,611
"	2495	5	5	2	22	21	36	38	0,611 0,552
14.5.83	2597	8	9	3	22	20	37	39	0,594 0,512
"	2594	6	7	2	20	21	35	34	0,571 0,617
11.6.83	2494	7	8	2	20	20	38	39	0,526 0,512

N = 92
 \bar{X} = 6,978
 v = 2,086
 s = 1,452

N = 50
 \bar{X} = 2,06
 v = 0,416
 s = 0,651

N = 92
 \bar{X} = 0,535
 v = 0,00568
 s = 0,0757

QUADRO ANEXO 17

Análise biométrica das genitálias masculinas de Aedes
(O.) detritus de Milfontes.

Data	Nº.do exemplar	Lobos IX tergito (nº sedas/lobo)		Nº.sedas diferenciadas dos lobos basais	Claspetes(nº.div.Oc.micr.)				
		esqº	dtº		a esqº	b dtº	c esqº	dtº	
2.3.82	855	5	4	1	18	21	36	33	0,500 0,636
1.3.83	2264	5	6	2	22	20	34	40	0,647 0,507
"	2263	5	5	2	22	19	31	36	0,709 0,527
27.1.83	2237	5	6	1	18	19	36	35	0,500 0,542
"	2236	6	7	1	17	17	32	34	0,531 0,500
"	2235	6	7	3	17	18	35	35	0,485 0,514
21.10.82	2155	6	4	1	21	20	35	37	0,600 0,540
1.11.82	2196	5	6	1	21	22	36	34	0,954 0,647
27.1.83	2234	6	7	1	19	18	35	36	0,542 0,500
15.5.83	2473	5	3	1	16	16	34	34	0,470 0,470
28.2.83	2315	6	6	1	20	20	31	37	0,645 0,542
1.3.83	2267	6	10	1	20	19	38	35	0,526 0,542
"	2265	4	5	1	17	16	40	40	0,425 0,400
28.2.83	2316	4	5	1	16	17	41	37	0,390 0,459
1.3.83	2266	6	5	1	19	17	36	38	0,527 0,447
27.3.83	2345	4	6	1	26	22	35	36	0,742 0,611
15.5.83	2472	-	-	1	19	18	34	32	0,558 0,562
"	2471	5	6	1	16	17	36	35	0,444 0,485
11.6.83	2501	3	3	1	-	20	-	37	0,540
2.3.82	852	5	8	1	-	18	-	37	0,486
11.6.83	2499	5	5	1	17	18	36	36	0,472 0,472
2.3.82	856	6	5	1	21	21	35	35	0,600 0,600
"	851	6	6	1	20	16	34	34	0,588 0,470
"	853	7	7	1	19	-	-	38	0,500
11.6.83	2503	3	2	1	22	-	30	-	0,733
10.12.83	2650	5	7	1	19	17	33	35	0,575 0,485

10.12.83	2650	8	6	1	19	-	36	-	0,527
"	2652	4	6	1	17	19	39	35	0,435 0,542
"	2653	6	4	1	17	-	36	-	0,472
"	2654	5	5	1	18	18	38	39	0,473 0,461
"	2655	7	4	1	19	19	35	34	0,542 0,558
"	2656	3	3	1	17	18	38	38	0,447 0,473
"	2657	7	6	1	19	19	37	36	0,513 0,527
"	2658	11	5	1	19	16	39	38	0,487 0,421
"	2660	4	5	1	19	19	34	38	0,558 0,542
"	2661	5	4	1	19	18	37	35	0,513 0,514
"	2662	3	3	1	20	18	32	32	0,625 0,562
"	2663	5	4	1	20	20	33	35	0,606 0,571
"	2664	6	5	1	15	15	36	35	0,416 0,428
"	2665	5	4	1	21	20	34	35	0,617 0,571
"	2666	6	6	1	20	20	36	39	0,555 0,512
"	2667	5	4	1	20	18	35	35	0,571 0,514
"	2668	6	5	1	21	21	35	36	0,600 0,583
"	2670	5	4	1	18	15	36	36	0,500 0,416
"	2671	4	4	1	16	15	35	35	0,457 0,428
"	2672	5	4	1	20	18	37	37	0,540 0,486
"	2673	5	7	1	15	17	35	37	0,428 0,459
"	2674	3	4	1	20	20	35	37	0,571 0,540
"	2675	4	5	1	18	16	37	40	0,486 0,400
"	2676	6	6	1	16	16	26	35	0,444 0,475
"	2677	3	4	1	15	15	31	32	0,483 0,468
"	2678	3	7	1	20	19	36	37	0,555 0,513

N = 102
 \bar{X} = 5,17
 v = 2,106
 s = 1,458

N = 52
 \bar{X} = 1,076
 v = 0,109
 s = 0,334

N = 96
 \bar{X} = 0,525
 v = 0,00696
 s = 0,00838

QUADRO ANEXO 18

Relação entre os comprimentos do II e III palpos maxilares
das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior e de Milfontes.

