

**ODAIR FRANCISCO**

**Moscas dos gêneros *Hippelates* Loew, 1863 e  
*Liohippelates* Duda, 1929 (Diptera: Chloropidae):  
levantamento, sazonalidade e parâmetros biológicos.**

Tese apresentada à comissão de pós-graduação do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutor em Parasitologia.

**Orientador(a):** Prof. Dr. Angelo Pires do Prado

Campinas – São Paulo  
2005



Campinas, 10 de fevereiro de 2005.

**BANCA EXAMINADORA:**

**TITULARES:**

Prof. Dr. Angelo Pires do Prado \_\_\_\_\_  
assinatura

Prof. Dr. Newton Goulart Madeira \_\_\_\_\_  
assinatura

Prof. Dr. Arício Xavier Linhares \_\_\_\_\_  
assinatura

Prof. Dra. Celuta Helena Machado Paganelli \_\_\_\_\_  
assinatura

Prof. Dr. Mohamed Ezz El-Din Mostafa Habib \_\_\_\_\_  
assinatura

**SUPLENTES:**

Prof. Dr. Carlos Fernando Salgueirosa de Andrade \_\_\_\_\_  
assinatura

Prof. Dr. José Henrique Guimarães \_\_\_\_\_  
assinatura

## **DEDICATÓRIA**

*Aos meus Familiares, Professores e Amigos de uma forma geral dedico-lhes este trabalho como forma de reconhecimento ao carinho, paciência e compreensão.*

*Há duas formas para viver a vida.  
Uma delas é acreditar que não existe milagre;  
A outra é acreditar que todas as coisas  
são um milagre.*

**Albert Einstein  
(1879 - 1955)**

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Angelo Pires do Prado pela orientação, oportunidades concedidas e pelo exemplo de dedicação durante a execução deste trabalho.

Ao Professor Doutor Aricio Xavier Linhares pelo auxílio na parte estatística e análise prévia deste trabalho.

Minha eterna gratidão à Doutora Celuta Helena Machado Paganelli pelo auxílio na identificação e confirmação das espécies.

Em especial ao meu sogro Sr José Martin (Zico), pelo incentivo durante à execução deste trabalho; a quem nunca deixou de acreditar em minha pessoa e por quem tenho imensa gratidão.

À minha esposa Mary, por ter sido minha companheira, pelo carinho e força nestes anos de convivência, por ter auxiliado durante a execução deste trabalho e também pela paciência de conviver e me aceitar assim do jeito que sou: um tanto desligado.

Ao professor Nilton Madeira pela análise prévia deste trabalho.

À minha família: meu pai Aparecido, minha mãe Ernestina, meu filho Hemílio, meus sobrinhos: Ana Paula, André, Felipe, Maraisa, Jefferson, Angélica, cunhados: Mara, Wilson e Elaine, meu irmão Nelson; minha sogra Neide e ao senhor Benedito Pereira Paes pelo incentivo.

Aos amigos do laboratório pela convivência: Marisa, Sérgio Gianizella, Patrícia Thyssen, Rubens Madi, Ângela Justus, Mônica, Alcione, Lucila, Gustavo, Nilson, Edna Tucci, Ângela Mingozzi, Márcio Mendonça, Pedro Strikis, Tatyana e Raquel.

Aos Professores e funcionários do Departamento de Parasitologia, pelo auxílio dispensado durante a realização deste trabalho, em especial aos meus amigos Ivo, João e Geraldo.

Aos meus amigos de Campinas Marcos Aurélio Paes; Antonio Avelino Viana; Marcelo; Amália Valdinéia Befá (Néia), Márcia Befá, Rubens de Melo, Ângelo Giavara, Maioli, Anselmo Martins de Melo e família, em especial ao Sr Erondino de Melo (Dininho) e sua esposa Dona Wilza (ambos *in memoriam*), a quem sou muito grato pelo incentivo durante parte da execução deste trabalho.

## ÍNDICE

<b>Lista de Figuras.....</b>	<b>xi</b>
<b>Lista de Tabelas.....</b>	<b>xv</b>
<b>RESUMO GERAL.....</b>	<b>xxi</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xxiii</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>1</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>6</b>
<b>1.0 CAPÍTULO 1.....</b>	<b>10</b>
1.1 – Resumo.....	10
1.1.1 – Abstract.....	10
1.2 – Introdução.....	10
1.3 – Material e métodos.....	12
1.3.1 – Material Testemunho.....	12
1.4 – Resultados.....	13
1.4.1 – Descrição das espécies.....	13
1.4.1.1 - Gênero <i>Liohippelates</i> Duda.....	13
1.4.1.2 – Gênero <i>Hippelates</i> Loew.....	14
1.4.2 - Distribuição das espécies.....	14
1.4.2.1 – Gênero <i>Liohippelates</i> .....	14
1.4.2.2 – Gênero <i>Hippelates</i> .....	15
1.4.3 - Chave para Identificação de Moscas dos Gêneros <i>Hippelates</i> e <i>Liohippelates</i> .....	15
1.5 –Discussão.....	24
1.6 – Conclusões.....	26
1.7 – Referências bibliográficas.....	28
<b>2.0 CAPÍTULO 2.....</b>	<b>31</b>
2.1 – Resumo.....	31

2.1.1 – Abstract.....	32
2.2 – Introdução.....	32
2.3 – Material e métodos.....	33
2.4 – Resultados.....	36
2.5 – Discussão.....	65
2.6 – Conclusões.....	67
2.7 – Referências bibliográficas.....	69
<b>3.0 - CAPÍTULO 3.....</b>	<b>72</b>
3.1 – Resumo.....	72
Abstract.....	72
3.2 - Introdução.....	72
3.3 – Material e métodos.....	73
3.4 - Resultados.....	76
3.5 – Discussão.....	85
3.6 – Conclusões.....	86
3.7 – Referências bibliográficas.....	88
<b>4.0 CAPÍTULO 4.....</b>	<b>91</b>
4.1 – Resumo.....	91
4.1.1 - - Abstract.....	91
4.2 – Introdução.....	92
4.3 – Material e métodos.....	93
4.3.1 - Colonização de adultos.....	
4.3.2 - Dieta para adultos de <i>Liohippelates peruanus</i> .....	94
4.3.2.1 - Dieta I (liquida).....	94
4.3.2.2 - Dieta II (seca).....	94
4.3.3 – Dieta (meio) para obtenção dos ovos.....	94
4.3.4 – Dieta para o desenvolvimento dos estágios imaturos.....	95
4.3.5 – Metodologia para observação dos estágios imaturos.....	95
4.3.6 – Cálculo da constante térmica K (Graus dia).....	96

4.4 – Resultados.....	96
4.4.1 – Verificação de meios para o desenvolvimento dos estágios imaturos.....	97
4.4.2 – Verificação nas dimensões dos estágios imaturos de <i>L. peruanus</i> .....	97
4.2.3 - Verificação dos períodos de desenvolvimento dos estágios imaturos.....	97
4.2.4 – Cálculo da temperatura basal (Tb).....	98
4.2.5 – Cálculo de “Graus – dia”.....	99
4.3 – Discussão.....	100
4.4 – Conclusões.....	101
4.5 – Referências bibliográficas.....	102
<b>5.0 - CAPÍTULO 5.....</b>	<b>106</b>
5.1 – Resumo.....	106
Abstract.....	106
5.2 – Introdução.....	107
5.3 – Material e métodos.....	108
5.3.1 - Colonização de adultos em laboratório.....	108
5.3.2 - Obtenção dos ovos.....	110
5.3.3 - Obtenção de larvas.....	110
5.3.4 – Obtenção de adultos.....	112
5.3.5 - Sexagem.....	112
5.3.6 - Montagem da tabela de vida.....	113
5.3.7 - Montagem da tabela de esperança de vida.....	114
5.3.8 – Tabela de vida.....	115
5.3.9 - Entropia.....	116
5.3.10 - Análise dos dados.....	116
5.4 – Resultados.....	117

5.4.1 – Observações na oviposição.....	117
5.4.2 – Tabela de vida.....	117
5.4.3 – Cálculo de esperança de vida.....	118
5.4.4 - Entropia.....	120
5.5 – Discussão.....	122
5.6 – Conclusões.....	123
5.7 – Referências bibliográficas.....	125
<b>6.0 - CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>128</b>
<b>7.0 –REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>131</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Capítulo 1</b> .....	
<b>Figura 1.1</b> – Fêmea de <i>Liohippelates tibialis</i> .....	<b>17</b>
<b>Figura 1.2</b> – Detalhe da perna posterior de fêmea de <i>Liohippelates tibialis</i> .....	<b>17</b>
<b>Figura 1.3</b> – Triângulo ocelar de fêmea de <i>Liohippelates tibialis</i> .....	<b>17</b>
<b>Figura 1.4</b> – Fêmea de <i>Liohippelates peruanus</i> .....	<b>18</b>
<b>Figura 1.5</b> – Detalhe da perna posterior de fêmea de <i>Liohippelates peruanus</i> .....	<b>18</b>
<b>Figura 1.6</b> – Triângulo ocelar de fêmea de <i>Liohippelates peruanus</i> .....	<b>18</b>
<b>Figura 1.7</b> – Macho de <i>Liohippelates peruanus</i> .....	<b>19</b>
<b>Figura 1.8</b> – Fêmea de <i>Liohippelates nigrifrons</i> .....	<b>20</b>
<b>Figura 1.9</b> – Detalhe da perna posterior de fêmea de <i>Liohippelates nigrifrons</i> .....	<b>20</b>
<b>Figura 1.10</b> – Triângulo ocelar de fêmea de <i>Liohippelates nigrifrons</i> .....	<b>20</b>
<b>Figura 1.11</b> – Fêmea de <i>Liohippelates flavipes</i> .....	<b>21</b>
<b>Figura 1.12</b> – Detalhe da perna posterior de fêmea de <i>Liohippelates flavipes</i> .....	<b>21</b>
<b>Figura 1.13</b> – Triângulo ocelar de fêmea de <i>Liohippelates flavipes</i> .....	<b>21</b>
<b>Figura 1.14</b> – Fêmea de <i>Hippelates coxipo</i> .....	<b>22</b>
<b>Figura 1.15</b> – Detalhe da perna posterior de fêmea de <i>Hippelates coxipo</i> .....	<b>22</b>
<b>Figura 1.16</b> – Triângulo ocelar de fêmea de <i>Hippelates coxipo</i> .....	<b>22</b>
<b>Figura 1.17</b> – Macho de <i>Hippelates pseudodorsalis</i> .....	<b>23</b>
<b>Figura 1.18</b> – Triângulo ocelar de <b>fêmea</b> de <i>Hippelates pseudodorsalis</i> .....	<b>23</b>
<b>Figura 1.19</b> – Triângulo ocelar de <b>macho</b> de <i>Hippelates pseudodorsalis</i> .....	<b>23</b>
 <b>Capítulo 2</b>	
<b>Figura 2.1(a)</b> - Armadilha para amostragem de Chloropidae e outros Diptera utilizando isca animal.....	<b>34</b>

<b>Figura 2.1 (b)-</b> Fotografia da Armadilha para amostragem de Chloropidae e outros Diptera utilizando isca animal.....	<b>34</b>
<b>Figura 2.2 –</b> Freqüência (em $\text{Log}_{10}$ ) de indivíduos de <i>Apallates</i> sp coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow, conforme os períodos sazonais.....	<b>40</b>
<b>Figura 2.3 –</b> Freqüência (em $\text{Log}_{10}$ ) de indivíduos de <i>Conioscinella</i> sp coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow, conforme os períodos sazonais .....	<b>43</b>
<b>Figura 2.4 –</b> Freqüência em $\text{Log}_{10} (X+1)$ de indivíduos de <i>Elachiptera sacculicornis</i> coletados em Armadilhas de Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais.....	<b>46</b>
<b>Figura 2.5 –</b> Freqüência em $\text{Log}_{10} (X+1)$ de indivíduos de <i>Hippelates coxipo</i> coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow, conforme os períodos sazonais .....	<b>49</b>
<b>Figura 2.6–</b> Freqüência em $\text{Log}_{10} (X+1)$ de indivíduos de <i>Hippelates pseudodorsalis</i> coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow, conforme os períodos sazonais.....	<b>51</b>
<b>Figura 2.8–</b> Freqüência em $\text{Log}_{10} (X+1)$ de indivíduos de <i>Liohippelates flavipes</i> em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais.....	<b>53</b>
<b>Figura 2.9–</b> Freqüência em $\text{Log}_{10} (X+1)$ de indivíduos de <i>Liohippelates nigrifrons</i> em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais .....	<b>55</b>
<b>Figura 2.10–</b> Freqüência em $\text{Log}_{10} (X+1)$ de indivíduos de <i>Liohippelates peruanus</i> em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais .....	<b>57</b>

<b>Figura 2.11</b> – Freqüência em $\text{Log}_{10} (X+1)$ de indivíduos de <i>Liohippelates tibialis</i> em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais .....	<b>59*</b>
<b>Figura 2.12</b> – Freqüência em $\text{Log}_{10} (X+1)$ de indivíduos de <i>Monochaetoscinella</i> sp em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais.....	<b>61</b>
<b>Figura 2.13</b> – Freqüência em $\text{Log}_{10} (X+1)$ de indivíduos da Espécie 6 (Sp 6) em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais.....	<b>63</b>
<b>Figura 2.14</b> – Freqüência em $\text{Log}_{10} (X+1)$ de indivíduos de <i>outros Chloropidae</i> coletados em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais.....	<b>63</b>
<b>FIGURA 2.15</b> – Número ( $\mu$ e SD) de indivíduos coletados em armadilhas TD (modificada), durante o período de 1/05/98 a 05/04/99, considerando as estações outono/1998, inverno/1998, primavera/1998, verão/1999-1999.....	<b>64</b>

### **CAPÍTULO 3**

<b>Figura 3.1</b> - Armadilha para amostragem de Chloropidae e outros Diptera utilizando isca animal.....	<b>74</b>
<b>Figura 3.2</b> – Regressão linear entre a média de indivíduos machos de <i>Liohippelates peruanus</i> e Morfo-espécie seis coletados no inverno e altura.....	<b>78</b>
<b>Figura 3.3</b> – Regressão linear entre a média de indivíduos machos de <i>Liohippelates peruanus</i> e Morfo-espécie seis coletados na primavera e altura.....	<b>79</b>
<b>Figura 3.4</b> – Regressão linear entre a média de indivíduos machos de <i>Liohippelates peruanus</i> e Morfo-espécie seis coletados no verão e altura.....	<b>80</b>
<b>Figura 3.5</b> – Regressão linear entre a média de indivíduos machos de <i>Liohippelates peruanus</i> e Morfo-espécie seis coletados no outono e altura.....	<b>81</b>

<b>Figura 3.6</b> – Regressão linear entre a média de indivíduos fêmeas de <i>Liohippelates peruanus</i> e Morfo-espécie seis coletados no inverno e altura.....	<b>82</b>
<b>Figura 3.7</b> – Regressão linear entre a média de indivíduos fêmeas de <i>Liohippelates peruanus</i> e Morfo-espécie seis coletados na primavera e altura.....	<b>83</b>
<b>Figura 3.8</b> – Regressão linear entre a média de indivíduos fêmeas de <i>Liohippelates peruanus</i> e Morfo-espécie seis coletados no outono e altura.....	<b>84</b>
 <b>CAPÍTULO 4</b>	
<b>Figura 4.1</b> – Regressão Linear entre as temperaturas e a recíproca 1/tempo de desenvolvimento dos estágios imaturos de <i>Liohippelates peruanus</i> . .....	<b>99</b>
 <b>CAPÍTULO 5</b>	
<b>Figura 5.1</b> – Aparelho utilizado para sexagem de <i>Cloropídeos</i> .....	<b>112</b>
<b>Figura 5.2</b> – Taxa de sobrevivência (Entropia) de <i>Liohippelates peruanus</i> .....	<b>121</b>

## LISTA DE TABELAS

CAPITULO 1 (não há tabelas)

CAPITULO 2

<b>Tabela 2.1</b> – Intervalos de Exposição das armadilhas de Tinkhan & Dow.....	35
<b>Tabela 2.2</b> – Número de indivíduos coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow (modificada) no período de Maio de 1998 a Abril de 1999. ....	36
<b>Tabela 2.3</b> – Resultados da análise de Tukey, utilizando-se contrastes para comparações entre as médias de indivíduos de Chloropidae coletados em Armadilhas de Tinkhan & Dow entre os períodos sazonais compreendidos de Maio/1998 a Abril/1999.....	37
<b>Tabela 2.4</b> – Resultados da análise de Tukey, utilizando-se contrastes para comparações entre as médias de indivíduos de Chloropidae coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow entre os horários de coletas realizados de Maio/1998 a Abril/1999. ....	38
<b>Tabela 2.5</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Apallates</i> sp coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	39
<b>Tabela 2.6</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Conioscinella</i> sp coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	41

<b>Tabela 2.7</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Conioscinella</i> sp coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>42</b>
<b>Tabela 2.8</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Elachiptera sacculicornis</i> coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>44</b>
<b>Tabela 2.9</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>E. sacculicornis</i> coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>45</b>
<b>Tabela 2.10</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Hippelates coxipo</i> coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>47</b>
<b>Tabela 2.11</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Hippelates coxipo</i> coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999.....	<b>48</b>
<b>Tabela 2.12</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Hippelates pseudodorsalis</i> o coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>49</b>

<b>Tabela 2.13</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Hippelates pseudodorsalis</i> coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999.....	<b>50</b>
<b>Tabela 2.14</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Liohippelates flavipes</i> o coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>51</b>
<b>Tabela 2.15</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Liohippelates flavipes</i> coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>52</b>
<b>Tabela 2.16</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Liohippelates nigrifrons</i> coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>53</b>
<b>Tabela 2.17</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Liohippelates nigrifrons</i> coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.....	<b>54</b>
<b>Tabela 2.18</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Liohippelates peruanus</i> coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>55</b>

<b>Tabela 2.19</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Liohippelates peruanus</i> coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>56</b>
<b>Tabela 2.20</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Liohippelates tibialis</i> coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>57</b>
<b>Tabela 2.21</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Liohippelates tibialis</i> coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>58</b>
<b>Tabela 2.22</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Monochaetoscinella</i> sp coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>59</b>
<b>Tabela 2.23</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Monochaetoscinella</i> sp coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999.....	<b>60</b>
<b>Tabela 2.24</b> – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de <i>Espécie 6</i> coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. ....	<b>61</b>

**Tabela 2.25** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos da *Espécie 6* coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999. .... 62

**Tabela 2.26** – Número de indivíduos machos e fêmeas coletados por espécie, média e Desvio Padrão (SD) das somatórias (M+F) de cada período sazonal considerando as estações outono/1998, inverno/1998, primavera/1998, verão/1998-1999. .... 65

### **CAPÍTULO 3**

**Tabela 3.1** – Intervalos de Exposição das armadilhas de Tinkhan & Dow..... 75

**Tabela 3.2** - Média ( $\pm$  SD) de indivíduos de *Liohippelates peruanus* e Morfo - espécie 6 coletados durante inverno e primavera de 1999, verão (1999/2000) e inverno de 2000, nas 3 alturas, em 3 amostras diárias. .... 76

**Tabela 3.3** - Correlação entre o número de indivíduos coletados de *Liohippelates peruanus* e Morfo - espécie 6 e alturas de 40 cm, 80 cm e 120 cm, conforme ..... 77

### **CAPÍTULO 4**

**Tabela 4.1** - Dimensões (em mm) verificadas nos estágios imaturos de *Liohippelates peruanus* ..... 97

**Tabela 4.2** – Duração dos períodos (em dias) verificados nos estágios imaturos de *Liohippelates peruanus* ..... 98

### **CAPÍTULO 5**

**Tabela 5.1** – Taxas de incremento populacional de *L. peruanus* observadas em colônia

(n=600) mantida em temperatura de 27 °C e umidade relativa de 80% ( $\pm$ 5%).....	117
---	-----

<b>Tabela 5.2</b> – Esperança de vida ( $e_x$ ) e taxa de mortalidade verificadas para <i>L. peruanus</i> observadas em colônia (n=600) mantida em temperatura de 27 °C e umidade relativa de 80% ( $\pm$ 5%).....	118
---	-----

<b>Tabela 5.3</b> – Probabilidade de morte entre semanas. ....	120
--	-----

## RESUMO GERAL

*Liohippelates peruanus* (Becker) (Diptera: Chloropidae) é uma das espécies mais freqüentes na cidade de Campinas-SP e tem sido descrita como transmissora da bactéria causadora da mastite bovina e de *Haemophilus aegyptius*, que é o agente etiológico, de conjuntivites e da Febre Purpúrica Brasileira, sendo observado em maior abundância nos períodos mais quentes do ano, além de incomodar muito com sua presença em parques e áreas de lazer e recreação, trazendo prejuízos à atividade econômica do turismo. Durante o período de 01/05/98 a 05/04/99, foram realizadas coletas mensais em Armadilhas modificadas de Tinkhan & Down, dispostas em forma de quadrado latino 3x3, tendo em vista o levantamento de espécies de Chloropidae (Insecta: Diptera) ocorrentes no *campus* da Universidade Estadual de Campinas, considerando-se a sazonalidade, preferência por tipo de iscas e período de atividade durante o dia. Durante o período da amostras foram identificados 7 gêneros, sendo 3 morfo-espécies: *Apallates* sp, *Conioscinella* sp, *Monochaetoscinella* sp e uma espécie não identificada, a qual foi designada Morfo-espécie 06. As espécies coletadas e identificadas foram: *Elachiptera sacculicornis*, *Hippelates coxipo*, *Hippelates pseudodorsalis*, *Liohippelates flavipes*, *Liohippelates nigrifrons*, *Liohippelates peruanus* e *Liohippelates tibialis*. As coletas foram realizadas nos 5 primeiros dia de cada mês. As armadilhas foram montadas utilizando-se 3 tipos de iscas: peixe eviscerado, rato eviscerado e vísceras de frango. Os dados foram considerados em períodos sazonais: outono/1998, inverno/1998, primavera/1998, verão/1998-1999 e o número de cloropídeos coletados por este método entre todas as espécies foi de 6.488 machos e 19.503 fêmeas, em uma proporção sexual aproximada de 3:1 (fêmea : macho). A primavera foi o período sazonal que apresentou maior número de indivíduos coletados, com 7696 fêmeas e 2254 indivíduos machos, enquanto que a estação de outono apresentou menor número de indivíduos coletados: 3385 fêmeas e 1375 machos. Os resultados mostram que a maioria das espécies possuem maior atividade no nas primeiras horas da manhã (entre 6:00 h até 10:00 h) e no período vespertino (entre 16:00 h e 18:00 h), sendo que não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre a primeira, penúltima e última coleta realizadas ao longo do dia, quando analisados em Tukey. Com o objetivo de estudar a biologia de *Liohippelates peruanus*, foi desenvolvido um meio eficaz e de simples manipulação para a realização de experimentos de criação de estágios imaturos deste inseto em laboratório. O

experimento foi conduzido em laboratório em temperatura constante de 22 °C, 24 °C, 27 °C e 29 °C e umidade relativa de 80 % ( ± 5%). Os dados obtidos foram planilhados no Programa estatístico MINITAB 10.1 e mostraram que a temperatura basal (TB) para o desenvolvimento dos estágios imaturos, de ovo até emergência dos adultos foi de 16,97 °C. As dimensões do ovo, larva e pupa também são apresentadas. *Liohippelates peruanus* foi colonizado em laboratório a 27 °C e umidade de 80% ( ± 5%), sendo verificados alguns parâmetros resultantes da montagem de sua tabela de vida, como: taxa reprodutiva ( $R_o = 1,95$  dias), Tempo de geração ( $T = 30,91$  dias), taxa intrínseca de incremento natural ( $r_m = 0,02167$ ) e Taxa finita de incremento natural ( $R_m = 1,022$ ). Foi estimado a partir do valor de  $R_m$  ( $n^o$  de indivíduos/fêmea/dia) e do tempo de geração (31 dias) um incremento de 589 indivíduos, para uma população de 600 indivíduos (300 M:300 F). O valor do padrão de curva de sobrevivência da população (Entropia) também foi estimado, sendo  $H = 0,604857$ , indicando este valor um padrão onde se aproxima mais de 0,5, na qual indica que o  $n^o$  de mortes ocorre dentro de uma Progressão aritmética, com uma razão negativa. Os índices de mortalidade (K) indicam que as maiores taxas ocorreram nas 4 últimas semanas: 82%, 38%, 86% e 100%, respectivamente 7<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 9<sup>a</sup> e 10<sup>a</sup>. Expectativa de vida ( $e_x$ ) para cada período, meios para oviposição, criação de larvas, manutenção de adultos, assim como um método de sexagem, também estão descritos. As dimensões do ovo, larva e pupa também são apresentadas. Com o objetivo de verificar a altura de atividade de vôo das espécies de Chloropidae, foi utilizada a armadilha modificada de Tinkhan, iscadas com rato eviscerado, disposta em três alturas, distribuídas em forma de quadrado latino (3X3), sendo realizadas três coletas por dia. A amostragem de cada estação foi realizada no período mediano de cada estação, durante dez dias. Os resultados mostraram que nos períodos mais frios (inverno e outono) houve maior número de indivíduos coletados em armadilhas dispostas próximas ao solo, enquanto que nos períodos sazonais mais quentes (primavera e verão), houve maior atividade destes insetos quanto maior foi a distância da armadilha em relação ao solo. Estes dados preliminares poderão contribuir em futuros experimentos que envolvam o estudo desta importante família de Diptera, uma vez que pouco se sabe sobre a biologia destas moscas no Brasil.

## ABSTRACT

*Liohippelates peruanus* (Becker) (Diptera: Chloropidae) is one of the most abundant species in the city of Campinas, São Paulo state and it has been described as mechanical vector of the bacteria *Haemophilus aegyptius*, the agent of conjunctivitis and of the Brazilian Purpuric Fever (Paganelli & Sabrosky 1993), it occurs in larger number in the hottest periods of the year, being an annoyance in parks, leisure and recreational areas, causing economical damage to tourism. During the period from 01/05/98 to 05/04/99, monthly collections were done in modified of Tinkhan & Dow traps, disposed in as a 3x3 Latin square, with the objective of collecting species of Chloropidae (Insecta:Diptera) with occurrence in the *campus* of the State University of Campinas distrito de Barão Geraldo (22.48.57° S.; 47.03.33° E.), being considered the seasonality, preference for type of baits and activity period during the day. Seven species were identified, three of than identified as morphospecies: *Apallates* sp, *Conioscinella* sp, *Monochaetoscinella* sp and a non identified species, which was designated as morphospecies 6. The collected and identified species were: *Elachiptera sacculicornis*, *Hippelates coxipo*, *Hippelates. pseudodorsalis*, *Liohippelates flavipes*, *Liohippelates nigrifrons*, *Liohippelates peruanus* and *Liohippelates tibialis*. The collections were done in the first 5 days of every month. The traps were mounted with 3 types of baits: eviscerated fish, eviscerated mouse and chicken viscera. The data were analysed by seasonal period: autumn /1998, winter /1998, spring /1998, summer 1998-1999 and the total number of frit fries collected by this method was of 6.488 males and 19.503 females, with an approximate sex ratio of 3:1 (female: male). the spring was the seasonal period that presented the largest numbers of collected individuals, with 7696 females and 2254 males, while in the autumn the number of collected individuals was the smallest: 3385 females and 1375 males. The difference in individuals collected during the spring was significant in comparison with other periods. The results show that most species are more active in the first hours of the morning (from 6:00 h up to 10:00 h) and in the evening (between 16:00 h and 18:00 h), and there was no significant among the first, next to the last and last collections done during the day. With the objective of studying the biology of this insect, an effective and simple way was developed for the breeding of immatures of this insect in the laboratory. The experiment

was done in the laboratory, in constant temperatures of 22 °C, 24 °C, 27 °C and 29 °C and relative humidity of 80% ( $\pm 5\%$ ). The data were analyzed by the statistical Program MINITAB 10.1 and they showed that the basal temperature (TB) for the development of the immatures, from egg to adult was of 16,97 °C. Colonies of *Liohippelates peruanus* were kept at 27 °C and humidity of 80% ( $\pm 5\%$ ), in order to determine some parameters of the life table date, such as: reproductive rates ( $R_0 = 1,95$  days), generation time ( $T = 30,91$  days), increment rate ( $r_m = 0,02167$ ) and natural increment finite rate ( $R_m = 1,022$ ). It was determined from the value of  $R_m$  and the generation time (31 days) that there was an increment of 589 individuals for a population of 600 individuals (300 M:300 F). The value of the survival of the population (Entropy) was  $H=0,604857$ , indicating that a pattern more than 0,5, in which indicates one of deaths happens in an arithmetic progression, with a negative reason. The mortality rate (K) they indicate that the largest rates happened in the last 4 weeks: 82%, 38%, 86% and 100%, respectively 7<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup>, 9<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup>. With the objective of verifying the individuals percentage that would die among a certain week and other a table of probability was built, where the individual percentage that can survive of a period the another was verified. Life expectation for each period, means to oviposition, larvae breeding, adult maintenance also are described. With the objective of verifying the height of flight activity of Chloropidae species, the modified trap of Thinkan was used, baited with eviscerated mouse, disposed in three heights, distributed in 3X3 latin square, three collections were taken in each day. The sampling of each station was done in the average period of each seasonal period, for ten days. The results showed that in the coldest periods (winter and autumn) there was greater number of individuals collected in next traps to the ground, while in the hotter seasonal periods (spring and summer), there was larger activity of these insects according with the height of the trap. These preliminary data can contribute in futures experiments that involve the study of this important family of Diptera, once that knowledge about the biology of Chloropidae in Brazil has been smallest.

## INTRODUÇÃO GERAL

Os adultos de Chloropidae, também chamados vulgarmente de mosquito-ramela e mosquinha-lambe-olho (Lenko & Papavero 1979; Carrera 1991), são muito comuns e abundantes em material vegetal em decomposição. Alguns são freqüentes em flores, enquanto outros, incomodam o homem e animais pelo comportamento de pousar nos olhos ou orelhas, e também, por alimentar-se de secreções corporais, em feridas ou ferimentos abertos (Harwood & James 1979; Sabrosky 1987). Outros podem ainda causar miíases em anfíbios, como as larvas do gênero *Batrachomyia* Kreft 1859, que se desenvolvem sob a pele de sapos e rãs (Amphibia: Anura) (Skuse, 1889; Elkan, 1965; Lemckert, 2000; Schell & Burgin, 2001).

Quando adultos, esses insetos caracterizam-se pelo pequeno tamanho, com cerca de 1 a 3 mm. Seu ciclo de vida é muito rápido, sendo necessários cerca de 10 a 12 dias para formarem uma nova geração. As larvas de muitas espécies alimentam-se de material orgânico em decomposição e outras são pragas de cereais, enquanto que outras são parasitas ou predadoras (Borror & DeLong 1989).

A família é cosmopolita, com aproximadamente 2000 espécies já descritas, classificadas em três subfamílias: Siphonellopsinae, Chloropinae e Oscinellinae, estando nesta última os gêneros *Hippelates* (Loew) e *Liohippelates* (Duda).

Os gêneros *Liohippelates* e *Hippelates* são de maior importância sanitária e veterinária na região Neotropical, principalmente no Brasil. O comportamento das espécies desses gêneros de pousarem de uma pessoa a outra, facilita a veiculação mecânica de vários patógenos. Schneider (1927) citou *Hippelates flavipes* (Loew), atualmente *Liohippelates*, e a *Musca domestica* L. como os principais transmissores da conjuntivite aguda endêmica na

Califórnia, USA. Em 1933, Bengtson registrou que a ocorrência de conjuntivite aguda no sudeste americano, causada por *Haemophilus aegyptius* (Kock-Weeks), teria sido amplamente transmitida por *Liohippelates pusio* (Loew). Kumm *et al.* (1935) citam *Hippelates pallipes* (Loew) como transmissor mecânico de *Treponema pertenue* (Castellani) na Jamaica. Os autores encontraram espiroquetas móveis 24 horas após a infecção de *Hippelates pallipes*, no intestino anterior e probóscida.

Nicholls (1912) cita os cloropídeos como transmissores mecânicos de *Treponema pertenue*, o agente etiológico da boubá. Segundo Sanders (1940), moscas do gênero *Hippelates* e *Musca domestica*, são potenciais vetores da mastite bovina, determinando grandes prejuízos na produção de leite. Davis & Pittman (1950) relataram a possível transmissão mecânica de *Haemophilus* sp. por *Liohippelates pusio*, visto que a incidência de conjuntivite parecia coincidir com a distribuição geográfica e a variação sazonal destes insetos. Os surtos de conjuntivite causados pelo *H. aegyptius* foram concomitantes com os picos de maior densidade de *Liohippelates collusor* (Townsend) (Dawson 1960).

Taplin *et al.* (1967), mostraram que os cloropídeos são capazes de transmitir os agentes da estreptococcemia beta hemolítica e a estafilococcemia coagulase-positiva, as quais causam piodermias no Panamá. Basset (1970), em Trinidad, isolou *Streptococcus pyogenes* de cloropídeos associados com infecções estreptocócicas da pele. Concluiu que estes insetos provavelmente contribuem para a rápida distribuição da estreptococcemia na ilha. Payne *et al.* (1977) utilizando coelhos como modelo animal para testar a importância de *Hippelates pusio* como vetor de *Haemophilus aegyptius*, observaram que além deste, podem ainda veicular outros patógenos, como a *Entamoeba coli* e *Staphylococcus* sp.

No Brasil, embora Gabriel Soares de Souza já tenha se referido a esses insetos no ano de 1587, no seu “Tratado Descritivo do Brasil” conforme Neiva, 1940 (*apud.* Carrera

1991), “cabe ao cronista lusitano quinhentista a primazia de ter estabelecido, de modo positivo, a possibilidade de um inseto transmitir um mal”. Desde então quase nada tem sido estudado, embora sejam esses insetos transmissores da conjuntivite em todas as regiões do país.

Os casos de uma doença que acometia crianças na faixa etária de 2 meses a 10 anos, caracterizando-se clinicamente por início súbito, com febre alta associada a vômitos e dor abdominal, geralmente evoluindo em 12 a 48 horas para o aparecimento de púrpura, colapso vascular, necrose de pele que acometia crianças foram notificados no Estado de São Paulo, segundo o Centro de Vigilância Epidemiológica da Secretaria da Saúde (CVE), ocorrendo na sua maioria em áreas periféricas de pequenos municípios do interior paulista, abrangendo as regiões administrativas de Bauru, e Marília em 1984-1985 e além desta última, as de Ribeirão Preto, Presidente Prudente, São José do Rio Preto, Presidente Prudente, São José do Rio Preto e Campinas em 1986. Casos semelhantes foram notificados em 1984, no município de Londrina, Estado do Paraná (Irino *et. al.*, 1987).

De outubro de 1984 a março de 1985 e novamente durante o primeiro semestre de 1986, foi detectada a ocorrência da doença apresentando sintomas conforme àqueles notificados pelo Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo, apresentando alta letalidade (superior a 60 %). O quadro clínico e anátomo patológico apresentou-se semelhante à meningite (Brazilian Purpuric Fever Task Force 1985).

Estudos preliminares desses episódios demonstraram a concomitância de casos desse agravo com epidemias de conjuntivite purulenta em um estudo realizado nos municípios de Alto Taquarí e Cuiabá - MT (Tondella *et al.* 1994). A investigação laboratorial dos casos suspeitos ocorridos em 1984 e 1985, em que foi possível a obtenção de sangue e líquido, revelou através de exames bacteriológicos e testes de imunodiagnóstico negativos

para os agentes freqüentemente associados a quadros clínicos semelhantes à meningococcemia. Tal enfermidade recebeu a denominação de Febre Purpúrica Brasileira (FPB).

Somente em 1986, durante uma epidemia de FPB ocorrida em Serrana-SP, foi caracterizada a etiologia da doença, quando isolou-se o microorganismo *Haemophilus aegyptius* de líquidos estéreis de crianças, cujos sintomas clínicos correspondiam a definição de casos de FPB, anteriormente descritos ( Irino *et al.* 1987; Tondella *et al.* 1994). A cepa invasiva de *Haemophilus aegyptius* encontrada na FPB difere da forma “não invasiva” por possuir um plasmídeo com padrão eletroforético distinto.

Antes da descoberta da FPB, raríssimas são as citações de *H. aegyptius* como agente bacteriano de enfermidades sistêmicas.

Tondella *et al.* (1994) isolaram *Haemophilus aegyptius* (cêpa invasiva) de 2 espécies de cloropídeos, coletados ao redor dos olhos de 3 crianças com conjuntivite em Mato Grosso.

Além dos fatores anteriormente descritos, a presença de cloropídeos é muito incômoda para o homem, causando desconforto em atividades recreativas e de lazer, trazendo prejuízos para o turismo (Mulla *et al.* 1966)

Considerando-se a importância médico-sanitária dos Chloropidae, o pouco conhecimento da sua ecologia (criadouros, sazonalidade, inimigos naturais) e biologia das espécies ocorrentes no Brasil, o estudo desta família torna-se de grande urgência, pois somente desta forma poderemos aplicar o controle de forma racional e eficaz.

As espécies desta família para a região neotropical, foram primeiramente catalogadas por Becker (1912) e posteriormente por Duda (1930).

Sabrosky & Paganelli (1984) catalogaram 430 espécies ocorrentes na região neotropical, distribuídas em 57 gêneros.

Este trabalho tem como objetivos primordiais verificar os períodos sazonais de maior frequência, verificar o melhor método de coleta, descrever dietas modificadas para criação em laboratório (larvas e adultos), assim como o meio utilizado para obtenção de ovos, além de verificar alguns parâmetros biológicos ocorrentes no ciclo de vida de *Liohippelates peruanus* (Becker), que foi a espécie de maior frequência entre os Oscinellinae. Por outro lado pretende-se também listar e propor uma chave de identificação para espécies de cloropídeos dos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates* ocorrentes no Campus da UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas, SP.

## Referências Bibliográficas

BASSET, D. C. J. *Hippelates* flies and streptococcal skin infection in Trinidad. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 64: 138-147. 1970.

BECKER, T. Chloropidae-Eine monographische Studie. IV. Teil. Nearktische region. V. Teil. Neotropische Tegen. Ann. Hist. Nat. Magyar Nemzeti Muz. 10: 21-256. 1912.

BENGTSON, I. A. Seasonal acute conjunctivitis occurring in the southern states. Publ. Health Rep. 48: 917 – 926. 1933.

BORROR, D. J. & DELONG, D. M. An introduction to the study of insects. 6<sup>th</sup> ed. Saunders College Publishing, Philadelphia. 875 p. 1989.

BRAZILIAN PURPURIC FEVER TASK FORCE. Preliminary report: epidemic fatal purpuric fever among children – Brazil. M.M.W.R. 34(16): 217-219. 1985.

CARRERA, M. *Insetos de interesse médico e veterinário*. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 228 pp. 1991

DAVIS, D. J. & PITTMAN, M. Acute conjunctivitis caused by *Haemophilus*. Am. J. Dis. Child. 79: 211-219. 1950.

DAWSON, C. R. Epidemic Koch-Weeks conjunctivitis and trachoma: in the Coachella Valley of California. *Am. J. Ophthalm.* 49: 801-808. 1960.

DUDA, O. Die neotropischen Chloropiden (Diptera). *Folia Zool. Hydrobiol.* (Riga). 2: 46-128. 1930.

ELKAN, E. Miasis in Australian frogs. *An. Trop. Med. Parasit.* 59: 51-54. 1965.

HARWOOD, R. F. & JAMES, M. T. *Entomology in human and animal health*. Macmillan Publishing Co. New York. 548 p. 1979.

IRINO, K., LEE, I.M.L., KAKU, M., BRANDILEONE, M.C.C., MELLES, C.E.A., LEVY, C.E., BERKLEY, S.E., FLEMING, D.W., SILVA, G.A. & HARRISON, L. Febre purpúrica brasileira: Resultados preliminares da investigação etiológica. *Rev. Inst. Med. Trop.* 29(3): 174-177. 1987.

