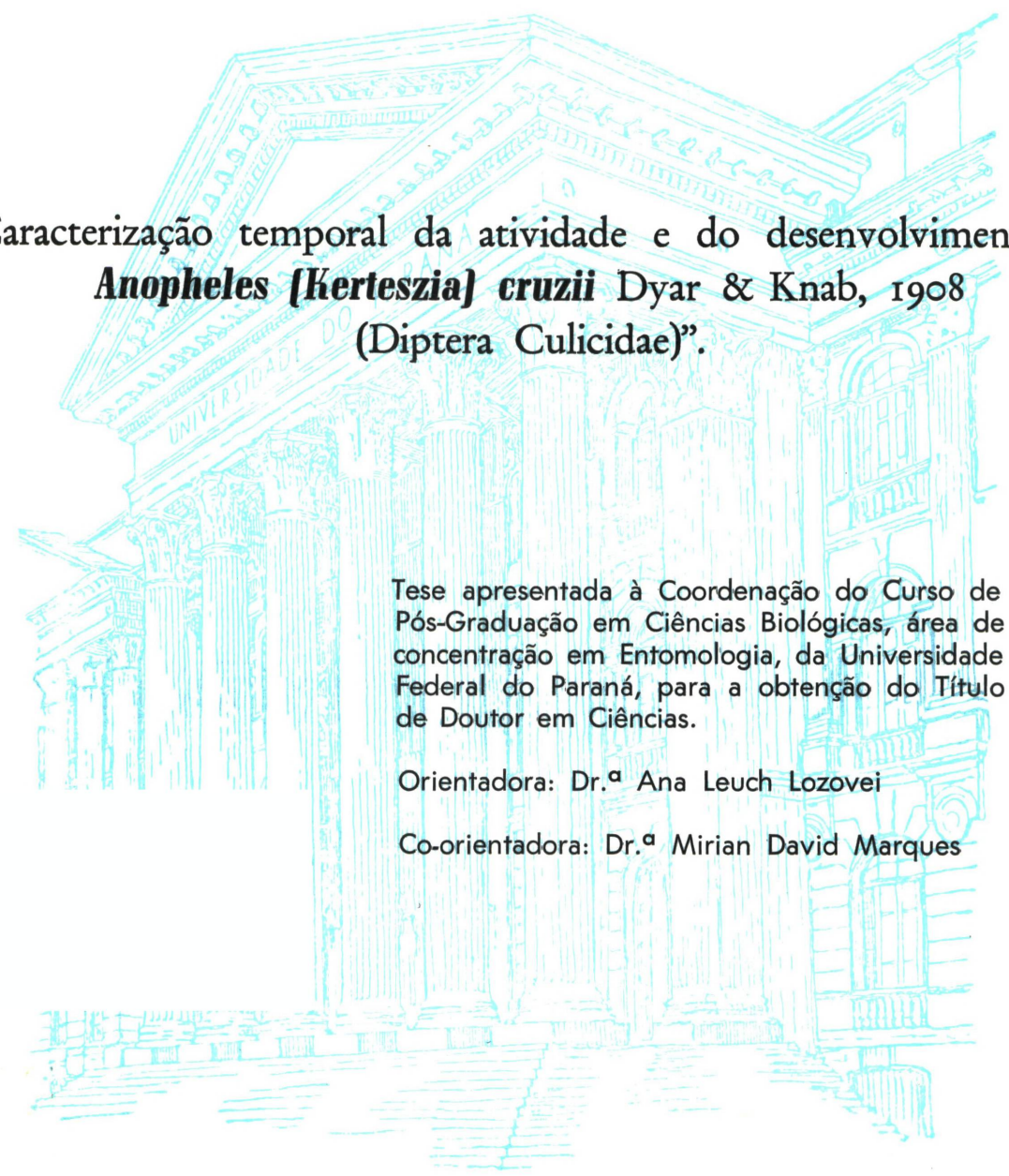


SAMIRA CHAHAD



“Caracterização temporal da atividade e do desenvolvimento de
Anopheles (Kerteszia) cruzii Dyar & Knab, 1908
(Diptera Culicidae)”.

Tese apresentada à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Dr.^ª Ana Leuch Lozovei

Co-orientadora: Dr.^ª Mirian David Marques

CURITIBA - PARANÁ

1999

SAMIRA CHAHAD

“Caracterização temporal da atividade e do desenvolvimento de
Anopheles (Kerteszia) cruzii Dyar & Knab, 1908
(Diptera Culicidae)”.

Tese apresentada à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Dr.^ª Ana Leuch Lozovei

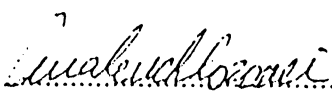
Co-orientadora: Dr.^ª Mirian David Marques

CURITIBA - PARANÁ
1999

"Caracterização temporal da atividade e do desenvolvimento de *Anopheles (Kerteszia) cruzii* Dyar & Knab, 1908 (Diptera, Culicidae)"

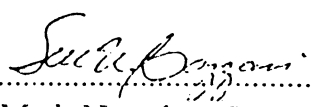
SAMIRA CHAHAD

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de doutor no Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Entomologia da Universidade Federal do Paraná, pela comissão formada pelos Professores:


.....
Orientadora: Dra. Ana Leuch Lozovei


.....
Dra. Mirian David Marques


.....
Dr. Delsio Natal


.....
Dra. Sônia Maria Noemberg Lazzari


.....
Dr. Mário Antônio Navarro da Silva

Curitiba, 31 de maio de 1999

Aos meus pais

AGRADECIMENTOS

“O trabalho científico jamais é mérito de um só indivíduo, mas sim, resultado da cooperação conjunta das várias pessoas e entidades que militam nesta área e prestam suporte para sua elaboração. A todos que colaboraram, direta ou indiretamente, para realizar o presente trabalho, meu reconhecimento e sincera gratidão.”

Agradeço profundamente às orientadoras Profa. Dra. Ana Leuch Lozovei, da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e Profa. Dra. Mirian David Marques, do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (USP), pela dedicação, incentivo e amizade em todos os momentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Pós-graduação da UFPR pelo oferecimento do curso.

Ao Museu de Zoologia da USP por ter facilitado o uso de suas dependências; laboratórios e biblioteca.

Ao Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) por conceder permissão para as coletas na Estação II de Morretes - PR e pelo uso da casa de hóspedes. Especial agradecimento ao Sr. Luiz Adão.

Aos Profs. da Faculdade de Saúde Pública da USP Dr. Delsio Natal, pelas sugestões para a escolha da espécie e ao Prof. Daniel Marucci pelo auxílio com os cálculos dos crepúsculos.

Ao Prof. Dr. James M. Waterhouse, da John Moores University, Liverpool, Inglaterra, pelas preciosas sugestões quanto ao protocolo e análises estatísticas dos dados.

Ao Prof. Martin Ralph, da Universidade de Toronto, Canadá, pelas sugestões dadas ao protocolo inicial e às possibilidades de interpretação dos resultados.

À Profa. Dra. Eliana Dessen, do Instituto de Biociências da USP, pelas informações sobre a genética de *Anopheles cruzii*.

À Profa. Dra. Iná Kakitani, da Faculdade de Saúde Pública da USP, pelas excelentes sugestões quanto aos procedimentos de criação do mosquito estudado.

À Profa. Dra. Ana Amélia Benedito Silva, da Escola Paulista de Medicina, pela orientação nas análises estatísticas dos resultados iniciais.

Ao Prof. Ricardo Sandes Ehlers, do Departamento de Estatística da UFPR, pelo desenvolvimento do modelo estatístico para os dados de campo e pela assistência na interpretação dos resultados. Agradeço pelo apoio e convivência.

À Lara M. Guimarães, do Museu de Zoologia da USP, e ao Tomás Fernandez, da Universidade de Buenos Aires, Argentina, pela preparação do material e obtenção de imagens ao microscópio eletrônico de varredura.