<u>Rio Maior</u>			<u>Milfontes</u>		
Nº da fêmea	II Segmento	III Segmento	Nº da fêmea	II seg.	III seg.
2394	11 - 12	26 - 27	2339	8 - 8	19 - 17
2395	12 - 12	29 - 28	2341	9 - 9	18 - 17
444	11 - 11	29 - 28	2343	9 - 9	19 - 20
446	11 - 11	24 - 24	2467	9 - 8	18 - 18
821	12 - 12	30 - 30	2498	10 - 10	21 - 20
2445	12 - 12	26 - 26	2342	10 - 10	19 - 19
2453	11 - 12	26 - 26	2497	9 - 9	18 - 18
2454	11 - 11	26 - 26	2468	10 - 10	20 - 20
2455	11 - 12	24 - 24	2242	9 - 9	18 - 18
2456	11 - 11	26 - 26	2191	8 - 9	19 - 19
2488	11 - 11	23 - 24	2160	10 - 10	19 - 20
2489	10 - 10	21 - 21	2240	9 - 9	20 - 20
358	14 - 14	34 - 31	2193	9 - 10	19 - 20
429	13 - 13	29 - 27	2311	10 - 9	19 - 20
361	12 - 12	28 - 28	2340	9 - 9	19 - 18
362	11 - 12	28 - 28	857	9 - 10	18 - 18
	- 45	-100	858	9 - 9	18 - 18
	- 48	-100	859	9 - 10	19 - 18
	- 48	-105	860	9 - 10	19 - 20
	- 50	-100			
	- 50	-108			
	- 52	-110			
	- 47	- 96			
	- 50	-112			
	- 54	-105			
	- 52	-105			
	- 52	-105			

N = 38; X=2,05; v = 0,02078;
s = 0,14609

N = 43; X = 2,2386; v = 0,02736
s = 0,1673

QUADRO ANEXO 19

Relação entre o comprimento total da fúrcula anterior da asa e o comprimento do stem, entre as fêmeas de Rio Maior e as de Milfontes.

Rio Maior

Milfontes

Nº.da fêmea

Nº.da fêmea

356	90/50	95/50
435	90/50	90/50
357	90/50	90/50
446	90/50	90/50
432	90/45	90/45
259	90/50	90/50
260	90/40	85/45
261	100/45	100/45
437	95/45	95/45
436	100/45	100/45
440	100/45	100/45
441	100/45	100/45
362	95/45	95/45
366	90/40	90/40
367	90/45	95/45

857	75/50	75/50
859	75/50	75/50
860	75/50	75/50
861	75/45	75/45
2741	75/50	75/50
2156	70/45	70/45
2191	75/45	75/45
2192	80/50	80/50
2744	60/35	60/35
2745	55/30	55/30
2746	60/45	65/45
2747	65/40	65/40
2748	55/35	55/35
2749	55/35	55/35
2750	80/50	80/50

N = 30; X = 2,031; v = 0,0331
s = 0,1853

N = 30; X = 1,581; v = 0,012
s = 0,1117

Análise biométrica dos adultos machos e fêmeas de Aedes detritus
de Milfontes.