KUMM, H. W.; TURNER, T. B.; PEAT, A. A. The duration of the mobility of spirochaetes of yaws in a small west Indian fly – *Hippelates pallipes* Loew. *Am. J. Trop. Med.* 15: 209 – 223. 1935.

LEMCKERT, F. Parasitism of the common eastern froglet *Crinia signifera* by flies of the genus *Batrochomyia* (Diptera: Chloropidae): Parasitism rates and influence on frog condition. *Aust. Zool.* 31: 492 – 495. 2000.

LENKO, K. & PAPAVERO, N. *Insetos no Folclore*. São Paulo: Conselho Estadual de artes e Ciências Humanas. 518 p. 1979.

MULLA, M. S., GARBER, M. J. & ANDREWS, F.G. Control of *Hippelates* eye gnats with herbicidal oils. *J. Econ. Ent.* 59: 552 – 556. 1966.

NICHOLLS, L. The transmission of pathogenic microorganisms by flies in St. Lucia. *Bull. Ent. Res.* 3: 81 – 88. 1912.

PAYNE JR, W. J.; COLE JR, J. R.; SNODDY, E. L.; SEIBOLD, H.R. The eye gnat *Hippelates pusio* as a vector of bacterial conjunctivitis nursing rabbits as an animal model. *13: (4-5): 599 – 603.* 1977.

SABROSKY, C. & PAGANELLI, C.H. Family Chloropidae - *A catalogue of the Diptera of the Americas south of the United States*. *Mus. Zool. Univ. de São Paulo.* 81. 1-63. 1984

SABROSKY, C.W. Chloropidae. *In* McALPINE, J. F.; PETERSON, B. V.; SHEWELL, G.E.; TESKEY, H. J.; WOOD, VOCKEROTH, J. R.; WOOD, D. M. (eds.) *Manual of Nearctic Diptera*. Biosystematics research Centre, Agric. Canada, Monograph 28. 2: 1049 – 1067. 1987.

SANDERS, D. A. *Hippelates* flies as vector of bovine mastitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 97 (763): 306 – 308. 1940.

SCHELL, C. B. & BURGIN, S. *Batrachomyia strigapes* (Diptera) parasitism of *Uperoleia laevigata* (Anura). J. Parasitol. 87 (5): 1215 – 1216.

SCHNEIDER, A. An introduction report on pseudo-trachoma endemic in the Salton Sea region of California. Med. Sent. 35 (3) 154 – 161. 1927.

SKUSE, F.A.A. Description of a new genus (*Batrachomyia*, W. S. Macleay, M.S.), and two species of dipterous insects parasitic upon Australian frogs. Proc. Lin. Soc. N. S. Wal. 2 (4): 171 – 177. 1889d.

TAPLIN, D., ZAIAS, N. & REBELL, G. Infection by *Hippelates* flies. Lancet. 2: 472. 1967.

TONDELLA, M.L.C; PAGANELLI, C. H.; BORTOLOTTI, I. M.; TAKANO, O. A.; IRINO, K.; BRANDILEONE, M. C. C.; MEZZACAPANETO, B.; VIEIRA, U. S. D.; PERKINS, B. A. Isolamento de *Haemophilus aegyptius* associado à febre purpúrica brasileira, de Cloropídeos (Diptera) dos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates*. Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo. 36 (2): 105 – 109. 1994.

## 1.0 - CAPÍTULO 1:

### IDENTIFICAÇÃO DE MOSCAS DOS GÊNEROS

#### *HIPPELATES* LOEW e *LIOHIPPELATES* DUDA (DIPTERA: CHLOROPIDAE), OCORRENTES NO CAMPUS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS-SP.

### 1.1 – Resumo

Seis espécies dos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates* foram identificadas em amostras feitas no gramado localizado no Instituto de Biologia, UNICAMP (22.48.57° S; 47.03.33° L.), Campinas, no período de 1/05/98 a 05/04/99, em 6 coletas diárias, durante os primeiros 5 dias de cada mês. As espécies coletadas foram *Liohippelates peruanus* (Becker, 1912); *Liohippelates flavipes* (Loew, 1866); *Liohippelates nigrifrons* Duda, 1930; *Liohippelates tibialis* Duda, 1930; *Hippelates pseudodorsalis* Paganelli & Sabrosky, 1993 e *Hippelates coxipo* Paganelli & Sabrosky, 1993. Uma chave dicotômica para identificação de adultos destas espécies é apresentada.

### **Abstract**

Six species of the *Hippelates* and *Liohippelates* genera were identified in samples taken from lawn located in the Institute of Biology, UNICAMP in Campinas city (22.48.57° S; 47.03.33° E), from 1/05/98 to 05/04/99, six daily collections were done during the first 5 days of each month. The collected species were *Liohippelates peruanus* (Becker, 1912), *Liohippelates flavipes* (Loew, 1866), *Liohippelates nigrifrons* Duda, 1930, *Liohippelates tibialis* Duda, 1930, *Hippelates pseudodorsalis* Paganelli & Sabrosky, 1993 and *Hippelates coxipo* Paganelli & Sabrosky, 1993. An identification key for the adults of these species is provided.

### 1.2 - Introdução

Os insetos do gênero *Hippelates* Loew, 1863, são considerados vetores de microorganismos causadores da boubá (Nicholls 1912; Kumm *et al.* 1935) e da conjuntivite (Payne 1977), além de ser demonstrado que moscas desse gênero e *Musca domestica* L., são potenciais vetores da mastite bovina (Sanders 1940).

Schneider (1927) citou *Hippelates flavipes* (Loew), atualmente *Liohippelates*, e a *Musca domestica* (L.) como os principais transmissores da conjuntivite aguda endêmica na Califórnia, USA. Em 1933, Bengtson registrou que a ocorrência de conjuntivite aguda no

sudeste americano, causada por *Haemophilus aegyptius* (Kock-Weeks), teria sido amplamente transmitida pela mosca *Liohippelates pusio* (Loew). Davis & Pittman (1950) relataram a possível transmissão mecânica de *Haemophilus* sp. pela espécie *Liohippelates pusio*, visto que a incidência de conjuntivite parecia coincidir com a distribuição geográfica e a variação sazonal destes insetos. Os surtos de conjuntivite causados pelo *H. aegyptius* foram concomitantes com os picos de maior densidade de moscas da espécie *Liohippelates collusor* (Townsend) (Dawson 1960).

Após Pfeiffer ter descoberto *Haemophilus influenzae*; a diferenciação entre esta espécie e *Haemophilus aegyptius* tem sido muito confusa, embora os dois tenha sido descrito como causadores de conjuntivite aguda. Com a introdução de estudos filogenéticos, baseados em características fenotípicas, a separação destes dois organismos tem sido muito questionada (Kilian & Bibertein, 1917 *apud* Krieg & Holt, 1984; Mazloum *et al.*, 1982).

Estudos realizados utilizando as técnicas de hibridização de DNA, indicaram que *Haemophilus influenzae* e *Haemophilus aegyptius* são filogeneticamente uma única espécie (Albritton *et al.*, 1984; Brenner *et al.*, 1988; Casin *et al.*, 1986).

Embora certas características fenotípicas tenham sido utilizadas para caracterização entre *Haemophilus influenzae* e *Haemophilus aegyptius*, mas que entretanto, as espécies são muito idênticas filogeneticamente quando estudado pelo método de hibridização de DNA, foi verificado que *Haemophilus aegyptius* aparece causando somente uma conjuntivite primária, altamente contagiosa porém localizada de forma restrita a conjuntiva, e não invasiva como aqueles espécimes fenotipicamente separados como *Haemophilus influenzae*, havendo portanto diferenças nas formas clínicas entre as duas espécies (Bengston, 1933; Pittman & Davis, 1950; Brenner *et al.*, 1988).

Para explicar o fato de que os dois organismos não podem ser separados filogeneticamente, mas apresentam formas clínicas diferentes, o nome *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius* tem sido usado no lugar de *Haemophilus aegyptius* (Brenner *et al.*, 1988).

No entanto, Tondella *et al.* (1994) isolaram *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius*, bactérias causadoras da Febre Púrpúrica Brasileira, tanto em moscas do gênero *Liohippelates* como do gênero *Hippelates*, a partir de moscas coletadas ao redor dos olhos de crianças, sendo as espécies transmissoras *L. peruanus* (Becker) e *H. neproboscideus* Paganelli & Sabrosky. Com o objetivo de verificar as espécies ocorrentes no *campus* da

Universidade Estadual de Campinas, foram coletadas 6 amostras diárias, sendo coletadas entre estas as seguintes espécies: *Liohippelates peruanus* (Becker, 1912); *Liohippelates flavipes* (Loew, 1866); *Liohippelates nigrifrons* Duda, 1930; *Liohippelates tibialis* Duda, 1930; *Hippelates pseudodorsalis* Paganelli & Sabrosky, 1993 e *Hippelates coxipo* Paganelli & Sabrosky, 1993. Foi proposta uma chave dicotômica para identificação destas espécies.

### **1.3 - Material e Métodos**

Os espécimes de cloropídeos foram coletados utilizando-se isca animal em um modelo de armadilha modificado de Thinkan & Dow, conforme descrito por Axtell & Edwards (1970). A captura dos insetos neste tipo de armadilha baseia-se no comportamento de fototropismo positivo, onde observa-se a tendência das moscas iniciar seu voo sempre de forma ascendente.

Foram construídas 9 armadilhas modificadas e distribuídas em disposição de Quadrado Latino 3X3, conforme Zar (1999). As armadilhas foram montadas em altura de 40 cm do chão, utilizando-se três tipos de isca animal: rato eviscerado, peixe eviscerado e vísceras de frango.

Além disso, durante os 5 primeiros dias de cada mês do período de 1/05/98 a 05/04/99, foram realizadas 6 coletas diárias no gramado localizado no Instituto de Biologia da UNICAMP, em intervalos de 2 horas. Posteriormente as amostras foram triadas, separando-se as morfo-espécies, que posteriormente foram identificadas, conforme Paganelli & Sabrosky, 1993 e confirmados pela doutora Celuta Paganelli, consultora em entomologia e diretora da ENBIO – Ensaios Biológicos e Aplicações Ltda.

#### **1.3.1 – Material Testemunho**

O material testemunho (adultos) foi depositado no Museu de História Natural do Instituto de Biologia da UNICAMP.

## 1.4 – Resultados

Foram coletados 06 (seis) espécies de cloropídeos, 04 (quatro) pertencente ao gênero *Liohippelates* e 02 (duas) ao gênero *Hippelates*.

### 1.4.1 - Redescrição das espécies

#### 1.4.1.1 – Gênero *Liohippelates* Duda

**a)** *Liohippelates peruanus* (Becker): Macho: triângulo ocelar com a margem castanho avermelhada (Fig. 1.6), o primeiro e segundo tergitos amarelos, (Fig. 1.4), sendo que somente outros 3 tergitos apresentam faixa de cor castanho escura; gena amarela; prosterno amarelo; todas as pernas amarelas, sendo os últimos metatarsos castanhos de tom mais escuro. Uma discreta mancha no segundo terço da tíbia posterior (Fig. 1.5). O esporão tibial da tíbia posterior é curto. As fêmeas possuem uma mancha escura no terceiro segmento da antena), localizada na base da arista (Fig. 1.4); possui 4 tergitos formando 4 listas nas fêmeas, no macho são 3 (Fig. 1.7) de cor castanho escura na parte dorsal de seu abdômen.

**b)** *Liohippelates flavipes* (Loew): Triângulo ocelar preto, brilhante, com margens côncavas, ocupando grande parte da frente (Fig. 1.13). Prosterno preto, tórax preto brilhante, gena preta (Fig. 1.11 e 1.13), possuem todas as pernas amarelas bem claras, esporão tibial posterior curvo e curto (Fig. 1.11 e 1.12).

**c)** *Liohippelates nigrifrons* Duda: Triângulo ocelar bem desenvolvido, preto brilhante, com margens retas, frente negra acetinada com margem anterior amarela (Fig. 1.10). Coxas pretas, fêmures pretos com pequena extremidade distal castanha. Tíbias e tarsos anteriores e medianos com os dois últimos artículos castanhos; tíbia posterior de cor preta com a parte anterior amarela e parte distal castanha com um esporão grande e curvo (Fig. 1.8 a 1.10).

**d)** *Liohippelates tibialis* Duda: Triângulo ocelar castanho escuro a preto, com margens ligeiramente convexas, atingindo  $\frac{3}{4}$  do comprimento da frente (Fig. 1.3). Pernas posteriores com fêmur amarelo, tíbia com uma mancha preta ocupando  $\frac{3}{4}$  do segmento, apresentando um grande esporão tibial (Fig. 1.2). Pernas anteriores apresentando todos os segmentos tarsais com cor castanho escuro, sendo que nas demais, apresentam as pernas com todos

os segmentos amarelos, com exceção dos metatarsos, que também se apresentam em tom castanho escuro (Fig 1.1 e 1.2).

#### **1.4.1.2 – Gênero *Hippelates* Loew**

**a)** *Hippelates pseudodorsalis* Paganelli & Sabrosky: Triângulo ocelar do macho com a extremidade lateral levemente curvado para fora (Fig. 1.19). Fêmeas com a extremidade lateral do triângulo ocelar côncava (Fig. 1.18). Notopleura, calo humeral e escutelo amarelo avermelhado, mesonoto castanho, pernas com os segmentos de cor amarelo, pernas posteriores com esporão tibial curvado (Fig. 1.17).

**b)** *Hippelates coxipo* Paganelli & Sabrosky: Vértice do triângulo ocelar atingindo a metade da frente (Fig. 1.16); frente amarela. Todas as pernas amarelas, sendo que o par posterior apresenta um grande esporão tibial. Fêmur posterior infuscado medianamente, com distinta faixa castanha, ocupando a parte mediana do segmento. Escutelo e calo humeral amarelo (Fig. 1.14 e 1.15)

#### **1.4.2 - Distribuição das espécies**

A distribuição das espécies está descrita fundamentando-se no trabalho de Sabrosky & Paganelli, 1984.

##### **1.4.2.1 – Gênero *Liohippelates***

**a)** *Liohippelates peruanus* (Becker), 1912a: 170 - Localidades típicas: Peru, Vilcanota; Argentina, San Pablo; Paraguai, Assunção. Distribuição: Estados Unidos (Florida), México (Morelos, Tamaulipas, Veracruz), Guatemala, Nicarágua, Costa Rica, Bahamas, Cuba, Jamaica, Haiti, República Dominicana, Porto Rico, Ilhas Virgens, Guadalupe, Trinidad, Tobago, Colômbia, Venezuela, Equador, Peru, Bolívia, Brasil (Ceará, Pará, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Bahia, Piauí, Paraíba, Rio de Janeiro, Santa Catarina, São Paulo), Paraguai, Argentina (Chaco, Corrientes, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Tucumán).

**b)** *Liohippelates flavipes* (Loew), 1863. Localidade típica: "Cuba". Distribuição - U.S.A. (Texas, Georgia e Flórida), México (Baja California, Oaxaca, Nayarit, Tabastabasco e Veracruz), Guatemala, El Salvador, Nicarágua, Costa Rica, Bahamas, Cuba, Jamaica, Porto Rico,

Dominica, Martinique, St. Vincent, Colômbia, Venezuela, Equador, Peru, Chile, Brasil (Bahia, Ceará, Mato Grosso, Pará, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Paraná), Paraguai, Argentina (Tucumán).

**c)** *Liohippelates nigrifrons* Duda, 1930 - Localidade típica: Paraguai (Hohenau) e Brasil (Rio de Janeiro, Petrópolis).

**d)** *Liohippelates tibialis* Duda, 1930. Localidade típica: Peru (Chanchamayo e Meshagua Rio Urubamba). Distribuição: Guatemala, Panamá, Jamaica, Porto Rico, Colômbia, Equador, Peru, Brasil (Ceará, Rio de Janeiro, São Paulo e Pará), Paraguai, Argentina (Misiones).

#### 1.4.2.2 – Gênero *Hippelates*

**a)** *Hippelates pseudodorsalis* Paganelli & Sabrosky (1993). Localidade típica: Brasil (São Paulo, Rio de Janeiro e Mato Grosso).

**b)** *Hippelates coxipo* Paganelli & Sabrosky (1993). Localidade típica: Brasil (Mato Grosso, Pernambuco, Rio de Janeiro e São Paulo).

#### 1.4.3 - Chave para Identificação de Moscas dos Gêneros *Hippelates* e *Liohippelates* do município de Campinas – SP (modificado de Paganelli & Sabrosky, 1993)

**1** - Triângulo ocelar e dorso do tórax opacos, com micropilosidade de tom cinzento, o triângulo com manchas negras em algumas espécies, esporão tibial longo e curvo maior ou igual a metade do comprimento da tibia (*Hippelates*).....**2**

- Triângulo ocelar e dorso do tórax muito brilhantes, polidos e negros, exceto em alguns locais interrompidos com furos de inserção de cerdas, esporão tibial menor que a metade do comprimento da tibia (*Liohippelates*).....**3**

**2** - Fêmur e tíbias posteriores completamente amarelas.....*Hippelates pseudodorsalis*

- Fêmur e tíbias posteriores com manchas em tom cinza escuro medialmente.....*Hippelates coxipo*

**3** – Prosterno amarelo, triângulo ocelar alongado e estreito, com laterais côncavas, lateralmente avermelhado, especialmente em machos, esporão da tíbia posterior reto e curto, pouco menor ao diâmetro da base da tíbia, gena amarela.....*Liohippelates peruanus*

- Prosterno preto, vértice da tíbia posterior distalmente angulado, tíbia de cor amarela na parte distal e proximal.....**4**

**4** – Vértice da tíbia posterior distalmente angulado apresentando um esporão tibial curto e curvo, prosterno preto, mesonoto preto e brilhante, todas as pernas amarelas bem claras, gena preta e brilhante.....*Liohippelates flavipes*

- Vértice da tíbia posterior em forma angular, tíbia posterior apresentando tons de cor preta.....**5**

**5** - Fêmur posterior amarelo, tíbia posterior preta até o ápice, amarelado na base, apresentando um grande esporão tibial semi-curvo, tarsos posteriores castanho escuro.....*Liohippelates tibialis*

- Fêmur posterior preto, com tom castanho claro nas extremidades, tíbia posterior com uma extensa mancha castanho escuro, sendo as extremidades de cor castanho claro, apresentando um grande esporão tibial curvo, tarsos posteriores castanho escuro nos dois últimos segmentos.....*Liohippelates nigrifrons*



**Figura 1.1** – Fêmea de *Liohippelates tibialis*



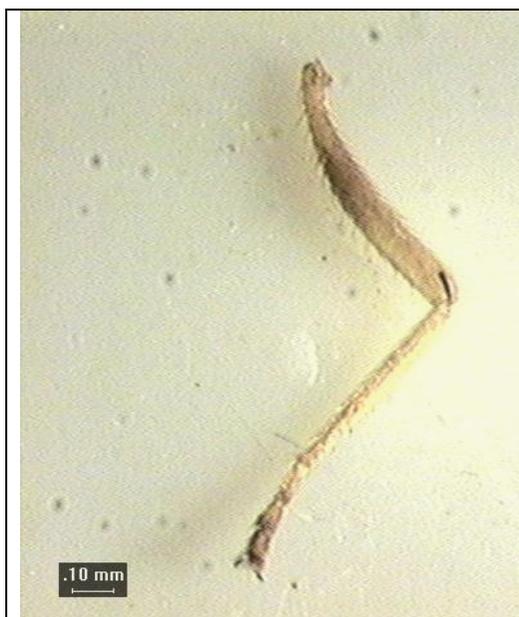
**Figura 1.2** – Detalhe da perna posterior de fêmea de *Liohippelates tibialis*



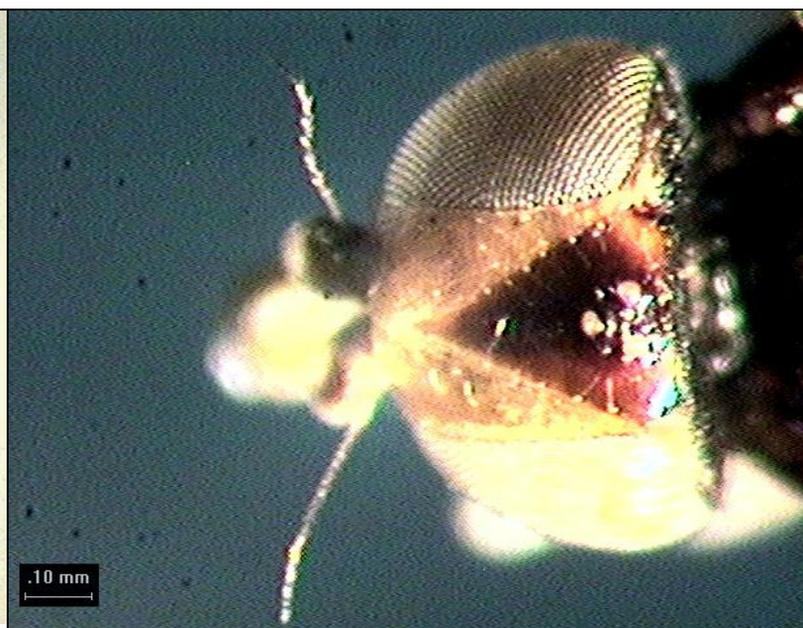
**Figura 1.3** – Triângulo ocelar de fêmea de *Liohippelates tibialis*



**Figura 1.4** – Fêmea de *Liohippelates peruanus*



**Figura 1.5** – Detalhe da perna posterior de fêmea de *Liohippelates peruanus*



**Figura 1.6** – Triângulo ocelar de fêmea de *Liohippelates peruanus*



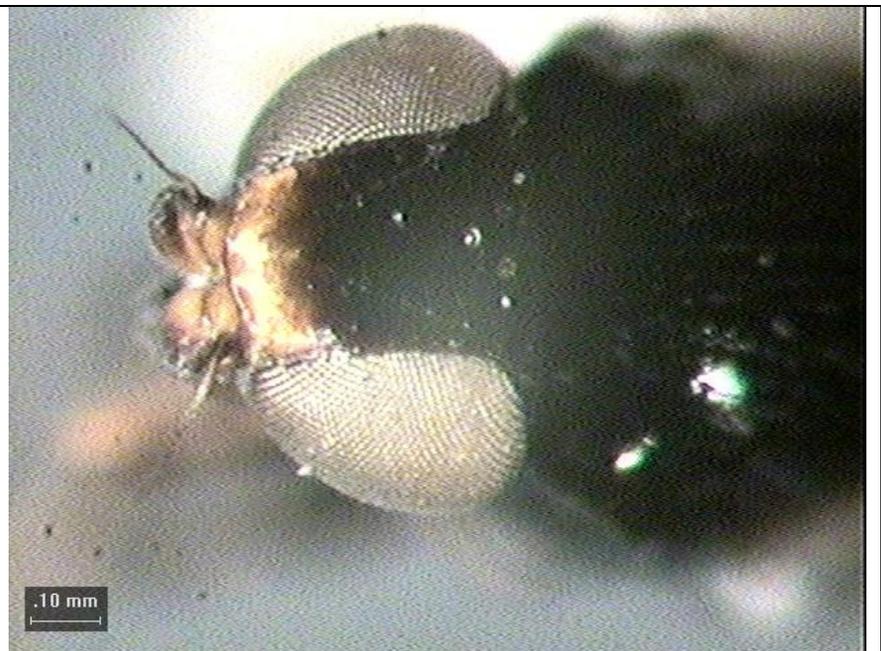
**Figura 1.7** – Macho de *Liohippelates peruanus*. Seta indica ausência da mancha castanho escuro no tergito.



**Figura 1.8** – Fêmea de *Liohippelates nigrifrons*



**Figura 1.9** – Detalhe da perna posterior de fêmea de *Liohippelates nigrifrons*



**Figura 1.10** – Triângulo ocelar de fêmea de *Liohippelates nigrifrons*



**Figura 1.11** – Fêmea de *Liohippelates flavipes*



**Figura 1.12** – Detalhe da perna posterior de fêmea de *Liohippelates flavipes*



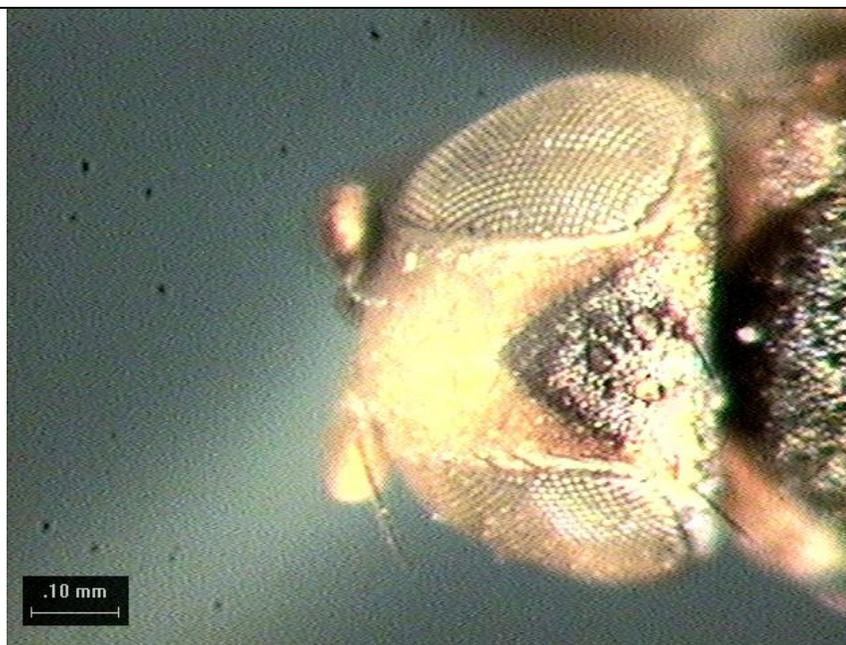
**Figura 1.13** – Triângulo ocelar de fêmea de *Liohippelates flavipes*



**Figura 1.14** – Fêmea de *Hippelates coxipo*



**Figura 1.15** – Detalhe da perna posterior de fêmea de *Hippelates coxipo*



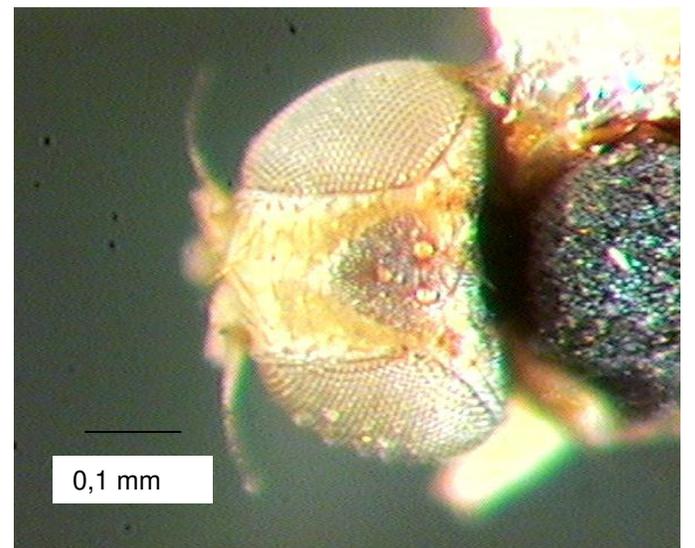
**Figura 1.16** – Triângulo ocelar de fêmea de *Hippelates coxipo*



**Figura 1.17** – Macho de *Hippelates pseudodorsalis*



**Figura 1.18** – Triângulo ocelar de **fêmea** de *Hippelates pseudodorsalis*



**Figura 1.19** – Triângulo ocelar de **macho** de *Hippelates pseudodorsalis*

## 1.5 - Discussão

No Brasil, muito pouco tem sido publicado sobre cloropídeos, sendo que a primeira citação coube a Gabriel Soares de Souza e está contida no “Tratado Descritivo do Brasil” em 1587; que no primeiro parágrafo do capítulo XCIII, que trata dos mosquitos, grilos, besouros e brocas da Bahia cita: “Digamos logo dos mosquitos a que chamam Nhitinga, e são muito pequenos e da feição das moscas, os quais não mordem, mas são muito enfadonhos, porque se põem nos olhos, narizes; e não deixam dormir de dia no campo, se não faz vento. Estes são amigos das chagas, e chupam-lhe a peçonha que tem, e se se vão pôr em qualquer ‘coçadura’ de pessoa sã, deixam-lhe a peçonha nela, do que se vem muitas pessoas a encher de boubas”. De acordo com Forattini (1962) o autor quinhentista luzitano referia-se com toda certeza aos dípteros da família Chloropidae, vulgarmente denominados “*lambe olhos*”.

Guimarães *et al.* (2001) afirmam que poucos estudos foram realizados sobre esta família no Brasil, afirmando que algumas espécies de *Hippelates sensu lato* foram apontadas como vetoras da bouba (*Framboesia tropica*, *Polypapiloma tropicum*) causada pela espiroqueta *Treponema pertenue* (Castellani). Coutinho (1957) citou *Hippelates pallipes* (Loew) baseado nas descrições de Henry W. Kumm em 1934, na Jamaica, na tentativa de descrever o vetor responsável na transmissão da bouba entre humanos no nordeste brasileiro, principalmente no estado de Ceará. No entanto, a citação da referida espécie é verificada para descrições baseadas em observações entomológicas realizadas na América Central, principalmente Cuba e também na América do Norte, sendo que nos Estados Unidos, a espécie é zoogeograficamente endêmica nos estados de Utah, Texas, Flórida e Califórnia (Sabosky 1965). No entanto, Sabrosky & Paganelli (1984) citam a espécie, porém já como *Liohippelates pallipes* (Loew) e tendo como localidade típica Cuba, tendo distribuição também no oeste dos Estados Unidos.

Pacheco (1971) descreveu detalhadamente duas espécies coletadas no Rio de Janeiro, sendo as espécies descritas como *Hippelates tibialis* (Duda, 1930) e *Hippelates currani* Aldrich, 1931. A espécie *Hippelates tibialis* foi anteriormente descrita como *Liohippelates tibialis* Duda, 1930. Assim, antes da redescritção de Duda, a espécie era pertencente ao gênero *Hippelates* e identificada como *Hippelates tibialis* Kumm, 1936. Posteriormente, após a caracterização do gênero *Liohippelates*, Sabrosky & Paganelli (1984) listaram a referida espécie como *Liohippelates tibialis* Duda, 1930.

De acordo com Pacheco (1971) a espécie *Hippelates currani* Aldrich, 1931 já havia sido descrita como *Hippelates collusor*, Curran, 1926 e *Hippelates bicolor* Curran, 1928. No entanto esta espécie é atualmente descrita como *Liohippелates currani* (Aldrich, 1931), conforme Sabrosky & Paganelli (1984).

Pacheco (1977) fez a redescrição de *Hippelates annulatus* Enderlein, 1911 e *Hippelates femoralis* (Duda, 1930). No entanto, atualmente a primeira espécie continua sendo listada dentro do gênero *Hippelates*, porém *Hippelates femoralis* é listada atualmente como *Liohippелates femoralis* (Duda, 1929), conforme ainda Sabrosky & Paganelli (1984).

Com o advento da febre purpúrica brasileira, os cloropídeos passaram a ter ainda maior importância sanitária, sendo que Paganelli & Sabrosky (1993) descrevem 5 novas espécies de *Hippelates*, sendo *Hippelates neoproboscideus* Paganelli & Sabrosky ,1993; *Hippelates carrerai* Paganelli & Sabrosky ,1993; *Hippelates parvicar* Paganelli & Sabrosky ,1993; *Hippelates pseudodorsalis* Paganelli & Sabrosky ,1993 e *Hippelates coxipo* Paganelli & Sabrosky ,1993. Além destes, no mesmo trabalho, os autores fazem a redescrição de *Liohippелates tibialis* (Duda), *Liohippелates currani* (Aldrich) e *Liohippелates peruanus* (Becker). Foi então apresentada uma chave de identificação. Tondella *et al.* (1994) encontraram a espécie *Hippelates neoproboscideus*, recentemente descrita e também *Liohippелates peruanus* com positividade para a bactéria *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius*, responsável pela Febre purpúrica brasileira (FPB). Tal fato determinou uma grande importância para a família Chloropidae, além de que estes são responsáveis também pela transmissão mecânica de *Haemophilus aegyptius*, causador da conjuntivite, já descrito por Payne *et al.* (1977), que experimentalmente provaram a transmissão utilizando-se de coelhos como modelo.

Atualmente, torna-se necessário também verificar se em regiões de gado leiteiro com casos de mastite bovina, se ocorrem espécies de cloropídeos envolvidas, possibilidade que já foi constatada por Sanders (1940), pois nenhum trabalho foi feito no Brasil para averiguar tal fato.

## 1.6 - Conclusões

Foram encontradas seis espécies de Chloropidae pertencentes aos gêneros *Hippelates* e *Hippelates*, no *campus* da Universidade Estadual de Campinas, sendo: *Liohippelates peruanus* (Becker, 1912); *Liohippelates flavipes* (Loew, 1866); *Liohippelates nigrifrons* Duda, 1930; *Liohippelates tibialis* Duda, 1930; *Hippelates pseudodorsalis* Paganelli & Sabrosky, 1993 e *Hippelates coxipo* Paganelli & Sabrosky, 1993.

## **Agradecimentos**

À Dra Celuta H. Paganelli, pela grande colaboração na identificação das espécies, assim como aos Técnicos de laboratório João e Ivo por terem fornecido as iscas animais para realização das coletas.

## 1.7 – Referências bibliográficas

ALBRITTON, W. L.; SETLOW, J.L. THOMAS, M. SOTTNEK, F. & STEIGERWALT, A. G. Heterospecific transformation of genus *Haemophilus*. Mol. Gen. Genet. 193: 358 – 363. 1984.

AXTELL, R. C. & EDWARDS, T. D. Seasonal populations of *Hippelates* gnats in North Carolina. Ann. Ent. Soc. Am. 63 (4): 1049 – 1053. 1970.

BENGTSON, I. A. Seasonal acute conjunctivitis occurring in the southern states. Publ. Health Rep. 48: 917 – 926. 1933.

BRENNER, D. J.; MAYER, L. W.; CARLONE, G. M.; HARRISON, L. H.; BIBB, W. F.; BRANDILEONE, M. C. C.; SOTTNEK, F. O.; IRINO, K.; REEVES, M.W.; SWENSON, J. M.; BIRKNESS, K. A.; WEYANT, R. S.; BERKLEY, S. F.; WOODS, T. C.; STEIGERWALT, A. G.; GRIMONT, P. A. D.; McKINNEY, R. M.; FLEMING, D. W.; GHEESLING, L. L.; COOKSY, R. C.; ARKO, R. J.; BROOME, C. V. AND THE BRAZILIAN PURPURIC FEVER STUDY GROUP. Biochemical, genetic and epidemiologic characterization of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius* (*Haemophilus aegyptius*) strains associated with Brazilian purpuric fever. J. Clin. Microbiol. 26: 1524 – 1534. 1988.

CASIN, I.; GRIMONT, F.; GRIMONT, P. A. D. Deoxyribonucleic acid relatedness between *Haemophilus aegyptius* and *Haemophilus influenzae*. Ann. Inst. Pasteur Microbiol. 137(b): 155 – 163. 1986.

COUTINHO, E. *Tratado de Clínica das doenças infectuosas, parasitárias e peçonhentas*. Koogan, Rio de Janeiro. 835 pp. 1957.

DAVIS, D. J. & PITTMAN, M. Acute conjunctivitis caused by *Haemophilus*. Am. J. Dis. Child. 79: 211-219. 1950.

DAWSON, C. R. Epidemic Koch-Weeks conjunctivitis and trachoma: in the Coachella Valley of California. *Am. J. Ophthalm.* 49: 801-808. 1960.

FORATINI, O. P. *Entomologia Médica*, vol 1. Faculdade de Higiene e Saúde Pública, Depto de Parasitologia. São Paulo. 662 pp. 1962.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C. & BARROS-BATTESTI, D. M. Ectoparasitos de importância veterinária. São Paulo, Plêiade/FAPESP. 218 pp. 2001.

KILIAN, M.; & BIBERSTEIN, E. L. *Haemophilus* Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers, and Smith, 1917, p. 558 – 569; *apud* Krieg, N. R. & Holt, J. G (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*. The Williams & Wilkins Co. Baltimore. Vol. 1. 1984.

KUMM, H. W.; TURNER, T. B.; PEAT, A. A. The duration of the mobility of spirochaetes of yaws in a small west Indian fly – *Hippelates pallipes* Loew. *Am. J. Trop. Med.* 15: 209 – 223. 1935.

MAZLOUM, H. A.; KILIAN, M.; MOHAMED, Z. M.; SAID, M. D. Differentiation of *Haemophilus aegyptius* and *Haemophilus influenzae*. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. B.* 90: 109 – 112. 1982.

NICHOLLS, L. The transmission of pathogenic microorganisms by flies in St. Lucia. *Bull. Ent. Res.* 3: 81 – 88. 1912.

PACHECO, S. Sobre duas espécies neotrópicas do gênero *Hippelates* Loew, 1863 (Diptera, Chloropidae). *Rev. Bras. Biol.* 31(4): 441-446. 1971.

PACHECO, S. Redescrição de *Hippelates annulatus* End., 1911 e *Hippelates femoralis* (Duda, 1930) (Diptera: Chloropidae). *Rev. Bras. Biol.* 37: 125 – 130. 1977.

PAGANELLI, C. H. & SABROSKY, C. W. *Hippelates* flies (Diptera: Chloropidae) possibly associated with Brazilian purpuric fever. Proc. Ent. Soc. Wash. 95 (2): 165 – 174. 1993.

PAYNE JR, W. J.; COLE JR, J. R.; SNODDY, E. L.; SEIBOLD, H.R. The eye gnat *Hippelates pusio* as a vector of bacterial conjunctivitis nursing rabbits as an animal model. J. Med. Ent. 13: (4-5): 599 – 603. 1977.

PITTMAN, M. & DAVIS, D. J. Identification of the Koch-Weeks bacillus (*Haemophilus aegyptius*). J. Bacteriol. 59: 413 – 426. 1950.

SABROSKY, C. W. Chloropidae. pp. 773 – 793. In Stone, A. et al. eds., *A catalog of the Diptera of America north of Mexico*. Washington, D.C. Agr. Handbook, 276: IV + 1696 p. 1965.

SABROSKY, C. & PAGANELLI, C.H. Family Chloropidae - *A catalogue of the Diptera of the Americas south of the United States*. Mus. Zool. Univ. de São Paulo. 81. 1-63. 1984.

SANDERS, D. *Hippelates* flies as vector of bovine mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 97 (763): 306 – 308. 1940.

SCHNEIDER, A. An introduction report on pseudo-trachoma endemic in the Salton Sea region of California. Med. Sent. 35 (3) 154 – 161. 1927.

TONDELLA, M.L.C; PAGANELLI, C. H.; BORTOLOTTI, I. M.; TAKANO, O. A.; IRINO, K.; BRANDILEONE, M. C. C.; MEZZACAPANETO, B.; VIEIRA, U. S. D.; PERKINS, B. A. Isolamento de *Haemophilus aegyptius* associado à febre purpúrica brasileira, de Cloropídeos (Diptera) dos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates*. Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo. 36 (2): 105 – 109. 1994.

ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. 4<sup>th</sup> ed. Prentice Hall. New Jersey. 661 pp + 212 app. 1999.

## 2.0 - CAPÍTULO 2:

### SAZONALIDADE, PERÍODO DE ATIVIDADE E PREFERÊNCIA ALIMENTAR DE CLOROPÍDEOS (DIPTERA: CHLOROPIDAE) EM AMOSTRAGENS REALIZADAS NO *CAMPUS* DA UNIVERSIDADE DE CAMPINAS – SP.