Ao Prof. Dr. Julio Cesar Klafke do Instituto Astronômico e Geofísico da USP por fornecer as tabelas de horários de nascer e ocaso da Lua.

Às bibliotecárias do Museu de Zoologia da USP, em especial à Dione Seripieri, pela ajuda com as referências bibliográficas.

A todos os funcionários da UFPR que colaboraram direta ou indiretamente com este trabalho, especialmente ao Luiz Fernando Peracetta pela montagem dos equipamentos de coleta.

A todos os funcionários e técnicos do Museu de Zoologia da USP, pela colaboração e simpatia.

Ao grupo de cronobiologia do Museu de Zoologia da USP: Gisele Akemi Oda, Fábio Oliveira do Nascimento, Katia Giannini, Miriam Gimenes, Selma Bellusci e Sonia M. Marques Hoenen pela amizade e ótima convivência.

À Gisele Akemi Oda pelo auxílio na redação do texto sobre modelagem estatística.

Ao Flávio Popazoglo, Jorge Popazoglo e Marlene Parra, pelo apoio em todos os momentos.

Ao Adson Sant'Ana, Dalton Reynaud, Luis Fernando Duboc, Luiz Gonzaga dos Santos Neto e Ronaldo Toma, pelo auxílio nas coletas e amizade.

A todos os amigos que de longe sempre deram grande incentivo.

Aos colegas e amigos da Pós-graduação da UFPR e do Museu de Zoologia da USP.

SUMÁRIO

BANCA EXAMINADORA	i
DEDICATÓRIA	ii
AGRADECIMENTOS	iii
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE APÊNDICES	xii
RESUMO GERAL	xiv
ABSTRACT	xvi
PREFÁCIO	xviii
GLOSSÁRIO	xx

CAPÍTULO 1 - ATIVIDADE DE VÔO E CICLOS AMBIENTAIS

RESUMO	1
INTRODUÇÃO	1
Polimorfismo de <i>Anopheles cruzii</i>	3
Aspectos cronobiológicos	3
Atividade de <i>Anopheles cruzii</i> e outros culicídeos e os ciclos ambientais	5
Bases cronobiológicas de alguns dados com mosquitos	6
MATERIAL E MÉTODOS	9
Área de estudo	9
Procedimentos nas coletas	9
Procedimentos em laboratório	11
Descrição dos dados	11
Análises estatísticas	11
Modelagem	12
a. Análise descritiva	12
b. Estimção dos parâmetros	13
c. Inferências	14
RESULTADOS	16
Análise descritiva	16
Seleção e interpretação do modelo estatístico	27
DISCUSSÃO	31
Distribuição noturna da atividade de <i>Anopheles cruzii</i> e evidências de um sistema multioscilar	31
Influência dos ciclos ambientais sobre o ritmo de atividade de <i>Anopheles cruzii</i>	33
a. Influência do dia lunar	33
b. Influência do mês lunar	34
c. Temperatura	35
d. Umidade relativa do ar	36
e. Precipitação pluviométrica	37
CONCLUSÕES	39

CAPÍTULO 2 – RITMOS DE POSTURA E DE EVENTOS DO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO

RESUMO	41
INTRODUÇÃO	41
Mudas e metamorfose – características rítmicas na fisiologia e endocrinologia	41
Ritmicidade nos processos de desenvolvimento	43
Arritmicidade nos processos de desenvolvimento	44
Ritmicidade no desenvolvimento de <i>Anopheles cruzii</i> e aspectos do seu ciclo de vida	45
MATERIAL E MÉTODOS	47
Coletas de adultos	47
Experiência-piloto	47
Condições de laboratório	47
Monitoramento da postura	48
Monitoramento da eclosão	48
Monitoramento do desenvolvimento larval	49
Monitoramento da pupação	49
Monitoramento da emergência de adultos	49
Análise estatística	49
RESULTADOS	51
Postura	51
Aspectos cronobiológicos	52
Eclosão dos ovos e ecdises larvais	54
Pupação	55
Emergência de adultos	57
Duração das fases de desenvolvimento	59
DISCUSSÃO	60
Fases do desenvolvimento	60
a. Postura	60
b. Desenvolvimento embrionário	61
c. Larvas e pupas	61
d. Duração do ciclo	63
Ritmicidade no processo de postura de <i>Anopheles cruzii</i>	63
Arritmicidade em processos de desenvolvimento de <i>Anopheles cruzii</i>	64
CONCLUSÕES	67
CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
APÊNDICES	84

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO-1

- Tabela I. Fêmeas, machos e número total de *Anopheles cruzii* capturados em armadilha de Shannon nos sete intervalos de coleta, no interior da Floresta Atlântica, Morretes – PR, Outubro de 1995 a janeiro de 1996..... 16
- Tabela II. Médias e número total de *Anopheles cruzii* capturados em armadilha de Shannon nas 48 noites pesquisadas nos sete intervalos de coleta, no interior da Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. 18
- Tabela III. Totais e médias do número de *Anopheles cruzii* capturados em armadilha de Shannon, nos sete intervalos de coleta por fase do ciclo lunar. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996..... 20
- Tabela IV. Valores extremos (mínimos e máximos) quartis e as médias das contagens de *Anopheles cruzii* para cada fase da lua, considerando todos os intervalos horários de observação. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996..... 23
- Tabela V. Médias da ocorrência de *Anopheles cruzii* por fase da lua ao longo dos intervalos de coleta com a presença ou ausência de chuva. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996..... 25
- Tabela VI. Distribuição da frequência de temperatura, umidade relativa do ar e médias do número de *Anopheles cruzii*, coletados em armadilha de Shannon, de acordo com as classes dessas variáveis ambientais. As tomadas de temperatura e umidade relativa foram feitas nos momentos das capturas dos mosquitos. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996..... 27
- Tabela VII. “Deviance” mínimo de cada modelo e as diferenças comparadas com valores tabelados da distribuição qui-quadrado, para verificar se a adição de variáveis independentes melhora significativamente a qualidade do ajuste. Comparou-se modelo 1 com os modelos 2, 3 e 4. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996 27
- Tabela VIII: Valores estimados e intervalos de confiança de 95% para os parâmetros do modelo selecionado (modelo 1)..... 28

CAPÍTULO-2

- Tabela I. Distribuição de frequências do número de ovos por postura de *Anopheles cruzii* em laboratório sob fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar 57 a 81%. 50
- Tabela II. Números e percentuais de posturas de *Anopheles cruzii* observados em laboratório, a cada três horas, sob fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar 57 a 81%, durante três dias consecutivos. 51

Tabela III. Números e percentuais de ecdise de 3 ^o para 4 ^o instar larval de <i>Anopheles cruzii</i> observados em laboratório a cada quatro horas, durante três dias consecutivos, sob fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa entre 57 e 81%.	54
Tabela IV. Números e percentuais de pupação de <i>Anopheles cruzii</i> observados em laboratório a cada hora durante três dias consecutivos sob fotoperíodo natural, temperatura $24,6 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 72 e 87%.	55
Tabela V. Números e percentuais de emergência de adultos de <i>Anopheles cruzii</i> observados em laboratório a cada 30' durante três dias consecutivos, sob fotoperíodo natural, temperatura $25,2 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 65 e 86%.	57
Tabela VI. Médias e desvios padrões, em dias, das fases de desenvolvimento de <i>Anopheles cruzii</i> criado em laboratório sob fotoperíodo natural, temperatura $24,2 \pm 1,8^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 50 e 87%.	58