Data	Exemplar nº.	Sexo	Compr.da asa (mm)	Compr.da tromba comp.fêmur anterior	Quociente (mm)
7.2.82	809	♂	3,75	2,7 - 1,65	1,636
2.3.82	851	♂	4,00	2,5 - 1,50	1,700
"	852	♂	3,93	3,1 - 2,3	1,346
"	854	♂	4,06	- 1,9	-
"	855	♂	4,06	- - 1,8	-
"	856	♂	4,06	2,7 - 1,6	1,636
"	857	♂	4,06	2,5 - 1,8	1,393
"	858	♂	4,06	2,4 - 1,5	1,509
"	859	♂	3,87	2,7 - 1,6	1,636
"	860	♂	4,25	2,7 - 1,6	1,636
"	861	♂	4,06	2,7 - 1,4	1,875
21.10.82	2154	♂	3,75	2,4 - 1,5	1,660
"	2155	♂	3,75	2,6 - 1,5	1,725
"	2157	♂	3,25	2,1 - 1,3	1,555
"	2158	♂	3,25	2,1 - 1,3	1,555
"	2159	♂	3,12	2,1 - 1,4	1,458
1.11.82	2191	♂	3,75	2,4 - 1,4	1,666
"	2192	♂	4,06	2,5 - 1,5	1,700
"	2194	♂	3,81	2,5 - 1,5	1,700
"	2195	♂	3,25	2,4 - 1,5	1,600
"	2196	♂	3,81	2,7 - 1,5	1,800
"	2197	♂	3,12	2,1 - 1,3	1,555
27.1.83	2234	♂	4,87	3,1 - 1,8	1,693
"	2235	♂	3,87	2,7 - 1,4	1,875
"	2236	♂	4,37	3,0 - 1,8	1,666
"	2237	♂	3,93	2,4 - 1,5	1,600
"	2239	♂	4,06	2,5 - 1,5	1,720
"	2240	♂	4,18	2,7 - 1,6	1,636
"	2241	♂	3,75	2,4 - 1,5	1,600
"	2242	♂	3,62	2,4 - 1,5	1,640
28.2.83	2310	♂	3,62	2,2 - 1,5	1,500
"	2311	♂	3,43	2,2 - 1,4	1,562
"	2312	♂	3,43	2,2 - 1,4	1,562
"	2313	♂	3,37	2,3 - 1,5	1,560
"	2314	♂	3,43	2,4 - 1,5	1,600
"	2315	♂	3,75	2,5 - 1,6	1,545
"	2316	♂	3,75	2,5 - 1,5	1,700
28.3.83	2339	♂	4,37	2,7 - 1,8	1,500
"	2340	♂	3,62	2,4 - 1,4	1,666
"	2341	♂	3,43	2,3 - 1,5	1,560
"	2342	♂	3,43	2,1 - 1,4	1,531
"	2343	♂	3,56	2,2 - 1,4	1,595
"	2345	♂	4,00	2,5 - 1,7	1,465
14.5.83	2467	♂	3,62	2,2 - 1,4	1,583
"	2468	♂	2,93	1,9 - 1,2	1,547
"	2469	♂	3,43	2,2 - 1,2	1,785
"	2470	♂	3,12	1,8 - 1,2	1,500
"	2471	♂	3,37	2,2 - 1,3	1,666
"	2472	♂	3,31	2,4 - 1,5	1,600
"	2473	♂	3,12	3,0 - 1,2	1,619
11.6.83	2497	♂	3,43	2,4 - 1,6	1,428
"	2498	♂	3,37	2,2 - 1,5	1,500

11.6.83	2499	♂	3,56	2,4 - 1,5	1,600
"	2500	♂	3,00	2,4 - 1,5	1,640
"	2501	♂	3,62	2,4 - 1,5	1,600
"	2503	♂	3,56	2,3 - 1,4	1,625
"	2502	♂	3,43	2,4 - 1,5	1,600

♀	N = 30	♂	N = 27
	X = 3,63		X = 3,71
	v = 0,132		v = 0,117
	s = 0,369		s = 0,348

♀	N = 29	♂	N = 25
	X = 1,575		X = 1,629
	v = 0,010		v = 0,010
	s = 0,103		s = 0,104

QUADRO ANEXO 21

Análise biométrica dos adultos machos e fêmeas de Aedes detritus
de Rio Maior.

Data	Exemplar n ^o .	Sexo	Compr.da asa (mm)	$\frac{\text{Compr.da tromba}}{\text{compr.fêmur anterior}}$	Quociente (mm)
11.11.82	2198	♀	5,00	3,3 - 2,1	1,571
"	2199	♀	5,00	3,3 - 1,9	1,692
"	2200	♀	4,68	3,4 - 2,0	1,691
"	2202	♀	4,87	3,3 - 1,8	1,746
2.2.83	2254	♀	5,12	3,3 - 2,0	1,641
21.2.83	2255	♀	4,87	3,3 - 2,0	1,617
"	2256	♀	4,87	3,1 - 1,8	1,666
"	2257	♀	4,87	3,3 - 1,9	1,692
"	2258	♀	5,25	3,1 - 1,9	1,606
"	2259	♂	5,00	3,1 - 1,8	1,693
"	2260	♂	4,87	- - 1,9	-
"	2261	♂	4,75	3,3 - 1,9	1,692
"	2262	♂	4,87	3,3 - 1,9	1,692
17.3.83	2301	♀	4,50	3,1 - 1,9	1,615
"	2302	♀	4,68	3,1 - 1,9	1,640
"	2303	♀	4,18	3,0 - 1,8	1,666
"	2305	♂	4,25	3,0 - 1,8	1,666
"	2306	♂	4,31	3,0 - 1,9	1,593
"	2307	♂	4,87	- - 2,1	-
"	2308	♂	4,81	3,3 - 2,1	1,571
"	2309	♂	4,68	3,3 - 1,9	1,718
25.4.83	2384	♂	4,68	3,3 - 2,1	1,571
"	2385	♂	4,68	3,4 - 2,1	1,642
"	2387	♂	5,06	3,3 - 2,1	1,571
"	2388	♂	4,75	3,4 - 1,8	1,916
"	2390	♂	4,68	3,2 - 1,9	1,661
"	2392	♀	4,56	3,3 - 2,1	1,571
"	2393	♀	4,50	3,2 - 1,9	1,661
"	2394	♀	4,50	3,0 - 1,9	1,538
"	2395	♀	4,68	3,1 - 1,8	1,666
"	2396	♀	4,37	3,0 - 1,6	1,818
"	2397	♀	4,37	2,8 - 1,6	1,745
"	2398	♀	4,12	2,7 - -	-
"	2399	♂	4,00	3,0 - 1,8	1,666
"	2400	♂	3,43	2,7 - 1,5	1,800
"	2401	♂	3,81	- - 1,6	-
14.5.83	2444	♀	5,00	3,0 - 1,9	1,569
"	2245	♀	4,81	3,0 - 1,9	1,569
"	2246	♀	4,12	3,0 - 1,8	1,666
"	2447	♂	4,68	3,3 - 2,0	1,617
"	2453	♀	4,50	3,3 - 2,1	1,571
"	2454	♀	4,18	2,7 - 1,8	1,500
"	2455	♀	4,37	3,3 - 2,0	1,617
"	2456	♀	4,12	3,0 - 1,8	1,666
"	2458	♂	4,50	3,3 - 1,8	1,833
1.5.83	2460	♂	4,68	- - 1,9	-