#### 2.1 - Resumo

Durante o período de 01/05/98 a 05/04/99, foram realizadas coletas mensais com armadilhas de Tinkhan & Down modificadas, dispostas em forma de quadrado latino 3x3, tendo em vista o estudo de alguns aspectos ecológicos de espécies de Chloropidae (Insecta:Diptera) ocorrentes no *campus* da Universidade Estadual de Campinas, distrito de Barão Geraldo (22.48.57º S.; 47.03.33º L.) considerando-se a sazonalidade, preferência por tipo de iscas e período de atividade durante o dia. Durante o período das amostras foram identificados 7 gêneros: *Apallates* sp., *Conioscinella* sp., *Monochaetoscinella* sp. e uma espécie não identificada, a qual foi designada Morfo-espécie 06. As espécies coletadas e identificadas foram: *Elachiptera sacculicornis*, *Hippelates coxipo*, *Hippelates pseudodorsalis*, *Liohippelates flavipes*, *Liohippelates nigrifrons*, *Liohippelates peruanus* e *Liohippelates tibialis*. As coletas foram realizadas nos 5 primeiros dias de cada mês. As armadilhas foram montadas utilizando-se 3 tipos de iscas: peixe eviscerado, rato eviscerado e vísceras de frango. Os dados foram considerados em períodos sazonais: outono/1998, inverno/1998, primavera/1998, verão/1998-1999 e o número de cloropídeos coletados por este método entre todas as espécies foi de 6.488 machos e 19.503 fêmeas, em uma proporção sexual aproximada de 3:1 (fêmea : macho). A primavera foi o período sazonal que apresentou maior número de indivíduos coletados, com 7696 fêmeas e 2254 indivíduos machos, enquanto que a estação de outono apresentou menor número de indivíduos coletados: 3385 fêmeas e 1375 machos. O número de indivíduos coletados durante a primavera mostrou-se significativamente diferente de outros períodos sazonais. Os resultados mostram que a maioria das espécies possuem maior atividade nas primeiras horas da manhã (entre 6:00 h até 10:00 h) e no período vespertino (entre 16:00 h e 18:00 h), sendo que não houve diferença significativa entre a primeira, penúltima e última coleta realizadas ao longo do dia, quando verificados pelo teste de Tukey. As armadilhas montadas em iscas produzidas a

partir de rato eviscerado mostrou-se significativamente melhor entre as demais iscas para a maioria das espécies de cloropídeos coletados.

### **Abstract**

During the period from 01/05/98 to 05/04/99, monthly collections were done in modified of Tinkhan & Dow traps, disposed in as a 3x3 Latin square, with the objective of collecting species of Chloropidae (Insecta:Diptera) with occurrence in the *campus* of the State University of Campinas distrito de Barão Geraldo (22.48.57° S.; 47.03.33° E.), being considered the seasonality, preference for type of baits and activity period during the day. Seven species were identified, three of than identified as morphospecies: *Apallates* sp, *Conioscinella* sp, *Monochaetoscinella* sp and a non identified species, which was designated as morphospecies 6. The collected and identified species were: *Elachiptera sacculicornis*, *Hippelates coxipo*, *Hippelates pseudodorsalis*, *Liohippelates flavipes*, *Liohippelates nigrifrons*, *Liohippelates peruanus* and *Liohippelates tibialis*. The collections were done in the first 5 days of every month. The traps were mounted with 3 types of baits: eviscerated fish, eviscerated mouse and chicken viscera. The data were analysed by seasonal period: autumn /1998, winter /1998, spring /1998, summer 1998-1999 and the total number of frit fries collected by this method was of 6.488 males and 19.503 females, with an approximate sex ratio of 3:1 (female: male). the spring was the seasonal period that presented the largest numbers of collected individuals, with 7696 females and 2254 males, while in the autumn the number of collected individuals was the smallest: 3385 females and 1375 males. The difference in individuals collected during the spring was significant in comparison with other periods. The results show that most species are more active in the first hours of the morning (from 6:00 h up to 10:00 h) and in the evening (between 16:00 h and 18:00 h), and there was no significant among the first, next to the last collections done during the day.

## **2.2 – Introdução**

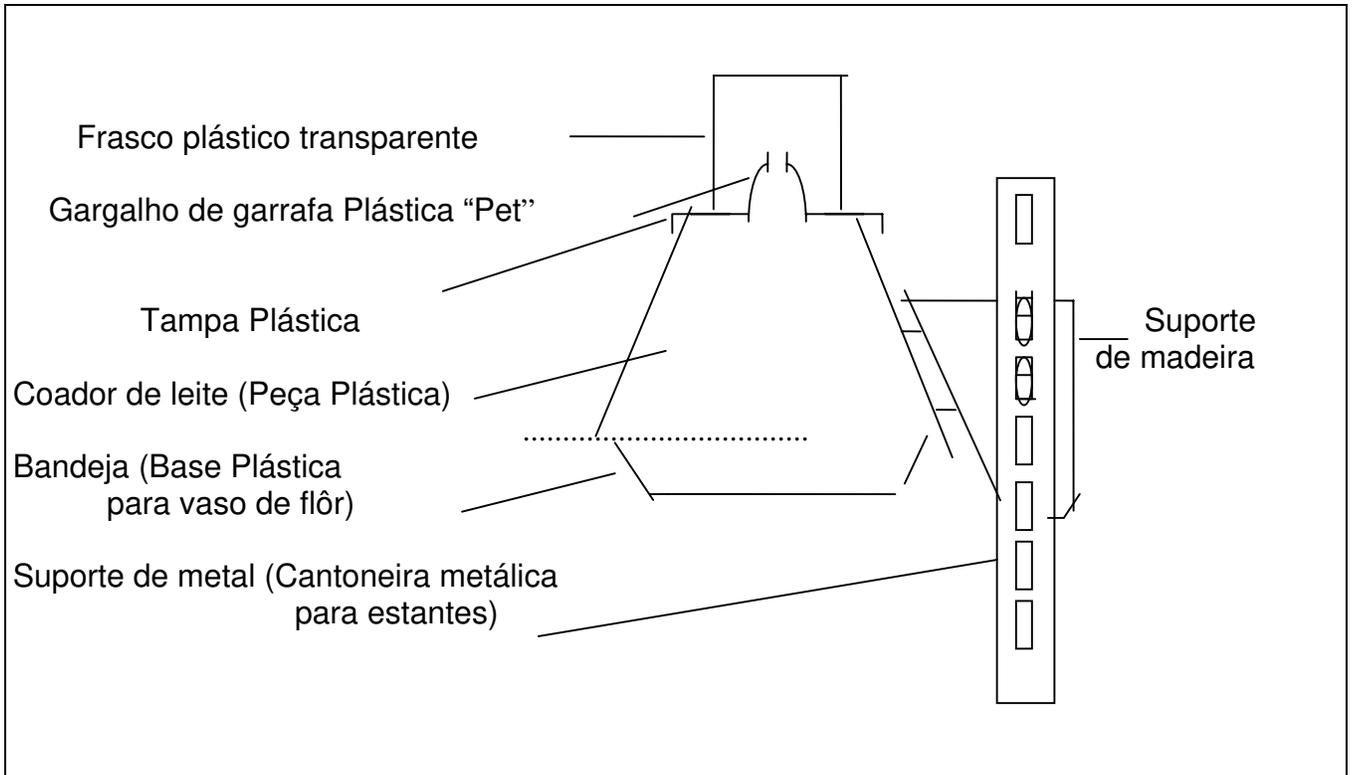
Os adultos de Chloropidae, também chamados vulgarmente como mosquinha-lambe-olho ou mosquito-ramela (Carrera 1991; Lenko & Papavero 1979), são muito comuns e abundantes em material vegetal em decomposição. Algumas espécies são freqüentes em flores, enquanto outros incomodam o homem e animais pelo comportamento de pousar nos olhos ou orelhas e também por alimentar-se em secreções corporais como feridas ou

ferimentos abertos (Sabrosky 1987). No Brasil são muito abundantes dois gêneros de Chloropidae: *Hippelates* Loew e *Liohippelates* Duda, sendo estes potenciais transmissores de patógenos ao homem e animais, tendo portanto grande importância médica e veterinária, sendo transmissores de: conjuntivites (Schneider 1927; Bengtson 1933; Tinkham 1953, Payne *et al.* 1977), encefalites como Febre Purpúrica Brasileira (Paganelli & Sabrosky 1993; Tondella *et al.* 1994), de bactérias como *Treponema pertenue*, causadora da boubá (Kumm *et al.* 1935; Nicholls 1912) e mastite bovina (Sanders 1940). Insetos destes dois gêneros possuem hábitos de voar persistentemente sobre o rosto, incomodando muito trabalhadores rurais e pessoas que procuram locais que concentram vegetação, principalmente em locais gramados, como hotéis, campos de golfe, área de lazer, parques *etc.* Dependendo do horário, estes cloropídeos são abundantes também no interior de recintos domiciliares e áreas de escolas. Taylor & Olinger (1958) afirmam que a umidade do solo consiste em um fator preponderante para oviposição, sendo que solos contendo entre 5% e 15% de umidade mostraram-se como os mais preferidos. A quantidade de indivíduos coletados em amostras, pode estar correlacionada com os parâmetros ambientais, especialmente chuva e temperatura, sendo necessário seu conhecimento a fim de se predizer sua abundância (Karandinos & Axtell 1967a,b; Spielman 1962). Durante 12 meses, entre o 1º e 5º dias úteis, foram realizadas 6 amostras diárias, utilizando a armadilha de Thinkan & Dow (modificada) com o propósito verificar as espécies principalmente dos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates* ocorrentes em Campinas, assim como a sazonalidade, preferência por iscas, o período de atividade e a razão sexual. Os dados obtidos poderão ser de grande contribuição para futuros levantamentos faunísticos destes dois gêneros.

### 2.3 – Material e métodos

O presente estudo foi realizado durante o período de 1/05/98 a 05/04/99, no gramado do campus do Instituto de Biologia da UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas (22.48.57º S.; 47.03.33º L.), no estado de São Paulo.

A armadilha utilizada para amostragem de cloropídeos, utilizando-se isca animal foi um modelo modificado de Tinkhan & Dow (Axtell & Edwards, 1970). A coleta dos insetos baseiou-se no comportamento de fototropismo positivo, onde observa-se a tendência das moscas iniciarem seu vôo sempre de forma ascendente. A armadilha foi construída conforme esquema da figura 2.1:



**Figura 2.1 (a)**- Armadilha para amostragem de Chloropidae e outros Diptera utilizando isca animal



**Figura 2.1(b)** - Fotografia da Armadilha para amostragem de Chloropidae e outros Diptera utilizando isca animal

Foram construídas 9 armadilhas modificadas que foram distribuídas em disposição de Quadrado Latino 3X3, conforme Zar (1999). As armadilhas foram montadas em altura de 40 cm do chão, utilizando-se três tipos de isca animal: rato eviscerado, peixe eviscerado e vísceras de frango.

Durante os 5 primeiros dia de cada mês do período de 1/05/98 a 05/04/99, foram realizadas 6 coletas diárias, sistematicamente em intervalos de 2 horas, distribuídas conforme apresentado na Tabela 2.1:

**Tabela 2.1** – Intervalos de Exposição das armadilhas de Tinkhan & Dow

<b>Coleta</b>	<b>Horário de exposição</b>	<b>Horário da coleta</b>
<b>1<sup>a</sup></b>	6:00 – 8:00 hs	8:00 hs
<b>2<sup>a</sup></b>	8:00 – 10:00 hs	10:00 hs
<b>3<sup>a</sup></b>	10:00 – 12:00 hs	12:00 hs
<b>4<sup>a</sup></b>	12:00 – 14:00 hs	14:00 hs
<b>5<sup>a</sup></b>	14:00 – 16:00 hs	16:00 hs
<b>6<sup>a</sup></b>	16:00 – 18:00 hs	18:00 hs

As coletas foram realizadas utilizando-se um saco plástico transparente que em um primeiro momento, então, “vestia” completamente o compartimento da armadilha, onde estavam as moscas capturadas e que era intercambiável. Após conter o frasco, o mesmo era retirado e rapidamente eram feitas duas voltas no ar, ficando as moscas e o frasco no fundo do saco, que era então amarrado na boca, aprisionando as moscas. Posteriormente, o conjunto todo era levado ao laboratório e colocado em congelador, matando as moscas a temperatura de  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 2^{\circ}\text{ C}$ ). Após 30 minutos de exposição as moscas mortas eram retiradas e colocadas em um recipiente de plástico branco de 30cm X 40 cm X 5 cm (larg.X comp. X alt.), onde eram retiradas somente as moscas da família Chloropidae, que eram fixadas em álcool 70% e acondicionadas em frascos de vidro.

Após o período de coleta de cada mês as moscas eram identificadas e quantificadas conforme espécie e horário da amostra, sendo então armazenadas em recipientes de vidro com álcool a 70%.

Os dados meteorológicos como temperatura, vento, umidade do ar, pressão atmosférica, chuva foram obtidos por meio da estação do CEPAGRI – UNICAMP, localizada aproximadamente a 400 metros do local das amostras.

Os resultados foram analisados estatisticamente no programa estatístico SAS (versão 5), Foram feitas ANOVA e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey (Zar 1999), sendo as variáveis independentes os dados meteorológicos, local das amostras, horário das amostras, estação, tipos de isca e o número de indivíduos coletados em cada uma destas categorias como reposta.

## 2.4 - Resultados

O número de indivíduos coletados de 1/05/98 a 05/04/99, considerando-se as estações outono/1998, inverno/1998, primavera/1998, verão/1998-1999, foi de 6.488 machos e 19.503 fêmeas.

A razão sexual de indivíduos coletados por este método foi sempre de 1 macho : 3 fêmeas, conforme Tabela 2.2.

**Tabela 2.2** – Número de indivíduos coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow (modificada) no período de Maio de 1998 a Abril de 1999.

meses	macho	fêmea	estações
Maio	74	415	<b>Outono</b>
Junho	157	542	F= 3385
Julho	1144	2428	M=1375
Agosto	572	2005	<b>inverno</b>
Setembro	408	1280	F= 4769
Outubro	623	1484	M= 1603
Novembro	1679	4718	<b>primavera</b>
Dezembro	242	1238	F= 7696
Janeiro	333	1740	M= 2254
Fevereiro	319	799	<b>verão</b>
Março	600	1850	F= 3653
Abril	355	1004	M= 1274
<b>Total</b>	<b>6506</b>	<b>19503</b>	<b>26.009</b>

As diferenças das médias obtidas entre os quatro períodos sazonais foram comparadas por meio do teste de Tukey, onde pode-se observar que a diferença no número de indivíduos coletados na primavera foi significativamente maior ( $P < 0,05$ ), quando contrastada com outras estações, enquanto que todas as outras comparações não apresentaram diferenças significativas quando comparadas no mesmo teste, conforme apresentado na Tabela 2.3.

**Tabela 2.3** – Resultados do teste de Tukey, utilizando-se contrastes para comparações entre as médias de indivíduos de Chloropidae coletados em Armadilhas de Tinkhan & Dow entre os períodos sazonais compreendidos de Maio/1998 a Abril/1999.

<b>Contrastes entre Períodos Sazonais</b>	<b>Diferença entre as médias</b>	<b>Intervalo de Confiança( 95%)</b>		
primavera - inverno	0.06715	0.00101	0.13329	***
primavera - outono	0.09059	0.02445	0.15673	***
primavera - verão	0.10108	0.03493	0.16724	***
inverno - outono	0.02344	-0.04269	0.08958	n.s.
inverno - verão	0.03393	-0.03222	0.10008	n.s.
outono - verão	0.01049	-0.05566	0.07664	n.s.

Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ .

n.s => não significativo

\*\*\* => significativo

O mesmo teste foi aplicado para verificar as diferenças entre as médias de indivíduos capturados entre as coletas feitas durante o dia. Foi observado que em comparações feitas entre coletas realizadas pela manhã e a tarde, não apresentaram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) como por exemplo entre coleta 2 e 6, 3 e 4, 2 e 5, 5 e 6, 1 e 5 e também entre 1 e 6, conforme Tabela 2.4.

**Tabela 2.4** – Resultados da teste de Tukey, utilizando-se contrastes para comparações entre as médias de indivíduos de Chloropidae coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow entre os horários de coletas realizados de Maio/1998 a Abril/1999.

<b>Contrastes entre Horário das coletas</b>	<b>Diferença entre as médias</b>	<b>Intervalo de Confiança( 95%)</b>		
3 - 4	0.02432	-0.24427	0.29291	n.s.
3 - 2	0.43455	0.16595	0.70315	***
3 - 5	0.61380	0.34521	0.88239	***
3 - 6	0.63854	0.36989	0.90719	***
3 - 1	0.82896	0.56039	1.09754	***
4 - 2	0.41022	0.14163	0.67881	***
4 - 5	0.58947	0.32089	0.85805	***
4 - 6	0.61422	0.34558	0.88286	***
4 - 1	0.80464	0.53607	1.07321	***
2 - 5	0.17925	-0.08934	0.44784	n.s
2 - 6	0.20400	-0.06466	0.47265	n.s.
2 - 1	0.39442	0.12584	0.66300	***
5 - 6	0.02475	-0.24390	0.29339	n.s.
5 - 1	0.21517	-0.05340	0.48374	n.s.
6 - 1	0.19042	-0.07821	0.45905	n.s.

Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ .

n.s => não significativo

\*\*\* => significativo

*Apallates* sp. – Indivíduos desta espécie foram coletados em maior número na Primavera, perfazendo 278 fêmeas e 35 indivíduos machos, seguida pelo verão, quando foram coletados 158 fêmeas e 20 machos. No outono o número de indivíduos coletados foi próximo ao número daqueles coletados no verão, com 145 fêmeas e 17 machos. A estação de inverno foi a estação que apresentou menor número de indivíduos coletados com 66 fêmeas e 17 machos.

O teste de Duncan mostrou que entre os meses de maio de 1998 e maio de 1999, o mês com maior número coletado em 270 amostras foi Janeiro de 1999, sendo Julho de 1998

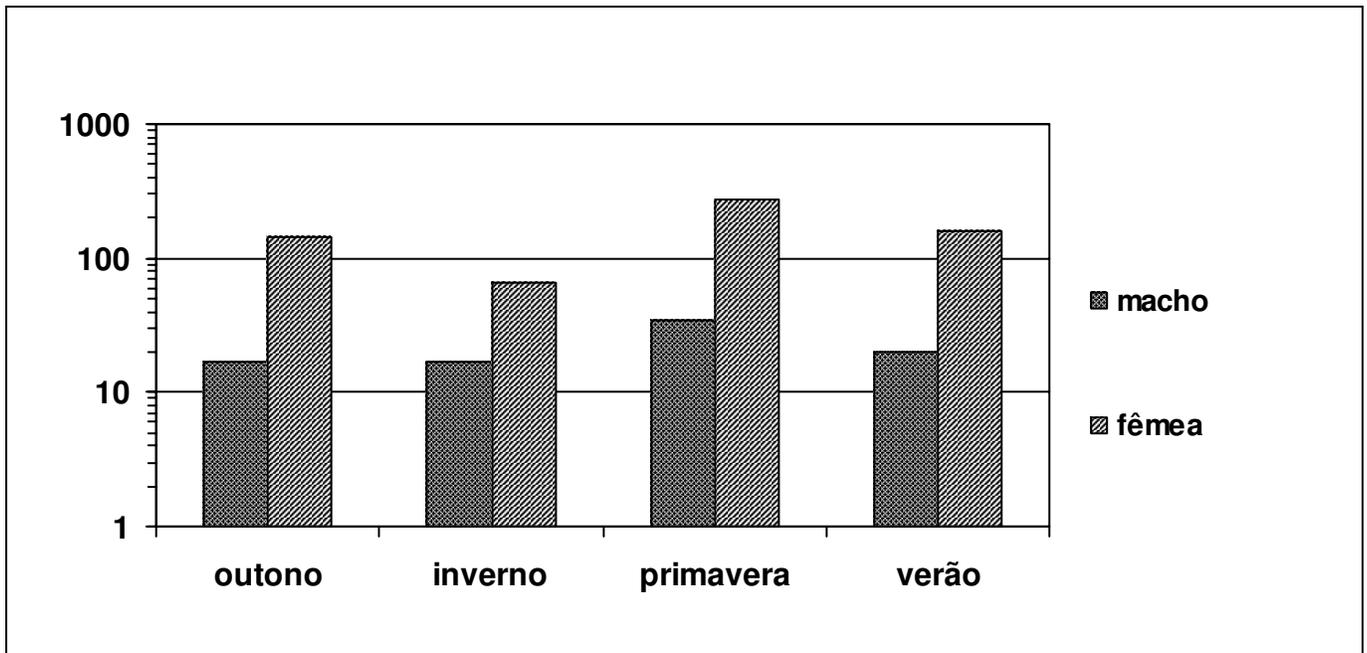
o mês de menor número coletado (4 indivíduos). Ainda, considerando o período maio/1998 a maio/1999, o horário que apresentou maior número de indivíduos desta espécie foi o período da última coleta diária (coleta 6), com média de 0,12531, em 585 amostras. O horário que apresentou número inferior a este foi o da coleta 5, seguida pela coleta 2,1,3 e por último a coleta 4. Verifica-se pelo teste de Duncan que somente a coleta 4 apresentou média significativamente diferente ( $P < 0,05$ ) das demais, conforme tabela 2.5..

Quanto à preferência de isca, a de rato eviscerado foi a que maior número atraiu de indivíduos desta espécie, sendo que em 390 amostras, realizadas no período, o teste de Duncan apresentou o seguinte *ranking*, conforme tabela 2.5:

**Tabela 2.5** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Apallates* sp coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	LOCAL
0.15853 (A)	390	4 (isca rato eviscerado)
0.11419 (AB)	390	2 (isca rato eviscerado)
0.10938 (B)	390	3 (isca vísceras de frango)
0.10309 (B)	390	7 (isca vísceras de frango)
0.09364 (B)	390	1 (isca peixe eviscerado)
0.09030 (B)	390	9 (isca rato eviscerado)
0.07545 (B)	390	8 (isca peixe eviscerado)
0.06474 (B)	390	6 (isca peixe eviscerado)
0.06243 (B)	390	5 ( isca vísceras de frango)

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ )



**Figura 2.2** – Frequência (em Log<sub>10</sub>) de indivíduos de *Apallates* sp coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow, conforme os períodos sazonais

*Conioscinella* sp – Foram coletados 641 indivíduos na estação primavera, sendo 52 indivíduos machos e 589 fêmeas, sendo este o maior número coletado entre as estações de maio de 1998 a abril de 1999, sendo seguida por verão/1998-1999 (23 machos e 388 fêmeas), inverno/1998 com 71 indivíduos coletados (70 fêmeas e 1 macho) e por último o outono/1998 com 31 indivíduos coletados (2 machos e 29 fêmeas), conforme Figura 2.3.

Quanto ao horário, verifica-se maior abundância destes indivíduos nas coletas realizadas no período das 16:00 h às 18:00 h, sendo que houve menor número de indivíduos desta espécie nas coletas realizadas durante a manhã, conforme pode ser verificado na tabela 2.6.

**Tabela 2.6** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Conioscinella* sp coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	Coletas
0.21947(A)	585	6
0.20496 (A)	585	5
0.15887 (B)	585	4
0.10528 (C)	585	1
0.07240 (C)	585	3
0.06329 (C)	585	2

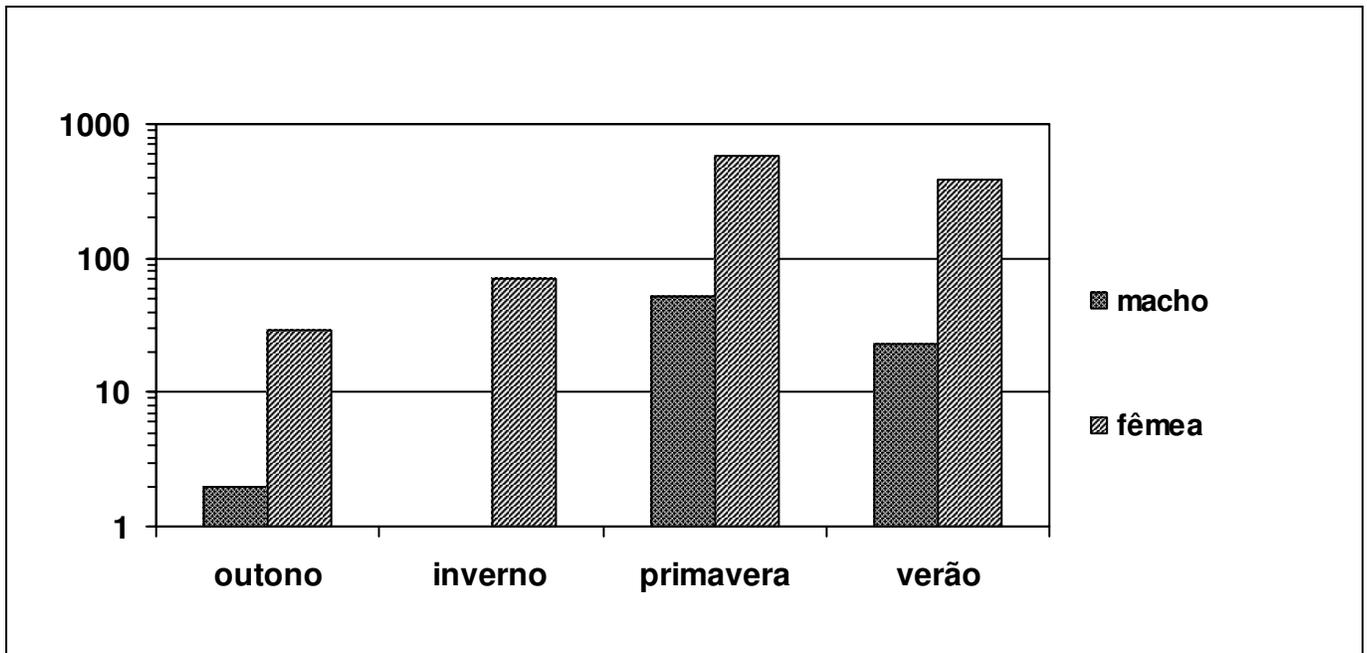
Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).

Também foi verificada a melhor isca para captura de indivíduos desta espécie, sendo também as iscas de peixe e de rato as mais indicadas para amostrar esta espécie, conforme tabela 2.7.

**Tabela 2.7** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Conioscinella* sp coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	LOCAL
0.21729 (A)	390	1 (isca peixe eviscerado)
0.16347 (AB)	390	2 (isca rato eviscerado)
0.15905 (B)	390	4 (isca rato eviscerado)
0.14213 (B)	390	7 (isca vísceras de frango)
0.12428 (BC)	390	5 (isca vísceras de frango)
0.12169 (BC)	390	3 (isca vísceras de frango)
0.11541 (BC)	390	6 (isca peixe eviscerado)
0.11266 (BC)	390	9 (isca rato eviscerado)
0.08044 (C)	390	8 (isca peixe eviscerado)

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).



**Figura 2.3** – Freqüência (em Log<sub>10</sub>) de indivíduos de *Conioscinella* sp. coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow, conforme os períodos estacionais.

*Elachiptera sacculicornis* (Enderlein, 1911) – Esta espécie apresentou maior número de indivíduos coletados no período do verão/1998-1999, com 131 fêmeas coletadas, porém nenhum macho. Na primavera/1998 foi observado um número menor com somente 25 fêmeas coletadas, seguido do inverno/1998 com 7 fêmeas e 1 macho e por último o outono/1998 com somente 2 fêmeas coletadas, conforme demonstrado na figura 2.4.

Foi observado também que esta espécie possui maior atividade durante a manhã (das 6:00 h às 8:00 h) e no crepúsculo vespertino (das 16:00 h às 18:00 h), conforme pode ser verificado pelo teste de Duncan ( tabela 2.8).

**Tabela 2.8** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Elachiptera sacculicornis* coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	Coletas
0.03317 (A)	585	6
0.02936 (A)	585	2
0.00774 (B)	585	4
0.00474 (B)	585	5
0.00118 (B)	585	1
0.00000 (B)	585	3

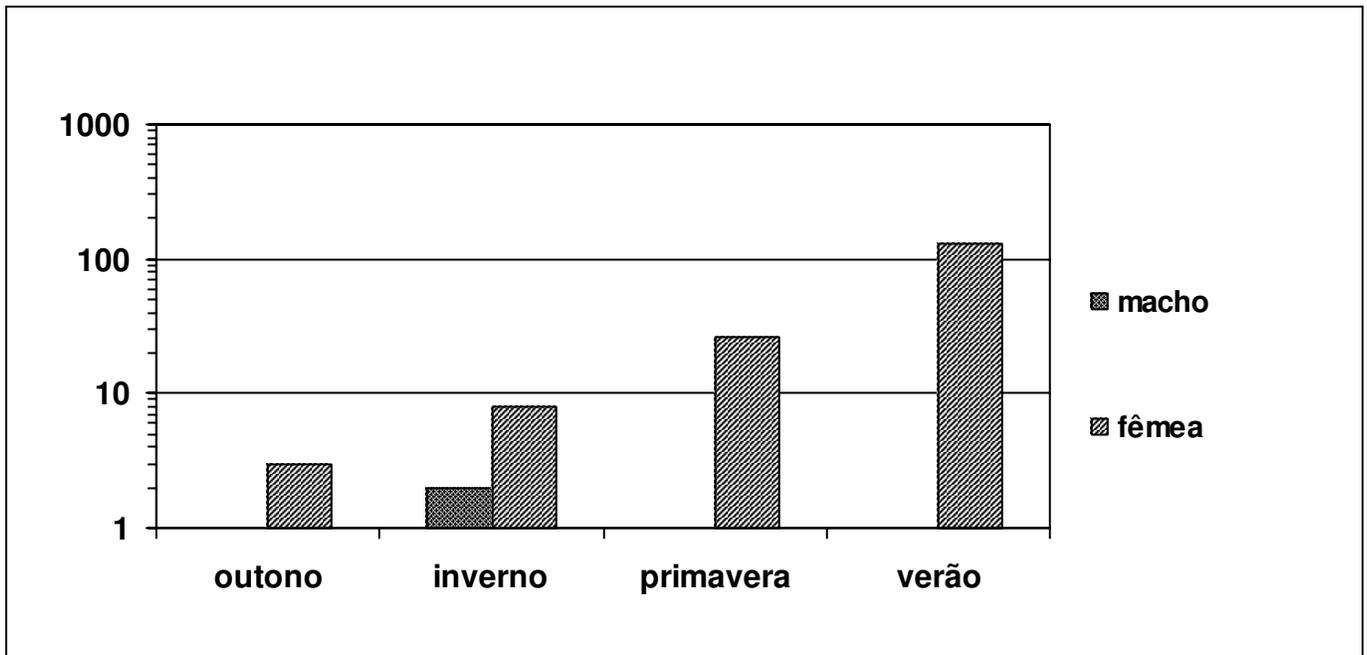
Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).

Apesar desta espécie ser coletada em maior número no método de rede manual (puçá), foi observada a presença desta espécie em iscas de origem animal, sendo que na armadilha de Thinkan & Dow (modificada), observou-se maior preferência pela isca de vísceras de frango, apesar de que o teste de Duncan não demonstrar diferença significativa (tabela 2.9).

**Tabela 2.9** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *E. sacculicornis* coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	LOCAL
0.02774 (A)	390	1 (isca peixe eviscerado)
0.02325 (A)	390	3 (isca vísceras de frango)
0.02147 (A)	390	7 (isca vísceras de frango)
0.01614 (A)	390	5 (isca vísceras de frango)
0.01614 (A)	390	9 (isca rato eviscerado)
0.00357 (A)	390	4 (isca rato eviscerado)
0.00179 (A)	390	2 (isca rato eviscerado)
0.00179 (A)	390	6 (isca peixe eviscerado)
0.00179 (A)	390	8 (isca peixe eviscerado)

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).



**Figura 2.4** – Frequência em  $\text{Log}_{10}(X+1)$  de indivíduos de *Elachiptera sacculicornis* coletados em Armadilhas de Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais

*Hippelates coxipo* Paganelli & Sabrosky, 1993 – Houve pequena frequência desta espécie, sendo que não foi observado nenhum macho desta espécie durante o período de coletas. Entre as fêmeas, a maior número de indivíduos coletados foi no mês de novembro ( $n=16$ ). No inverno, como no outono foi observada somente uma fêmea entre os indivíduos coletados. Na primavera foram capturadas 29 fêmeas e no verão 1998/1999 somente 2 fêmeas (Figura 5).

**Tabela 2.10** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Hippelates coxipo* coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	Coletas
0.011849 (A)	585	1
0.007491 (AB)	585	4
0.005924 (AB)	585	5
0.004739 (AB)	585	2
0.002370 (B)	585	6
0.001878 (B)	585	3

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).

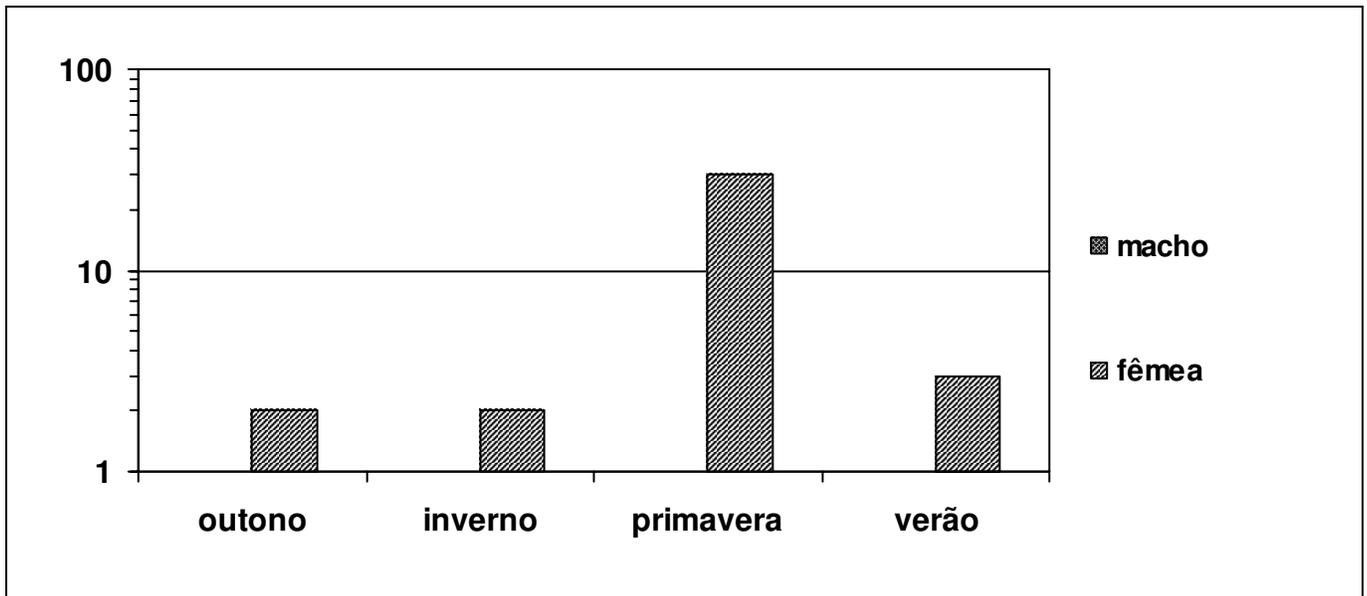
O número de indivíduos coletados para esta espécie mostrou que a média de indivíduos coletados na coleta 1, foi diferente das demais, mostrando que esta espécie possui hábito matutino de vôo e sendo observado médias bem diferentes também na coleta 3, realizada às 12:00 h, quando as temperaturas são geralmente mais elevadas (tabela 2.10).

**Tabela 2.11** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Hippelates coxipo* coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	LOCAL
0.010664 (A)	390	1 (isca peixe eviscerado)
0.009459 (A)	390	4 (isca rato eviscerado)
0.007109 (A)	390	5 (isca vísceras de frango)
0.05332 (A)	390	2 (isca rato eviscerado)
0.05332 (A)	390	7 (isca vísceras de frango)
0.004594 (A)	390	9 (isca rato eviscerado)
0.003555 (A)	390	6 (isca peixe eviscerado)
0.003555 (A)	390	3 (isca vísceras de frango)
0.001777 (A)	390	8 (isca peixe eviscerado)

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).

Observa-se, conforme exposto na Tabela 2.11, que não houve diferença entre as médias de indivíduos de *H. coxipo* coletados dentre os diferentes locais, mostrando que o tipo de isca de origem animal não interfere no número de indivíduos coletados para esta espécie.



**Figura 2.5** – Frequência em  $\text{Log}_{10}(X+1)$  de indivíduos de *Hippelates coxipo* coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow, conforme os períodos sazonais

*Hippelates pseudodorsalis* Paganelli & Sabrosky, 1993– Observou-se também um número muito reduzido de indivíduos coletados para esta espécie, sendo que houve maior número de indivíduos coletados nas estações outono e primavera, não observando portanto nenhum macho coletado, somente fêmeas foram coletadas nos períodos sazonais compreendidos entre maio/1998 a maio/1999, conforme pode ser verificado na Figura 2.7.

**Tabela 2.12** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Hippelates pseudodorsalis* o coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	Coletas
0.003555 (A)	585	6
0.002370 (A)	585	5
0.002370 (A)	585	2
0.000000 (A)	585	3
0.000000 (A)	585	1
0.000000 (A)	585	4

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).

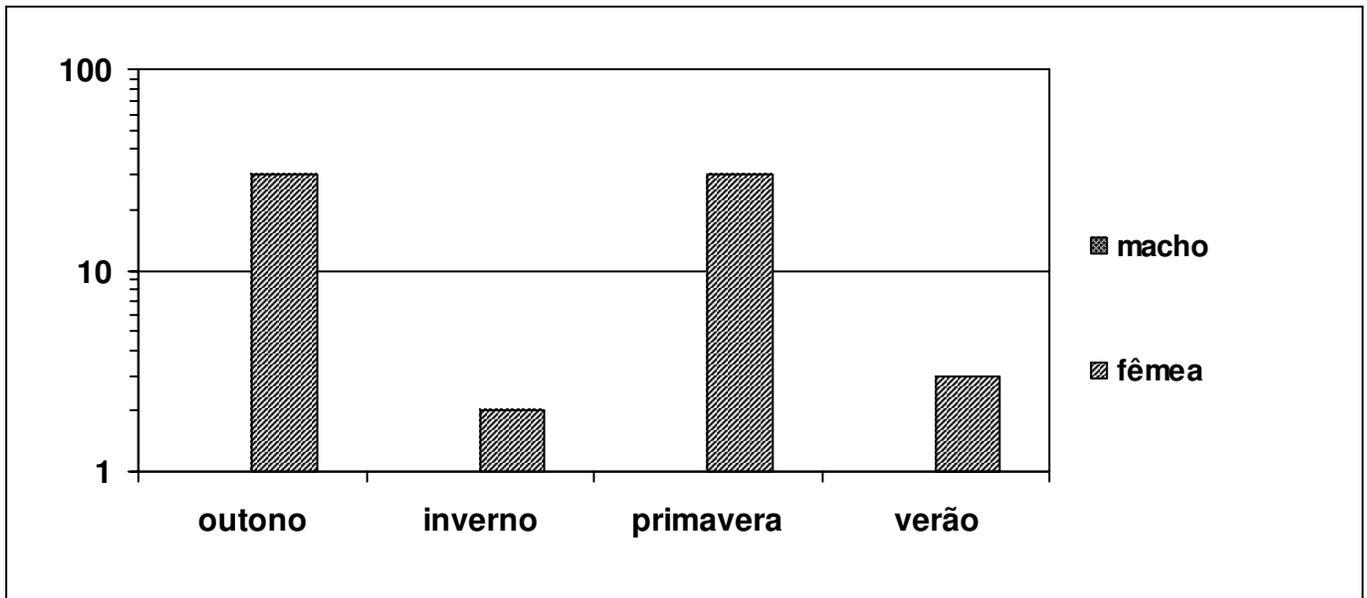
Verifica-se conforme exposto na tabela 2.12 que não houve diferença significativa entre as médias do número de indivíduos de *H. pseudodorsalis* coletados entre os seis horários de coleta. No entanto verifica-se que estes indivíduos foram coletados em maior parte no período da tarde (coletas 5 e 6), sendo que no período da manhã foram coletados somente no período na coleta 2 (10:00 h).