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO-1

- Figura 1. (A) Mapa da América do Sul, destacando o Brasil (amarelo) e o Estado do Paraná (verde). (B) Mapa do Estado do Paraná, destacando a localização do município de Morretes. 10
- Figura 2. Número de machos e fêmeas de *Anopheles cruzii* capturados nos sete intervalos de coleta. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. 17
- Figura 3. Média das contagens de *Anopheles cruzii* capturados em armadilha de Shannon, nos sete intervalos de coleta. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. 18
- Figura 4. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* no mês de outubro e nos outros três meses de coleta (novembro, dezembro, janeiro), em relação ao crepúsculo matutino (■). Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. 19
- Figura 5. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* por fase da lua, capturados em armadilha de Shannon nos sete intervalos de coleta. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. 21
- Figura 6. Dupla plotagem das médias das contagens de *Anopheles cruzii* nos intervalos 2 e 5 para cada fase da lua. Esses intervalos representam horários de ocorrência de picos de atividade (1 e 5 representam a lua cheia, 2 e 6 a minguante, 3 e 7 a nova e 4 e 8 a lua crescente). Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. 21
- Figura 7. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* ao longo dos intervalos de coleta, de acordo com a presença e ausência da lua (nascimento e ocaso da lua). Cada intervalo corresponde a 2 horas e as áreas sombreadas simbolizam a variação da intensidade luminosa lunar. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. Os valores das ordenadas são diferentes nos quatro gráficos para facilitar a visualização do comportamento do fenômeno 22
- Figura 8. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* na lua minguante e na crescente capturados em armadilha de Shannon, nos sete intervalos de coleta. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. 23

Figura 9. Número de indivíduos de *Anopheles cruzii* coletados em cada fase do ciclo lunar (A,B, C, D) estão representados por pontos e as médias dessas contagens por linhas cheias com escalas diferentes. A escala da Figura B foi aumentada para evidenciar o pico. Cada intervalo horário corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. 24

Figura 10. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* ao longo dos intervalos de coleta, em armadilha de Shannon, com a presença e ausência de chuva. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. 25

Figura 11. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* por fase lunar ao longo dos intervalos de coleta, em armadilha de Shannon, com a presença e ausência de chuva. Cada intervalo corresponde a 2 horas tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. 26

Figura 12. Trajetória das contagens de *Anopheles cruzii*, segundo o modelo estimado, ao longo dos intervalos horários para cada fase lunar. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. 29

CAPÍTULO-2

Figura 1. Frequências de posturas de *Anopheles cruzii* nos três dias consecutivos a intervalos de três horas, sob fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 57 a 81%. 53

Figura 2. Distribuição horária da postura de *Anopheles cruzii* nas 24 horas do dia com observações em intervalos de 3 horas durante 72 horas consecutivas. Fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar 57 a 81% 53

Figura 3. Distribuição horária da postura de *Anopheles cruzii* nas 24 horas do dia com observações em intervalos de 3 horas durante 72 horas consecutivas. (A) Repasto sanguíneo realizado 09:00 - 10:30h e (B) 18:30 - 20:00h Fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar 57 a 81% 54

Figura 4. Distribuição horária da ecdise de 3^o para 4^o instar larval de *Anopheles cruzii* nas 24 horas do dia com observações em intervalos de 4 horas durante 72 horas. Fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa entre 57 a 81% 55

Figura 5. Distribuição horária da pupação de *Anopheles cruzii* nas 24 horas do dia com observações em intervalos de 1 hora durante 72 horas consecutivas. Fotoperíodo natural, temperatura $24,6 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 72 e 87%. 56

Figura 6. Distribuição horária da emergência de *Anopheles cruzii* nas 24 horas do dia com observações em intervalos de 30 minutos durante 96 horas consecutivas. *O teste de Rayleigh foi significativo devido ao nr^2 ser maior do que 3,0, no entanto, o valor de “r” é pequeno para se considerar um ritmo Fotoperíodo natural, temperatura $25,2 \pm 0,8^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 65 e 86%..... 57

LISTA DE APÊNDICES

- Apêndice 1. Representação dos horários de crepúsculos, de instalação da armadilha, capturas inicial e final de *Anopheles cruzii* e intervalo de tempo da presença da lua para cada noite de coleta. Outubro de 1995 a novembro de 1996, Floresta Atlântica, Morretes - Paraná, Brasil. 83
- Apêndice 2. Representação dos horários de instalação da armadilha (1 hora antes do crepúsculo vespertino), horários de coleta (1 a 7), crepúsculo vespertino e matutino, horários de picos de *Anopheles cruzii* e também, intervalo de tempo entre o horário 5 (pico-2) e crepúsculo matutino. (1) outubro, (2) novembro, (3) dezembro e (4) janeiro... 84
- Apêndice 3. Total de capturas realizadas (No) de outubro de 1995 a janeiro de 1996 (Mês) divididos em sete intervalos de horários de coleta (Int.) nos três dias consecutivos (Dia) para cada fases da lua (Lua). Constam as variáveis ambientais: temperatura (Temp.), umidade relativa do ar (U.R.) e precipitação pluviométrica (Chuva e Chuvisco). Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, Brasil. 85
- Apêndice 4. Captura de *Anopheles cruzii* no estudo preliminar, durante 72 horas consecutivas na floresta Atlântica, Morretes - Paraná, Brasil, maio de 1995 (T°C = temperatura) 90
- Apêndice 5. Médias e valores extremos (mínimos e máximos) da temperatura ambiente para cada fase da lua, considerando os intervalos de observação como um todo. 91
- Apêndice 6. Distribuição da frequência de temperatura em tomadas feitas nos momentos de capturas de *Anopheles cruzii* nos sete intervalos de coleta em Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, Brasil. Representação gráfica da distribuição da frequência de temperatura em tomadas feitas nos momentos de capturas de *Anopheles cruzii* nos sete intervalos de coleta em Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, Brasil. 92
- Apêndice 7. Distribuição das médias de *Anopheles cruzii* de acordo com a temperatura em cada intervalo de coleta. Dentro dos parênteses constam o total de mosquitos pela frequência de temperatura. As tomadas de temperatura foram feitas nos momentos das capturas dos mosquitos em Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, Brasil. Abaixo um gráfico para melhor visualização desses dados. Representação gráfica da média das médias da *Anopheles cruzii* de acordo com a temperatura em cada intervalo de coleta. As tomadas de temperatura foram feitas nos momentos das capturas dos mosquitos em Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, Brasil 93
- Apêndice 8. Contagens e cálculos relacionados aos processos de hematofagia (Hem), postura (ovi), eclosão (Eclos), ecdises (Muda 1-3), pupação (Pupa) e a emergência de adultos (Adult) de *Anopheles cruzii* em laboratório de janeiro a março de 1998. Estão incluídas correções (Co), levando em conta a hora mínima (mín) e máxima (máx) em que os mosquitos realizavam um determinado processo. As expressões matemáticas constam em observações ao rodapé da tabela. 94

Apêndice 9. Horário do repasto sangüíneo, números de ovos por fêmea de <i>Anopheles cruzii</i> , número de larvas e percentual de eclosão obtidos em laboratório.....	100
Apêndice 10. Números de ovos, larvas, ovos não eclodidos e percentual de eclosão de cada postura das 65 fêmeas de <i>Anopheles cruzii</i> que sobreviveram do total de 141 capturadas.	101
Apêndice 11. Fêmeas que ovipositaram mais de uma vez e as diferenças (em horas) entre uma e outra parcela. As letras a, b, c, d indicam posturas parceladas (a = 1 ^a , b = 2 ^a , c = 3 ^a , d = 4 ^a). Anotação dos intervalos entre 20 e 30 horas.	103
Apêndice 12. Conjunto de botões sensoriais (setas), provavelmente sensilas campaniformes, sem poro, com bordos elevados e filamentos radiais entre o domo e o bordo. Diversas sensilas tricódeas (T) e escamas (E) recobrem a região proximal da perna protorácica de <i>Anopheles cruzii</i> . Eletromicrografia ao microscópio eletrônico de varredura. Material recoberto com carbono. x 1.500.....	104
Apêndice 13. Botão sensorial (S) isolado com cúpula em domo, sem poro, com bordos elevados e na base três sensilas tricódeas (setas), localizados na perna mesotorácica de <i>Anopheles cruzii</i> . A estrutura é recoberta por escamas (E) e no campo aparecem ainda sensilas tricódeas (T) esparsas. Eletromicrografia ao microscópio eletrônico de varredura. Material recoberto com ouro. x 5.150.....	105