1.5.83	2461	♂	3,75	3,1 - 1,8	1,750
11.6.83	2487	♀	3,75	2,7 - 1,6	1,672
"	2488	♀	3,50	2,5 - 1,6	1,527
"	2489	♀	3,62	2,3 - 1,6	1,420
"	2490	♀	4,18	2,9 - 1,9	1,507
"	2491	♀	4,25	2,5 - 1,8	1,400
"	2492	♂	4,06	3,0 - 1,8	1,666
"	2493	♂	4,06	3,0 - 1,8	1,666
"	2494	♂	3,75	2,5 - 1,6	1,555
"	2495	♂	3,75	2,8 - 1,6	1,727
"	2496	♂	4,25	3,2 - 1,8	1,800
14.5.83	2589	♂	5,00	3,3 - 1,9	1,723
"	2590	♂	5,00	3,6 - 2,1	1,714

♀ N = 29
 \bar{X} = 4,476
 v = 0,188
 s = 0,441

♂ N = 30
 \bar{X} = 4,474
 v = 0,202
 s = 0,457

♀ N = 27
 \bar{X} = 1,618
 v = 0,006
 s = 0,0822

♂ N = 27
 \bar{X} = 1,689
 v = 0,006
 s = 0,084

QUADRO ANEXO 22

Número de sensilla coeloconica dos II e III segmentos dos palpos maxilares das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior, com indicação do número de observações (N), média (\bar{X}), variância (v) e desvio padrão (s).

II segm. palpal

N = 92
 \bar{X} = 42,565
v = 19,851
s = 4,4880

III segm. palpal

N = 171
 \bar{X} = 100,918
v = 158,893
s = 12,642

QUADRO ANEXO 23

Número de sensilla coeloconica dos II e III segmentos dos palpos maxilares das fêmeas de Aedes detritus de Milfontes, com indicação do número de observações (N), média (\bar{X}), variância (v) e desvio padrão (s).

II segm. palpal

N = 92
 \bar{X} = 48,593
v = 42,465
s = 1,005

III segm. palpal

N = 171
 \bar{X} = 69,144
v = 272,423
s = 16,553

QUADRO ANEXO 24

Número de macrosetas dos I, II e III segmentos dos palpos maxilares das fêmeas de Aedes detritus de Rio Maior, com indicação do número de observações (N), média (\bar{X}), variância (v) e desvio padrão (s).

I segm.palpal	II segm.palpal	III segm.palpal
N = 82	N = 86	N = 85
$\bar{X} = 3,000$	$\bar{X} = 3,720$	$\bar{X} = 3,211$
v = 0,0487	v = 0,786	v = 0,378
s = 0,222	s = 1,940	s = 0,619

QUADRO ANEXO 25

Número de macrosetas dos I, II e III segmentos dos palpos maxilares das fêmeas de Aedes detritus de Milfontes, com indicação do número de observações (N), média (\bar{X}), variância (v) e desvio padrão (s).

I segm.palpal	II segm.palpal	III segm.palpal
N = 92	N = 94	N = 95
$\bar{X} = 2,858$	$\bar{X} = 3,893$	$\bar{X} = 2,421$
v = 0,2952	v = 1,073	v = 0,6858
s = 0,5463	s = 1,041	s = 0,8325