**Tabela 2.13** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Hippelates pseudodorsalis* coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	LOCAL
0.007109 (A)	390	1 (isca peixe eviscerado)
0.001777 (B)	390	2 (isca rato eviscerado)
0.001777 (B)	390	7 (isca vísceras de frango)
0.001777 (B)	390	4 (isca rato eviscerado)
0.000000 (B)	390	5 (isca vísceras de frango)
0.000000 (B)	390	6 (isca peixe eviscerado)
0.000000 (B)	390	3 (isca vísceras de frango)
0.000000 (B)	390	8 (isca peixe eviscerado)
0.000000 (B)	390	9 (isca rato eviscerado)

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).

De acordo com a tabela 2.13, nota-se que somente o local 1 deteve maior número de indivíduos, obtendo-se a partir dos resultados uma média significativa ( $P < 0,05$ ). Verifica-se que houve uma média não expressiva de indivíduos de *H. pseudodorsalis* coletados nos locais 2, 7 e 4.



**Figura 2.6**– Frequência em  $\text{Log}_{10}(X+1)$  de indivíduos de *Hippelates pseudodorsalis*

coletados em Armadilhas de Thinkan & Dow, conforme os períodos sazonais

*Liohippelates flavipes* (Loew, 1863)– Esta espécie foi coletada em grande número, ocorrendo em todas as estações do ano, sendo coletado um maior número de fêmeas. No entanto houve também considerável número de machos, numa relação aproximada de 0,10 em relação ao número de fêmeas coletadas em cada estação, conforme pode ser verificado na figura 2.8.

**Tabela 2.14** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Liohippelates flavipes* o coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	Coletas
0.17354 (A)	585	5
0.14699 (A)	585	3
0.13303 (A)	585	4
0.12984 (A)	585	6
0.06959 (B)	585	2
0.04415 (B)	585	1

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).

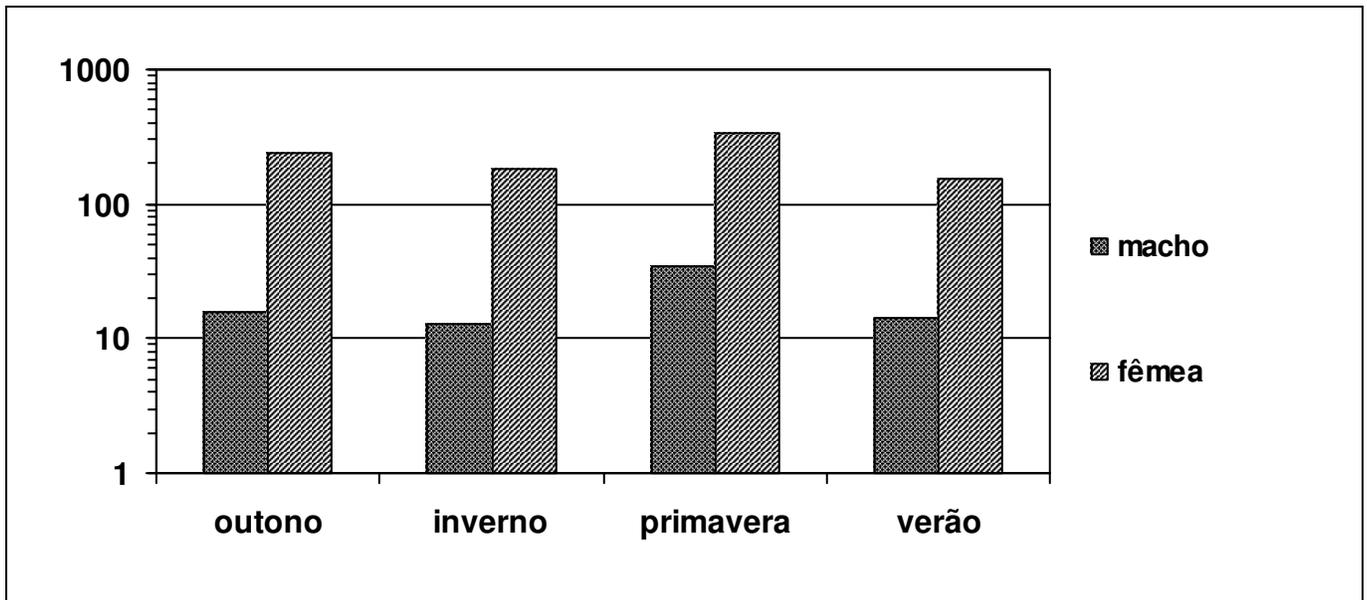
De acordo com a tabela 2.14, verifica-se que a espécie *L. flavipes* possui maior atividade no período da tarde em relação ao número coletado durante a manhã. Verifica-se que houve diferença significativa entre o número de indivíduos coletados desta espécie no período matutino (horários das 8:00 h e 10:00 h), sendo que no período da tarde (horários 12:00 h, 14:00 h, 16:00 h e 18:00 h) foram observadas médias maiores.

**Tabela 2.15** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Liohippelates flavipes* coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	LOCAL
0.20931 (A)	390	2 (isca rato eviscerado)
0.13922 (B)	390	4 (isca rato eviscerado)
0.13600 (B)	390	3 (isca vísceras de frango)
0.12849 (BC)	390	9 (isca rato eviscerado)
0.11054 (BCD)	390	5 (isca vísceras de frango)
0.09842 (BCD)	390	1 (isca peixe eviscerado)
0.08545 (BCD)	390	7 (isca vísceras de frango)
0.07223 (CD)	390	6 (isca peixe eviscerado)
0.06607 (D)	390	8 (isca peixe eviscerado)

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ )

Esta espécie foi coletada em maior número por meio de coletas realizadas em iscas de rato eviscerado, sendo que houve menor número de indivíduos coletados em isca de peixe eviscerado, conforme observado na tabela 15. No local 2 foi observado a maior média, sendo esta diferente de todas as outras ( $P < 0,05$ ).



**Figura 2.8**– Frequência em  $\text{Log}_{10}(X+1)$  de indivíduos de *Liohippelates flavipes* em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais

*Liohippelates nigrifrons* Duda, 1930 – As amostras realizadas nos 4 períodos sazonais de maio/1998 a maio/1999 mostraram grande número de indivíduos coletados, sendo que o número maior de indivíduos foi amostrado na primavera, sendo coletado machos e fêmeas. Observa-se que houve sempre um maior número de fêmeas coletadas no período em relação ao número de machos coletados, conforme pode ser verificado na figura 2.9.

**Tabela 2.16** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Liohippelates nigrifrons* coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	Coletas
0.09546 (A)	585	3
0.07624 (AB)	585	5
0.07572 (AB)	585	4
0.06832 (AB)	585	2
0.06000 (B)	585	1
0.04619 (B)	585	6

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ )

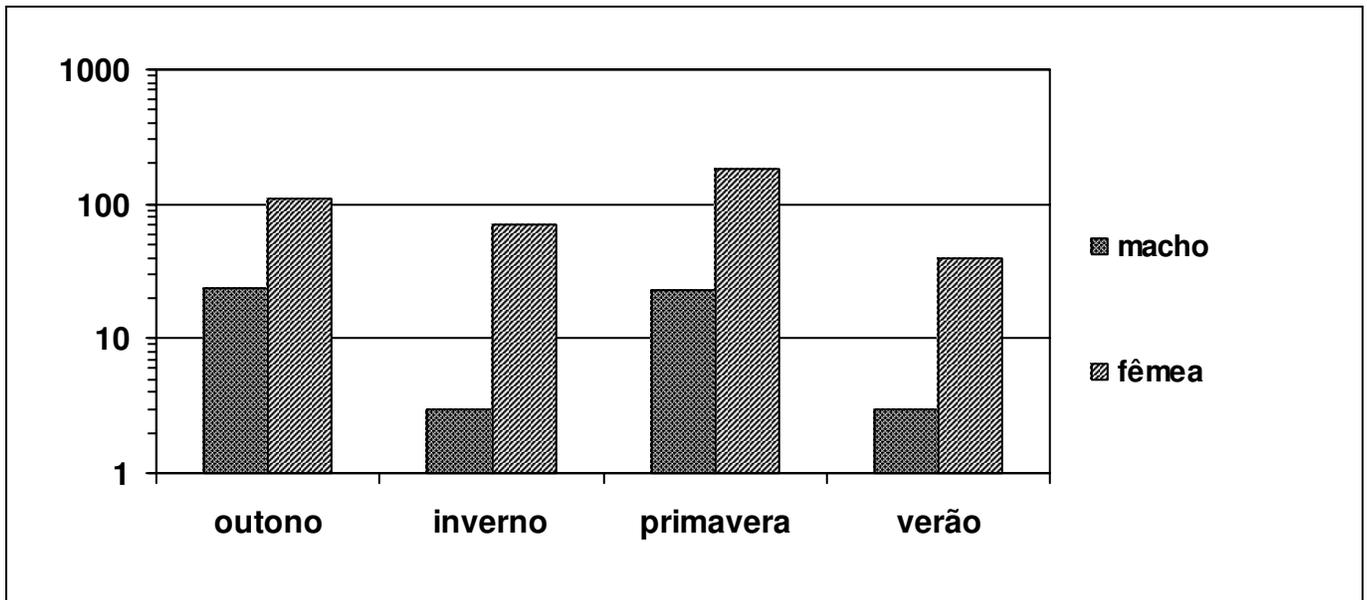
Indivíduos desta espécie foram observados em maior número em amostras realizadas nas coletas 2, 3, 4 e 5, sendo que durante as manhãs (coleta 1) e durante a última coleta da tarde (coleta 6) foram observadas as menores médias. Assim, verifica-se que esta espécie possui hábitos enquanto ainda há maior intensidade solar e menor atividade nos extremos da manhã e da tarde.

**Tabela 2.17** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Liohippelates nigrifrons* coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	LOCAL
0.12806 (A)	390	1 (isca peixe eviscerado)
0.10569 (A)	390	6 (isca peixe eviscerado)
0.09846 (AB)	390	8 (isca peixe eviscerado)
0.06724 (BC)	390	3 (isca vísceras de frango)
0.06060 (DC)	390	2 (isca rato eviscerado)
0.05879 (DC)	390	4 (isca rato eviscerado)
0.04816 (DC)	390	7 (isca vísceras de frango)
0.03894 (DC)	390	9 (isca rato eviscerado)
0.02696 (DC)	390	5 (isca vísceras de frango)

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ )

Indivíduos desta espécie foram coletados em maior número armadilhas com iscas de peixe eviscerado, sendo este tipo de isca diferente das demais ( $P < 0,05$ ), conforme tabela 2.17.



**Figura 2.9**– Frequência em  $\text{Log}_{10} (X+1)$  de indivíduos de *Liohippelates nigrifrons* em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais

*Liohippelates peruanus* (Becker, 1012) – esta foi a espécie coletada em maior número durante os períodos sazonais, sendo observada maior frequência nos meses da estação de inverno. Foi observado grande número de machos. Porém, o número de fêmeas foi sempre maior, conforme pode ser verificado na figura 2.10. No verão foi observado menor número de indivíduos coletados.

**Tabela 2.18** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Liohippelates peruanus* coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	Coletas
0.61727 (A)	585	2
0.40627 (B)	585	6
0.40050 (B)	585	3
0.31818 (C)	585	1
0.20958 (D)	585	5
0.15084 (D)	585	4

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).

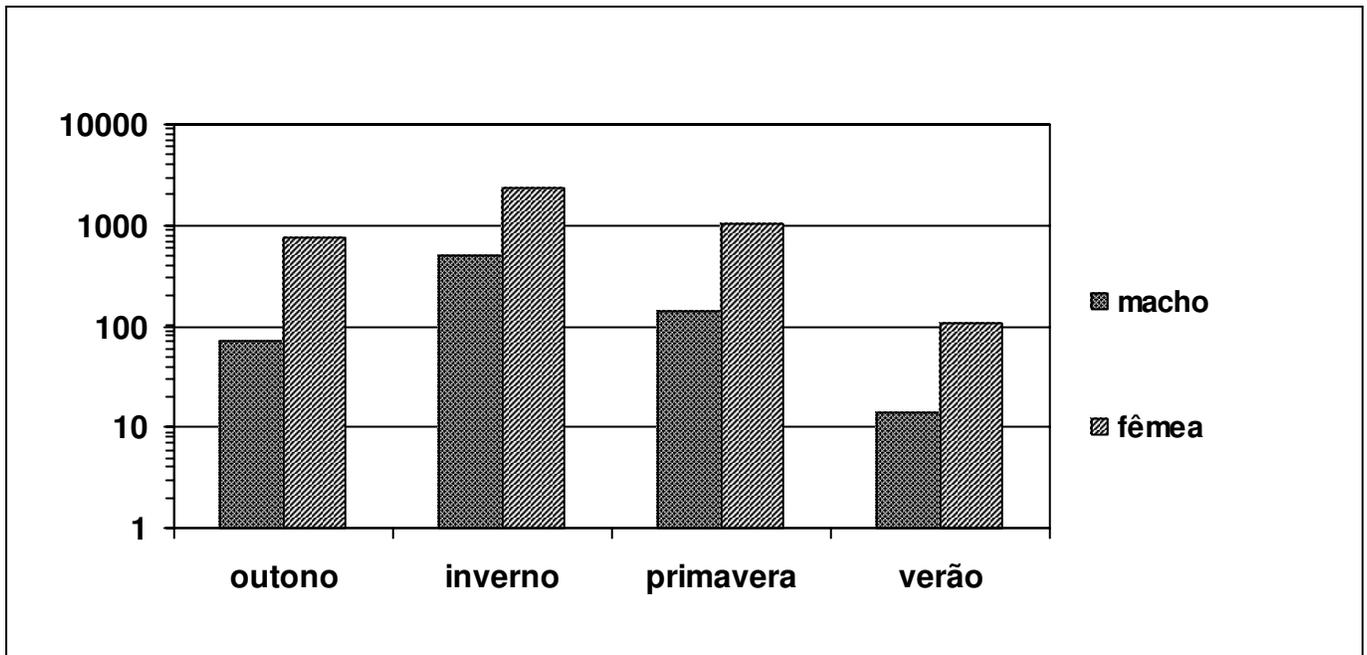
A tabela 2.18 mostra que houve maior número de indivíduos coletados em amostras feitas as 10:00 h e 18:00 h, sendo que foi notado número significativo ( $P < 0,05$ ) de indivíduos em amostras realizadas às 10:00 h, em relação aos outros horários. O menor número de indivíduos coletados foi observado nas coletas realizadas às 14:00 h e 16:00 h, coletas 4 e 5 respectivamente.

**Tabela 2.19** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Liohippelates peruanus* coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	LOCAL
0.50727 (A)	390	4 (isca rato eviscerado)
0.50584 (A)	390	1 (isca peixe eviscerado)
0.41772 (AB)	390	2 (isca rato eviscerado)
0.33324 (BC)	390	6 (isca peixe eviscerado)
0.32879 (BC)	390	8 (isca peixe eviscerado)
0.31946 (C)	390	9 (isca rato eviscerado)
0.027906 (DC)	390	7 (isca vísceras de frango)
0.24536 (DC)	390	5 (isca vísceras de frango)
0.21723 (D)	390	3 (isca vísceras de frango)

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ )

Indivíduos desta espécie foram coletados em maior número nas armadilhas iscadas com rato eviscerado e peixe eviscerado, havendo menor preferência por iscas de vísceras de frango, conforme pode ser observado na tabela 2.19.



**Figura 2.10**– Frequência em  $\text{Log}_{10} (X+1)$  de indivíduos de *Liohippelates peruanus* em Tinkan & Dow, conforme os períodos sazonais

*Liohippelates tibialis* Duda, 1930 – Não houve amostra com número significativo de indivíduos coletados para esta espécie, sendo que somente um exemplar apareceu na estação de inverno e alguns exemplares foram coletados na primavera. No entanto, somente fêmeas foram coletadas (figura 2.11).

**Tabela 2.20** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Liohippelates tibialis* coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	Coletas
0.002370 (A)	585	6
0.001185 (A)	585	1
0.001185 (A)	585	5
0.000000 (A)	585	4
0.000000 (A)	585	3
0.000000 (A)	585	2

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).

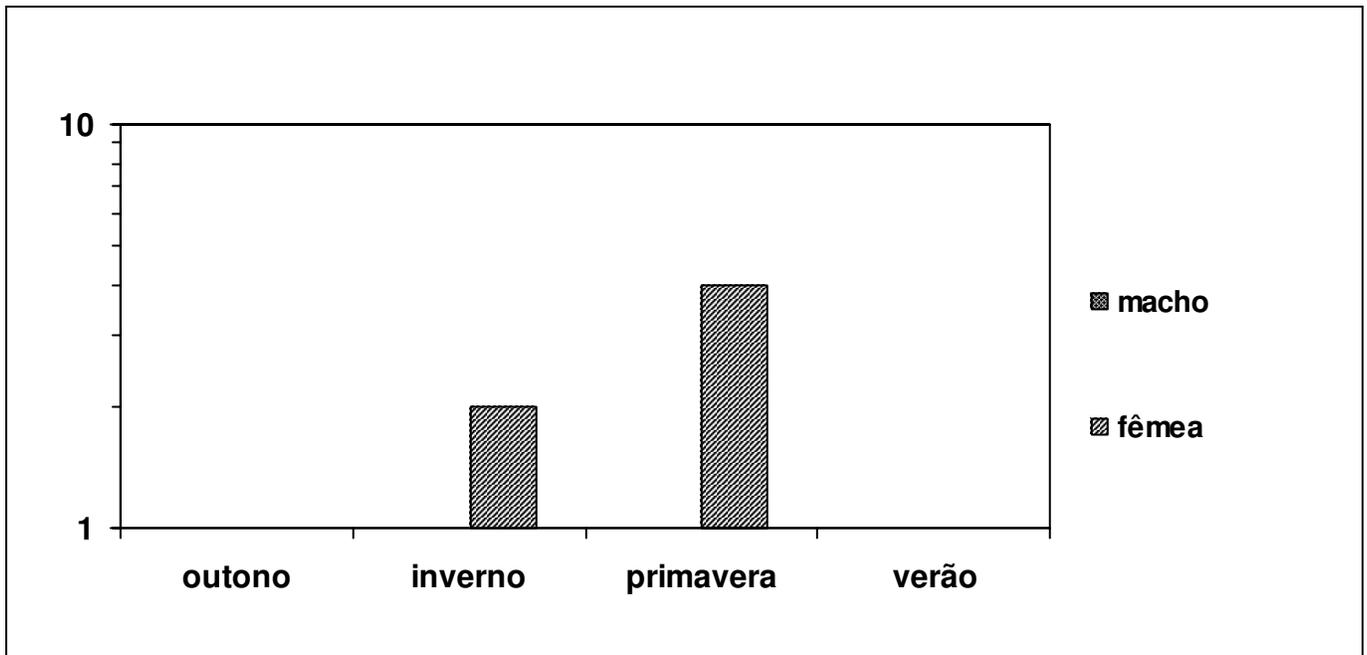
Nota-se que os poucos exemplares desta espécie foram coletados nos horários das 8:00 da manhã e no período da tarde as 16:00 h e 18:00 h, coletas 5 e 6 respectivamente. Durante a metade do dia (coletas 2, 3 e 4) nenhum exemplar foi coletado (Tabela 2.20).

**Tabela 2.21** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Liohippelates tibialis* coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	LOCAL
0.003555 (A)	390	5 (isca vísceras de frango)
0.001777 (A)	390	1 (isca peixe eviscerado)
0.001777 (A)	390	9 (isca rato eviscerado)
0.000000 (A)	390	2 (isca rato eviscerado)
0.000000 (A)	390	4 (isca rato eviscerado)
0.000000 (A)	390	6 (isca peixe eviscerado)
0.000000 (A)	390	3 (isca vísceras de frango)
0.000000 (A)	390	8 (isca peixe eviscerado)
0.000000 (A)	390	7 (isca vísceras de frango)

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ )

Indivíduos desta espécie foram coletados nos três tipos de iscas, havendo maior número em iscas de frango, não apresentando no entanto diferenças significativas quando analisados pelo teste de Duncan ( $P > 0,05$ ).



**Figura 2.11**– Frequência em  $\text{Log}_{10} (X+1)$  de indivíduos de *Liohippelates tibialis* em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais

*Monochaetoscinella* sp. – Esta espécie foi coletada durante as 4 estações sazonais, no entanto, a estação da primavera foi a que apresentou maior número de exemplares coletados, sendo que esta foi a única estação que apresentou indivíduos machos para esta morfo-espécie, conforme está apresentado na figura 2.12.

**Tabela 2.22** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Monochaetoscinella* sp coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	Coletas
0.05132 (A)	585	1
0.03618 (AB)	585	6
0.02565 (B)	585	5
0.02330 (B)	585	2
0.01974 (B)	585	4
0.01087 (B)	585	3

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).

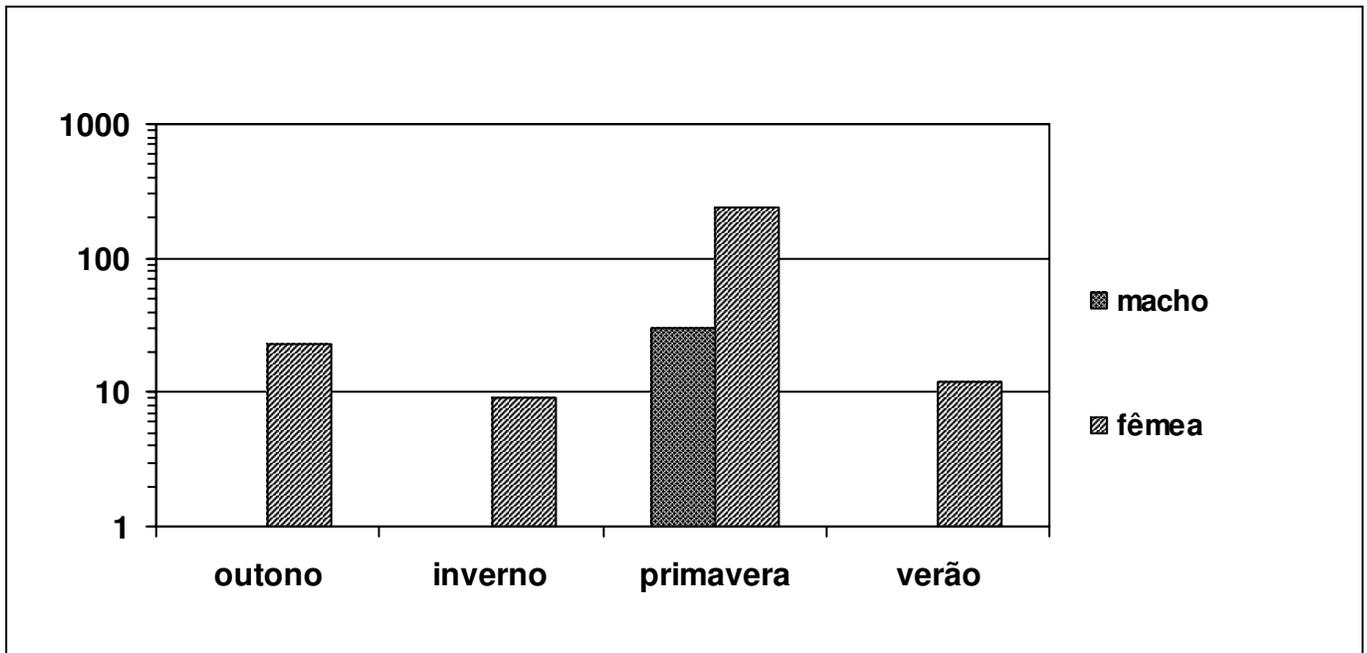
As amostras feitas no início do dia e no final da tarde apresentaram maior número de indivíduos coletados para esta morfo-espécie, sendo significativa a diferença entre as médias das demais horários de coleta, quando comparadas em Duncan ( $P < 0,05$ ). Por outro lado, nota que estes indivíduos são coletados em maior número pela manhã, antes das 8:00 horas, embora a média de indivíduos coletados no cair da tarde, apresente média com diferença não significativa em relação daquela média coletada na primeira amostra do dia. A amostra feita às 12 horas foi a que apresentou menor número de indivíduos coletados.

**Tabela 2.23** – Análise de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos de *Monochaetoscinella* sp. coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Thinkan & Dow durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	LOCAL
0.03925 (A)	390	9 (isca rato eviscerado)
0.03360 (A)	390	6 (isca peixe eviscerado)
0.03092 (A)	390	2 (isca rato eviscerado)
0.03008 (A)	390	3 (isca vísceras de frango)
0.02549 (A)	390	7 (isca vísceras de frango)
0.02872 (A)	390	5 (isca vísceras de frango)
0.02410 (A)	390	4 (isca rato eviscerado)
0.02179 (A)	390	1 (isca peixe eviscerado)
0.02062 (A)	390	8 (isca peixe eviscerado)

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ )

Para esta morfo-espécie, a o tipo de isca utilizada não interferiu no resultado do número de indivíduos coletados, não apresentando médias diferentes entre as três iscas utilizadas, quando analisadas pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ). No entanto, verifica-se conforme observado na tabela 2.23 que a isca de rato foi a que mais coletou, embora não apresente este resultado estatisticamente significativo em nível de 0,05.



**Figura 2.12**– Frequência em  $\text{Log}_{10} (X+1)$  de indivíduos de *Monochaetoscinella* sp em Tinkan & Dow, conforme os períodos sazonais

**Morfo - Espécie 6** – Durante as 4 estações, esta foi a espécie mais coletada entre todas as espécies de Chloropidae, de acordo com a Figura 2.13. Por ser a sexta espécie a ser verificada entre as outras que estavam sendo identificadas e por não ter sido identificada, neste trabalho foi designada como morfo-espécie 6.

**Tabela 2.24** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos da Morfo-espécie 6 coletados em 6 horários diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	Coletas
1.34528 (A)	585	4
1.14346 (B)	585	3
1.08945 (C)	585	5
0.91391 (D)	585	2
0.51882 (E)	585	6
0.49994 (E)	585	1

Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ ).

De acordo com as médias observadas na Tabela 2.24, nota-se que esta espécie não identificada ocorre em maior número quando há maior luminosidade e intensidade de calor durante o dia, sendo que as médias verificadas na primeira coleta do dia e última coleta, geralmente quando o sol está se pondo não são estatisticamente diferentes quando analisadas em Duncan ( $P < 0,05$ ).

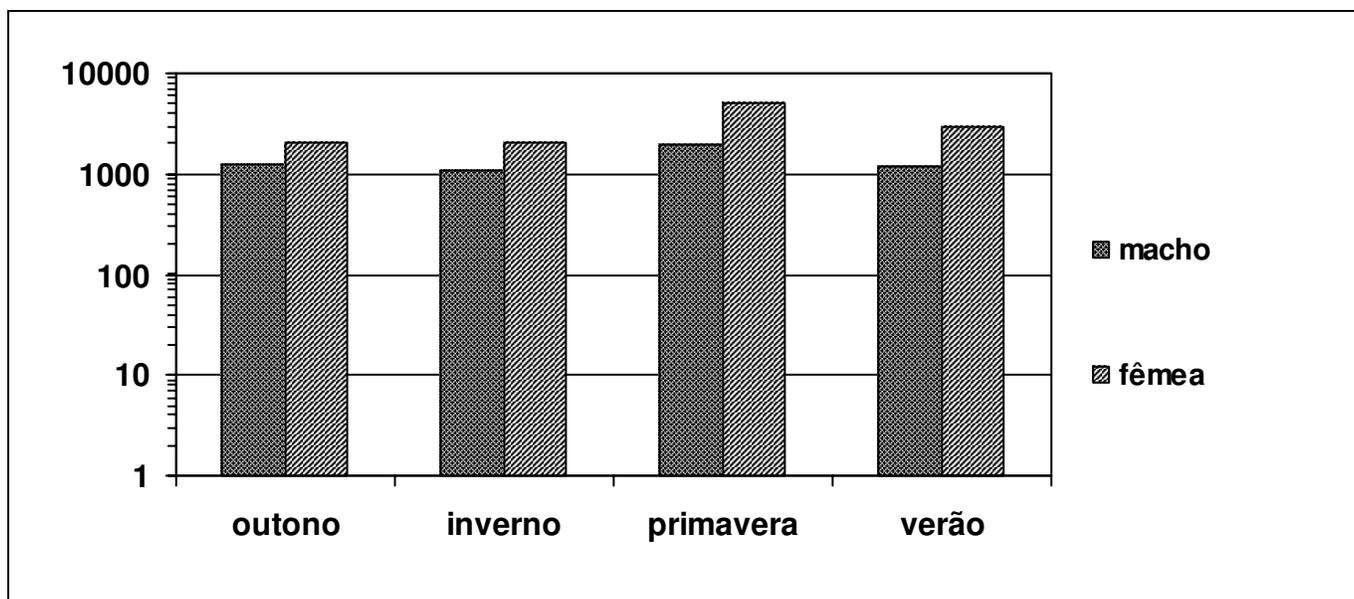
Por outro lado, verifica-se maior número nas coletas realizadas em períodos mais quentes do dia (12:00 h e 14:00 h).

**Tabela 2.25** – Teste de Duncan feita para comparação entre as médias de indivíduos da *Morfo* - Espécie 6 coletados em 3 tipos de iscas diferentes, em armadilhas de Tinkhan & Dow, durante os meses de maio/1998 a maio/1999.

Média	N	LOCAL
0.99690 (A)	390	6 (isca peixe eviscerado)
0.95340 (AB)	390	2 (isca rato eviscerado)
0.88187 (ABC)	390	1 (isca peixe eviscerado)
0.83499 (BC)	390	8 (isca peixe eviscerado)
0.81525 (BC)	390	9 (isca rato eviscerado)
0.81219 (BC)	390	4 (isca rato eviscerado)
0.75219 (DC)	390	3 (isca vísceras de frango)
0.61534 (DE)	390	5 (isca vísceras de frango)
0.61534 (E)	390	7 (isca vísceras de frango)

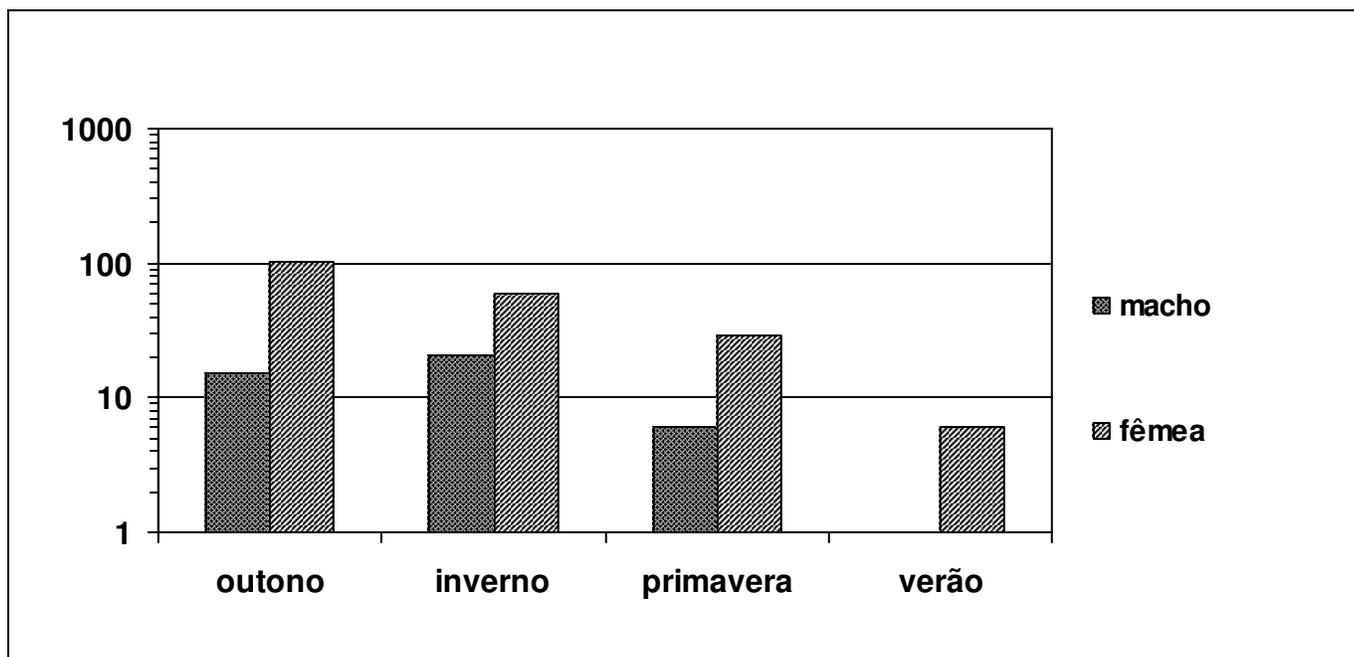
Médias com as mesmas letras não são significativamente diferentes (Taxa Global de erro  $\alpha = 0,05$ )

De acordo com a Tabela 2.25, verifica-se que peixe eviscerado foi a isca que maior número de indivíduos coletou, enquanto que em armadilhas iscadas com vísceras de franco foi observado menor número.



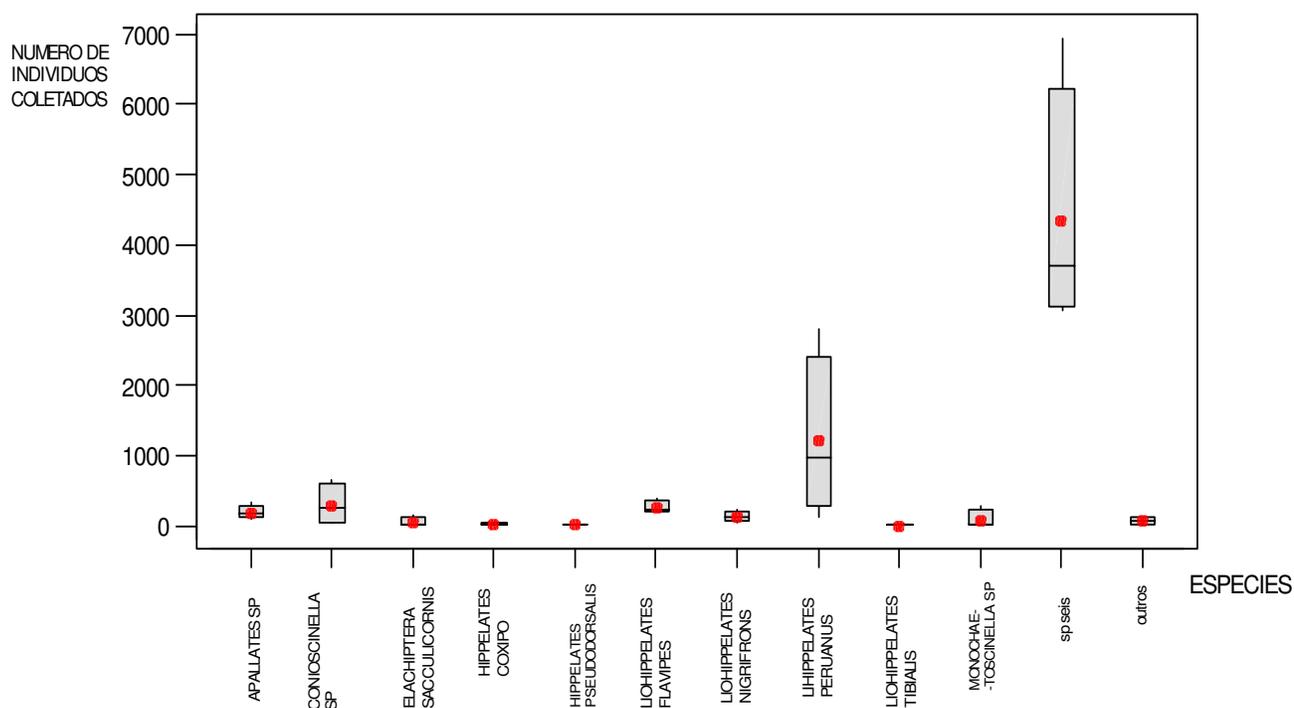
**Figura 2.13**– Frequência em  $\text{Log}_{10} (X+1)$  de indivíduos da Espécie 6 (Sp 6) em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais

Outros Chloropidae: também foram coletados indivíduos de outras espécies que não foram identificadas, no entanto em menor número. A frequência destes durante os 4 períodos sazonais em que foram realizadas as amostras podem ser verificadas na Figura 2.14.



**Figura 2.14**– Frequência em  $\text{Log}_{10} (X+1)$  de indivíduos de *outros Chloropidae* coletados em Tinkhan & Dow, conforme os períodos sazonais.

Comparando-se por ANOVA os valores obtidos para o número de indivíduos coletados, entre as 4 estações, foram verificadas médias diferentes ( $F_{0,001}(1),11,36 = 16,02$ ;  $P < 0,001$ ), conforme observado na **Figura 2.15**. Com exceção da espécie *Liohippelates peruanus* e da Espécie 6, verifica-se que as médias e amplitude de cada espécie não variou muito além do desvio padrão, conforme verificado na **Tabela 2.26**.



**FIGURA 2.15** – Número ( $\mu$  e SD) de indivíduos coletados em armadilhas TD (modificadas), durante o período de 1/05/98 a 05/04/99, considerando as estações outono/1998, inverno/1998, primavera/1998, verão/1999-1999

**Tabela 2.26** – Número de indivíduos machos e fêmeas coletados por espécie de cada período sazonal, considerando-se as estações outono/1998, inverno/1998, primavera/1998, verão/1998-1999.

Espécies	outono		inverno		primavera		verão	
	M	F	M	F	M	F	M	F
<i>Apallates</i> sp.	17	145	17	66	35	278	20	158
<i>Conioscinella</i> sp.	2	29	1	70	52	589	23	388
<i>Elachiptera sacculicornis</i>	0	2	1	7	0	25	0	131
<i>H. coxipo</i>	0	1	0	1	0	29	0	2
<i>H. pseudodorsalis</i>	0	0	0	1	0	4	0	2
<i>L. flavipes</i>	15	236	12	184	34	340	13	155
<i>L. nigrifrons</i>	23	107	2	69	22	182	2	39
<i>L. peruanus</i>	70	690	492	2301	142	1028	13	108
<i>L. tibialis</i>	0	0	0	1	0	3	0	0
<i>Monochaetoscinella</i> sp.	0	22	0	8	29	241	0	11
Sp 6	1234	2075	1058	2003	1936	5020	1201	2880
Outras	14	100	20	58	5	28	0	5

## 2.5 - Discussão

De acordo com Kreiter (1939), trabalhos realizados em diferentes partes da Europa demonstram que o número de gerações por ano está relacionada principalmente à temperatura, como por exemplo o número de gerações de *Oscinella frit* (L.) que em um ano na Rússia varia de um, quando próximo a Murmansk, chegando até cinco gerações ao norte da Região do Cáucasso, esta última uma região de temperaturas mais elevadas. Nas espécies observadas neste trabalho verifica-se que houve maior freqüência de indivíduos na primavera, com exceção da espécie *Liohippelates peruanus*, que se verificou um maior número de indivíduos coletados durante o inverno, principalmente de fêmeas.

Ainda de acordo com os dados obtidos no presente trabalho, verifica-se que embora na estação de verão fosse esperado maior número de indivíduos machos e fêmeas, tal fato não ocorreu. Isto, talvez devido ao fato de que houve neste período maior precipitação de chuvas, o que fez diminuir a atividade do inseto, além de diminuir sua proliferação, dado que

os insetos desta família desenvolvem em cobertura vegetal morta, que neste caso é o gramado. Hemmer (1959) notou que a chuva e o vento têm influência no número de indivíduos, causando uma menor quantidade na captura, pois os adultos se movem para seus esconderijos, diminuindo sua atividade de vôo até que o tempo mude. Por isso é difícil serem amostrados nesta situação.