RESUMO GERAL

O propósito desse trabalho é caracterizar temporalmente as diversas etapas comportamentais consideradas na literatura especializada sob o tópico “atividade”. Para tanto foram realizados estudos de campo e laboratório com *Anopheles cruzii* para investigar os padrões temporais na espécie. No campo, caracterizou-se a atividade de vôo de acordo com o número de mosquitos atraídos por uma fonte luminosa artificial colocada dentro de uma armadilha de Shannon. No laboratório, foram realizadas observações de etapas ligadas à reprodução e ao desenvolvimento pós-embrionário desse anofelíneo. Os mosquitos foram capturados em Floresta Atlântica na encosta da Serra do Marumbi, seis quilômetros ao norte da cidade de Morretes, Paraná. Na etapa de campo foram efetuadas coletas durante 48 noites, entre outubro de 1995 e janeiro de 1996, com registro simultâneo das condições climáticas e de iluminação. A armadilha era instalada uma hora antes do crepúsculo vespertino e os mosquitos capturados a cada duas horas até o amanhecer, durante três noites consecutivas para cada fase da lua em quatro ciclos lunares. Um total de 3.105 espécimes de *Anopheles cruzii* foram coletados, sendo 2.953 (95,10%) fêmeas e 152 (4,89%) machos. Foi evidenciado padrão rítmico da atividade de vôo com dois picos. O pico principal ocorreu entre uma e três horas após o crepúsculo vespertino e manteve em todas as observações uma relação de fase fixa com o anoitecer. O segundo pico ocorreu antes do amanhecer. Estas relações de fase indicam o ciclo claro escuro como o principal sincronizador do ritmo de atividade/repouso. Um modelo estatístico foi desenvolvido para a análise dos dados. Observou-se que as fases da lua podem influenciar o ritmo de atividade de *Anopheles cruzii*, sendo que a lua crescente provoca um aumento da amplitude. A influência da temperatura não depende da fase lunar e tem relação com o ciclo claro/escuro. A chuva interfere na atividade de vôo desse anofelíneo, levando a um aumento de atividade em aproximadamente 97%. Discute-se a hipótese da presença de um sistema multioscilar no controle do ritmo de atividade e também a possibilidade de as variáveis ambientais estarem atuando como “zeitgeber” ou agentes moduladores do ritmo. Quanto às observações em laboratório, foram feitas com fêmeas provenientes do mesmo local dos estudos de campo. As observações foram conduzidas sob fotoperíodo natural e temperatura de $25 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$. Processos de postura, de ecdise do terceiro para quarto ínstar larval, de pupação e de emergência de adultos foram observados por inspeção visual, em intervalos de tempo definidos, durante três dias consecutivos, exceto as emergências, que foram observadas durante quatro dias. Um total de 79 fêmeas foi dividido em dois grupos; as fêmeas do primeiro foram alimentadas com sangue pela manhã e aquelas do segundo, à tarde. Destas fêmeas, 36 realizaram posturas num

total de 1063 ovos, dos quais eclodiram 667 (62,75%). Parte das fêmeas (50%) efetuou posturas parceladas. A observação contínua do processo possibilitou medir a duração das diversas fases do desenvolvimento de *Anopheles cruzii*. Da postura até a emergência de adultos o tempo médio foi de 30,71 ($s = 3,57$) dias, sendo o primeiro e quarto instares larvais os mais longos. Os resultados organizados em séries temporais foram analisados pela estatística circular. As posturas mostraram um ritmo circadiano com um pico noturno às 23:24h ($s = 3:47h$), ou seja, 2 a 5 horas após o anoitecer. A análise revelou também que o horário das hematofagias não interfere no ritmo ou no momento de postura. A ecdise do terceiro para quarto instar larval, a pupação e a emergência dos adultos não seguiram um padrão rítmico. Apesar destas arritmidades, discute-se a possibilidade de haver um processo rítmico na síntese e liberação de hormônios nas etapas envolvidas. Algumas hipóteses são elaboradas sobre a possível função do sistema oscilatório no controle da atividade locomotora das larvas e dos adultos. Imagens de microscopia eletrônica de varredura revelaram a presença de estruturas sensoriais mecanoceptoras do tipo campaniforme e tricóide nas pernas dos mosquitos. São provavelmente evidências morfológicas que corroboram a hipótese de que a chuva e/ou as mudanças atmosféricas que antecedem atuam como moduladores do ritmo de atividade de vôo e de emergência do adulto. Como o pico de postura de *Anopheles cruzii* está associado à atividade de vôo, isto sugere que num pico de atividade podem estar incluídos indivíduos desenvolvendo atividades diferentes.

ABSTRACT

Field and laboratory studies have been performed to investigate the temporal organization of *Anopheles cruzii*. In the field, flight activity was inferred from the number of mosquitoes collected in a Shannon trap equipped with a light source. At the laboratory, observations were made on the reproductive and post-embryonic stages. The mosquitoes were captured in the Atlantic Rainforest, at the hillside of Serra do Marumbi, 6 km to the north of Morretes, Paraná. Collections have been done during 48 nights, from October 1995 to January 1996, and the climatic variables and levels of luminosity were recorded. The trap was set one hour before sunset and the mosquitoes collected every 2 hours until dawn, during three consecutive nights. The procedure was repeated for each moon phase during four lunar cycles. A total of 3105 *Anopheles cruzii* specimens have been collected, 2953 (95.10%) females and 152 (4.89%) males. A bimodal circadian rhythm of activity was evinced. The main peak was observed to occur 1 to 3 hours after the evening crepuscle and the phase-relation with sunset was constant along the observations. The secondary peak happened before the sunrise. These phase-relations pointed out the light/dark cycle as the main synchronizer of the rest/activity rhythm. A statistic model was developed to analyse the data. The moon phases were shown to influence the activity rhythm of *Anopheles cruzii* and the waxing moon to cause an increase of amplitude. The influence of the temperature is independent from the moon phase but keeps a relationship with the light-dark cycle. Rains also affect flight activity, increasing the activity up to 97% approximately. The hypothesis of the activity rhythm to be under the control of a multi-oscillatory system is discussed and equally the possibilities of environmental variables to be acting as “zeitgebers” or masking agents. As for laboratory observations, they were carried out using females coming from the same locality as the field work. Observations were made under natural photoperiod and temperature $25 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$. Egg-laying, the ecdysis from the 3rd to the 4th larval instars, pupation and adult emergence were visually inspected at regular intervals, during three consecutive days, with the exception of emergence which was observed during four days. An assemblage of 79 females was divided into two groups; the first group was blood-fed in the morning and the second in the afternoon. Thirty-six of these females layed a total of 1063 eggs and 667 (62.75%) of them eclosed. Some females presented oviposition fragmented in episodes. A precise measurement of the developmental stages of *Anopheles cruzii* was made possible by the continuous observation of the process. From egg-laying until imago emergence, the average duration was 30.71 days ($s = 3.57$ days), being the 1st and the 4th larval instars the longest in the development. The results were

organized as temporal series and analysed by circular statistics tests. Egg-laying showed a circadian rhythm with a peak at 23:24h (s = 3:47h), that is around 2 to 5 hours after sunset. The analysis also showed that blood-meal time does not interfere with egg-laying time or rhythm. The analysis also showed that blood-meal time does not interfere with egg-laying time or rhythm. The 3rd to 4th larval instar ecdysis, pupation and adult emergence did not follow a rhythmic pattern. Even though these arrhythmic patterns were observed, the possibilities of a underlying rhythm of synthesis and hormone secretion is discussed. Some hypotheses on the possible function of an oscillatory system on the control of locomotory activity of larvae and adults are also discussed. Campaniform and mechanoreceptor-like sensillae were observed at the scanning electron microscope and probably are morphological evidences to support the hypothesis that the rain and/or the atmospheric changes that go with it act as modulators of the flight rhythm and of the emergence of the imago. As the egg-laying peak of *Anopheles cruzii* is associated with flight activity it is possible that an activity peak might include individuals performing different activities.

PREFÁCIO

Anopheles cruzii (Diptera, Culicidae) tem despertado o interesse de pesquisadores preocupados com problemas relacionados ao papel de vetor do agente causador da malária humana e simiana em algumas áreas do litoral dos Estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Dos inúmeros trabalhos que constam na literatura, alguns apontam evidências da presença de ritmicidade circadiana na atividade de vôo e em processos de reprodução e desenvolvimento desse anofelíneo.

Visando verificar a hipótese de que *Anopheles cruzii* apresenta diferentes padrões temporais durante os estágios adulto e imaturo, o presente estudo foi realizado em duas etapas, uma no campo e outra no laboratório. Essas etapas dividem o trabalho em dois capítulos que se complementam em sua essência.

O capítulo 1 intitulado “Atividade de Vôo e Ciclos Ambientais”, trata dos estudos de campo onde os padrões de atividade foram verificados, baseando-se no número de mosquitos atraídos por uma fonte luminosa artificial dentro de uma armadilha de Shannon. Foi estudada nesse capítulo a influência de fatores externos como os ciclos ambientais de temperatura, umidade relativa do ar, precipitação pluviométrica e intensidade luminosa da lua sobre os padrões de atividade observados. A discussão baseou-se na caracterização dessas influências de acordo com critérios cronobiológicos, como “zeitgeber” ou como mascaramento. A influência de fatores intrínsecos foi mencionada, tendo em vista algumas evidências no presente estudo e relações com trabalhos publicados por diferentes autores.

Com o título “Ritmos de Postura e de Eventos do Desenvolvimento Pós-Embrionário”, o capítulo 2 trata da caracterização temporal da postura, das ecdises larvais, da pupação e da emergência dos adultos. Nesse capítulo todas as etapas do desenvolvimento foram monitoradas para identificar quais delas seguiam ou não um padrão rítmico. Além disto, devido à observação contínua, foi possível medir a duração das fases de desenvolvimento da espécie. São discutidas evidências sobre processos rítmicos associados a processos arrítmicos e discutiu-se também as possíveis hipóteses do funcionamento do sistema oscilatório desse anofelíneo, no controle da atividade das larvas e dos adultos.

Além do resumo geral, cada capítulo é precedido por um resumo, que aparece antes da introdução.

Um glossário com termos, sobretudo de cronobiologia, foi elaborado para facilitar a leitura do presente estudo.

Como os dois capítulos se complementam, foi preparado um item denominado “Considerações Finais” que consta de uma sinopse de assuntos relevantes aos dois capítulos, inclusive de sugestões para estudos futuros.

Apesar do trabalho ser apresentado em duas partes, é apresentada uma única lista contendo todas as referências bibliográficas.

No final do trabalho consta um conjunto de apêndices, que incluem dados detalhados, provenientes das capturas em campo e de observações em laboratório. São dados que serviram de base para as análises descritivas e estatísticas dos resultados.

GLOSSÁRIO

As fontes de consulta na elaboração desse glossário foram: SAUNDERS (1982) e MARQUES & MENNA-BARRETO (1997).

Acrofase: medida de tempo transcorrido entre um instante (fase) de referência e a fase na qual é maior a probabilidade de ser encontrado o valor mais elevado de uma variável, a partir da curva senoidal ajustada aos dados. Expressa-se em unidades de tempo (horas, minutos, segundos etc.), ângulo ou episódio fisiológico (número de batimentos cardíacos, por exemplo). A referência pode ser arbitrária, como a hora zero do dia de início do estudo, externa, como o início da fase clara de um ciclo claro/escuro, ou ainda interna, como a acrofase de um outro ritmo biológico com a mesma frequência no mesmo organismo. No presente estudo é considerado como acrofase o intervalo em que ocorre o pico de ocorrência da espécie.

Agente mascarador: evento que modifica a expressão de um ritmo biológico, aumentando (mascaramento positivo) ou diminuindo (mascaramento negativo) essa expressão. Ver mascaramento.

Agente sincronizador: ver “zeitgeber”.

Amplitude: valor da diferença entre os valores máximo (ou mínimo) e médio (Mesor) da curva ajustada de um ritmo biológico qualquer. Em ritmos de população frequentemente também se referem ao número de indivíduos que emergem ou eclodem através de um determinado “gate”.

Antifase: ocorrência de dois picos em oposição de fase no mesmo fenômeno.

Agente arrastador: ver “zeitgeber”.

Ângulo de fase: diferença temporal entre a fase de um evento e a fase de outro evento (por exemplo, a diferença entre o despertar e o amanhecer), podendo ser expressa em unidades de tempo (horas, minutos etc.) ou em frações de período (um quarto de ciclo, por exemplo). Sinônimo: relação de fase.

Arrastamento: sincronização (sinônimo). Ajuste temporal de um ritmo por um outro ritmo. Mais comumente refere-se ao processo de ajuste temporal de organismos a ciclos ambientais (como a sincronização do ritmo da temperatura central com o claro/escuro ambientais). Diz-se que um ritmo está arrastado/sincronizado quando mantém relações de fase estáveis com o ciclo arrastador/sincronizador.

Arritmico: diz-se do sistema biológico no qual nenhuma oscilação periódica pode ser demonstrada.

Caráter endógeno: caráter intrínseco. O reconhecimento do caráter endógeno de um ritmo biológico implica atribuir sua determinação ao próprio sistema biológico no qual esse ritmo é observado.

Ciclo: intervalo de tempo (período) no qual uma seqüência de eventos ocorre. O termo ciclo implica repetição dos eventos. Ver ritmo.

Ciclo lunar: a luz da lua é o reflexo da luz do sol que espectralmente é levemente deslocada para o vermelho. O dia lunar corresponde a 24,8 horas entre duas culminações consecutivas; mês lunar é 29,53 dias de intervalo entre luas novas.

Circa-ritmo: diz-se genericamente, dos ritmos que mantêm relações de sincronização por eventos ambientais recorrentes, como o ciclo noite/dia, das marés, lunar etc.

Circadiano: ritmo com período de 24 ± 4 h.

Circamaré: ritmo com período aproximado de 12:24 (12,4h).

Circalunar: ritmo com período aproximado de 29,5 dias.

Condição não-permissiva: condição na qual um ritmo biológico não se expressa, ou se expressa de forma alterada, como o ciclo de atividade/repouso de um roedor noturno mantido sob iluminação intensa e constante.

Deviance: é uma medida de discrepância formada a partir do logaritmo de uma razão de verossimilhança. A idéia desse índice é comparar dois modelos, verificando se a adição de outras variáveis independentes melhora significativamente o ajuste.

Deslocamento de fase: deslocamento (adiantamento ou atraso) de fase de um ritmo biológico.

Fase: momento determinado de um ciclo, pode referir-se a uma metade do ciclo, por exemplo, a fase clara do ciclo claro/escuro, ou a um momento pontual, como o valor máximo de uma variável.

Fotoperiodismo: capacidade dos organismos de sincronizar seus ritmos com o ciclo claro/escuro ambiental, distinguindo dias longos/noites curtas de verão dos dias curtos/noites longas de inverno.

Fotoperíodo: tamanho (duração) de um ciclo claro/escuro. Refere-se, geralmente, ao ciclo dia/noite de 24 h, especialmente à proporção horas de claro/horas de escuro, por exemplo, ciclo CE 12:12 h.

Frequência: número de vezes em que um fenômeno se repete na unidade de tempo.

“Gate”: intervalo de um ciclo, ditado por um relógio circadiano, através do qual insetos devem emergir, ovipositar etc. Se um inseto em particular não completar sua morfogênese para utilizar um “gate”, ele deverá esperar pelo próximo “gate” 24 horas depois.

Infradiano: ritmo com período maior do que 28 horas.