Tolley & Niemczyk (1988) observaram que em dias de chuva, o número de cloropídeos adultos coletados é sempre menor, comparando com os dias em que não há precipitação de chuvas.

Segundo ainda o mesmo autor, houve grande número de indivíduos coletados durante o outono, evidenciando um grande pico entre as gerações anuais, sendo que em alguns indivíduos coletados ainda era observado o ptilíneo evertido, fato também observado por Aldrich (1920) e Allen & Pienkowski (1974). Observou-se uma razão sexual aproximada de 3:1 (fêmeas:machos) no presente trabalho. Os resultados corroboram com dados do trabalho de Jay Jr. (1962) que trabalhou com *Hippelates pusio* Loew e *Hippelates bishoppi* Sabrosky e coletou 94% de fêmeas em crianças, 97% de fêmeas em cães; 86,2 % de fêmeas em armadilhas iscadas com peixe e 94 % de fêmeas em bezerros. Mulla (1962), trabalhando com três espécies de cloropídeos: *Hippelates collusor* (Townsend), *H. pusio* e *H. robertsoni* Sabrosky, observou que a razão sexual de recém emergidos foi marcadamente sempre maior que 1 em favor das fêmeas nas três observações realizadas, sendo que a taxa de fêmeas para machos chegou até a 1,99:1.

Em coletas de campo, os resultados verificados quanto à razão sexual - 3:1 (F:M), observados neste presente trabalho - não corroboram com os resultados obtidos em colônias de laboratório, principalmente para a espécie *Liohippelates peruanus*, para a qual observou-se razão sexual 0,498 : 0,502 (F:M), ou seja aproximadamente 1:1 (F:M). Em amostragens de campo, a razão 3:1 (F:M). Talvez isto ocorra devido à maior necessidade de repasto protéico de origem animal que as fêmeas possuam, observado em experimentos que utilizam isca de origem animal, como foi realizado neste trabalho. Assim, os resultados de amostragens obtidos por meio de métodos que utilizam isca animal, não respondem a realidade observada nestes, havendo portanto a necessidade de colonização em laboratório para verificação da razão sexual.

Karandinos & Axtell (1972) observaram que as fêmeas necessitam de acasalamentos subseqüentes para que façam posturas de ovos viáveis, pois as larvas não mais eclodem dos

ovos que são colocados algum tempo após a cópula, devido à depleção dos espermatozoides, sendo que as fêmeas voltam a depositar ovos viáveis somente após novo acasalamento.

A taxa de eclosão em de *Anopheles quadrimaculatus* Say (Diptera: Culicidae) vai sendo reduzida de acordo com os lotes de postura (Love 1954). De acordo com este mesmo autor, a redução da taxa de eclosão nestes anofelinos, provavelmente é o resultado da produção de ovos não viáveis, sugerindo que o esperma pode ser retido pela fêmea e assim fertilizar todos os ovos postos durante todo seu período de vida. De acordo com Karandinos & Axtell (1972) esta situação não ocorre com cloropídeos, ao menos com aqueles do gênero *Hippelates*. Assim, é esperado que haja sempre a presença dos machos, mesmo que em razão sexual menor em relação às fêmeas, pois estas necessitam de mais de uma cópula durante seu ciclo de vida, para que seus ovos sejam viáveis.

## 2.6 - Conclusões

**a)** Foram identificados 7 gêneros de Chloropidae: *Apallates* sp., *Conioscinella* sp., *Monochaetoscinella* sp. e uma espécie não identificada, a qual foi designada Morfo-espécie 06;

**b)** As espécies coletadas e identificadas foram: *Elachiptera sacculicornis*, *Hippelates coxipo*, *Hippelates pseudodorsalis*, *Liohippelates flavipes*, *Liohippelates nigrifrons*, *Liohippelates peruanus* e *Liohippelates tibialis*;

**c)** O número de cloropídeos coletados entre todas as espécies foi de 6.488 machos e 19.503 fêmeas, em uma proporção sexual aproximada de 3:1 (fêmea : macho), devido à maior necessidade de repasto protéico de origem animal para fêmeas; fato que não corrobora com resultados obtidos em laboratório;

**d)** A primavera foi o período estacional que apresentou maior número de indivíduos coletados, com 7696 fêmeas e 2254 indivíduos machos, enquanto que a estação de outono apresentou menor número de indivíduos coletados: 3385 fêmeas e 1375 machos.;

**e)** O número de indivíduos coletados durante a primavera mostrou-se significativo em comparação com outros períodos sazonais, quando analisados por meio de Análise de Tukey ( $P < 0,05$ );

**f)** Os resultados mostram que a maioria das espécies possuem maior atividade nas primeiras horas da manhã (entre 6:00 h até 10:00 h) e no período vespertino (entre 16:00 h e 18:00 h), sendo que não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre a primeira, penúltima e última coleta realizadas ao longo do dia, quando analisados pelo teste de Tukey.

**g)** As armadilhas montadas em iscas produzidas a partir de rato eviscerado mostraram diferença significativa entre as demais iscas para a maioria das espécies de cloropídeos coletados, quando analisada pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ).

## 2.7 – Referências bibliográficas

ALDRICH, J. M. European frit fly in North America. J. Agric. Res. 18: 451-473. 1920.

ALLEN, W. A. & PIENKOWSKI. The biology and seasonal abundance of the frit fly, *Oscinella frit*, in reed canarygrass in Virginia. Ann. Ent. Soc. Am. 67: 539 – 544. 1974.

AXTELL, R. C. & EDWARDS, T. D. Seasonal populations of *Hippelates* gnats in North Carolina. Ann. Ent. Soc. Am. 63 (4): 1049 – 1053. 1970.

BENGTSON, I. A. Seasonal acute conjunctivitis occurring in the southern states. Publ. Health Rep. 48: 917 – 926. 1933.

CARRERA, M. *Insetos de interesse médico e veterinário*. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 228 pp. 1991

HEMER, V. M. Zur biologie, wirtschaftlichen bedeutung und bekämpfung der fritfliege (*Oscinis frit* L.) an Gerste. Z. Angew. Ent. 44: 315 -339. 1959.

JAY JR., E. G. Species of *Hippelates* (Diptera: Chloropidae) gnats collected from mammals. 55(6): 1011-1012. 1962.

KARANDINOS, M. G. & AXTELL, R. C. Temperature effects on the immature stages of *Hippelates pusio*, *H. bishoppi*, and *H. pallipes* (Diptera: Chloropidae). Ann. Ent. Soc. Amer.60 (5): 1055 – 1062. 1967(a).

\_\_\_\_\_. Effect of temperature on the longevity, fecundity, and activity of adult *Hippelates pusio*, *H. bishoppi*, and *H. pallipes* (Diptera: Chloropidae). Ann. Ent. Soc. Amer.60 (6): 1252 – 1255. 1967(b).

KARANDINOS, M. G. & AXTELL, R. C. Age-related changes in the fertility of *Hippelates pusio*, *Hippelates bishoppi*, *H. pallipes* (Diptera: Chloropidae). Ann. Ent. Soc. Amer. 65: 1092 – 1099. 1972.

KREITER, E.A. Problems of the original distribution of *Oscinella frit* L. - Reports of the scientific meetings of the Leningrad Institute of Agriculture. Rev. Appl. Ent. (A) 27, 454. 1939.

KUMM, H. W.; TURNER, T. B.; PEAT, A. A. The duration of the mobility of spirochaetes of yaws in a small west Indian fly – *Hippelates pallipes* Loew. Am. J. Trop. Med. 15: 209 – 223. 1935.

LENKO, K. & PAPAVERO, N. *Insetos no Folclore*. São Paulo: Conselho Estadual de artes e Ciências Humanas. 518 p. 1979.

LOVE, G. F. Variations of hatchability of successive lots obtained from cultures of *Anopheles quadrimaculatus* Say. J. Econ. Ent. 1954.

MULLA, M. S. Mass rearing of three species of *Hippelates* eye gnats (Diptera: Chloropidae). Ann. Ent. Soc. Amer. 55: 253 – 258. 1962.

NICHOLLS, L. The transmission of pathogenic microorganisms by flies in St. Lucia. Bull. Ent. Res. 3: 81 – 88. 1912.

PAGANELLI, C. H. & SABROSKY, C. W. *Hippelates* flies (Diptera: Chloropidae) possibly associated with brazilian purpuric fever. Proc. Ent. Soc. Wash. 95 (2): 165 – 174. 1993.

PAYNE JR, W. J.; COLE JR, J. R.; SNODDY, E. L.; SEIBOLD, H.R. The eye gnat *Hippelates pusio* as a vector of bacterial conjunctivitis nursing rabbits as an animal model. 13: (4-5): 599 – 603. 1977.

SABROSKY, C.W. Chloropidae. In McALPINE, J. F.; PETERSON, B. V.; SHEWELL, G.E.; TESKEY, H. J.; WOOD, VOCKEROTH, J. R.; WOOD, D. M. (eds.) *Manual of Nearctic Diptera*. Biosystematics research Centre, Agric. Canada, Monograph 28. 2: 1049 – 1067. 1987.

SANDERS, D. A. *Hippelates* flies as vector of bovine mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 97 (763): 306 – 308. 1940.

SAS INSTITUTE. *SAS user's guide statistics*, version 5 ed. SAS institute, Cary, N.C. 1985.

SCHNEIDER, A. An introduction report on pseudo-trachoma endemic in the Salton Sea region of California. Med. Sent. 35 (3) 154 – 161. 1927.

SPIELMAN, A. The influence of rainfall upon the abundance of Cuban *Hippelates* (Diptera: Chloropidae). Ann. Ent. Soc. Amer. 55 (1): 39 – 42. 1962.

TAYLOR, M. L. & OLINGER, L. D. An egg survey of *Hippelates* gnats in the vicinity of Orlando, Florida. J. Econ. Ent. 51 (4) : 557. 1958.

THINKAM, E. R. Control of eye gnats by soil larvicides. Cal. Mosq. Con. Assoc. Proc. 67 – 68. 1953

TOLLEY, M. P. & NIEMCZYK, H. D. Seasonal abundance, oviposition activity, and degree-day prediction of adult frit fly (Diptera: Chloropidae) occurrence on turfgrass in Ohio. Environ. Ent. 17 (5): 855 – 862. 1988.

TONDELLA, M.L.C; PAGANELLI, C. H.; BORTOLOTTI, I. M.; TAKANO, O. A.; IRINO, K.; BRANDILEONE, M. C. C.; MEZZACAPANETO, B.; VIEIRA, U. S. D.; PERKINS, B. A. Isolamento de *Haemophilus aegyptius* associado à febre purpúrica brasileira, de Cloropídeos (Diptera) dos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates*. Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo. 36 (2): 105 – 109. 1994.

ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. 4<sup>th</sup> ed. Prentice Hall. New Jersey. 661 pp + 212 app. 1999.

### 3.0 - CAPÍTULO 3:

## DETERMINAÇÃO DA ALTURA DE VÔO E SAZONALIDADE DE DUAS ESPÉCIES DE CHLOROPIDAE (INSECTA: DIPTERA) NA CIDADE DE CAMPINAS - SP

### 3.1 – Resumo

Durante os períodos sazonais inverno/1999, primavera/1999, verão/1999-2000 e outono/2000, foram realizadas amostras de duas espécies de cloropídeos. Foi utilizada a armadilha modificada de Tinkhan, iscadas com rato eviscerado, disposta em três alturas, distribuída em forma de quadrado latino (3X3), sendo realizadas três coletas por dia. A amostragem de cada estação foi realizada no período mediano de cada estação, durante dez dias. Os resultados mostraram que nos períodos mais frios (inverno e outono) houve maior número de indivíduos coletados em armadilhas dispostas próximas ao solo, enquanto que nos períodos sazonais mais quentes (primavera e verão), houve maior atividade destes insetos quanto maior foi a distância da armadilha em relação ao solo.

### ***Abstract***

During the winter/1999, spring/1999, summer/1999-2000 and autumn/2000, samples of two fruit flies species were undertaken. The modified trap of Thinkan was used, baited with eviscerated mouse, disposed in three heights, distributed in 3X3 latin square, three collections were taken in each day. The sampling of each station was done in the average period of each seasonal period, for ten days. The results showed that in the coldest periods (winter and autumn) there was greater number of individuals collected in next traps to the ground, while in the hotter seasonal periods (spring and summer), there was larger activity of these insects according with the heigh of the trap.

### 3.2 - Introdução

Durante quatro períodos sazonais (inverno de 1999, primavera de 1999, verão de 1999 – 2000, e outono de 2000), foram realizadas coletas durante 10 dias durante a metade de cada período sazonal, sendo coletadas três amostras diárias, utilizando-se o método de Tinkhan & Dow modificado, sendo as armadilhas dispostas em quadrado latino (3X3), em alturas de 40 cm, 80 cm e 120 cm, com o propósito de se verificar a altura de atividade de

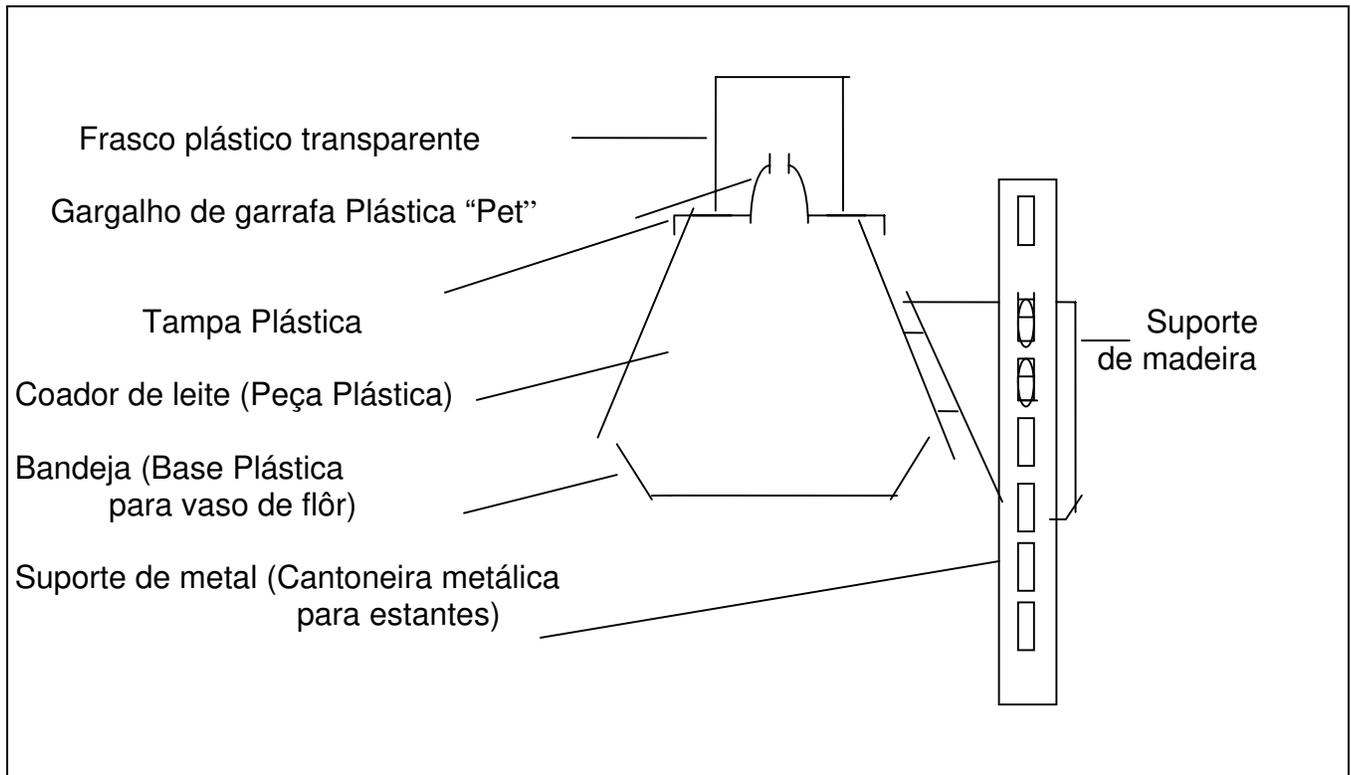
vôo das espécies dos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates* ocorrentes em Campinas, assim como a sazonalidade, o período de atividade e a razão sexual. Os adultos de Chloropidae, também chamados vulgarmente como mosquinha-lambe-olho (Carrera 1991; Lenko & Papavero 1979), são muito comuns e abundantes em material vegetal em decomposição. Algumas espécies são freqüentes em flores, enquanto outros incomodam o homem e animais pelo comportamento de pousar nos olhos ou orelhas e também por alimentar-se em secreções corporais como suor, feridas ou ferimentos abertos (Sabrosky 1987). No Brasil, encontra-se muito abundante dois gêneros de Chloropidae: *Hippelates* e *Liohippelates*, sendo estes potenciais transmissores de patógenos ao homem e animais, tendo portanto grande importância médica e veterinária, sendo transmissores de: conjuntivites (Schneider 1927; Bengtson 1933; Tinkham 1953, Payne *et al.* 1977), encefalites com Febre Purpúrica Brasileira (Paganelli & Sabrosky 1993; Tondella *et al.* 1994), de bactérias como *Treponema pertenue*, causadora da boubá (Kumm *et al.* 1935; Nicholls 1912) e mastite bovina (Sanders 1940). Insetos destes dois gêneros possuem hábitos de voar persistentemente sobre a face, incomodando muito trabalhadores rurais e pessoas que procuram locais que concentram vegetação, principalmente em locais gramados, como hotéis, campos de golfe, área de lazer, parques *etc.* Dependendo do horário, estes cloropídeos são abundantes também no interior de recintos domiciliares e áreas de escolas. Taylor & Olinger (1958) afirmam que a umidade do solo consiste em um fator preponderante para oviposição, sendo que solos contendo entre 5% e 15% de umidade mostraram-se como os mais preferidos. A quantidade de indivíduos coletados em amostras pode estar correlacionada com os parâmetros ambientais, especialmente chuva e temperatura, sendo necessário seu conhecimento a fim de se prever a abundância (Karandinos & Axtell 1967a,b; Spielman 1962). Os dados obtidos poderão ser de grande contribuição para futuros levantamentos faunísticos destes dois gêneros.

### **3.3 – Material e métodos**

O presente estudo foi realizado durante o período Inverno/1999 a outono/2000, no gramado do campus do Instituto de Biologia da UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas, no estado de São Paulo.

A armadilha utilizada para amostragem de cloropídeos, utilizando-se isca animal, foi um modelo modificado de Tinkhan & Dow (Axtell & Edwards 1970). A captura dos insetos

neste método baseou se no comportamento de fototropismo positivo e da tendência das moscas iniciar seu vôo sempre de forma ascendente. A armadilha foi construída conforme esquema da figura 3.1:



**Figura 3.1-** Armadilha para amostragem de Chloropidae e outros Diptera utilizando isca animal

Foram construídas nove armadilhas modificadas que foram distribuídas em disposição de Quadrado Latino 3X3, conforme Zar (1999). As armadilhas foram montadas em altura de 40 cm, 80 cm e 120 cm do chão, utilizando-se como isca rato eviscerado.

Durante 10 dias no mês que marca a metade de cada estação, foram realizadas três coletas diárias, sistematicamente em intervalos de 4 horas, distribuídas conforme apresentado na Tabela 3.1:

**Tabela 3.1** – Intervalos de Exposição das armadilhas de Tinkhan & Dow

<b>Coleta</b>	<b>Horário de exposição</b>	<b>Horário da coleta</b>
<b>1<sup>a</sup></b>	6:00 – 10:00 hs	10:00 hs
<b>2<sup>a</sup></b>	10:00 – 14:00 hs	14:00 hs
<b>3<sup>a</sup></b>	14:00 – 18:00 hs	18:00 hs

As coletas foram realizadas utilizando-se um saco plástico transparente que em um primeiro momento, então, encobria completamente o compartimento da armadilha, onde estavam as moscas capturadas, e que era intercambiável. Após conter o frasco, o mesmo era retirado e rapidamente feito duas voltas no ar, ficando as moscas e o frasco no fundo do saco, que era então amarrado na boca, aprisionando as moscas. Posteriormente, o conjunto todo era levado ao laboratório e colocado em congelador, expondo as moscas em temperatura de  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Após 30 minutos de exposição, as moscas eram retiradas mortas, colocando-as em um recipiente de plástico branco de 30cm X 40 cm X 5 cm (larg.X comp. X alt.), onde eram separadas as moscas da família Chloropidae, fixadas em álcool 70% e acondicionadas em frascos de vidro.

Após o período de coleta de cada mês as moscas eram identificadas e quantificadas conforme espécie e horário da amostra, sendo então retornadas ao recipiente de vidro para acondicionamento.

Os dados meteorológicos: temperatura, vento, umidade do ar, pressão atmosférica, chuva foram obtidos por meio da estação do CEPAGRI – UNICAMP, localizada próximo ao local das amostras.

O número de indivíduos capturados para cada local foi somado para os 10 dias de coleta de cada estação, considerando-se que houve três locais para cada altura, obteve -se assim para cada estação nove valores, pois foram verificadas 3 alturas, sendo que para cada altura foram realizadas 3 coletas diárias. A média do resultado para cada local, considerando - se a estação foi organizado em uma planilha no Programa estatístico MINITAB (versão 10.1), conforme altura e o número de indivíduos coletados nestas.

Os resultados foram analisados estatisticamente no mesmo programa estatístico, utilizando-se ANOVA para comparação entre os valores obtidos para cada altura para a comparação das médias. Considerando estes valores médios obtidos para cada altura, foi

feita a Correlação de Pearson e posteriormente análise de regressão linear (altura X número de indivíduos coletados para cada estação), conforme Zar (1999).

### 3.4 - Resultados

Para análise dos dados, foram consideradas as espécies com maior número de indivíduos coletados durante os quatro períodos sazonais, os quais foram *Liohippelates peruanus* e uma espécie não identificada, considerada neste trabalho como Morfo-espécie 6. O objetivo primordial deste trabalho foi verificar a altura da armadilha em que se obtinha maior número de indivíduos coletados em cada altura, de acordo com as estações.

A análise de variância mostrou que em cada estação houve diferença significativa entre as diferentes alturas ( $F=1,90$ ;  $P<0,05$ ).

A média de fêmeas coletadas para a *Liohippelates peruanus* juntamente com a Morfo - espécie 6, também foram diferentes quando comparadas entre as alturas de cada estação, sendo obtido  $F=2,57$  ( $P<0,05$ ). Os valores para cada média assim como o Desvio Padrão para fêmeas e machos, podem ser verificados na Tabela 3.2:

**Tabela 3.2** - Média ( $\pm$  SD) de indivíduos de *Liohippelates peruanus* e Morfo - espécie 6 coletados durante inverno e primavera de 1999, verão (1999/2000) e inverno de 2000, nas 3 alturas, em 3 amostras diárias.

Estação/altura	Machos		Fêmeas	
	Nº de amostras	Média ( $\pm$ SD)	Nº de amostras	Média ( $\pm$ SD)
Inverno - 40 cm	18	<b>14,06</b> ( $\pm 25,38$ )	18	<b>43,33</b> ( $\pm 68,87$ )
Inverno - 80 cm	18	<b>11,61</b> ( $\pm 17,81$ )	18	<b>32,78</b> ( $\pm 52,61$ )
Inverno - 120 cm	18	<b>8,72</b> ( $\pm 14,96$ )	18	<b>22,67</b> ( $\pm 36,10$ )
Primavera - 40 cm	18	<b>16,78</b> ( $\pm 26,41$ )	18	<b>69,17</b> ( $\pm 94,28$ )
Primavera - 80 cm	18	<b>17,67</b> ( $\pm 26,58$ )	18	<b>61,78</b> ( $\pm 91,99$ )
Primavera - 120 cm	18	<b>25,28</b> ( $\pm 44,68$ )	18	<b>64,50</b> ( $\pm 103,08$ )
Verão - 40 cm	18	<b>10,06</b> ( $\pm 19,36$ )	18	<b>37,17</b> ( $\pm 62,11$ )
Verão - 80 cm	18	<b>10,83</b> ( $\pm 24,36$ )	18	<b>31,72</b> ( $\pm 48,52$ )
Verão - 120 cm	18	<b>15,28</b> ( $\pm 32,80$ )	18	<b>51,50</b> ( $\pm 100,42$ )
Outono - 40 cm	18	<b>0,67</b> ( $\pm 1,14$ )	18	<b>5,06</b> ( $\pm 9,33$ )
Outono - 80 cm	18	<b>0,61</b> ( $\pm 1,29$ )	18	<b>3,89</b> ( $\pm 5,98$ )
Outono - 120 cm	18	<b>0,44</b> ( $\pm 0,92$ )	18	<b>2,11</b> ( $\pm 4,01$ )

Foi verificado que em períodos mais frios (outono e inverno) houve maior atividade destas espécies na altura mais baixa, sendo coletado menor número de indivíduos nas alturas de 80 cm e menor ainda em 120 cm. Desta maneira houve uma correlação negativa, quando os dados eram considerados nos períodos de inverno e outono.

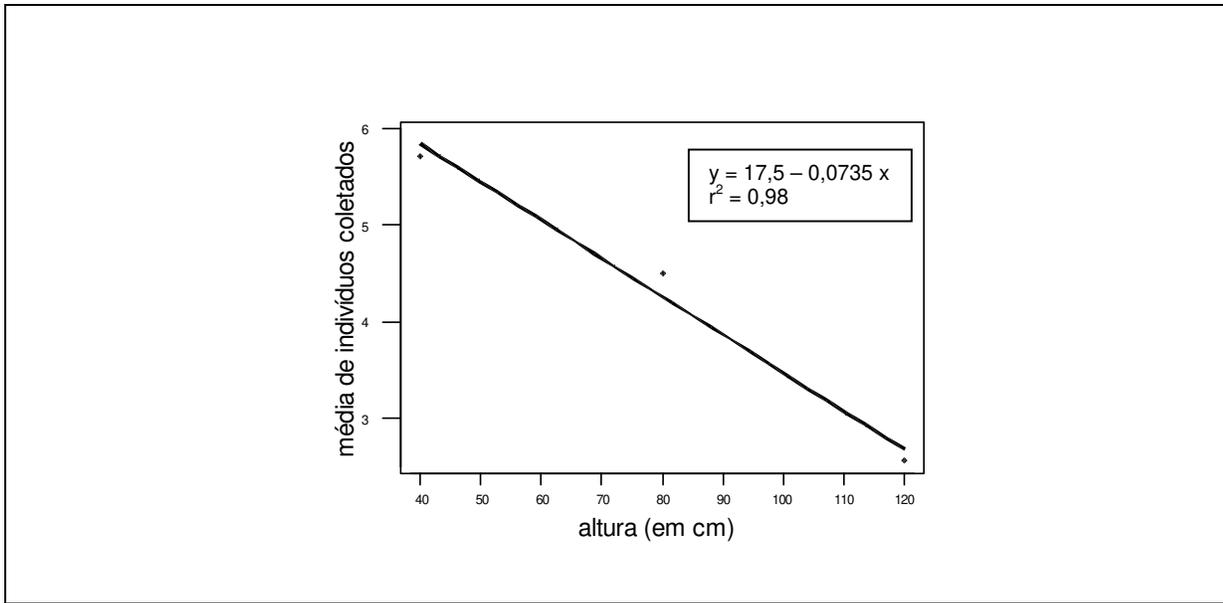
Nos períodos mais quentes (primavera e verão) foi verificado que os valores para correlação de Pearson, mostraram-se positivas, indicando que nesta estação, o maior número de indivíduos coletados foi maior quanto maior a altura considerada. Os valores obtidos para a Correlação de Pearson, considerando-se os valores das duas espécies podem ser verificados na Tabela 3.2:

**Tabela 3.2** - Correlação entre o número de indivíduos coletados de *Liohippelates peruanus* e Morfo - espécie 6 e alturas de 40 cm, 80 cm e 120 cm, conforme

estações	<i>Liohippelates peruanus</i>		Morfo-espécie 6		<i>Liohippelates peruanus</i> + Morfo-espécie 6		
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho +Fêmea
inverno	-0,485	-0,918	-0,723	-0,672	-1,000	-1,000	-1,000
primavera	0,981	-0,878	0,904	0,619	0,910	-0,625	0,367
verão	-0,972	0,218	0,965	0,951	0,926	0,701	0,761
outono	-0,866	-0,934	-0,327	-0,644	-0,964	-0,993	-0,991

Após a verificação da Correlação foi realizada também uma Análise de Regressão Linear entre o entre a média de indivíduos coletados em cada estação e as alturas das coletas.

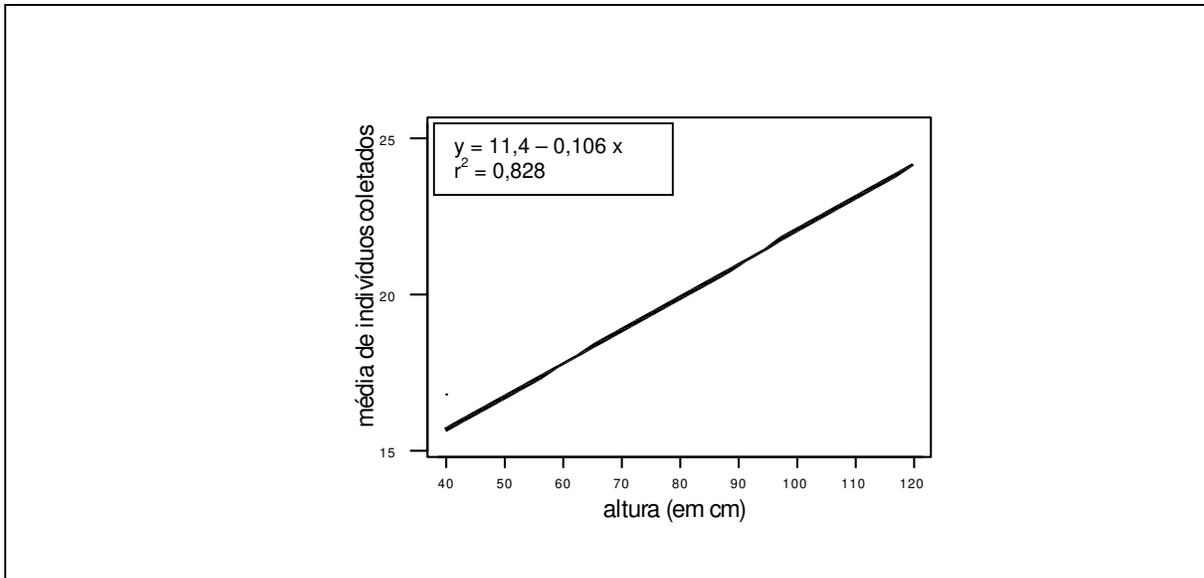
**a) Machos coletados no inverno** - Para os indivíduos machos de *Liohippelates peruanus* e Morfo – espécie 6, os dados das médias obtidas na análise de variância (ANOVA), foram organizados em uma planilha do programa estatístico Minitab (versão 10.1) e feita então uma regressão linear. Os resultados podem ser verificados conforme figuras 3.2, 3.3, 3.4 e 3.5.



**Figura 3.2** – Regressão linear entre a média de indivíduos machos de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie seis coletados no inverno e altura

Conforme podemos observar na figura 3.2, o número de cloropídeos machos das duas espécies mais abundantes coletados durante o inverno, a média foi maior nas alturas mais baixas nesta estação, podendo ser verificado então que, quando em períodos mais frios, a atividade de vôo destes insetos restringem-se próximos ao solo, e menor número de indivíduos voando mais alto, de acordo com os valores verificados na análise de regressão com  $F = 10372,32$  ( $P < 0,05$ ).

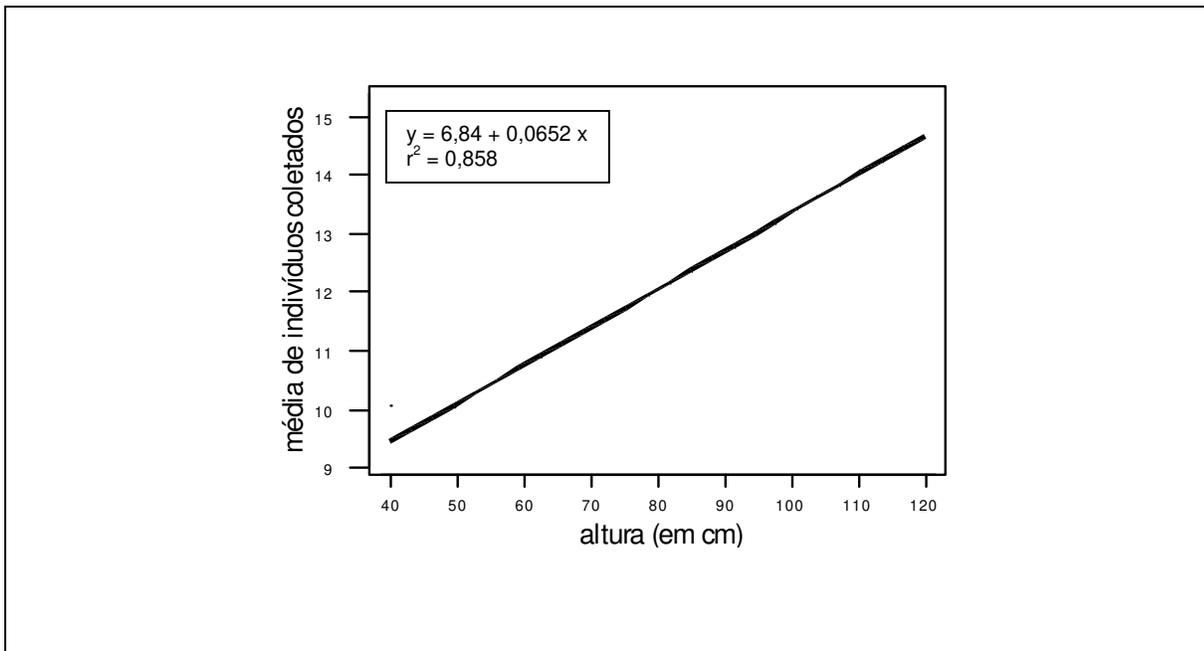
**b) Machos coletados na primavera** - Para machos coletados durante o período da primavera de 1999, podemos observar que há uma alteração na análise de regressão (em relação daqueles coletados no inverno), na qual pode ser verificado uma reta ascendente, uma vez que a Correlação de Pearson (correlação entre a média de machos coletados durante a primavera e altura igual a **+0,910**), conforme podemos observar na figura 3.3.



**Figura 3.3** – Regressão linear entre a média de indivíduos machos de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie seis coletados na primavera e altura

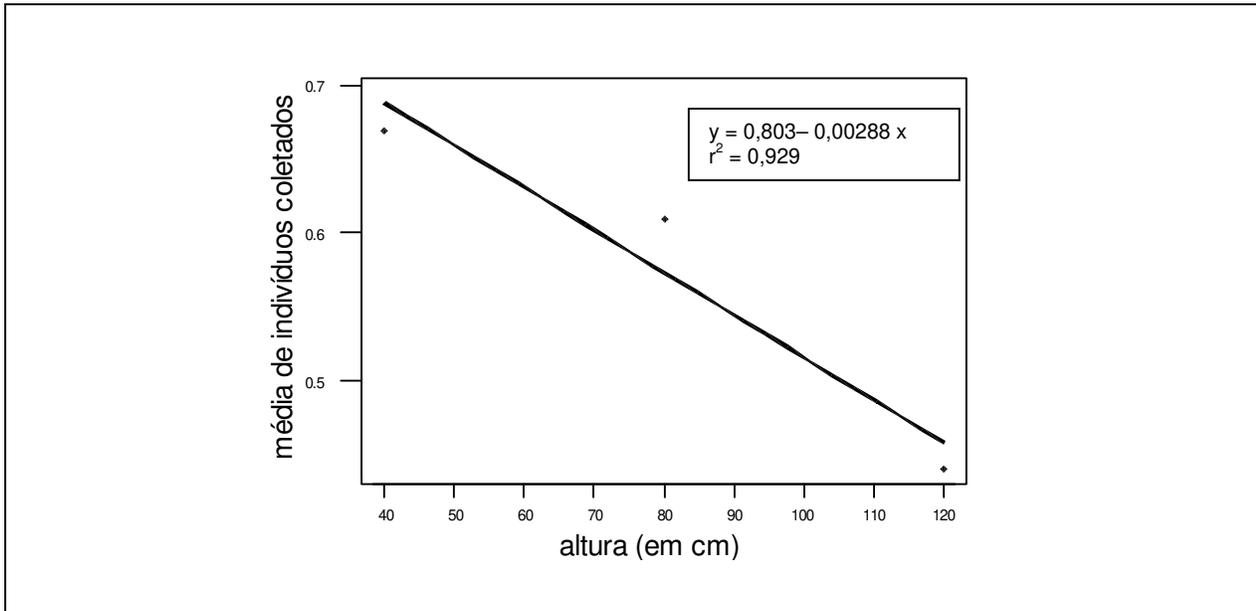
Apesar de ser verificado um valor alto para correlação, a análise de regressão entre a média de indivíduos machos de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie seis coletados na primavera e altura, mostrou um  $F = 4,80$  (n.s. em  $P < 0,05$ ). No entanto denota-se que houve maior média de indivíduos coletados nas alturas distantes do chão, mostrando que machos destes insetos voam mais distante do chão nestes períodos mais quentes, conseqüentemente voam em menor número próximo ao solo, neste período.

**c) Machos coletados no verão** - Embora a análise de regressão linear também não tenha sido significativa  $F = 6,04$  (n.s.), houve uma Correlação positiva entre a média de indivíduos machos de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie 6 coletados no verão e altura das armadilhas de Tinkhan (correlação =  $+0,926$ ), mostrando que a reta para a regressão apresenta-se de forma ascendente, ou seja, diretamente proporcional, denotando que a havia maior número de insetos coletados quanto maior fosse a distância do solo, conforme pode se verificado na figura 3.4.



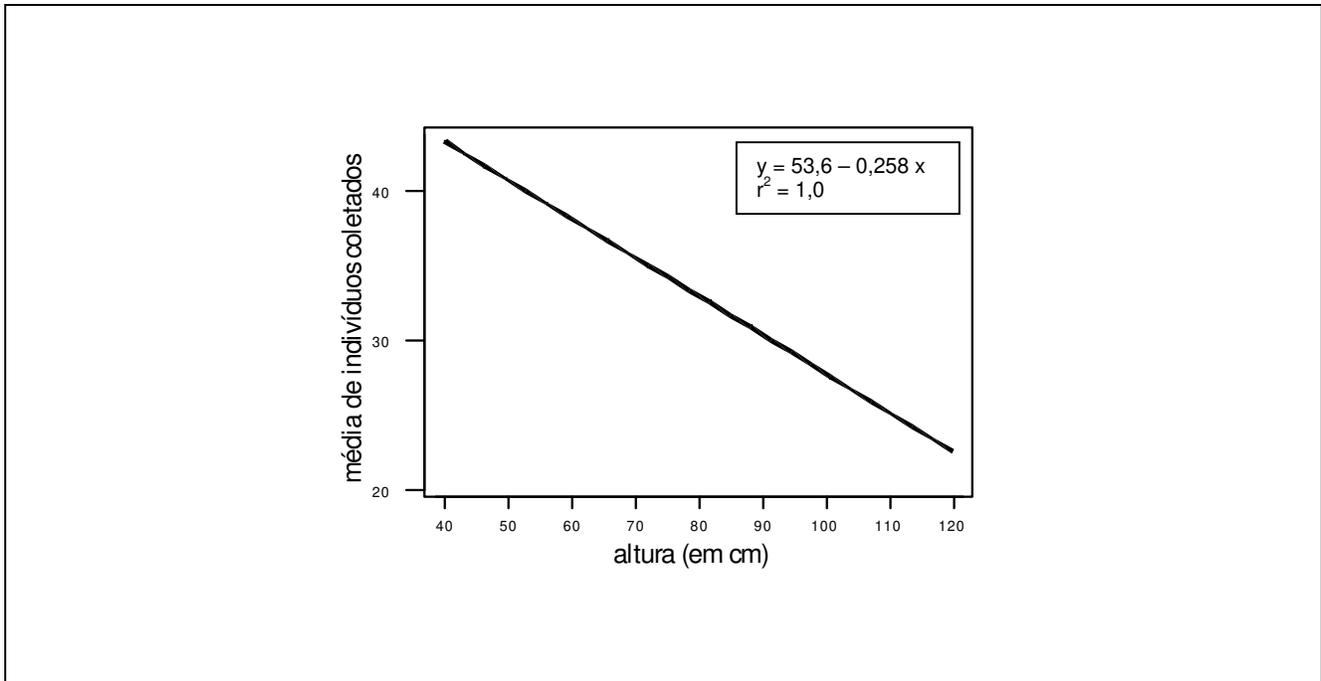
**Figura 3.4** – Regressão linear entre a média de indivíduos machos de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie seis coletados no verão e altura

**d) Machos coletados no outono** – A média de indivíduos machos coletados durante o período de outono foi maior em alturas mais baixas, sendo inversamente proporcional à altura de acordo com o valor da correlação (Correlação = -0,964) e conforme pode ser verificado na figura 3.5.