Livre-curso: diz-se da situação na qual são eliminadas oscilações externas (um laboratório sob iluminação constante, 24h/dia) e dos ritmos biológicos observados nessa situação.

Mascaramento: processo de modificação da expressão de um ritmo biológico sem a participação do relógio biológico. Ver agente mascarador.

Oscilador biológico: ver relógio biológico.

Partição: ver “splitting”

Período: duração de um evento. Em cronobiologia, utiliza-se para identificar a duração de um ciclo.

Relação de fase: ver ângulo de fase.

Relógio biológico: estrutura capaz de produzir oscilações regulares que sirvam como mecanismos temporizadores do organismo, cujo período seja relativamente estável sob diversas condições de temperatura e que seja capaz de sincronizar com ciclos ambientais. Sinônimo: oscilador biológico.

Ritmo: qualquer evento que se repete regularmente.

Ritmo circadiano: ver circadiano.

Ritmo endógeno: ver livre-curso.

Ritmo “gated”: ver “gate”.

Série temporal: dá-se o nome de série temporal a uma seqüência qualquer de dados em função do tempo, ou seja, a uma seqüência de dados de uma determinada variável biológica cujos valores sejam dependentes do tempo.

Sincronização: ver arrastamento.

Sincronizador: ver “zeitgeber”.

“Splitting”: fenômeno que consiste na expressão de um mesmo fenômeno em periodicidades distintas, como por exemplo, a partição da atividade locomotora de hamsters mantidos em livre-curso por duração prolongada.

Ultradiano: ritmo com período menor do que 20 horas.

“Zeitgeber”: ciclos ambientais que promovem o arrastamento dos ritmos biológicos. Termo alemão de uso consagrado; literalmente “doador de tempo” (exemplo, os ciclos ambientais de claro/escuro e temperatura).

Capítulo 1

ATIVIDADE DE VÔO E CICLOS AMBIENTAIS

“Entre la noche y el día
Hay un territorio indeciso,
No es luz, ni sombra,
Es tiempo.”

(Octavio Paz)

ATIVIDADE DE VÔO E CICLOS AMBIENTAIS

Resumo: A atividade de vôo de *Anopheles cruzii* foi analisada de acordo com o número de mosquitos atraídos por uma fonte luminosa artificial dentro de uma armadilha de Shannon. Os mosquitos foram coletados na Floresta Atlântica na encosta da Serra do Marumbi, 6 km ao norte da cidade de Morretes, Paraná. Coletas noturnas foram efetuadas durante 48 noites, entre outubro de 1995 e janeiro de 1996, com registro simultâneo das condições climáticas e de iluminação. A armadilha era instalada uma hora antes do crepúsculo vespertino e os mosquitos capturados a cada duas horas até o amanhecer, durante três noites consecutivas para cada fase da lua em quatro ciclos lunares. Um total de 3.105 espécimes de *Anopheles cruzii* foi coletado, sendo 2.953 (95,10%) fêmeas e 152 (4,89%) machos. Foi evidenciado padrão rítmico de atividade com dois picos. O pico principal ocorreu entre uma e três horas após o crepúsculo vespertino e manteve uma relação fixa com o anoitecer. O segundo pico deu-se antes do amanhecer. Um modelo estatístico foi desenvolvido para a análise dos dados e observou-se que as fases da lua provocam aumento da amplitude da atividade de *Anopheles cruzii*, principalmente na lua crescente. A influência da temperatura não depende da fase lunar e tem relação com o ciclo claro/escuro. A chuva interfere na atividade de vôo desse anofelíneo, levando a um aumento da atividade em aproximadamente 97%. Discute-se a hipótese da presença de um sistema multioscilar no controle da atividade e também as possibilidades das variáveis ambientais estarem atuando como "zeitgeber" ou agente modulador do ritmo.

INTRODUÇÃO

Anopheles (Kerteszia) cruzii Dyar & Knab, 1909, é considerado vetor primário de *Plasmodium vivax*, agente etiológico da malária humana no litoral dos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Outras espécies de plasmódios, como *Plasmodium simium* e o *Plasmodium brasilianum*, são também veiculadas por *Anopheles cruzii* e são responsáveis pela malária simiana que eventualmente pode atingir o homem (DEANE, 1992; DEANE *et al.* 1984). No entanto, atualmente há casos esporádicos de infecções humanas (BRANQUINHO *et al.* 1997; TUBAKI *et al.* 1993; WANDERLEY, 1985).

Esse anofelíneo procria em águas acumuladas entre os imbricamentos foliares de bromeliáceas epífitas e terrestres, é predominantemente silvestre, mas segundo FORATTINI *et al.* (1968, 1993b), também frequenta o peridomicílio e o domicílio humanos. A acentuada antropofilia e abundância desta espécie são indicações de seu envolvimento direto com a veiculação dos agentes etiológicos de malária, fazendo de *Anopheles cruzii* a espécie mais estudada entre as outras pertencentes ao subgênero *Kerteszia*.

São numerosas as contribuições sobre aspectos ecológicos e de comportamento desse anofelíneo. Alguns trabalhos referem-se a estudos de populações adultas, como controle de populações de *Anopheles cruzii* em ARAGÃO (1974), CONSOLIM *et al.* (1979b) e FERREIRA *et*

al. (1951); dados sobre a dispersão vertical da espécie em ARAGÃO (1968a), DEANE *et al.* (1984) e GUIMARÃES *et al.* (1985); avaliações de distâncias de vôo percorridas podem ser encontradas nos trabalhos de marcação e recaptura de ARAGÃO (1953), CORRÊA *et al.* (1961) e RACHOU *et al.* (1949c); aspectos da domiciliação e peridomiciliação desse anofelineo em CONSOLIM *et al.* (1979a), FORATTINI *et al.* (1968), RACHOU *et al.* (1949a) e RACHOU & LIMA (1950); dados da longevidade em LUZ *et al.* (1977) e relatos da quantidade de sangue ingerido constam em BORBA *et al.* (1978).

A maior parte dos trabalhos sobre *Anopheles cruzii* consiste em levantamentos que abordam uma grande variedade de temas num único estudo, como por exemplo, os de ARAGÃO (1964), ARAGÃO *et al.* (1973), FORATTINI *et al.* (1961, 1978, 1981, 1986a, 1986b, 1989, 1990, 1993a, 1993b), GOMES *et al.* (1987), GUIMARÃES & ARLÉ (1984), GUIMARÃES & VITÓRIO (1986), RACHOU *et al.* (1949b), e TUBAKI *et al.* (1993). Alguns deles mostram que a atividade de vôo não é uniforme ao longo do dia, mas apresenta picos definidos, ocorrendo em horas determinadas. São estudos efetuados com isca humana e dessa forma capturam-se fêmeas à procura do hospedeiro para a hematofagia. FORATTINI *et al.* (1986a, 1986b) e TUBAKI *et al.* (1993) evidenciaram, na Floresta Atlântica do litoral de São Paulo, um pico de atividade hematofágica de *Anopheles cruzii* no crepúsculo vespertino e outro pico menor no crepúsculo matutino. ARAGÃO (1974), no litoral do Estado do Paraná, observou apenas um pico no crepúsculo vespertino.

Alguns autores avaliaram a idade fisiológica de fêmeas de *Anopheles cruzii* coletadas e concluíram que a maioria eram nulíparas, ou seja, ainda não haviam realizado a primeira postura. LUZ *et al.* (1979) encontraram um índice de 75,5% de nulíparas no município de Paranaguá, litoral do Paraná. Numa caracterização das etapas de desenvolvimento dos folículos ovarianos, segundo classificação de CHRISTOPHERS (1911) e MER (1936), FORATTINI *et al.* (1996) obtiveram um índice de 77,27% de nulíparas em estágio II e 17,05% de nulíparas em estágio III. O estágio II implica em fêmeas cujo folículo apresenta forma oval com grânulos de vitelo ao redor do oócito que podem ocupar posteriormente metade do folículo. Nessa etapa, o desenvolvimento não se processa sem que a fêmea efetue um repasto sangüíneo. Com a presença de nutrientes, o folículo passa ao estágio III a V, que se caracteriza pelo aumento da quantidade de vitelo e presença do córion envolvendo todo o óvulo. Neste ponto, o óvulo está pronto para ser fecundado e posteriormente, após a fecundação, ocorre a postura dos ovos (CHARLWOOD *et al.* 1980).