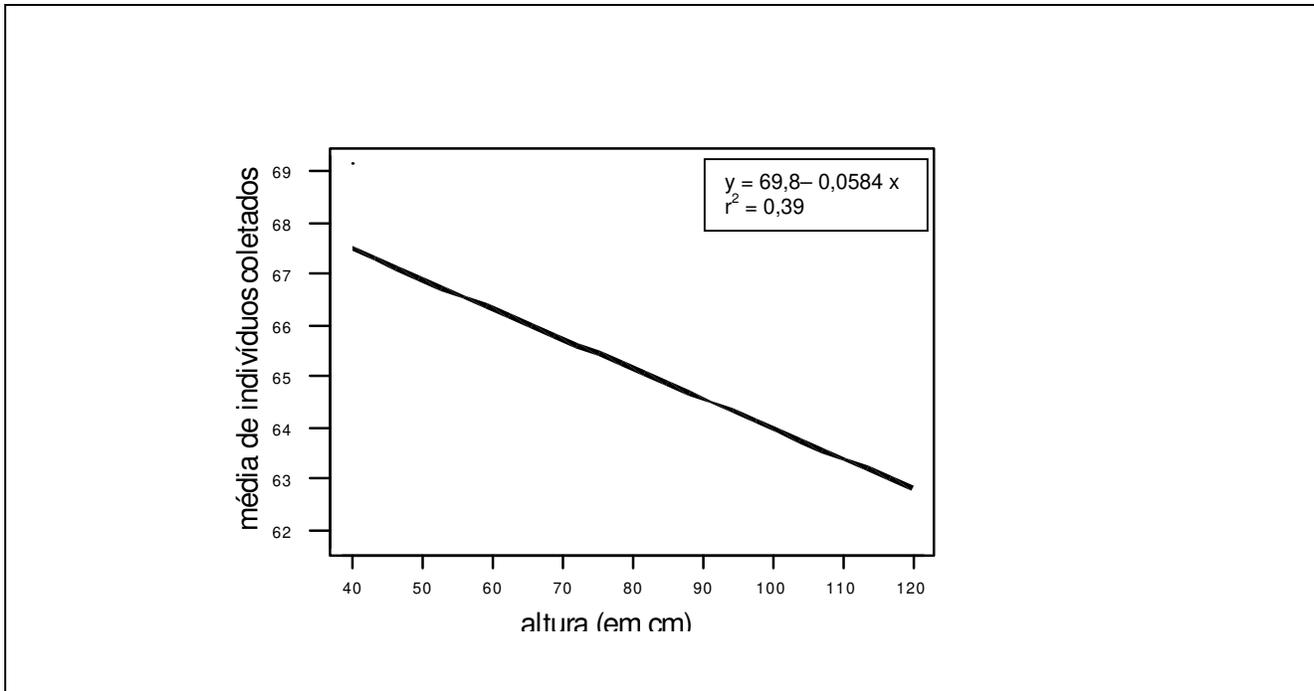
**Figura 3.5** – Regressão linear entre a média de indivíduos machos de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie seis coletados no outono e altura

**e) Fêmeas coletadas no inverno** – Assim como os machos coletados no inverno, a média de fêmeas de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie seis coletada no inverno foi inversamente proporcional em relação à altura, capturando maior quantidade de indivíduos nas alturas mais próximas ao solo. Assim a reta da regressão linear mostra-se descendente, pois a correlação foi negativa com um valor muito alto (correlação = -1,00). A análise de regressão mostrou um  $F=6614,19$  ( $P<0,05$ ), conforme pode ser verificado na figura 3.6.



**Figura 3.6** – Regressão linear entre a média de indivíduos fêmeas de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie seis coletados no inverno e altura

**f) Fêmeas coletadas na primavera** – A Regressão linear feita entre a média de indivíduos fêmeas de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie seis coletados na primavera e altura, mostrou valores não esperados para esta estação, pois esperava-se uma correlação positiva, sendo que o valor obtido foi de - 0,625. Para análise de regressão linear foi obtido  $F = 0,64$  (n.s. em  $P < 0,05$ ). De acordo com dados pluviométricos obtidos da Estação de meteorologia do CEPAGRI (Centro de Pesquisa em agricultura – UNICAMP), verificou-se maior precipitação de chuvas neste período sazonal, o que pode ter também influenciado a altura da atividade de vôo destes insetos

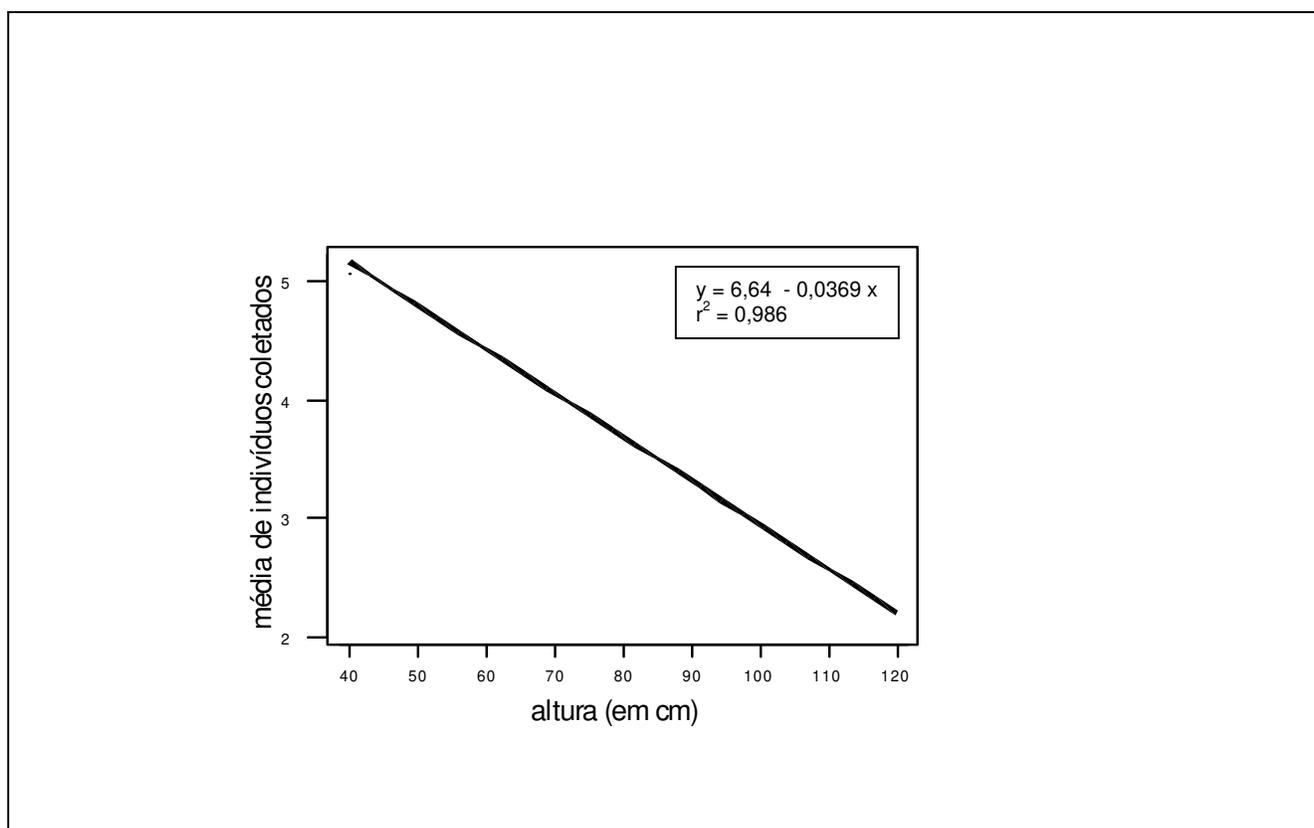


**Figura 3.7** – Regressão linear entre a média de indivíduos fêmeas de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie seis coletados na primavera e altura

**g) Fêmeas coletadas no verão** – Neste período sazonal, observou-se médias de indivíduos fêmeas diretamente proporcional à altura de coleta, com correlação igual a +0,701, portanto a reta da regressão linear apresentou-se de forma ascendente. A análise de regressão mostrou  $F = 0,97$  (n. s.). No entanto, verificou-se maior número de indivíduos coletados quanto maior foi a altura das armadilhas, conforme pode ser denotado na figura 3.7.

**h) Fêmeas coletadas no outono** – Verifica-se que a média de fêmeas de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie seis coletados no verão foi inversamente proporcional em relação à altura de coleta, sendo verificada uma correlação muito significativa: -0,993, embora para

análise de regressão mostrou  $F=70,16$  (n.s. em  $P<0,05$ ). Assim obteve-se nesta estação um número maior de fêmeas quanto menor fosse a altura, mostrando que nesta estação, havia maior número de fêmeas voando próximo ao solo, conforme pode ser verificado na figura 3.8.



**Figura 3.8** – Regressão linear entre a média de indivíduos fêmeas de *Liohippelates peruanus* e Morfo-espécie seis coletados no outono e altura

### 3.5 – Discussão

Os resultados verificados neste experimento mostraram que a atividade de vôo pode ser correlacionada com a altura da armadilha e o período sazonal em que a amostragem é realizada. De acordo com Tolley & Niemczyk (1988), em experimentos realizados em Ohio (EUA), as maiores densidades de cloropídeos, mais especificamente com a espécie *Oscinella frit* L. (Diptera:Chloropidae) ocorre nos meses mais quentes daquela região, que está compreendido entre os meses de abril até julho. De acordo com os mesmos autores o número de fêmeas adultas declinam consideravelmente em períodos de chuva, quando amostrados em puçá passados na superfície do gramado. Este resultado corrobora com os valores obtidos para amostras de fêmeas realizadas na estação primavera, na qual foi observado menor número de indivíduos coletados em alturas superiores. De acordo com Moore (1983), a diferença no tamanho da população amostrada entre duas gerações de moscas adultas pode ser influenciada pelo diferencial de sobrevivência dos estágios imaturos das duas gerações, sendo a mortalidade de larvas e pupas muito maior no outono e inverno quando comparado com a mortalidade ocorrida no verão. Hemer (1959) observou que as densidades de fêmeas declinam em períodos de chuva. Além da precipitação de chuvas, a temperatura é também é um importante parâmetro ambiental para predição da abundância de cloropídeos (Karandinos & Axtell 1967a, Karandinos & Axtell 1967b, Spielman 1962).

A altura da atividade dos cloropídeos neste trabalho influenciou no número de indivíduos coletados, sendo coletado maior número de indivíduos em alturas mais baixas, quando as amostras eram realizadas em períodos mais frios (outono e primavera); ou seja: o número de indivíduos coletados foi inversamente proporcional a altura em que estava disposta a armadilha. Por outro lado, nos períodos sazonais mais quentes (primavera e verão), o número de indivíduos coletados foi diretamente proporcional em relação à altura em que a armadilha foi disposta, coletando maior número de indivíduos quanto maior fosse a altura.

Calnaido *et al* (1965) investigaram o que *Oscinella frit* possui hábito de baixas altitudes de vôo durante o inverno, verificando que há um maior número de indivíduos coletados quando as amostras são realizadas da superfície do gramado até 0,50 m, sendo que acima de 0,50 m até 2,50 m, a densidade diminuiu regularmente, diminuindo até sua altitude final que foi de 3,5 m. Os mesmos autores consideraram que há uma

descontinuidade entre 0,5 m e 2,5 m, constituindo uma divisão entre os insetos que estão em constante circulação e que provavelmente aqueles que estão abaixo de 0,5 m estão contatados sensorialmente com o substrato do solo.

Os resultados verificados no presente trabalho mostraram que em temperaturas mais frias ocorre maior densidade de indivíduos, fato que vem a corroborar conforme Taylor (1974) o qual verificou que a fração de indivíduos coletados em um perfil mais intimamente ligado à camada de limite inferior, deve sua existência à habilidade de um organismo em pousar a vontade, uma vez que esteja mais próximo do solo e assim reduza a densidade aérea acima deste limite. No entanto, foi verificado conforme os resultados obtidos, que nos períodos mais quentes a densidade torna – se maior na maior altura e com menor número nos extratos mais baixos. Possivelmente, o número de indivíduos seja maior nas alturas próximas ao chão nos meses mais frios devido ao comportamento de vôos mais curtos, uma vez que a temperatura pode influenciar nas reações enzimáticas necessárias ao vôo, e que ao final destes vôos curtos, a proximidade do solo disponibilizaria o pouso imediato, fato que novamente está de acordo com a afirmação de Taylor (1974). Por outro lado, nos períodos mais quentes os vôos seriam mais longos, pois o catabolismo necessário para o vôo seria maior, disponibilizando maior quantidade de energia, facilitando assim esta atividade de forma mais prolongada.

Taylor (1974) sugeriu que a proporção de insetos distribuídos em duas alturas, pode ser utilizada como índice migratório de uma espécie. Vickerman (1980) trabalhando com espécies do gênero *Oscinella*, discute que por ser a espécie *O. maura* uma espécie monófaga e menos abundante, possui necessidade migratória muito menor que de *O. frit*, que é uma espécie comumente encontrada e altamente polífaga.

### **3.6 – Conclusões**

**a)** A altura da disposição da armadilha influenciou na quantidade de indivíduos coletados, no entanto, as análises foram agrupadas por períodos sazonais, pois a resposta do número de indivíduos coletados foi diferente, dependendo da estação;

**b)** Nos períodos mais frios (inverno e outono), houve maior número de indivíduos de cloropídeos, quando coletados em armadilhas dispostas mais próximas ao solo, sendo que

houve uma correlação negativa, denotando assim que o número de indivíduos coletados nestas estações foi inversamente proporcional à altura.

**c)** Nos períodos mais quentes (primavera e verão) observou-se maior número de indivíduos sendo coletados em alturas mais distantes do solo, ocorrendo assim uma correlação positiva entre o número de indivíduos coletados e a altura.

### 3.7 – Referências bibliográficas

AXTELL, R. C. & EDWARDS, T. D. Seasonal populations of *Hippelates* gnats in North Carolina. *Ann. Ent. Soc. Am.* 63 (4): 1049 – 1053. 1970.

BENGTSON, I. A. Seasonal acute conjunctivitis occurring in the southern states. *Publ. Health Rep.* 48: 917 – 926. 1933.

CALNAIDO, D., FRENCH, R. A. & TAYLOR, L.R. Low altitude flight of *Oscinella frit* L. (Diptera: Chloropidae). *J. Anim. Ecol.* 34: 45 – 61. 1965.

CARRERA, M. *Insetos de interesse médico e veterinário*. Curitiba: Universidade Federal d

HEMER, V. M. Zur biologie, wirtschaftlichen bedeutung und bekämpfung der fritfliege (*Oscinis frit* L.) an Gerste. *Z. Angew. Ent.* 44: 315 -339. 1959.

KARANDINOS, M. G. & AXTELL, R. C. Temperature effects on the immature stages of *Hippelates pusio*, *H. bishoppi*, and *H. pallipes* (Diptera: Chloropidae). *Ann. Ent. Soc. Amer.* 60 (5): 1055 – 1062. 1967(a).

\_\_\_\_\_. Effect of temperature on the longevity, fecundity, and activity of adult *Hippelates pusio*, *H. bishoppi*, and *H. pallipes* (Diptera: Chloropidae). *Ann. Ent. Soc. Amer.* 60 (6): 1252 – 1255. 1967(b).

KUMM, H. W.; TURNER, T. B.; PEAT, A. A. The duration of the mobility of spirochaetes of yaws in a small west Indian fly – *Hippelates pallipes* Loew. *Am. J. Trop. Med.* 15: 209 – 223. 1935.

LENKO, K. & PAPAVERO, N. *Insetos no Folclore*. São Paulo: Conselho Estadual de artes e Ciências Humanas. 518 p. 1979.

- MINITAB FOR WINDOWS (RELEASE 10.1). *User's guide*. Enterprise Drive St. Cl. Pennsylvania – USA.1994.
- MOORE , D. Hymenopterous parasitoids of stem-boring Diptera (for example *Oscinella frit* L.)in perennial ryegrass *Lolium perenne* in Britain. Bull. Ent. Res. 73: 601-607. 1983.
- NICHOLLS, L. The transmission of pathogenic microorganisms by flies in St. Lucia. Bull. Ent. Res. 3: 81 – 88. 1912.
- PAGANELLI, C. H. & SABROSKY, C. W. *Hippelates* flies (Diptera: Chloropidae) possibly associated with brazilian purpuric fever. Proc. Ent. Soc. Wash. 95 (2): 165 – 174. 1993.
- PAYNE JR, W. J.; COLE JR, J. R.; SNODDY, E. L.; SEIBOLD, H.R. The eye gnat *Hippelates pusio* as a vector of bacterial conjunctivitis nursing rabbits as an animal model. J. Med. Ent. 13: (4-5): 599 – 603. 1977.
- SABROSKY, C.W. Chloropidae. In McALPINE, J. F.; PETERSON, B. V.; SHEWELL, G.E.; TESKEY, H. J.; WOOD, VOCKEROTH, J. R.; WOOD, D. M. (eds.) *Manual of Nearctic Diptera*. Biosystematics research Centre, Agric. Canada, Monograph 28. 2: 1049 – 1067. 1987.
- SANDERS, D. A. *Hippelates* flies as vector of bovine mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 97 (763): 306 – 308. 1940.
- SCHNEIDER, A. An introduction report on pseudo-trachoma endemic in the Salton Sea region of California. Med. Sent. 35 (3) 154 – 161. 1927.
- SPIELMAN, A. The influence of rainfall upon the abundance of Cuban *Hippelates* (Diptera: Chloropidae). Ann. Ent. Soc. Amer. 55 (1): 39 – 42. 1962.
- TAYLOR, L. R. Insect migration, flight periodicity and the boundary layer. J. Anim. Ecol. 43: 225 – 238. 1974.

TAYLOR, M. L. & OLINGER, L. D. An egg survey of *Hippelates* gnats in the vicinity of Orlando, Florida. J. Econ. Ent. 51 (4) : 557. 1958.

TINKHAM, E. R. Control of eye gnats by soil larvicides. Cal. Mosq. Con. Assoc. Proc. 67 – 68. 1953

TOLLEY, M. P. & NIEMCZYK, H. D. Seasonal abundance, oviposition activity, and degree-day prediction of adult frit fly (Diptera: Chloropidae) occurrence on turfgrass in Ohio. Environ. Ent. 17 (5): 855 – 862. 1988.

TONDELLA, M.L.C; PAGANELLI, C. H.; BORTOLOTTI, I. M.; TAKANO, O. A.; IRINO, K.; BRANDILEONE, M. C. C.; MEZZACAPANETO, B.; VIEIRA, U. S. D.; PERKINS, B. A. Isolamento de *Haemophilus aegyptius* associado à febre purpúrica brasileira, de Cloropídeos (Diptera) dos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates*. Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo. 36 (2): 105 – 109. 1994.

VICKERMAN, G. P. The phenology of *Oscinella* spp. (Diptera: Chloropidae). Bull. Ent. Res. 70: 601-620. 1980.

ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. 4<sup>th</sup> ed. Prentice Hall. New Jersey. 661 pp + 212 app. 1999.

#### 4.0 - CAPÍTULO 4:

### DESENVOLVIMENTO DOS ESTÁGIOS IMATUROS DE *Liohippelates peruanus*(BECKER) (DIPTERA: CHLOROPIDAE) EM 4 TEMPERATURAS.

#### 4.1 - Resumo

*Liohippelates peruanus* é uma das espécies mais freqüentes na cidade de Campinas-SP e tem sido descrita como transmissora da bactéria *Haemophilus aegyptius*, que é o agente etiológico de conjuntivites e da Febre Purpúrica Brasileira (Paganelli & Sabrosky 1993), sendo observada em maior abundância nos períodos mais quentes do ano, além de incomodar muito com sua presença em parques e áreas de lazer e recreação, trazendo prejuízos à atividade econômica do turismo. Com o objetivo de estudar a biologia deste inseto, foi desenvolvido um meio eficaz e de simples manipulação para a realização de experimentos de criação em laboratório de estágios imaturos deste inseto. O experimento foi conduzido em temperaturas constantes de 22 °C, 24 °C, 27 °C e 29 °C ( ± ) e umidade relativa de 80 % ( ± 5%). Os dados obtidos foram analisados pelo Programa estatístico MINITAB 10.1 e mostraram que a temperatura basal (TB) para o desenvolvimento dos estágios imaturos, de ovo até emergência dos adultos foi de 16,97 °C, sendo que foi determinado  $K = 178,36$  graus dia, energia necessária para o desenvolvimento dos estágios imaturos até a emergência dos adultos.

As dimensões do ovo, larva e pupa também são apresentadas. Estes dados preliminares poderão contribuir para futuros experimentos que envolvam o estudo desta importante família de Diptera, uma vez que pouco se sabe sobre a biologia destas moscas no Brasil.

#### **Abstract**

*Liohippelates peruanus* is one of the most abundant species in the city of Campinas, São Paulo state and it has been described as mechanical vector of the bacteria *Haemophilus aegyptius*, the agent of conjunctivitis and of the Brazilian Purpuric Fever (Paganelli & Sabrosky 1993), it occurs in larger number in the hottest periods of the year, being an annoyance in parks, leisure and recreational areas, causing economical damage to tourism.

With the objective of studying the biology of this insect, an effective and simple way was developed for the breeding of immatures of this insect in the laboratory. The experiment was done in the laboratory, in constant temperatures of 22 °C, 24 °C, 27 °C and 29 °C and relative humidity of 80% ( $\pm$  5%). The data were analyzed by the statistical Program MINITAB 10.1 and they showed that the basal temperature (TB) for the development of the immatures, from egg to adult was of 16,97 °C, being  $K = 178,36$  day degrees, the necessary energy for the development of the immature stages.

These preliminary data may contribute to future experiments with species of this important family of Diptera, once little is known about the biology of these flies in Brazil.

#### 4.2 - Introdução

Os gêneros *Liohippelates* e *Hippelates* são cloropídeos de grande importância médica e veterinária na região Neotropical, principalmente no Brasil. O comportamento comunicativo das espécies desses gêneros de pousarem de uma pessoa a outra, facilita a veiculação de vários patógenos. Schneider (1927) citou *Hippelates flavipes* (Loew), (atualmente *Liohippelates*) e a *Musca domestica* L. como os principais transmissores da conjuntivite aguda endêmica na Califórnia, USA. Em 1933, Bengtson registrou que a ocorrência de conjuntivite aguda no sudeste americano, causada por *Haemophilus aegyptius* (Kock-Weeks), teria sido amplamente transmitida pela mosca *Liohippelates pusio* (Loew). Kumm *et al.* (1935) citam *Hippelates pallipes* (Loew) como transmissor mecânico de *Treponema pertenue* (Castellani) na Jamaica. Os autores encontraram espiroquetas móveis 24 horas após a infecção, no intestino anterior e probóscida.

Nicholls (1912) cita os cloropídeos como transmissores mecânicos de *Treponema pertenue*, o agente etiológico da boubá. Segundo Sanders (1940), moscas do gênero *Hippelates* e *Musca domestica*, são potenciais vetores da mastite bovina, determinando grandes prejuízos na produção de leite. Davis & Pittman (1950) relataram a possível transmissão mecânica de *Haemophilus* sp. pela espécie *Liohippelates pusio*, visto que a incidência de conjuntivite parecia coincidir com a distribuição geográfica e a variação sazonal destes insetos. Os surtos de conjuntivite causados pelo *H. aegyptius* foram concomitantes com os picos de maior densidade de moscas da espécie *Liohippelates collusor* (Townsend) (Dawson 1960).

Taplin *et al.* (1967), mostraram que os cloropídeos são capazes de transmitir os agentes da estreptococcemia beta-hemolítica e a estafilococcemia coagulase-positiva, as quais causam piodermias no Panamá. Basset (1970), em Trinidad, isolou *Streptococcus pyogenes* de cloropídeos associados com infecções estreptocócicas da pele. Concluiu que estes insetos provavelmente contribuem para a rápida dispersão da estreptococcemia na ilha. Payne *et al.* (1977) utilizando coelhos como modelo animal para testar a importância de *Hippelates pusio* como vetor de *Haemophilus aegyptius*, observaram que além deste, podem ainda veicular outros patógenos, como a *Entamoeba coli* e *Staphylococcus sp.*

O efeito da temperatura no desenvolvimento dos estágios imaturos de espécies do gênero *Hippelates* foi investigado por vários pesquisadores (Hall 1932, Burgess 1951, Legner *et al.* 1966, Mulla 1966, Karandinos & Axtell 1967). Em experimentos realizados no campo por meio de armadilhas de emergência, Dow & Willis (1959) verificaram que o pico de emergência para *Hippelates pusio* no solo e em temperatura média de 83 °F (28,33 °C) ocorreu entre o 19º e 22º dia após o início do desenvolvimento do ovo. Na temperatura média do solo de 78 °F (25,5 °C), o pico de emergência dos adultos ocorreu entre o 21º e 26º dia. O período de emergência de um inseto é utilizado para determinação da temperatura basal (Tb) dos estágios imaturos, sobre os quais são calculados os graus dia acumulados no desenvolvimento do inseto. O método utilizado para determinação da Tb tem sido calculado por vários autores no campo e por meio da verificação da temperatura do solo e tempo de ovo à emergência, utilizando o método de regressão e intersecção do eixo X (Umoru *et al.* 1990). Segundo este mesmo autor, utilizando-se a temperatura máxima do ar e a mínima da superfície do solo de um gramado do Norte da Inglaterra, calculou-se que o desenvolvimento dos estágios imaturos de *Oscinella frit* L. (Diptera:Chloropidae) acumulou médias de 224 °C ( ± 32,70 °C) e 331°C ( ± 10,33 °C), considerando-se a emergência de 50% da população verificada. Foram também verificados dados para determinação de Graus dia, obtidos por outros autores em várias regiões da Terra (Jepson & Southwood 1958; Lê Berre 1959; Ibbotson 1961; Van Emden *et al.* 1961; Rygg 1967; Vickerman 1980).

### **4.3 – Material e métodos**

#### **4.3.1 - Colonização de adultos**

As populações de *Liohippelates peruanus* foram obtidas utilizando-se um aspirador entomológico e rato eviscerado como isca. Os insetos obtidos nas coletas foram levados ao

laboratório de entomologia do Departamento de Parasitologia (IB) da UNICAMP onde foram colonizadas em gaiolas de plástico com dimensões de 33 cm X 28 cm X 26 cm (Comp. X Alt. X Larg.), tampadas com “manga” de meia preta feminina. As populações obtidas foram mantidas em 27 °C, fotoperíodo de 12:12 (L:D) e umidade relativa entre 75% e 85 % em câmara de criação.

A colonização foi realizada a partir de pupas F<sub>1</sub>, obtidas conforme metodologia descrita a seguir, as quais foram colocadas em câmaras de emergência, de acordo com a temperatura. Após emergência, os adultos foram colocados em gaiolas de criação e alimentados em meio enriquecido com proteína, conforme descrito a seguir.

#### **4.3.2 - Dieta para adultos de *Liohippelates peruanus***

##### **3.3.2.1 - Dieta I (líquida)**

Mel.....	100 ml
Água destilada.....	900 ml
Nipagin.....	0,6 grama

Para o preparo da dieta líquida (energética), foi dissolvido anti fúngico Nipagin e mel em água, sendo misturados em liquidificador por 3 minutos. A dieta foi oferecida em pequenos frascos com pavio feito com tiras toalha esponjosa.

##### **4.3.2.2 - Dieta II (seca)**

Leite em pó.....	50 gramas
Levedura de cerveja.....	15 gramas

A mistura foi oferecida em placas de petri de 55 mm X 10 mm, fornecendo a parte protéica necessária para a colonização.

#### **4.3.3 – Dieta (meio) para obtenção dos ovos**

Para a obtenção de ovos de *Liohippelates peruanus* foi preciso padronizar um meio para a postura dos ovos, utilizando-se sangue bovino dissolvido em ¼ de água contendo heparina e embebido em pedaços de lenços de limpeza facial e/ou absorvente odontológico,

manufaturados em algodão prensado, conforme metodologia modificada de Karandinos & Axtell (1967).

#### **4.3.4 – Dieta para o desenvolvimento dos estágios imaturos**

Para criação dos estágios imaturos foi utilizada a seguinte dieta, modificada conforme descrito por Mulla (1962), associado com o meio ágar-leite em pó a 40 % descrito por Pacheco (1971) e também por Leal *et al.* (1982).

Agar.....	6 gramas
Leite em pó.....	30 gramas
Levedura de cerveja.....	30 gramas
Nipagin.....	0,6 grama
Caseína.....	1,5 grama
Mel.....	50 ml
Proteína hidrolisada de cana de açúcar.....	50 ml

Para o preparo desta dieta, o agar foi dissolvido em 400 ml de água destilada fervente, de forma que a solução se apresentasse hialina. Posteriormente a solução ainda quente foi colocada em um liquidificador, adicionando o leite em pó, nipagin, caseína, mel, levedura e proteína hidrolisada. Os componentes foram misturados em liquidificador por 2 minutos. Por fim adicionou-se 600 ml de água fria destilada.

Esta dieta foi oferecida misturando-se 60 % de vermiculita esterilizada em autoclave, sendo que durante a criação e o meio foi umidecido com solução de água destilada com 0,6 grama de nipagin por litro.

#### **4.3.5 – Metodologia para observação dos estágios imaturos**

Após obtenção dos ovos em chumaços de algodão prensado, os mesmos foram transferidos para um recipiente plástico transparente de 7 cm de diâmetro por 8 cm de altura com tampa, contendo meio para criação de larvas misturado à vermiculita, de forma a constituir um meio semi-pastoso, de consistência granulada.

O frasco foi preenchido com meio até aproximadamente  $\frac{3}{4}$  de seu volume. Os ovos foram retirados do meio de oviposição e colocados no meio para o desenvolvimento de larvas, e foram mantidos em câmara de criação em 80% ( $\pm$  5%) de umidade e temperaturas

constantes, a 22 °C, 24 °C, 27 °C e 29 °C, sendo que as observações eram feitas em períodos de 1 hora na fase de ovo e de 2 horas para larvas. Foi feito um furo de 3 cm na tampa plástica de cada recipiente, sendo colocado um pedaço de organza sob a tampa do recipiente sob a tampa, de forma a entrar ar na colônia. A cada três dias o meio era umedecido, por aspersão de água destilada. A massa de ovos foi observada de 1 em 1 hora até que se obtivessem as larvas, que eram então individualizadas em outro frasco contendo o mesmo meio, porém em menor quantidade, anotando até que estas virassem pupas. As pupas então foram observadas em intervalos de 2 horas até a sua emergência.

Foram observadas também as dimensões dos estágios imaturos obtidos em laboratório a partir de colônias mantidas em 27°C ( ± 0,5 °C) e em 80% ( ± 5%) de umidade relativa sendo verificadas também as dimensões dos estágios larvais. As observações foram feitas em microscópio estereoscópico Carl Zeiss equipado com ocular microscópica calibrada.

#### **4.3.6 – Cálculo da constante térmica K (Graus dia)**

O cálculo da constante térmica de *Liohippelates peruanus* foi efetuado por meio da Equação de Reamur:

$$K = D(T - T_b)$$

Onde:

K = constante térmica (em graus dia).

D = tempo de desenvolvimento

T = temperatura real

T<sub>b</sub> = temperatura basal.

## **4.4 – Resultados**

### **4.4.1 – Verificação de meios para o desenvolvimento dos estágios imaturos.**

Os resultados deste experimento mostraram que o meio modificado foi eficiente para o desenvolvimento de larvas. Foi observado que para obtenção de ovos, fêmeas de *Liohippelates peruanus* realizaram postura no material utilizado para a manufatura da “manga” da gaiola, que era de meia preta feminina, reciclada para este fim. No entanto, poucas larvas foram obtidas a partir destes ovos, mostrando sua baixa viabilidade.

Para obtenção dos ovos, resultado muito positivo foi conseguido a partir de sangue misturado em ¼ de água com nipagim e embebido em algodão prensado conforme

modificação feita de Karandinos & Axtell (1967), onde as fêmeas colocaram seus ovos. Os ovos de *L. peruanus* são postos de forma individual, não em massas.

As pupas foram obtidas a partir de larvas que eram colonizadas em meio contendo vermiculita, onde os experimentos para cálculo de graus dia foram verificados. As larvas migravam para o interior do meio, que apresentava-se de forma granulada, sendo que a conformação deste meio permita a aeração.

#### 4.4.2 – Verificação nas dimensões dos estágios imaturos de *L. peruanus*

Verificou-se que houve diferença significativa para as dimensões dos ganchos cefalofaríngeos entre os 3 estádios larvais com  $F = 69,89$  ( $P < 0,001$ ) (Tabela 4.1).

**Tabela 4.1** - Dimensões (em mm) verificadas nos estágios imaturos de *Liohippelates peruanus*

	n	amplitude	Media	Desvio Padrão (SD)
largura dos ovos	31	0,130 - 0,166	0,1523	0,01358
comp. dos ovos	31	0,14 - 0,523	0,4738	0,04243
largura larva I	3	0,087 - 0,096	0,0910	0,00458
comp. larva I	3	0,697 - 0,756	0,7270	0,03000
largura larva II	4	0,394 - 0,480	0,4295	0,04278
comp. larva II	4	2,363 - 2,817	2,6205	0,19860
largura larva III	5	0,636 - 0,757	0,6904	0,04984
comp. larva III	5	3,727 - 4,332	3,9146	0,24430
comp. da mandíbula da larva I	3	0,16 - 0,19	0,1733	0,01527
comp. da mandíbula da larva II	4	0,29 - 0,38	0,3325	0,04924
comp. da mandíbula da larva III	5	0,43 - 0,47	0,4440	0,016733
largura das pupas	6	0,8 - 1,0	0,8833	0,07527
compr. das pupas	6	2,6 - 3,0	2,7333	0,17512

#### 4.2.3 - Verificação dos períodos de desenvolvimento dos estágios imaturos

Com o propósito de verificar a Tb para os estágios imaturos de *L. peruanus*, os dados horários obtidos no experimento foram planilhados, sendo calculada a média de horas entre os indivíduos para cada temperatura. Os dados foram posteriormente transformados em unidades de dias. As médias obtidas entre os indivíduos estão apresentadas na **Tabela 4.2**.

Os resultados obtidos por meio de observações periódicas foram analisados pelo programa estatístico MINITAB 10.1 e as diferenças foram analisados em  $\alpha = 0,05$ .

**Tabela 4.2** – Duração dos períodos (em dias) para os estágios imaturos de *Liohippelates peruanus*

Estágio	Período (em dias) para o desenvolvimento conforme temperatura			
	22 °C	24 °C	27 °C	29 °C
Ovo-larva	4,163	2,910	2,090	1,870
Larva-pupa	18,232	9,259	5,860	5,044
Pupa adulto	14,778	10,789	8,545	8,300
Ovo - adulto	36,653 (n = 28)	22,960 (n = 21)	16,500 (n = 11)	15,216 (n = 15)

#### 4.2.4 – Cálculo da temperatura basal (T<sub>b</sub>)

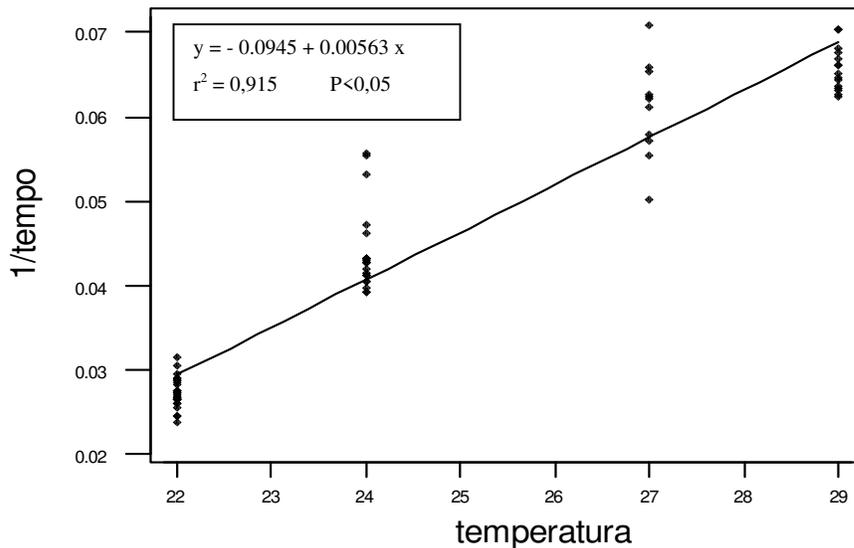
Os valores dos períodos de ovo até adulto foram transformados na recíproca 1/tempo, sendo posteriormente analisados pelo programa Estatístico MINITAB 10.1, conforme temperatura. Os resultados foram analisados por Regressão Linear ( $\alpha = 0,05$ ).

A Equação da Regressão Linear de acordo com os dados obtidos a partir da recíproca do Tempo de desenvolvimento de ovo até emergência (1/T) foi:

$$Y = - 0,0945 + 0,00563 X; F = 784,68 (P < 0,05); r^2 = 0,915$$

De acordo com a Equação da reta obtida a partir da recíproca do Tempo de desenvolvimento de ovo até emergência (1/T), conforme temperatura, foi determinada a temperatura basal, que no caso foi de 16,78 °C

Com este resultado foi possível calcular a temperatura basal ( $T_b$ ) que foi de 16,78 °C, indicando que esta é a temperatura mínima exigida para que ocorra o início do desenvolvimento dos estágios imaturos de *Liohippelates peruanus*, ou seja abaixo de 16,78, os estágios imaturos de *L. peruanus*, não se desenvolverão, conforme pode ser observado na **Figura 4.1**.



22 °C => K = 191,32

24 °C => K = 165,77

27°C => K = 170,44

29 °C => K = 185,93

Calculada a média destes valores, obteve-se **K = 178.36**, indicando ser este o valor a ser considerado para demonstrar a necessidade térmica para o desenvolvimento dos estágios imaturos (ovo, larva e pupa até o momento da emergência de adultos) de *L. peruanus*.

### 4.3 – Discussão

Nenhum trabalho sobre temperatura basal de *Liohippelates peruanus* foi verificado durante o levantamento bibliográfico. Há alguns trabalhos de biologia de cloropídeos feitos somente para a região neártica. Tolley & Niemczyc (1988) consideraram uma temperatura basal de 10 °C em seu experimento com *Oscinella frit* (L.) utilizando dados obtidos a partir de observações da frequência de adultos, considerando-se o estágio ovariano de fêmeas capturadas e a relação com o número total de fêmeas por amostra. De acordo com Higley *et al.* (1986), mudanças dentro do “micro-habitat” no gramado e flutuações na temperatura podem aumentar o tempo de desenvolvimento quando comparado com as estimativas de tempos de desenvolvimento obtidos em laboratório. Segundo Higley *et al.* (1986) métodos de laboratório envolvem sempre uma dieta ótima e uma temperatura constante. A dieta em que foram criadas as populações de *L. peruanus* foram muito eficientes, obtendo-se sem muitas dificuldades grande número de prole, a partir de gerações antecessoras.

Karandinos & Axtell (1967) verificaram a temperatura basal com valores aproximados á 60 °F (15,5 °C), sendo que para *Hippelates pusio* (tb = 60,9 °F; K= 328,7 °F), para *H. bishoppi* (tb = 56,3 °F; K = 459 °F ) e para *H. pallipes* (tb = 61,4 °F; K = 302,9 °F), ocorrentes no Estado da Carolina do Norte. Estes valores estão um pouco abaixo do valor obtido para *L. peruanus*. No entanto, há de se considerar que as espécies estudadas são de clima subtropical, fato que seria esperado, pois em laboratório as necessidades térmicas daquelas

espécies que ocorrem em clima mais ameno são menores, se comparadas à daquelas espécies que ocorrem em clima tropical, como ocorre com *L. peruanus*. Tem sido mostrado, conforme Sping *et al.* (1954) que em baixas temperaturas, o nível de desenvolvimento de insetos aproxima-se de zero. Por isto, utiliza-se a extrapolação linear obtida pelo método de regressão linear, tendo como parâmetro o valor da recíproca de tempo de desenvolvimento ( $1/t$ ), onde o valor obtido para a temperatura basal será aquele em que a extrapolação cruzar o eixo das abscissas. O efeito de temperaturas constantes no desenvolvimento de insetos não é o mesmo, quando comparado àquele obtido com temperaturas flutuantes, fato que usualmente ocorre no campo (Messenger 1964). No entanto, como os estágios imaturos destes insetos ocorrem no solo (Mulla 1966), foi citado por Karandinos & Axtell (1967) que a temperatura no solo é menos flutuante, quando comparada com a temperatura do ar. Sendo assim, é possível o uso de dados obtidos em temperatura constante, em laboratório para fazer previsões aproximadas de emergência obtidas no campo, fato que corrobora com a situação verificada neste presente trabalho.

#### 4.4 - Conclusões

**a)** Os dados obtidos pela regressão linear mostraram que a temperatura basal (TB) para o desenvolvimento dos estágios imaturos, de ovo até emergência dos adultos foi de 16,78 °C.

**b)** A equação para a regressão linear foi  $y = - 0,0945 + 0,00563 x$  ; sendo  $r^2 = 0,915$  e  $F = 784,68$  ( $P < 0,05$ ).

**c)** Obteve-se um **K = 178.36**, indicando ser este o valor a ser considerado para demonstrar a necessidade térmica para o desenvolvimento dos estágios imaturos (ovo, larva e pupa até o momento da emergência de adultos) de *Liohippelates peruanus*.

#### 4.5 – Referências bibliográficas

- BASSET, D. C. J. *Hippelates* flies and streptococcal skin infection in Trinidad. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 64: 138-147. 1970.
- BENGTSON, I. A. Seasonal acute conjunctivitis occurring in the southern states. Publ. Health Rep. 48: 917 – 926. 1933.
- BURGESS, R. W. The life history and breeding habits of the eye gnat, *Hippelates pusio* Loew, in the Coachella Valley, Riverside Country, California. Amer. Jour. Hyg. 53: 164-177. 1951.
- DAVIS, D. J. & PITTMAN, M. Acute conjunctivitis caused by *Haemophilus*. Am. J. Dis. Child. 79: 211-219. 1950.
- DAWSON, C. R. Epidemic Koch-Weeks conjunctivitis and trachoma: in the Coachella Valley of California. Am. J. Ophthalm. 49: 801-808. 1960.
- DOW, R.P. & WILLIS M.J. Evaluation of insecticides for the control of *Hippelates pusio* in soil. J. Econ. Ent. 52(1): 68-71. 1959.
- HALL, D. G. Some studies on the breeding media, development, and stages of the eye gnat *Hippelates pusio* Loew (Diptera: Chloropidae). Amer. J. Hyg. 16: 854-864. 1932.
- HIGLEY, L. G. PEDIGO, L.P. & OSTLIE. Degday: a program for calculating degree-days, and assumptions behind the degree day approach. Environ. Ent. 15: 999-1016. 1986.
- IBBOTSON, A. Studies on frit fly in northern England with particular reference to biology and behaviour in the field. Ph. D. thesis, Univ. Newcastle upon Tyne. 1961. in UMORU, P.A., BALE, J. S. & SHORROCKS, B. Predicting the time of emergence of frit fly (*Oscinella frit* L.) (Dipt., Chloropidae) in northern England. J. Appl. Ent. 109: 377 – 384.1990.

KARANDINOS, M. G. & AXTELL, R. C. Temperature effects on the immature stages of *Hippelates pusio*, *H. bishoppi*, and *H. pallipes* (Diptera: Chloropidae). *Ann. Ent. Soc. Amer.* 60 (5): 1055 – 1062. 1967.

KUMM, H. W.; TURNER, T. B.; PEAT, A. A. The duration of the mobility of spirochaetes of yaws in a small west Indian fly – *Hippelates pallipes* Loew. *Am. J. Trop. Med.* 15: 209 – 223. 1935.

JEPSON, W. F. & SOUTHWOOD, T.R.E. Population studies on *Oscinella frit* L. *Ann. Appl. Biol.* 3: 465-474. 1958.

LEAL, T. T. S.; PRADO, A. P. & ANTUNES, A. J. Rearing the larvae of the blowfly *Chrysomya chloropyga* (Wiedmann) (Diptera: Calliphoridae) on oligidic diets. *Rev. Bras. Zool.* 1: 41 – 44.

LÊ BERRE, J. R. Hivernation et zero de developpement chez l'Oscinie *Oscinella frit* L. (Dipt., Chloropidae). *Acta Symp. Evol. Insect, Praha.* 1959. 270-275. 1959.

LEGNER, E. F., OLTON, G. A. & ESKAFI, F. M. Influence of physical on the developmental stages of *Hippelates collusor* in relation to the activities of its natural parasites. *Ann. Ent. Soc. Amer.* 59: 851-861.

MESSENGER, P. S. The influence of rhythmically fluctuating temperatures on the development and reproduction of the spotted alfalfa aphid, *Therioaphis maculata*. *J. Econ. Ent.* 57: 71-76. 1964

MINITAB FOR WINDOWS (RELEASE 10.1). *User's guide.* Enterprise Drive St. Cl. Pennsylvania – USA.1994.

MULLA, M. S. Mass rearing of three species of *Hippelates* eye gnats (Diptera: Chloropidae). *Ann. Ent. Soc. Amer.* 55: 253 – 258. 1962.

MULLA, M. S. Oviposition and emergence period of the eye gnat *Hippelates collusor*. J. Econ. Ent. 59(1): 93-96. 1966.

NICHOLLS, L. The transmission of pathogenic microorganisms by flies in St. Lucia. Bull. Ent. Res. 3: 81 – 88. 1912.

PACHECO, S. Sobre duas espécies neotrópicas do gênero *Hippelates* Loew, 1863 (Diptera, Chloropidae). Rev. Bras. Biol. 31(4): 441-446. 1971.

PAYNE JR, W. J.; COLE JR, J. R.; SNODDY, E. L.; SEIBOLD, H.R. The eye gnat *Hippelates pusio* as a vector of bacterial conjunctivitis nursing rabbits as an animal model. 13: (4-5): 599 – 603. 1977.

LEAL, T. T. S., PRADO, A. P. & ANTUNES, A. J. Rearing the larvae of the blowfly *Chrysomya chloropyga* (Wildemann) (Diptera: Calliphoridae) on oligidic diets. Rev. Bras. Zool. 1: 41 – 44. 1982.

RYGG, T. Emergence periods and population fluctuations of the frit fly *Oscinella frit* L. (Dipt., Chloropidae) in Normay. Norsk Ent. Tidsskr. 14: 12-23. 1967.

SANDERS, D. *Hippelates* flies as vector of bovine mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 97 (763): 306 – 308. 1940.

SCHNEIDER, A. An introduction report on pseudo-trachoma endemic in the Salton Sea region of California. Med. Sent. 35 (3) 154 – 161. 1927.

SPING, L. HODSON, A. C. RICHARDS, A. G. An Analysis of threshold temperatures for the development of *Oncopeltus* and *Tribolium* eggs. Phys. Zool. 27: 287 – 311. 1954.

TAPLIN, D., ZAIAS, N. & REBELL, G. Infection by *Hippelates* flies. Lancet. 2: 472. 1967.

TOLLEY, M. P. & NIEMCZYK, H. D. Seasonal abundance, oviposition activity, and degree-day prediction of adult frit fly (Diptera: Chloropidae) occurrence on turfgrass in Ohio. *Environ. Ent.* 17 (5): 855 – 862. 1988.

UMORU, P.A., BALE, J. S. & SHORROCKS, B. Predicting the time of emergence of frit fly (*Oscinella frit* L.) (Dipt., Chloropidae) in northern England. *J. Appl. Ent.* 109: 377 – 384.1990.

VAN EMDEN, H. F., JEPSON, W.F. & SOUTHWOOD, T.R.E. The occurrence of a partial fourth generation of *Oscinella frit* L. (Diptera: Chloropidae) in southern England. *Ent. Exp. Appl.* 4: 220-225. 1961.

VICKERMAN, G. P. The phenology of *Oscinella* spp. (Diptera: Chloropidae). *Bull. Ent. Res.* 70: 601-620. 1980.

## 5.0 - CAPÍTULO 5:

### TABELA DE VIDA E DE FERTILIDADE DE *Liohippelates peruanus* (BECKER) (DIPTERA: CHLOROPIDAE)

#### 5.1 – Resumo

*Liohippelates peruanus* foi colonizado em laboratório a temperatura constante de 27 °C ( $\pm 1$  °C) e umidade de 80% ( $\pm 5\%$ ), sendo verificados alguns parâmetros de suas tabelas de vida e de fertilidade, como: taxa reprodutiva ( $R_o = 1,95$  dias), Tempo de geração ( $T = 30,91$  dias), taxa intrínseca de incremento natural ( $r_m = 0,02167$ ) e Taxa finita de incremento natural ( $R_m = 1,022$ ). Foi estimado a partir do valor de  $R_m$  ( $n^o$  de indivíduos/fêmea/dia) e do tempo de geração (31 dias) um incremento de 589 indivíduos, para uma população de 600 indivíduos (300 M:300 F). O valor do padrão de curva de sobrevivência da população (Entropia) também foi estimado, sendo  $H = 0,604857$ , indicando este valor um padrão onde se aproxima mais de 0,5, na qual indica que o  $n^o$  de mortes ocorre dentro de uma Progressão aritmética, com uma razão negativa. Os índices de mortalidade (K) indicam que as maiores taxas ocorreram nas 4 últimas semanas: 82%, 38%, 86% e 100%, respectivamente 7<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 9<sup>a</sup> e 10<sup>a</sup>. Com o objetivo de verificar a porcentagem de indivíduos que morreriam entre uma determinada semana e outra uma tabela de Probabilidade foi construída, onde a porcentagem de indivíduos que podem sobreviver de um período ao outro pode ser verificado. Expectativa de vida ( $e_x$ ) para cada período, meios para oviposição, criação de larvas, manutenção de adultos, assim como um método de sexagem, também estão descritos.

#### **Abstract**

Colonies of *Liohippelates peruanus* were kept at 27 °C and humidity of 80% ( $\pm 5\%$ ), in order to determine some parameters of the life table date, such as: reproductive rates ( $R_o = 1,95$  days), generation time ( $T = 30,91$  days), increment rate ( $r_m = 0,02167$ ) and natural increment finite rate ( $R_m = 1,022$ ). It was determined from the value of  $R_m$  and the generation time (31 days) that there was an increment of 589 individuals for a population of 600 individuals (300 M:300 F). The value of the survival of the population (Entropy) was  $H=0,604857$ , indicating that a pattern more than 0,5, in which indicates one of deaths happens in an arithmetic progression, with a negative reason. The mortality rate (K) they indicate that the largest rates

happened in the last 4 weeks: 82%, 38%, 86% and 100%, respectively 7<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup>, 9<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup>. With the objective of verifying the individuals percentage that would die among a certain week and other a table of probability was built, where the individual percentage that can survive of a period the another was verified. Life expectation for each period, means to oviposition, larvae breeding, adult maintenance also are described.

## 5.2 – Introdução

*Liohippelates peruanus* (Becker, 1912), como todos os cloropídeos, caracterizam-se pelo pequeno tamanho quando adultos, com cerca de 1 mm a 3 mm. Seu ciclo vital é rápido, sendo necessários cerca de 30 dias para formar uma nova geração. As larvas desta espécie alimentam-se em material orgânico em decomposição, enquanto outras espécies desta importante família ocorrem como pragas de cereais, parasitas ou predadoras (Borror & Delong, 1989). A espécie *Liohippelates peruanus* destacou-se sendo grande importância médica na região Neotropical, principalmente no Brasil por ser transmissora de uma cepa invasiva da bactéria *Haemophilus aegyptius*, causando conjuntivite e que posteriormente invade os tecidos além da conjuntiva, causando uma doença que foi denominada Febre Purpúrica Brasileira (FPB). Tondella *et al.* (1994) isolaram *Haemophilus aegyptius* (cêpa invasiva) de 3 espécies de cloropídeos, coletados ao redor do olhos de 3 crianças com conjuntivite em Mato Grosso. A espécie *Liohippelates peruanus* foi a que apresentou maior ocorrência de bactérias *Haemophilus aegyptius*, sendo estas positivas para o biogrupo de FPB.

Em estudos preliminares realizados na cidade de Campinas, foram coletadas três espécies do gênero *Liohippelates*: *L. currani* (Aldrich), *L. peruanus* (Becker) e *L. tibialis* (Duda), duas espécies do gênero *Hippelates*: *H. pseudodorsalis* (Paganelli & Sabrosky) e *H. coxipo* (Paganelli & Sabrosky), além de exemplares do complexo *pusio*.

Segundo Odum (1988), a tabela de vida é um dispositivo metodológico, desenvolvido por pesquisadores de ecologia humana que posteriormente foi adaptado por Raymond Pearl em estudos de biologia geral. Ainda segundo Price (1984), os pesquisadores Morris & Miller em 1954 foram os primeiros pesquisadores a utilizarem a tabela de vida para o estudo de populações de insetos.

Alguns trabalhos têm sido realizados em vários países, fazendo referência a alguns parâmetros biológicos de cloropídeos como: ocorrência, fecundidade, determinação de Graus

dia, oviposição e tabela de vida, fenologia (Womeldorf & Mortenson 1962; Mulla 1963; Legner *et al.* 1966; Karandinos & Axtell 1967; Karandinos & Axtell 1972; Tolley & Niemczyk 1988; Rogers *et al.* 1991). No entanto, nestes trabalhos, têm sido apresentadas somente tabelas de vida com dados obtidos em amostras no campo. Esse tipo de tabela de vida é confeccionado por meio de dados de condições de campo, obtidos através de amostragens de todos os estágios de desenvolvimento do inseto, em várias gerações sucessivas. Mesmo nesse caso são necessários conhecimentos de dados biológicos obtidos previamente em condições de laboratório, principalmente dos fatores ou índices de mortalidade da referida espécie (Lara, 1992).

Carey (1993) propôs vários modelos para tabelas de vida e um dos conceitos abordados pelo autor foi a Entropia (H), onde o resultado obtido indica um padrão gráfico para a curva de distribuição do número de indivíduos na população em função do número de mortes ao longo do tempo. De acordo com Vaupel (1986) o cálculo de entropia serve como uma caracterização quantitativa do padrão de sobrevivência.

O método de tabela de vida se mostra como um valioso instrumento e que determina uma maior compreensão da dinâmica populacional de uma determinada espécie, pois apresenta cálculos relativos às suas principais taxas de incremento populacional e desenvolvimento. Morris & Miller em 1954 (*apud* Price 1984) foram os primeiros a adaptar a tabela de vida para estudos de populações de insetos.

Considerando-se a importância médico-sanitária dos Chloropidae, principalmente *Liohippелates peruanus* e o pouco conhecimento de sua biologia, faz-se de grande importância o estudo desta espécie ocorrente no Brasil, pois somente desta forma poderemos aplicar o controle de forma racional e eficaz para esta espécie.

### **5.3 – Material e métodos**

#### **5.3.1 - Colonização de adultos em laboratório**

A espécie *L. peruanus* foi colonizada em gaiolas, mantidas a 27 °C ( ± 1 °C), fotoperíodo de 12:12 (L:D) e umidade relativa de 80 % ( ± 5 %) em estufa de germinação.

Com o objetivo de construir uma tabela de vida para *Liohippелates peruanus*, colônias parentais deste cloropídeo foram obtidas no campo a partir de coleta de adultos em aspirador entomológico e posteriormente passados para recipientes de plástico transparente de 30 cm X 20 cm X 20 cm (Comp. X Alt. X Larg.), sendo fixado na boca do recipiente um mangote

manufaturado a partir de meia calça preta feminina. Nesta gaiola, os indivíduos eram alimentados em meio enriquecido com proteína. Utilizando meio para oviposição, grande quantidade de ovos foram obtidos a partir da população parental, que eram então separados em microscópio estereoscópico de “luz fria”. Após a obtenção dos ovos e criação das larvas até adulto ( $F_1$ ), os mesmos foram sexados, contados e colonizados, sendo os mesmos mantidos em temperatura controlada, umidade de 80 % ( $\pm 5\%$ ), até que se obtivesse os ovos, que foram criados e observados empiricamente conforme métodos descritos a seguir.

Foram oferecidos dois meios para manutenção das colônias adultas em gaiolas, uma seca e outra líquida, conforme descritos abaixo:

### **Dieta líquida**

Mel.....	100 ml
Proteína hidrolisada de cana .....	50 ml
Sangue bovino (contendo anticoagulante).....	150 ml
Água destilada.....	600 ml
Nipagin.....	0,6 grama

### **Preparo**

O nipagin foi diluído em água contendo mel e proteína hidrolisada e sangue, batendo em liquidificador por 3 minutos, que foi oferecido em frascos de plástico de 4cm X 2,5 cm, fechados com tampa plástica onde foi feita uma fenda, por onde foi montado um pavio feito com tiras toalha esponjosa de cor amarela. O pavio era retirado a cada 2 dias, onde também ocasionalmente era retirado alguns ovos de cloropídeos.

A dieta seca, anteriormente pretendida como padrão nutrição protéica para adultos, não mostrou resultados significativos quando oferecida de forma única, mesmo assim ela foi oferecida juntamente com a dieta líquida. A dieta foi descrita como:

### **Dieta seca**

Leite em pó.....	50 gramas
Levedura de cerveja.....	15 gramas

A mistura foi oferecida em placas de petri de 55 mm X 10 mm.

### 5.3.2 - Obtenção dos ovos

Os ovos foram obtidos de populações de adultos F<sub>1</sub>, mantidas em gaiolas para oviposição, utilizando-se método modificado de Mulla (1962).

#### Meio para oviposição:

Fígado bovino.....	200g
Pele de frango cozida.....	200g
Sangue.bovino .....	100ml
Nipagin.....	0,4 g

O meio foi preparado, adicionando-se fígado bovino, nipagin e pele de frango previamente bem cozido que era então batido juntamente no liquidificador e posteriormente obtendo-se um hidrolisado protéico. A mistura era então colocada em um guardanapo de algodão, de forma que torcendo-o, obtinha-se um meio mais liquefeito. A este meio foi então adicionado o sangue bovino. O alimento foi oferecido em chumaços de algodão prensado (lenço para limpeza de pele), embebidos no meio para oviposição e postos para secar em bandeja de alumínio, em temperatura de 37 °C por 15 horas. Após este procedimento, o alimento foi estocado em refrigerador e oferecido conforme a demanda. O lenço de algodão foi retirado do freezer 3 horas antes de serem oferecidos para as colônias contidas nas gaiolas.

Após a postura, os ovos foram removidos do algodão com auxílio de um pincel umedecido em água. Os ovos foram contados e passados imediatamente para o meio de criação de larvas.

### 5.3.3 - Obtenção de larvas

Após obtenção dos ovos, os mesmos foram passados individualmente para um recipiente plástico de diâmetro de 7 cm X 8 cm (recipiente para gelatina), contendo meio modificado para criação de larvas, sendo que cada ovo era colocado em papel de filtro umedecido e postos sobre a superfície do meio, sendo observados de 2 em 2 horas, até que era observado a eclosão da larva. O meio utilizado foi preparado baseado em uma modificação dos meios propostos conforme Mulla (1962), Pacheco (1971) e Leal *et al.* (1982), o qual foi produzido conforme descrito a seguir:

### Meio para criação de larvas de *L. peruanus*

Agar.....	6 gramas
Leite em pó.....	30 gramas
Levedura de cerveja.....	30 gramas
Nipagin.....	0,6 grama
Caseína.....	1,5 gramas
Mel.....	50 ml
Proteína hidrolisada.....	50 ml

### Preparo

O agar foi dissolvido em 400 ml de água destilada fervente que foi colocado em Becker de 1000 ml e agitado até que a solução apresentasse forma hialina. Esta solução ainda quente foi colocado no liquidificador, adicionando o leite em pó, nipagin, caseína, mel levedura e proteína hidrolisada. A mistura foi “mixada” por 2 minutos em liquidificador, sendo por fim adicionado 600 ml de água fria destilada.

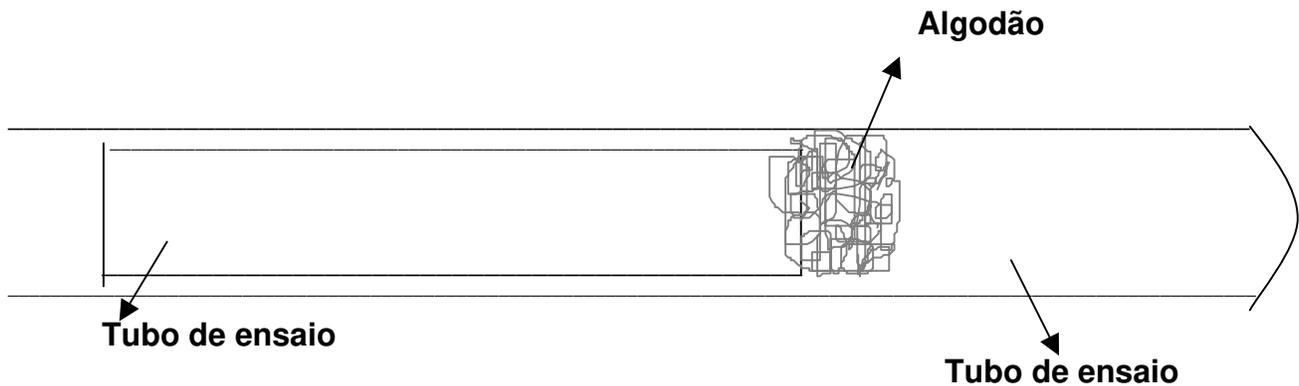
Esta dieta é oferecida em mistura de 60 % de vermiculita esterilizada em autoclave e umidificada em solução de água destilada com 0,6 grama de nipagin por litro. Posteriormente o meio foi colocado em recipiente até que completasse  $\frac{3}{4}$  do volume, sendo adicionado água destilada com nipagin para manter no meio uma conformação semi-pastosa, porém granulosa, que foi garantida pelos grânulos de vermiculita. O recipiente contendo inicialmente o ovo e o meio e posteriormente o a larva foi coberto com organza e mantido em 27 °C e umidade relativa de 80 % (  $\pm$  5%), sendo que cada indivíduo era observado e anotado até o estágio de pré-pupa. Foi tomado o cuidado para que o papel de filtro contendo o ovo não ressecasse, sendo reumidificado com pincel em água destilada com nipagin. Quando obtido o estágio larval, o meio foi então reumidificado, aspergindo água destilada com nipagin sobre a superfície do meio, conforme necessidade, de modo a manter a conformação semi-pastosa granulomatosa do meio.

### 5.3.4 – Obtenção de adultos

Após a obtenção das pupas, estas foram observadas no recipiente de desenvolvimento larval, até emergência do adulto, que era então anotado e passado para a gaiola plástica.

### 5.3.5 - Sexagem

Foi idealizado um aparelho muito simples para a sexagem de indivíduos adultos, que consiste em dois tubos de ensaio e um “chumaço” de algodão, montado conforme a seguinte figura:



**Figura 5.1** – Aparelho utilizado para sexagem de *Cloropídeos*

A operação para a sexagem das espécies consistiu na observação do inseto imobilizado entre o fundo de vidro do tubo e o algodão sob lupa estereoscópica de luz fria. Este método mostrou grande eficiência para separação da espécie *Liohippelates peruanus*, que pode ser separada de espécimes de outras espécies que eram obtidos em campo com o aspirador entomológico, possibilitando a montagem das colônias parentais.

Não foi observada mortalidade dos espécimes após a observação destes no aparelho. A espécie *Liohippelates peruanus* foi identificada conforme Paganelli & Sabrosky (1993).

### 5.3.6 - Montagem da tabela de vida

Para o cálculo dos parâmetros biológicos necessários para construção da tabela de vida e de Esperança de vida a 27 °C, colônias de *Liohippelates peruanus* foram observadas e os dados foram anotados a partir de ovos até adultos. Estes últimos foram sexados e transferidos para uma gaiola até o total de 300 machos e 300 fêmeas (n=600 indivíduos), os quais foram observados diariamente, bem como a oviposição destes, em períodos de 2 em 2 horas. Todos os dias, os adultos mortos eram retirados da gaiola e sexados para determinação da quantidade de fêmeas e machos na gaiola sendo os resultados planilhados e verificados conforme Carey (1993) e Lara (1992). A razão sexual considerada na elaboração da tabela de vida foi obtida a partir de experimentos prévios realizados para o cálculo de temperatura basal, onde se verificou uma razão de 0,498:0,502 (**F:M**).

Na tabela de vida foram calculadas os seguintes parâmetros:  $m$ ,  $x$ ,  $m_x$ ,  $l_x$  e  $m_x l_x$ , sendo:

- $m_x$  => Progênie em cada intervalo de tempo  $x$  ( em dias) por fêmeas.

- $x$  => Idade das fêmeas (em dias), desde o estágio de ovo.

- $l$  => Proporção de fêmeas sobreviventes na idade  $x$ .

- $l_x$  => Proporção de sobreviventes na idade  $x$ .

- $(m_x).(l_x)$  => multiplicação dos valores obtidos em  $m_x$  por  $l_x$ , cuja somatória representa o cálculo da taxa líquida de reprodução ( $R_0$ ).

- $(m_x).(l_x).(x)$  => multiplicação dos valores obtidos em  $(m_x)$  por  $(l_x)$  por  $(x)$ , cuja somatória será utilizada no cálculo do intervalo de tempo (T) estimado para cada geração, utilizando-se para tal cálculo a taxa líquida de reprodução ( $R_0$ ).

Os resultados obtidos na tabela de vida foram utilizados para o cálculo das taxas de incremento populacional, determinando-se os seguintes parâmetros:

**A)** Taxa reprodutiva líquida ou taxa instantânea de crescimento populacional ( $R_o$ ) que é calculada por  $l_x$  multiplicado por  $m_x$ . O valor de  $R_o$  indica o quanto a população fêmea pode se multiplicar.

$$R_o = \sum (m_x \cdot l_x)$$

**B)** A partir do valor de  $R_o$  e o tempo de geração que é o tempo gasto para uma geração de indivíduos se multiplicar representado por “T”, onde:

$$T = \frac{\text{Log } R_o}{r_m}$$

Esta fórmula foi proposta por Birch (1948).

**C)** A partir de T e  $R_o$  será calculado o valor de “ $r_m$ ”, que é a taxa intrínseca de incremento natural e expressa matematicamente o potencial biótico da espécie e é calculado por:

$$r_m = \frac{\log R_o}{0,4343 T}$$

**D)** A taxa finita de incremento  $R_m$  indica o número de vezes que a população se multiplica por fêmea em uma unidade de tempo. Pode ser calculada pelo antilogaritmo natural da taxa intrínseca de incremento natural ( $r_m$ ), conforme Birch (1948):

$$R_m = \text{antilog } (r_m \times 0,4343)$$

### 5.3.7 - Montagem da tabela de esperança de vida

Os dados verificados na tabela de vida verificados em dia, foram transformados em semanas. Os cálculos foram feitos conforme Southwood (1971), apresentando as seguintes colunas:

-**x** => Intervalo de idade em unidade de tempo (no caso semana).

-**S<sub>x</sub>** => número de indivíduos sobreviventes observados no início da idade x.

$-M_x$  => Valor referente ao número de indivíduos mortos observados a cada intervalo  $x$ .

$-V_x$  => Indica a quantidade de indivíduos vivos que permanecem vivos entre um intervalo e outro, calculado por:

$$V_x = \frac{(S_x) + (S_{x-1})}{2}$$

A somatória do valor de  $V_x$  foi utilizada para o cálculo de  $T_{x_n}$ , onde  $n$  corresponde ao estágio considerado, que pode ser calculada por:

$$T_{x_n} = V_x - V_{x_{n-1}}$$

O cálculo de  $T_{x_n}$  foi utilizado para determinar a esperança de vida ( $e_x$ ) para indivíduos em cada idade ou intervalo de idade  $x$ , sendo expresso por:

$$e_x = \frac{T_x}{S_x}$$

A partir de  $M_x$  e  $S_x$  foi calculado a taxa de mortalidade  $K$ , que é expressa por:

$$K = \frac{M_x}{S_x}$$

O valor de  $K$  é expresso em porcentagem.

### 5.3.8 – Tabela de vida

Para a montagem desta tabela considerou-se a primeira semana como sendo a inicial, ou seja a semana 0 e para completá-la houve a necessidade de se considerar alguns parâmetros, conforme Carey (1993), como:

**A) Média etária de morte** =>  $e_0 = \sum_{x=0} x d_x$

Portanto,  $x$  na equação significa o intervalo de vida no qual a idade pode ocorrer e  $d_x$  indica a probabilidade de mortalidade em cada intervalo de tempo para todos os indivíduos, considerando o número de recém nascidos na população desde a fase inicial.

**B) Variância do número de mortes**

Este parâmetro pode ser calculado por:

$$\sigma^2 = \sum_{x=0} (x - e_0)^2 d_x$$

### C) Desvio Padrão ( $\sigma$ )

O Desvio padrão para a população foi determinado a partir da raiz quadrada de variância.

### D) Construção da tabela

A partir dos resultados de  $e_0$  e  $\sigma$  e utilizando uma tabela de distribuição normal ( $Z$ ), foi verificada a probabilidade para cada intervalo, conforme a expressão abaixo:

$$\Pr(Z < [x - e_0]/\sigma)$$

Posteriormente, o resultado da probabilidade foi retirado de uma tabela de distribuição normal ( $Z$ ) e este valor foi utilizado para calcular a probabilidade (que pode ser expressa em porcentagem) de mortes que podem ocorrer entre uma determinada semana e outra, sendo verificada por:

$$\Pr = 1 - (\text{somatória do valor de } Z \text{ entre os dois períodos})$$

### 5.3.9 - Entropia

De acordo com Carey (1993), o valor de Entropia pode ser calculado por:

$$H = \{ \sum_{x=0} e_x d_x \} / e_0$$

### 5.3.10 - Análise dos dados

Os resultados foram analisados no programa estatístico “MINITAB FOR WINDOWS” versão 10.1 (1994). Foi feito uma ANOVA, sendo a variável dependente o número de indivíduos vivos observados ao longo da idade da colônia e a variável independente a idade (em dias) dos indivíduos vivos observados na colônia. As diferenças entre as médias dos valores obtidos foram testadas por meio do teste F ( $\alpha = 0,05$ ) (Zar, 1999).

## 5.4 – Resultados

### 5.4.1 – Observações na oviposição

Os resultados na obtenção de ovos a partir de  $F_1$  com somente dieta alimentar seca e água destilada com mel não mostraram-se satisfatórios, sendo observados pequena quantidade de ovos ( $n=3$ ) em gaiolas de adultos  $F_1$ . ( $n=200$  por gaiola).

O fato da obtenção desta pequena quantidade de ovos em populações sugere que as fêmeas necessitam de um considerável repasto protéico, garantindo assim sua oviposição.

### 5.4.2 – Tabela de vida

De acordo com os dados observados na tabela de vida, construída a partir das informações obtidas em levantamento prévio para razão sexual (0,498 F : 0,502 M) durante a colonização de adultos e estágios imaturos de *L. peruanus* foram obtidos os resultados, conforme apresentado na tabela 5.1.

**Tabela 5.1** – Taxas de incremento populacional de *L. peruanus* observadas em colônia ( $n=600$ ) mantida em temperatura de 27 °C e umidade relativa de 80% ( $\pm 5\%$ ).

Taxa reprodutiva ( $R_0$ )	Tempo de Geração <b>T</b> (em dias)	Taxa intrínseca de incremento natural ( $r_m$ )	Taxa finita de incremento natural ( $R_m$ )
1,95415	30,91350	0,02167	1,022

A cultura de *L. peruanus* iniciou ovipostura no 24<sup>o</sup> dia após o início da colonização (a partir de ovos). O valor obtido para a Taxa reprodutiva ( $R_0$ ) é igual a 1,95, valor que se aproxima de  $R_0= 2$ , indicando que nessas condições (27 °C e umidade relativa de 80%,  $\pm 5\%$ ) as populações têm a tendência a dobrar a cada geração.

O tempo gasto de uma geração à outra foi calculado em cerca de aproximadamente 31 dias ( $T = 30,913$  dias), ou seja uma geração nova é produzida a cada 31 dias, em uma taxa reprodutiva de  $R_0=2$ , o que quer dizer que a cada 31 dias a população dobraria, não fosse as pressões ambientais..

A taxa intrínseca de incremento natural indica que o incremento natural nas condições em que foi conduzido este experimento, mostrou uma capacidade de multiplicação individual

diária igual à 0,021 ( $r_m = 0,02167$ ). Isto significa que a cada dia, cada indivíduo da população contribui com 0,021 no incremento diário da população.

Os resultados do experimento mostram também, que a Taxa finita de incremento ( $R_m$ ) foi de 1,022. Isto significa portanto, que cada fêmea contribui com 1,022 indivíduos/dia na população. Como o tempo  $T$  foi calculado em 31 dias e considerando que o incremento populacional é progressivo e cresce geometricamente entre as gerações, ao final deste período  $T$ , conforme cálculo proposto por Séddiqui & Barlow (1973), teríamos:

$$(1,022)^{31} = 1,96 \text{ indivíduos/fêmea inicial.}$$

Em números, podemos estimar que nestas condições, nossa colônia inicial de 600 indivíduos (300 machos e 300 fêmeas) teria provavelmente uma população incrementada em mais 589 indivíduos.

$$1,96 \times 300 = 589 \text{ indivíduos.}$$

A população seria então aumentada para 1.189 indivíduos na colônia, somando-se as duas gerações.

#### 5.4.3 – Cálculo de esperança de vida

Os valores obtidos nos ensaios de criação para elaboração da Tabela de vida foi transformado em semanas, sendo que o último animal da colônia morreu 72 dias após a fase de ovo, resultando em uma tabela de esperança de vida de 10 semanas. Os resultados foram calculados conforme expressos no item 5.3.6 e podem ser verificados na tabela 5.2:

**Tabela 5.2** – Esperança de vida ( $e_x$ ) e taxa de mortalidade verificadas para *L. peruanus* observadas em colônia ( $n=600$ ) mantida em temperatura de 27 °C e umidade relativa de 80% ( $\pm 5\%$ ).

Semanas (x)	n de sobreviv. (Sx)	n de mortos (Mx)	Vx	Tx	$e_x$	K
1	600	161	514,5	2344	3,906667	0,268333333
2	429	40	409	1829,5	4,264569	0,093240093
3	389	77	350,5	1420,5	3,651671	0,197943445
4	312	7	308,5	1070	3,429487	0,022435897
5	305	31	289,5	761,5	2,496721	0,101639344
6	274	16	266	472	1,722628	0,058394161
7	258	213	151,5	206	0,79845	0,825581395
8	45	17	36,5	54,5	1,211111	0,377777778
9	28	24	16	18	0,642857	0,857142857
10	4	4	2	2	0,5	1
$\Sigma$			2344			

De acordo os dados apresentados na tabela 5.2, podemos verificar que a esperança de vida ( $e_x$ ) calculada para a primeira semana foi menor (3,9 semanas) quando comparada com a segunda (4,2 semanas). Estes dados indicam quantas semanas ainda cada indivíduo poderá viver a partir daquela semana considerada, que vão sendo cada vez menor, a medida que se aproxima o final da colônia. No caso, um indivíduo de *L. peruanus*, que conforme dados apontados na tabela 5.2 esteja na 5<sup>a</sup> semana de vida (considerando desde o estágio de ovo), **poderá viver provavelmente mais 2,5 semanas** (cerca de 17 dias).

Por outro lado, considerando-se ainda os dados da tabela 5.2, podemos observar os índices de mortalidade (K), que indicam a taxa de mortalidade ocorrida em cada semana, verifica-se que as maiores taxas ocorrem nas 4 últimas semanas: 82%, 38%, 86% e 100%, respectivamente 7<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 9<sup>a</sup> e 10<sup>a</sup>.

Com o objetivo de se verificar a porcentagem de indivíduos que morreriam entre uma determinada semana e outra foi construída uma tabela, onde os intervalos foram verificados:

**Tabela 5.3** – Probabilidade de morte entre semanas.

<b>SEMANAS</b>	<b>0<sup>a</sup></b>	<b>1<sup>a</sup></b>	<b>2<sup>a</sup></b>	<b>3<sup>a</sup></b>	<b>4<sup>a</sup></b>	<b>5<sup>a</sup></b>	<b>6<sup>a</sup></b>	<b>7<sup>a</sup></b>	<b>8<sup>a</sup></b>	<b>9<sup>a</sup></b>
<b>0<sup>a</sup></b>	0,7814	0,6985	0,5822	0,4464	0,4778	0,6097	0,7171	0,9875	0,8422	0,869
<b>1<sup>a</sup></b>	0,6985	0,6156	0,4993	0,3635	0,3949	0,5268	0,6342	0,711	0,7593	0,7861
<b>2<sup>a</sup></b>	0,5822	0,4993	0,383	0,2472	0,2786	0,4105	0,5179	0,5947	0,643	0,6698
<b>3<sup>a</sup></b>	0,4464	0,3635	0,2472	0,1114	0,1428	0,2747	0,3821	0,4589	0,5072	0,534
<b>4<sup>a</sup></b>	0,4778	0,3949	0,2786	0,1428	0,1742	0,3061	0,4135	0,4903	0,5386	0,5654
<b>5<sup>a</sup></b>	0,6097	0,5268	0,4105	0,2747	0,3061	0,438	0,5454	0,6222	0,6705	0,6973
<b>6<sup>a</sup></b>	0,7171	0,6342	0,5179	0,3821	0,4135	0,5454	0,6528	0,7296	0,7779	0,8047
<b>7<sup>a</sup></b>	0,7939	0,711	0,5947	0,4589	0,4903	0,6222	0,7296	0,8064	0,8547	0,8815
<b>8<sup>a</sup></b>	0,8422	0,7593	0,643	0,5072	0,5386	0,6705	0,7779	0,8547	0,903	0,9298
<b>9<sup>a</sup></b>	0,869	0,7861	0,6698	0,534	0,5654	0,6973	0,8047	0,8815	0,9298	0,9566

A tabela 5.3 indica o índice de mortes que ocorrerá entre os períodos, como por exemplo: 49% de todas as mortes serão esperadas para ocorrerem entre a 4<sup>a</sup> e 7<sup>a</sup> semanas de vida da população.