Segundo CHARLWOOD *et al.* (1980), as mudanças fisiológicas que se processam na fêmea durante o ciclo gonotrófico têm profundo efeito no seu comportamento e,

consequentemente, nas possibilidades de capturas por métodos diferentes.

Quando as capturas de culicídeos são efetuadas com auxílio de uma armadilha luminosa e o coletor não interfere na atratividade da fonte, diferentes atividades podem estar envolvidas, tais como a procura de sítios de postura, atividade dirigida para o acasalamento, entre outras, além da procura do hospedeiro como se observa na captura com isca humana.

Polimorfismo de *Anopheles cruzii*

Um fator que pode levar uma espécie a modificar seus padrões de atividade é a presença de inversões polimórficas em diferentes linhagens de uma espécie considerada complexo. A pressão de seleção exercida por diferentes ambientes podem provocar a fixação de inversões cromossômicas que levam a modificações da atividade. SHINKAWA *et al.* (1994) demonstraram uma variabilidade significativa nos padrões de atividade circadiana entre linhagens do complexo *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae).

Estudos citogenéticos têm evidenciado uma elevada taxa de cromossomos politênicos em *Anopheles cruzii*, o que confere à espécie um alto potencial de polimorfismo. Segundo RAMIREZ & DESSEN (1994) e RAMIREZ *et al.* (1994), realmente existe um acentuado grau de polimorfismo genético, que pode estar relacionado à diversidade de microhabitats explorados por essa espécie. Além disso, os autores postulam a possibilidade de *Anopheles cruzii* ser um complexo que pode eventualmente ser separado em três espécies, segundo sua localização geográfica (RAMIREZ, 1994; DESSEN, 1997 - comunicação pessoal). Diante desta possibilidade, cuidados devem ser tomados para o estudo de padrões de atividade da espécie, levando em conta a área de coleta.

Aspectos cronobiológicos

Quando se propõe o estudo de ritmos de atividade de uma espécie, além das informações sobre estágios fisiológicos e fatores genéticos, também é necessário entender que existe nos seres vivos uma organização temporal que se manifesta na forma de ritmos biológicos em processos fisiológicos e comportamentais. Os ritmos biológicos incluem fenômenos como os ciclos de divisão celular, frequência cardíaca, ciclo sono/vigília, ciclos reprodutivos, ciclo de atividade e repouso, entre outros. Segundo MARQUES *et al.* (1997), pode-se definir ritmo como sendo um processo que varia periodicamente no tempo, a manifestação de um fenômeno que se repete com o mesmo período. O período é, então, o intervalo de tempo em que um ciclo se completa.

Sabe-se hoje (HASTINGS *et al.*, 1991) que a maioria dos seres vivos possui um relógio

endógeno, capaz de gerar oscilações e transmiti-las ao organismo como um todo através de diversas vias eferentes ou efetores. Este relógio biológico interage com os ciclos externos e desta interação resulta a sincronização dos ritmos biológicos. O ciclo ambiental que promove a sincronização de um ritmo biológico foi denominado por ASCHOFF (1960) de “zeitgeber”, neologismo alemão que significa “doador de tempo”.

Os ritmos biológicos mais evidentes são aqueles que possuem periodicidades iguais aos ciclos ambientais. Os ritmos circadianos são aqueles que possuem periodicidade equivalente ao da rotação da Terra. Os ritmos não-circadianos são classificados em infradianos, ritmos de baixa frequência e conseqüentemente períodos maiores de 28 horas, e os ultradianos, com ritmos de frequência alta e com períodos menores de 20 horas.

Em condições constantes de laboratório, um organismo pode entrar em livre-curso e passar a expressar seu ritmo endógeno, aquele gerado pelo seu relógio biológico. Este ritmo possui uma periodicidade um pouco diferente daquela observada quando sob a influência dos ciclos ambientais. O período de um ritmo em livre-curso é representado pela letra grega τ (tau). Esses ritmos são a expressão de “relógios biológicos” e são denominados de “circa-ritmos”, como os circadianos, circa-lunares, circa-marés e circanuais.

O ritmo circadiano é o mais estudado. A denominação vem do fato de sua expressão ser sempre diferente de 24 horas, variando entre 20-28 horas, quando o organismo está em livre-curso. Quando em contato com o ciclo claro/escuro ambiental, ocorre a sincronização e então a duração de τ passa a ser igual à do ciclo ambiental. Também a fase do ritmo endógeno ajusta-se àquela do “zeitgeber” e a relação de fase assim estabelecida é estável. Segundo PITTENDRIGH (1960), o sentido de se ter um relógio endógeno auto-sustentado, ao invés de apenas um simples mecanismo de resposta direta ao ciclo ambiental, está na necessidade do organismo se preparar antecipadamente para uma determinada atividade. No entanto, o organismo pode reagir diretamente a um estímulo ambiental, não necessariamente cíclico e sem que o relógio biológico seja envolvido. A este processo chama-se “mascaramento”.

Diferentemente dos “zeitgebers”, que afetam o oscilador provocando a sincronização do relógio biológico, os agentes mascaradores provocam reação direta dos sistemas efetores. Num contexto mais amplo, segundo RIETVELD *et al.* (1993), o mascaramento é uma forma de descrever um processo que facilita o organismo a responder imediatamente às mudanças ambientais. Sendo assim, o padrão de atividade pode ser modificado por mascaramento positivo, quando aumenta a atividade, ou negativo, quando a atividade é eliminada ou suprimida. Esses efeitos causados por mascaramento dependem da forma e intensidade dos estímulos externos bem como da sensibilidade do organismo ao estímulo (ASCHOFF, 1960; 1988).

Além do ciclo claro/escuro, outros ciclos ambientais, como o de temperatura, de pluviosidade ou o ciclo lunar, podem atuar como “zeitgeber”. Estudos envolvendo sincronização pelo ciclo lunar são particularmente complexos, pois diversos componentes podem estar atuando sobre o oscilador. Uma possibilidade é o dia lunar, que possui um ciclo de 24,8 horas; outra, o mês lunar com um ciclo de 29,53 dias, além dos ciclos de iluminação pela lua e das vinculações com o ciclo de marés (HASTINGS *et al.*, 1991). Algumas das associações possíveis, como índice de iluminação e fase da lua ou fase da lua e marés foram testadas e demonstrado seu papel como sincronizadores dos ritmos de atividade e oviposição de *Chunio marinus* (Chironomidae) (NEUMANN, 1981). Há também demonstrações claras de sua influência na atividade de algumas espécies de Culicidae, apesar de, nestes casos, ser difícil definir sua atuação como “zeitgeber” ou como agente mascarador.

As diferentes formas e graus de interação dos organismos com as características cíclicas de seu habitat mostram a importância da adaptação temporal, que lhes permite expressar seus comportamentos e funções nas fases em que o ambiente é mais favorável para esta expressão. Pode-se, então, dizer que os elementos que garantem a uma espécie ser temporalmente adaptada são seu sistema temporal endógeno e sua sensibilidade e responsividade a ciclos ambientais e agentes mascaradores específicos (MARQUES *et al.*, 1997).

Atividade de *Anopheles cruzii* e outros culicídeos e os ciclos ambientais

Os trabalhos dedicados ao estudo da flutuação populacional de *Anopheles cruzii* pouco mencionam e analisam os ciclos ambientais como possíveis influências na atividade dessa espécie. FORATTINI *et al.* (1968) e GUIMARÃES & ARLÉ (1984) apontam para a precipitação pluviométrica, temperatura e umidade relativa do ar como fatores ambientais que influenciam a atividade da espécie. No trabalho de TUBAKI *et al.* (1993), foram feitas correlações entre a atividade hematofágica de *Anopheles cruzii* e as variáveis temperatura e pluviosidade. Em ambos os casos, as correlações foram positivas.