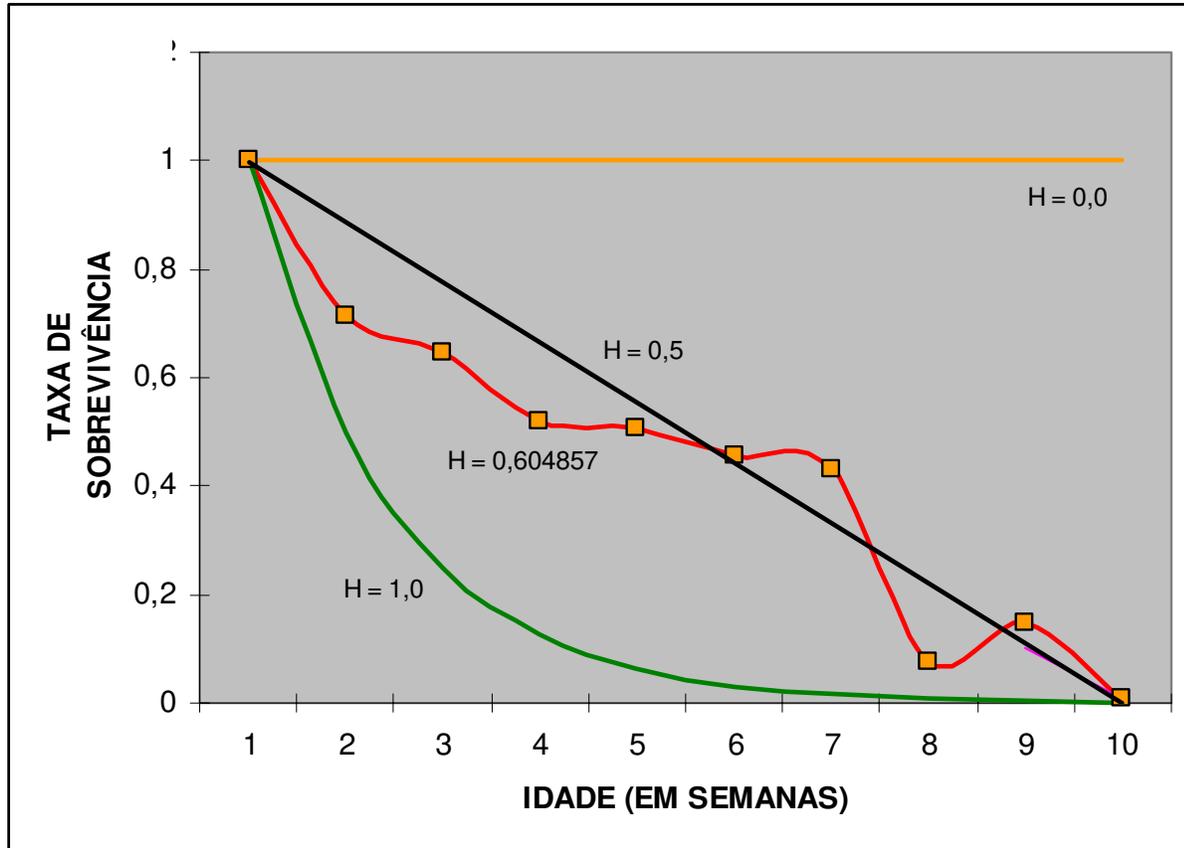
#### 5.4.4 - Entropia

O valor determinado para entropia entre todas as 10 semanas foi 0,604857, que pode ser comparado com outros valores que servem como referência, como por exemplo, quando:

$H = 0 \Rightarrow$  todos os indivíduos morrem de uma só vez, assim a heterogeneidade no índice de mortalidade é nula.

$H = 1 \Rightarrow$  o número de indivíduos vivos na coorte em um período, reduz-se pela metade no período posterior.

$H = 0,5 \Rightarrow$  denota o valor intermediário entre os dois extremos, indicando que a taxa de mortalidade ocorreu dentro de uma razão fixa entre os períodos, resultando em um número de indivíduos expressos em uma progressão aritmética.



**Figura 5.2** – Taxa de sobrevivência (Entropia) de *Liohippelates peruanus*, observada em colônia (n=600) mantida em temperatura de 27 °C e umidade relativa de 80% ( $\pm 5\%$ ).

A comparação destes valores pode ser verificada com o valor obtido na população de *L. peruanus*, no caso **H = 0,604857**.

## 5.5 – Discussão

Os resultados observados para o tempo de desenvolvimento embrionário no estágio de ovo até a eclosão da larvas de *Liohippelates peruanus* foi próximo aos trabalhos feitos para outras espécies de cloropídeos, como *Chlorops certimus* Adams, *Epichlorops exilis* (Coquillett), *Hippelates pusio* (Loew), *H. bishoppi* Sabrosky e *H. pallipes* (Loew) como referidos nos trabalhos de Rogers *et al.* (1991) e de Karandinos & Axtell (1967). De acordo com Karandinos & Axtell (1967) a longevidade para *Hippelates pusio* foi de 127 dias, 114 para *H. bishoppi* e 107 dias para *H. pallipes*, quando criados em temperaturas baixas de 55 °F a 65 °F (12,7 °C a 18,3 °C). No entanto a longevidade para *L. peruanus* mantidos em 27 °C, foi observada em 72 dias, considerando desde o ovo.

De acordo com Legner *et al.* (1966), os fatores físicos provavelmente induzem uma mortalidade significativa em *Hippelates colusor* e em outros cloropídeos, sendo que em fêmeas desta espécie em particular, sendo que somente 5% de sua produção de ovos tornam-se viáveis, havendo portanto mortalidade de 95%. Este foi um valor abaixo do verificado para *L. peruanus* neste trabalho, sendo que aproximadamente 50% dos indivíduos chegaram ao período de oviposição. Richards (1961) afirma que: “se a razão sexual for de 1 F:1M, está claro que uma espécie que coloca 100 ovos por fêmea, deve ter uma mortalidade de 98%, se a população estiver em equilíbrio. Afirma ainda que um desvio de somente 0,5% na mortalidade irá resultar em um aumento ou decréscimo de 25% na próxima geração da população. Como isto pode ser conciliado com o fato observado de que grandes variações em fatores de mortalidade, como o parasitismo, não necessariamente levam a uma grande expectativa de alterações na população? Muitas vezes, esta estabilidade pode ocorrer devido aos efeitos homeostáticos de causas de mortalidade sobrepostas, tal como indivíduos que em algum tempo escapam de uma causa de mortalidade e meramente sobrevivem para encontrar um indivíduo que escapou de outras causas, sobrepondo os fatores.

Uma grande taxa de mortalidade foi observada na coorte estudada na primeira semana de vida, isto em grande parte devido ao número de ovos inviáveis. Em muitas espécies de insetos, a idade maternal é um importante fator que determina a viabilidade dos ovos. No entanto, este fato não ocorreu na população estudada, pois os ovos foram obtidos da população F<sub>1</sub>, e não dos parentais obtidos no campo. De acordo com Karandinos & Axtell (1967), quando machos jovens de *H. pallipes* foram colocados com fêmeas, estas produziram

ovos que apresentaram eclodibilidade de larvas constante em torno de 60%, até próximo a idade de 19 dias, quando a taxa diminuiu. Os mesmos autores afirmam ainda que, quando somente machos velhos são colocados com fêmeas jovens, a fertilidade declina mais uniformemente durante o período, fato que sugere que a taxa de produção de esperma e/ou a transferência para o sistema reprodutor feminino decai conforme a idade dos machos; assim a taxa de produção de esperma e/ou a transferência feita por aqueles machos velhos é suficiente para fertilizar uma alta proporção de ovos de fêmeas velhas, as quais têm uma baixa taxa de fecundidade. Porém não é suficiente para fertilizar uma alta proporção de ovos produzidos por fêmeas jovens, as quais têm uma alta taxa de fecundidade. Tolley & Niemzyk (1988), trabalhando com *Oscinella frit* (Linnaeus) dividiram o desenvolvimento ovariano em seis estágios e observaram que havia um corpo gorduroso integral no estágio 1 de fêmeas nulíparas, sendo este totalmente consumido no último estágio de desenvolvimento ovariano. Este fato também foi observado na população de *L. peruanus*, havendo maior produção de ovos logo após o início da oviposição e menor no final, sendo que em fêmeas jovens foi observado o abdômen distendido e de coloração esbranquiçada pela presença de ovos, sendo que em fêmeas paríparas, tal fato não foi verificado.

O número verificado para o índice de Entropia indica que *L. peruanus* possui taxa de sobrevivência mais aproximada ao valor intermediário (0,60) entre os limites 0 e 1,0 indicando que a mortalidade ocorre sempre em um número aproximado ao longo do tempo. De acordo com Vaupel (1986) a Entropia serve como uma caracterização de padrão de sobrevivência. Embora o valor calculado fora mais próximo do 0,5; houve alta taxa de mortalidade no início e no final da criação, principalmente nas últimas três semanas consideradas.

## 5.6 – Conclusões

- a) A razão sexual foi de 0,498 fêmeas para 0,502 machos durante a colonização de adultos;
- b) As taxas de incremento populacional de *L. peruanus* observadas em colônia (n=600) mantida em temperatura de 27 °C e umidade relativa de 80% ( $\pm 5\%$ ) foram: Taxa reprodutiva ( $R_0$ ) igual a 1,95415; Tempo de Geração **T** (em dias) igual a 30,91350, Taxa intrínseca de incremento natural ( $r_m$ ) igual a 0,02167 e Taxa finita de incremento natural ( $R_m$ ) igual a 1,022.

- c)** A cultura de *L. peruanus* iniciou ovipostura no 24<sup>o</sup> dia após o início da colonização (a partir de ovos). O valor obtido para a Taxa reprodutiva ( $R_o$ ) igual à 1,95, valor que se aproxima de  $R_o = 2$  indica que nessas condições (27 °C e umidade relativa de 80%,  $\pm$  5%) as populações têm a tendência a dobrar a cada geração.
- d)** O tempo gasto de uma geração à outra foi calculado em cerca de aproximadamente 31 dias ( $T = 30,913$  dias), ou seja a população multiplica-se a cada 31 dias, em uma taxa reprodutiva de  $R_o=2$ , isto quer dizer que a cada 31 dias, não fosse as pressões ambientais, a população dobraria.
- e)** Foi verificado que a capacidade de multiplicação individual é igual à 0,021 diária ( $r_m=0,02167$ ), isto significa que a cada dia, cada indivíduo da população participa aumentando a mesma numa proporção de 0,021, ou 2,1% por dia.
- f)** A partir do valor obtido para a Taxa finita de incremento  $R_m=1,022$ . conclui-se, portanto, que cada fêmea contribui com 1,022 indivíduos/dia na população.
- g)** A população de 600 indivíduos seria então aumentada para 1.089 indivíduos na colônia, somando-se as duas gerações.
- h)** Os índices de mortalidade ( $K$ ), que indicam a taxa de mortalidade que ocorreu em cada semana, foi verificado em maiores taxas ocorrendo durante as 4 últimas semanas: 82%, 38%, 86% e 100%, respectivamente 7<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 9<sup>a</sup> e 10<sup>a</sup>.
- i)** O valor determinado para entropia entre todas as 10 semanas foi  $H = 0,604857$ , indicando que um valor intermediário entre os dois extremos ( $H=0,0$  e  $H= 1,0$ ), indicando que a taxa de mortalidade ocorreu dentro de uma razão fixa entre os períodos, podendo-se concluir que a mortalidade dos indivíduos ocorre em uma progressão aritmética.

### 5.7 – Referências bibliográficas

BIRCH, L. C. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *J. Anim. Ecol.* 17: 15-26. 1948.

BORROR, D. J. & DELONG, D. M. *An introduction to the study of insects*. 6<sup>th</sup> ed. Saunders College Publishing, Philadelphia. 875 p. 1989.

CAREY, J. R. *Applied demography for biologists with special emphasis on insects*. Oxford University Press. 206 p. 1993.

KARANDINOS, M. G. & AXTELL, R. C. Temperature effects on the immature stages of *Hippelates pusio*, *H. bishoppi*, and *H. pallipes* (Diptera: Chloropidae). *Ann. Ent. Soc. Amer.* 60 (5): 1055 – 1062. 1967

KARANDINOS, M. G. & AXTELL, R. C. Age-related changes in the fertility of *Hippelates pusio*, *Hippelates bishoppi*, *H. pallipes* (Diptera: Chloropidae). *Ann. Ent. Soc. Amer.* 65: 1092 – 1099. 1972.

LARA, F. M. *Princípios de Entomologia*. 3<sup>a</sup> ed. Ed. Ícone. São Paulo. 331 p. 1992.

LEAL, T. T. S., PRADO, A. P. & ANTUNES, A. J. Rearing the larvae of the blowfly *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) on oligidic diets. *Rev. Bras. Zool.* 1: 41 – 44. 1982.

LEGNER, E. F., OLTON, G. A. & ESKAFI, F. M. Influence of physical on the developmental stages of *Hippelates collusor* in relation to the activities of its natural parasites. *Ann. Ent. Soc. Amer.* 59: 851-861. 1966.

MINITAB FOR WINDOWS (RELEASE 10.1). User's guide. Enterprise Drive St. Cl. Pennsylvania – USA.1994.

MULLA, M. S. Mass rearing of three species of *Hippelates* eye gnats (Diptera: Chloropidae). *Ann. Ent. Soc. Amer.* 55: 253 – 258. 1962.

MULLA, M. S. An ecological basis for the suppression of *Hippelates* eye gnats. *J. Econ. Ent.* 56(6): 768-770. 1963.

ODUM, E. P. *Ecologia*. Ed. Guanabara. Rio de Janeiro. 434 p. 1988.

PACHECO, S. Sobre duas espécies neotrópicas do gênero *Hippelates* Loew, 1863 (Diptera, Chloropidae). *Rev. Bras. Biol.* 31(4): 441-446. 1971.

PAGANELLI, C. H. & SABROSKY, C. W. *Hippelates* flies (Diptera: Chloropidae) possibly associated with brazilian purpuric fever. *Proc. Ent. Soc. Wash.* 95 (2): 165 – 174. 1993.

PRICE, W. P. *Insect Ecology*. 2<sup>nd</sup> ed. Wiley Interscience Publication. New York. XV + 607 p. 1984.

RICHARDS, O. W. The theoretical and practical study of natural insect populations. *Ann. Rev. Ent.* 6: 147 – 162. 1961.

ROGERS, T. P. FOOTE, B. A. & TODD, J.L. Biology and immature stages of *Chlorops certimus* and *Epichlorops exilis* (Diptera: Chloropidae), stem-borers of Wetland sedges. *J. New York Ent. Soc.* 99(4): 664-683. 1991.

SIDDIQUI, W. H. & BARLOW, C. A. Effects of some Constant and alternating temperatures on population growth of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera Aphididae). *Can. Ent.* 105: 145 – 156. 1973.

SOUTHWOOD, T. R. E. *Ecological methods*. 3<sup>rd</sup> ed. Chapman and Hall. London. 1971.

TOLLEY, M. P. & NIEMCZYK, H. D. Seasonal abundance, oviposition activity, and degree-day prediction of adult frit fly (Diptera: Chloropidae) occurrence on turfgrass in Ohio. *Environ. Ent.* 17 (5): 855 – 862. 1988.

TONDELLA, M.L.C; PAGANELLI, C. H.; BORTOLOTTTO, I. M.; TAKANO, O. A.; IRINO, K.; BRANDILEONE, M. C. C.; MEZZACAPANETO, B.; VIEIRA, U. S. D.; PERKINS, B. A. Isolamento de *Haemophilus aegyptius* associado à febre purpúrica brasileira, de Cloropídeos (Diptera) dos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates*. *Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo.* 36 (2): 105 – 109. 1994.

VAUPEL, J. W. How change in age – specific mortality affects life expectancy. *Pop. Stud.* 40: 147-157. 1986

WOMELDORF, D. J. & MORTENSON, E. W. Occurrence of eye gnats (*Hippelates* spp.) in central San Joaquin Valley, California. *J. Econ. Ent.* 55(4): 457-459. 1962.

ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. 4<sup>th</sup> ed. Prentice Hall. New Jersey. 661 pp + 212 app. 1999.

## 6.0 – CONCLUSÕES GERAIS

De acordo com os objetivos deste trabalho, seguem as conclusões que os contemplam:

- a) Foram encontradas seis espécies de Chloropidae pertencentes aos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates*, na cidade de Campinas, sendo: *Liohippelates peruanus* (Becker 1912), *Liohippelates flavipes* (Loew 1866), *Liohippelates nigrifrons* Duda 1930, *Liohippelates tibialis* Duda 1930, *Hippelates pseudodorsalis* Paganelli & Sabrosky 1993 e *Hippelates coxipo* Paganelli & Sabrosky 1993;
- b) Foram identificados 7 gêneros, sendo 3 morfo-espécies: *Apallates* sp., *Conioscinella* sp., *Monochaetoscinella* sp. e uma espécie não identificada, a qual foi designada Morfo-espécie 06;
- c) As espécies coletadas e identificadas foram: *Elachiptera sacculicornis*, *Hippelates coxipo*, *Hippelates. pseudodorsalis*, *Liohippelates flavipes*, *Liohippelates nigrifrons*, *Liohippelates peruanus* e *Liohippelates tibialis*;
- d) O número de cloropídeos coletados pelo método de Tinkhan & Down (modificada) entre todas as espécies foi de 6.488 machos e 19.503 fêmeas, em uma proporção sexual aproximada de 3:1 (fêmea : macho);
- e) A primavera foi o período sazonal que apresentou maior número de indivíduos coletados, com 7696 fêmeas e 2254 indivíduos machos, enquanto que a estação de outono apresentou menor número de indivíduos coletados: 3385 fêmeas e 1375 machos;
- f) O número de indivíduos coletados durante a primavera mostrou diferença significativa em comparação com outros períodos sazonais, quando analisados por meio de Teste de Tukey ( $P < 0,05$ );

**g)** Os resultados mostram que a maioria das espécies possuem maior atividade no nas primeiras horas da manhã (entre 6:00 h até 10:00 h) e no período vespertino (entre 16:00 h e 18:00 h), sendo que não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre a primeira, penúltima e última coleta realizadas ao longo do dia, quando analisados pelo teste de Tukey;

**h)** As armadilhas montadas em iscas produzidas a partir de rato eviscerado mostrou diferença significativa entre as demais iscas para a maioria das espécies de cloropídeos coletados, quando analisada pelo método de Duncan ( $P < 0,05$ );

**i)** Os dados obtidos verificados em análise de regressão linear mostrou que a temperatura basal (TB) para o desenvolvimento dos estágios imaturos, de ovo até emergência dos adultos foi de 16,97 °C.;

**j)** A equação para a regressão linear foi  $y = - 0,0945 + 0,00563 x$  (com  $P < 0,05$ ) e  $r^2 = 0,915$ .

**k)** Obteve-se: **K = 178,36 graus-dia**, indicando ser este o valor a ser considerado para demonstrar a necessidade térmica para o desenvolvimento dos estágios imaturos (ovo, larva e pupa até o momento da emergência de adultos) de *Liohippelates peruanus*;

**l)** A razão sexual foi de 0,498 fêmeas para 0,502 machos durante a colonização de adultos;

**m)** As taxas de incremento populacional de *L. peruanus* observadas em colônia (n=600) mantida em temperatura de 27 °C e umidade relativa de 80% ( $\pm 5\%$ ) foram: Taxa reprodutiva ( $R_0$ ) igual a 1,95415; Tempo de Geração **T** (em dias) igual a 30,91350, Taxa intrínseca de incremento natural ( $r_m$ ) igual a 0,02167 e Taxa finita de incremento natural ( $R_m$ ) igual a 1,022;

**n)** A cultura de *L. peruanus* iniciou ovipostura no 24<sup>o</sup> dia após o início da colonização (a partir de ovos). O valor obtido para a Taxa reprodutiva ( $R_0$ ) igual à 1,95, valor que se aproxima de  $R_0 = 2$  indica que nessas condições (27 °C e umidade relativa de 80%,  $\pm 5\%$ ) as populações têm a tendência a dobrar a cada geração;

- o)** O tempo gasto de uma geração à outra foi calculado em cerca de aproximadamente 31 dias ( $T = 30,913$  dias), ou seja a população multiplica-se a cada 31 dias, em uma taxa reprodutiva de  $R_0=2$ , isto quer dizer que a cada 31 dias, não fosse as pressões ambientais, a população dobraria;
- p)** Foi verificado que a capacidade de multiplicação individual é igual à 0,021 diária ( $r_m=0,02167$ ), isto significa que a cada dia, cada indivíduo da população participa aumentando a mesma numa proporção de 0,021, ou 2,1% por dia;
- q)** A partir do valor obtido para a Taxa finita de incremento  $R_m=1,022$ . conclui-se, portanto, que cada fêmea contribui com 1,022 indivíduos/dia na população;
- r)** A população de 600 indivíduos seria então aumentada para 1.089 indivíduos na colônia, somando-se as duas gerações;
- s)** Os índices de mortalidade (K), que indicam a taxa de mortalidade que ocorreu em cada semana, foi verificado em maiores taxas ocorrendo durante as 4 últimas semanas: 82%, 38%, 86% e 100%, respectivamente 7<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 9<sup>a</sup> e 10<sup>a</sup>;
- t)** O valor determinado para entropia entre todas as 10 semanas foi  $H = 0,604857$ , indicando que um valor intermediário entre os dois extremos ( $H=0,0$  e  $H= 1,0$ ), indicando que a taxa de mortalidade ocorreu dentro de uma razão fixa entre os períodos, podendo-se concluir que a mortalidade dos indivíduos ocorrem em uma progressão aritmética;
- u)** A altura da disposição da armadilha influencia na quantidade de indivíduos coletados, no entanto, as análises têm que ser agrupadas por períodos sazonais, pois a resposta do número de indivíduos coletados é diferente, dependendo da estação;
- v)** Nos períodos mais frios (inverno e outono), há maior número de indivíduos de cloropídeos, quando coletados em armadilhas dispostas mais próximas ao solo, sendo que há uma correlação negativa, denotando assim que o número de indivíduos coletados nestas estações é inversamente proporcional em relação a altura;

x) Nos períodos mais quentes (primavera e verão) observa maior número de indivíduos sendo coletados em alturas mais distantes do solo, ocorrendo assim uma correlação positiva entre o número de indivíduos coletados e a altura;

### 7.0 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRITTON, W. L.; SETLOW, J.L. THOMAS, M. SOTTNEK, F. & STEIGERWALT, A. G. Heterospecific transformation of genus *Haemophilus*. Mol. Gen. Genet. 193: 358 – 363. 1984.

ALDRICH, J. M. European frit fly in North America. J. Agric. Res. 18: 451-473. 1920.

ALLEN, W. A. & PIENKOWSKI. The biology and seasonal abundance of the frit fly, *Oscinella frit*, in reed canarygrass in Virginia. Ann. Ent. Soc. Am. 67: 539 – 544. 1974.

AXTELL, R. C. & EDWARDS, T. D. Seasonal populations of *Hippelates* gnats in North Carolina. Ann. Ent. Soc. Am. 63 (4): 1049 – 1053. 1970.

BASSET, D. C. J. *Hippelates* flies and streptococcal skin infection in Trinidad. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 64: 138-147. 1970.

BECKER, T. Chloropidae-Eine monographische Studie. IV. Teil. Nearktische region. V. Teil. Neotropische Tegen. Ann. Hist. Nat. Magyar Nemzeti Muz. 10: 21-256. 1912.

BENGTSON, I. A. Seasonal acute conjunctivitis occurring in the southern states. Publ. Health Rep. 48: 917 – 926. 1933.

BIRCH, L. C. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. J. Anim. Ecol. 17: 15-26. 1948.

BORROR, D. J. & DELONG, D. M. *An introduction to the study of insects*. 6<sup>th</sup> ed. Saunders College Publishing, Philadelphia. 875 p. 1989.

BRAZILIAN PURPURIC FEVER TASK FORCE. Preliminary report: epidemic fatal purpuric fever among children – Brazil. M.M.W.R. 34(16): 217-219. 1985.

BRENNER, D. J.; MAYER, L. W.; CARLONE, G. M.; HARRISON, L. H.; BIBB, W. F.; BRANDILEONE, M. C. C.; SOTTNEK, F. O.; IRINO, K.; REEVES, M.W.; SWENSON, J. M.; BIRKNESS, K. A.; WEYANT, R. S.; BERKLEY, S. F.; WOODS, T. C.; STEIGERWALT, A. G.; GRIMONT, P. A. D.; MCKINNEY, R. M.; FLEMING, D. W.; GHEESLING, L. L.; COOKSY, R. C.; ARKO, R. J.; BROOME, C. V. AND THE BRAZILIAN PURPURIC FEVER STUDY GROUP. Biochemical, genetic and epidemiologic characterization of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius* (*Haemophilus aegyptius*) strains associated with Brazilian purpuric fever. J. Clin. Microbiol. 26: 1524 – 1534. 1988.

BURGESS, R. W. The life history and breeding habits of the eye gnat, *Hippelates pusio* Loew, in the Coachella Valley, Riverside Country, California. Amer. Jour.Hyg. 53: 164-177. 1951.

CALNAIDO, D., FRENCH, R. A. & TAYLOR, L.R. Low altitude flight of *Oscinella frit* L. (Diptera: Chloropidae). J. Anim. Ecol. 34: 45 – 61. 1965.

CAREY, J. R. *Applied demography for biologists with special emphasis on insects*. Oxford University Press. 206 p. 1993.

CARRERA, M. *Insetos de interesse médico e veterinário*. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 228 pp. 1991.

CASIN, I.; GRIMONT, F.; GRIMONT, P. A. D. Deoxyribonucleic acid relatedness between *Haemophilus aegyptius* and *Haemophilus influenzae*. Ann. Inst. Pasteur Microbiol. 137(b): 155 – 163. 1986.

COUTINHO, E. *Tratado de Clínica das doenças infectuosas, parasitárias e peçonhentas*. Koogan, Rio de Janeiro. 835 pp. 1957.

- DAVIS, D. J. & PITTMAN, M. Acute conjunctivitis caused by *Haemophilus*. Am. J. Dis. Child. 79: 211-219. 1950.
- DAWSON, C. R. Epidemic Koch-Weeks conjunctivitis and trachoma: in the Coachella Valley of California. Am. J. Ophthalm. 49: 801-808. 1960.
- DOW, R.P. & WILLIS M.J. Evaluation of insecticides for the control of *Hippelates pusio* in soil. J. Econ. Ent.52(1): 68-71. 1959.
- DUDA, O. Die neotropischen Chloropiden (Diptera). Folia Zool. Hydrobiol. (Riga). 2: 46-128. 1930.
- ELKAN, E. Miasis in Australian frogs. An. Trop. Med. Parasit. 59: 51-54. 1965.
- FORATINI, O. P. *Entomologia Médica*, vol 1. Faculdade de Higiene e Saúde Pública, Depto de Parasitologia. São Paulo. 662 pp. 1962.
- GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C. & BARROS-BATTESTI, D. M. *Ectoparasitos de importância veterinária*. São Paulo, Plêiade/FAPESP. 218 pp. 2001.
- HALL, D. G. Some studies on the breeding media, development, and stages of the eye gnat *Hippelates pusio* Loew (Diptera: Chloropidae). Amer. J. Hyg. 16: 854-864. 1932.
- HARWOOD, R. F. & JAMES, M. T. *Entomology in human and animal health*. Macmillan Publishing Co. New York. 548 p. 1979.
- HEMER, V. M. Zur biologie, wirtschaftlichen bedeutung und bekämpfung der fritfliege (*Oscinis frit* L.) an Gerste. Z. Angew. Ent. 44: 315 -339. 1959.
- HIGLEY, L. G. PEDIGO, L.P. & OSTLIE. Degday: a program for calculating degree-days, and assumptions behind the degree day approach. Environ. Ent. 15: 999-1016. 1986.

IBBOTSON, A. *Studies on frit fly in northern England with particular reference to biology and behaviour in the field*. Ph. D. thesis, Univ. Newcastle upon tyne. 1961. [in UMORU, P.A., BALE, J. S. & SHORROCKS, B. Predicting the time of emergence of frit fly (*Oscinella frit* L.) (Dipt., Chloropidae) in northern England. J. Appl. Ent. 109: 377 – 384.1990.]

IRINO, K., LEE, I.M.L., KAKU, M., BRANDILEONE, M.C.C., MELLES, C.E.A., LEVY, C.E., BERKLEY, S.E., FLEMING, D.W., SILVA, G.A. & HARRISON, L. Febre purpúrica brasileira: Resultados preliminares da investigação etiológica. Rev. Inst. Med. Trop. 29(3): 174-177. 1987.

JAY JR., E. G. Species of *Hippelates* (Diptera: Chloropidae) gnats collected from mammals. 55(6): 1011-1012. 1962.

KARANDINOS, M. G. & AXTELL, R. C. Temperature effects on the immature stages of *Hippelates pusio*, *H. bishoppi*, and *H. pallipes* (Diptera: Chloropidae). Ann. Ent. Soc. Amer. 60 (5): 1055 – 1062. 1967

KARANDINOS, M. G. & AXTELL, R. C. Age-related changes in the fertility of *Hippelates pusio*, *Hippelates bishoppi*, *H. pallipes* (Diptera: Chloropidae). Ann. Ent. Soc. Amer. 65: 1092 – 1099. 1972.

KILIAN, M.; & BIBERSTEIN, E. L. *Haemophilus* Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers, and Smith, 1917, p. 558 – 569; *apud* Krieg, N. R. & Holt, J. G (ed.), Bergey's manual of systematic bacteriology. The Williams & Wilkins Co. Baltimore. Vol. 1. 1984.

KREITER, E.A. Problems of the original distribution of *Oscinella frit* L. - Reports of the scientific meetings of the Leningrad Institute of Agriculture. Rev. Appl. Ent. (A) 27, 454. 1939.

KUMM, H. W.; TURNER, T. B.; PEAT, A. A. The duration of the mobility of spirochaetes of yaws in a small west Indian fly – *Hippelates pallipes* Loew. Am. J. Trop. Med. 15: 209 – 223. 1935.

JEPSON, W. F. & SOUTHWOOD, T.R.E. Population studies on *Oscinella frit* L. Ann. Appl. Biol. 3: 465-474. 1958.

LARA, F. M. *Princípios de Entomologia*. 3ª ed. Ed. Ícone. São Paulo. 331 p. 1992.

LEAL, T. T. S., PRADO, A. P. & ANTUNES, A. J. Rearing the larvae of the blowfly *Chrysomya chloropyga* (Wildemann) (Diptera: Calliphoridae) on oligidic diets. Rev. Bras. Zool. 1: 41 – 44. 1982.

LÊ BERRE, J. R. Hivernation et zero de developpement chez l'Oscinie *Oscinella frit* L. (Dipt., Chloropidae). Acta Symp. Evol. Insect, Praha. 1959. 270-275. 1959.

LEGNER, E. F., OLTON, G. A. & ESKAFI, F. M. Influence of physical on the developmental stages of *Hippelates collusor* in relation to the activities of its natural parasites. Ann. Ent. Soc. Amer. 59: 851-861. 1966.

LEMCKERT, F. Parasitism of the common eastern froglet *Crinia signifera* by flies of the genus *Batrochomyia* (Diptera: Chloropidae): Parasitism rates and influence on frog condition. Aust. Zool. 31: 492 – 495. 2000.

LENKO, K. & PAPAVERO, N. *Insetos no Folclore*. São Paulo: Conselho Estadual de artes e Ciências Humanas. 518 p. 1979.

LOVE, G. F. Variations of hatchability of successive lots obtained from cultures of *Anopheles quadrimaculatus* Say. J. Econ. Ent. 1954.

MAZLOUM, H. A.; KILIAN, M.; MOHAMED, Z. M.; SAID, M. D. Differentiation of *Haemophilus aegyptius* and *Haemophilus influenzae*. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. B. 90: 109 – 112. 1982.

MESSENGER, P. S. The influence of rhythmically fluctuating temperatures on the development and reproduction of the spotted alfalfa aphid, *Therioaphis maculata*. J. Econ. Ent. 57: 71-76. 1964

MINITAB FOR WINDOWS (RELEASE 10.1). *User's guide*. Enterprise Drive St. Cl. Pensylvania – USA.1994.

MOORE , D. Hymenopterous parasitoids of stem-boring Diptera (for example *Oscinella frit* L.) in perennial ryegrass *Lolium perenne* in Britain. Bull. Ent. Res. 73: 601-607. 1983.

MULLA, M. S. Mass rearing of three species of *Hippelates* eye gnats (Diptera: Chloropidae). Ann. Ent. Soc. Amer. 55: 253 – 258. 1962.

MULLA, M. S. An ecological basis for the suppression of *Hippelates* eye gnats. J. Econ. Ent. 56(6): 768-770. 1963.

MULLA, M. S. Oviposition and emergence period of the eye gnat *Hippelates collusor*. J. Econ. Ent. 59(1): 93-96. 1966.

MULLA, M. S., GARBER, M. J. & ANDREWS, F.G. Control of *Hippelates* eye gnats with herbicidal oils. J. Econ. Ent. 59: 552 – 556. 1966.

NICHOLLS, L. The transmission of pathogenic microorganisms by flies in St. Lucia. Bull. Ent. Res. 3: 81 – 88. 1912.

ODUM, E. P. *Ecologia*. Ed. Guanabara. Rio de Janeiro. 434 p. 1988.

PACHECO, S. Sobre duas espécies neotrópicas do gênero *Hippelates* Loew, 1863 (Diptera, Chloropidae). Rev. Bras. Biol. 31(4): 441-446. 1971.

PACHECO, S. Redescrição de *Hippelates annulatus* End., 1911 e *Hippelates femoralis* (Duda, 1930) (Diptera: Chloropidae). Ver. Brás. Biol. 37: 125 – 130. 1977.

- PAGANELLI, C. H. & SABROSKY, C. W. *Hippelates* flies (Diptera: Chloropidae) possibly associated with Brazilian purpuric fever. Proc. Ent. Soc. Wash. 95 (2): 165 – 174. 1993.
- PAYNE JR, W. J.; COLE JR, J. R.; SNODDY, E. L.; SEIBOLD, H.R. The eye gnat *Hippelates pusio* as a vector of bacterial conjunctivitis nursing rabbits as an animal model. 13: (4-5): 599 – 603. 1977.
- PITTMAN, M. & DAVIS, D. J. Identification of the Koch-Weeks bacillus (*Haemophilus aegyptius*). J. Bacteriol. 59: 413 – 426. 1950.
- PRICE, W. P. *Insect Ecology*. 2<sup>nd</sup> ed. Wiley Interscience Publication. New York. XV + 607 p. 1984.
- RICHARDS, O. W. The theoretical and practical study of natural insect populations. Ann. Rev. Ent. 6: 147 – 162. 1961.
- ROGERS, T. P. FOOTE, B. A. & TODD, J.L. Biology and immature stages of *Chlorops certimus* and *Epichlorops exilis* (Diptera: Chloropidae), stem-borers of Wetland sedges. J. New York Ent. Soc. 99(4): 664-683. 1991.
- RYGG, T. Emergence periods and population fluctuations of the frit fly *Oscinella frit* L. (Dipt., Chloropidae) in Norway. Norsk Ent. Tidsskr. 14: 12-23. 1967.
- SABROSKY, C. W. Chloropidae. pp. 773 – 793. In Stone, A. et al. eds., *A catalog of the Diptera of America north of Mexico*. Washington, D.C. Agr. Handbook, 276: IV + 1696 p. 1965.
- SABROSKY, C. & PAGANELLI, C.H. Family Chloropidae - *A catalogue of the Diptera of the Americas south of the United States*. Mus. Zool. Univ. de São Paulo. 81. 1-63. 1984

SABROSKY, C.W. Chloropidae. In McALPINE, J. F.; PETERSON, B. V.; SHEWELL, G.E.; TESKEY, H. J.; WOOD, VOCKEROTH, J. R.; WOOD, D. M. (eds.) *Manual of Nearctic Diptera*. Biosystematics research Centre, Agric. Canada, Monograph 28. 2: 1049 – 1067. 1987.

SANDERS, D. A. *Hippelates* flies as vector of bovine mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 97 (763): 306 – 308. 1940.

SAS INSTITUTE. *SAS user's guide statistics*, version 5 ed. SAS institute, Cary, N.C. 1985.

SCHELL, C. B. & BURGIN, S. *Batrachomyia strigapes* (Diptera) parasitism of *Uperoleia laevigata* (Anura). J. Parasitol. 87 (5): 1215 – 1216.

SCHNEIDER, A. An introduction report on pseudo-trachoma endemic in the Salton Sea region of California. Med. Sent. 35 (3) 154 – 161. 1927.

SIDDIQUI, W. H. & BARLOW, C. A. Effects of some constant and alternating temperatures on population growth of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera Aphididae). Can. Ent. 105: 145 – 156. 1973.

SKUSE, F.A.A. Description of a new genus (*Batrachomyia*, W. S. Macleay, M.S.), and two species of dipterous insects parasitic upon Australian frogs. Proc. Lin. Soc. N. S. Wal. 2 (4): 171 – 177. 1889d.

SOUTHWOOD, T. R. E. *Ecological methods*. 3<sup>rd</sup> ed. Chapman and Hall. London. 1971.

SPIELMAN, A. The influence of rainfall upon the abundance of Cuban *Hippelates* (Diptera: Chloropidae). Ann. Ent. Soc. Amer. 55 (1): 39 – 42. 1962.

SPING, L. HODSON, A. C. RICHARDS, A. G. An Analysis of threshold temperatures for the development of *Oncopeltus* and *Tribolium* eggs. Phys. Zool. 27: 287 – 311. 1954.

TAPLIN, D., ZAIAS, N. & REBELL, G. Infection by *Hippelates* flies. Lancet. 2: 472. 1967.

TAYLOR, L. R. Insect migration, flight periodicity and the boundary layer. *J. Anim. Ecol.* 43: 225 – 238. 1974.

TAYLOR, M. L. & OLINGER, L. D. An egg survey of *Hippelates* gnats in the vicinity of Orlando, Florida. *J. Econ. Ent.* 51 (4) : 557. 1958.

TINKHAM, E. R. Control of eye gnats by soil larvicides. *Cal. Mosq. Con. Assoc. Proc.* 67 – 68. 1953

TOLLEY, M. P. & NIEMCZYK, H. D. Seasonal abundance, oviposition activity, and degree-day prediction of adult frit fly (Diptera: Chloropidae) occurrence on turfgrass in Ohio. *Environ. Ent.* 17 (5): 855 – 862. 1988.

TONDELLA, M.L.C; PAGANELLI, C. H.; BORTOLOTTI, I. M.; TAKANO, O. A.; IRINO, K.; BRANDILEONE, M. C. C.; MEZZACAPANETO, B.; VIEIRA, U. S. D.; PERKINS, B. A. Isolamento de *Haemophilus aegyptius* associado à febre purpúrica brasileira, de Cloropídeos (Diptera) dos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates*. *Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo.* 36 (2): 105 – 109. 1994.

UMORU, P.A., BALE, J. S. & SHORROCKS, B. Predicting the time of emergence of frit fly (*Oscinella frit* L.) (Dipt., Chloropidae) in northern England. *J. Appl. Ent.* 109: 377 – 384.1990.

VAN EMDEN, H. F., JEPSON, W.F. & SOUTHWOOD, T.R.E. The occurrence of a partial fourth generation of *Oscinella frit* L. (Diptera: Chloropidae) in southern England. *Ent. Exp. Appl.* 4: 220-225. 1961.

VAUPEL, J. W. How change in age – specific mortality affects life expectancy. *Pop. Stud.* 40: 147-157. 1986

VICKERMAN, G. P. The phenology of *Oscinella* spp. (Diptera: Chloropidae). *Bull. Ent. Res.* 70: 601-620. 1980.

WOMELDORF, D. J. & MORTENSON, E. W. Occurrence of eye gnats (*Hippelates* spp.) in central San Joaquin Valley, California. J. Econ. Ent. 55(4): 457-459. 1962.

ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. 4<sup>th</sup> ed. Prentice Hall. New Jersey. 661 pp + 212 app. 1999.