Com relação ao dia lunar, constam, por exemplo, os resultados obtidos por BIDLINGMAYER (1964) com *Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus* (Wiedermann, 1821) e *Aedes (Ochlerotatus) sollicitans* (Walker, 1856) na Flórida e CHARLWOOD *et al.* (1986) com *Anopheles (Cellia) farauti* Laveran, 1902, em Papua na Nova Guiné. Ambos os autores observaram maior atividade desses anofelíneos nos horários em que a lua estava presente. DAVIES (1975) em Trinidad e BALSEIRO (1981) em Berisso na Argentina, detectaram maior atividade de várias espécies de Culicidae na primeira metade da noite. O mesmo fenômeno foi observado por

PANDIAN & CHANDRASHEKARAN (1980) em Nagamalai, na Índia, em coletas de *Aedes subalbatus* [atual *Armigeres (Leicesteria) subalbatus* Joshi, Pradham & Dassie, 1965] e CHADEE (1992) em Trinidad em capturas de *Anopheles (Kerteszia) bellator* Dyar & Knab, 1906. Nos dois últimos trabalhos, os autores discutiram ainda sobre a atividade dos mosquitos considerando o mês lunar. O número mais elevado de indivíduos das diferentes espécies foi obtido durante a lua cheia.

A influência do mês lunar foi também observada por MILLER *et al.* (1970), que constataram a abundância de algumas espécies de *Anopheles* e *Culex* coletadas em armadilha luminosa significativamente relacionada à fase lunar, sobretudo com a lua nova. Resultados semelhantes foram obtidos por RIBBANDS (1946) com *Anopheles (Cellia) funestus* Giles, 1900, na África Ocidental e por RUBIO-PALIS (1992) com *Anopheles (Nyssorhynchus) muneztovari* Gabaldon, 1940, na Venezuela. Existem, entretanto, resultados obtidos com outras espécies que mostram reações diferentes aos mesmos ciclos ambientais. NASCI & EDMAN (1981) não encontraram nenhuma significância quanto às fases da lua para a ocorrência de *Culiseta (Allotheobaldia) melamra* (Coquillett, 1902) nas coletas que realizaram em Massachusetts, E.U.A. SINGH & MISHRA (1996) também não detectaram efeito significativo das fases lunares nas coletas de *Anopheles (Cellia) culicifacies* Giles, 1901, na Índia Central.

Bases cronobiológicas de alguns dados com mosquitos

Muita controvérsia envolve os trabalhos sobre a influência do ciclo lunar no ritmo de atividade/repouso de organismos terrestres. Na maioria dos casos, é impossível caracterizar as diferentes variáveis do ciclo e sua possível forma de ação como “zeitgeber” ou como agente de mascaramento (ERKERT, 1974; ASCHOFF, 1988). NEUMANN (1981) menciona que a adaptação ao ciclo lunar é incerta e requer estudos mais detalhados. Os melhores exemplos da ação do ciclo lunar como “zeitgeber” são vistas para aqueles organismos que têm uma relação com o ciclo tidal. A periodicidade dos picos de ocorrência é de aproximadamente 12,4 horas quando associada ao ciclo tidal, e é comumente observada em certas espécies marinhas. As explicações para duplo pico na ritmicidade lunar baseia-se na presença de um relógio circadiano com uma expressão bimodal ou então, na presença de dois relógios ultradianos com período de 12,4 horas. Uma terceira hipótese aponta para a presença de dois osciladores independentes com período de 24,8 horas em livre-curso (PALMER 1995, 1997). Os osciladores, nesse caso, têm uma relação mútua de interação (acoplamento) de 180°, ou seja, mantêm-se em antifase e os picos são separados por 12,4 horas. A hipótese do autor supra citado aponta o controle do ritmo tidal por dois osciladores que são os mesmos que governam os ritmos circadianos, diferentemente de NAYLOR (1996, 1997) que

postula a existência de osciladores independentes para ritmos tidais e diários.

Além da influência de fatores exógenos, o estado fisiológico do indivíduo precisa ser levado em conta quando se estuda ritmos de atividade. Alguns autores como CHIBA & TOMIOKA (1992), CHIBA *et al.* (1990), JONES (1981), JONES *et al.* (1972), JOSHI (1994) e ROWLAND (1989) constataram que a atividade diária de algumas espécies de mosquitos geralmente é caracterizada por um padrão difásico, com dois picos por ciclo. Porém, a forma da curva é modificada frente aos diferentes estágios reprodutivos das fêmeas. Eles demonstraram em trabalhos de laboratório que a inseminação, alimentação e oviposição causam mudanças na quantidade total de vôo diário bem como no padrão de 24 horas, podendo levar à perda total da ritmicidade.

A presença de dois picos é, em geral, reflexo da ação de dois osciladores que exibem diferentes períodos em condições de livre-curso. Esta diferença no τ dos dois osciladores é freqüentemente detectada quando acontece um fenômeno chamado partição ou “splitting”. Ocorre a divisão da banda de atividade de um registro em livre-curso em dois ou mais componentes porque cada oscilador passa a exibir o seu próprio período. Portanto, observam-se dois ou mais ritmos distintos e é através desse processo que se evidenciam os sistemas multi-oscilatórios (PITTENDRIGH, 1960).

Um duplo pico num ritmo diário de atividade pode significar a presença de dois osciladores. A constituição e modo de ação de um sistema bi-oscilatório foi modelada e muito bem fundamentada por PITTENDRIGH & BRUCE (1959) e PITTENDRIGH & DAAN (1976), que propuseram a existência de dois osciladores mutuamente acoplados, controlando a atividade locomotora circadiana ao anoitecer “E” (denota “evening”) e ao amanhecer “M” (“morning”) de animais noturnos.

A presença de dois osciladores controlando a atividade de vôo em mosquitos é interpretada por JONES (1982), PETERSON (1980) e PETERSON & JONES (1979) como um modelo que consiste de um oscilador lábil “E” acoplado a um mais estável “M”. Tema muito bem discutido por CLOPTON (1984) em experimentos com o mosquito *Culiseta (Culiseta) incidens* (Thomson, 1868) testado em laboratório sob as condições ambientais controladas.

Em vista do que foi exposto, é importante considerar os estudos dos componentes temporais como peça fundamental para explicar a adaptação de uma espécie a um determinado ambiente. O aspecto temporal está relacionado com a programação do melhor momento para a realização de determinada atividade. Isso implica no encadeamento de condições fisiológicas adequadas que leva o organismo a expressar comportamentos e funções como a busca de alimento, sobrevivência a estações adversas, migrações, diapausas, reprodução e outros, nos intervalos de tempo mais

convenientes.

Usando o número de mosquitos coletados em armadilha luminosa como critério para avaliar o padrão de atividade de *Anopheles cruzii*, este trabalho tem como objetivos:

- Avaliar a distribuição da atividade de *Anopheles cruzii*, ao longo da noite, com a finalidade de verificar a ocorrência de picos;
- Verificar os efeitos do dia lunar e do mês lunar sobre a atividade noturna desse anofelíneo;
- Observar a influência das fases da lua sobre os padrões de atividade e suas interações com diferentes variáveis ambientais temperatura, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica;
- Conferir a possibilidade de as variáveis que influenciam a atividade de *Anopheles cruzii* estarem atuando como “zeitgeber” ou agente mascarador.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

As coletas foram realizadas na planície litorânea do Estado do Paraná (Figura 1), seis quilômetros ao norte da cidade de Morretes (latitude 25°30 S, longitude 48°49 W e 10 m altitude) e dois quilômetros ao sul do distrito de Porto de Cima.

O local de coleta faz parte da encosta da Serra do Marumbi na Estação II do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR). A Serra do Marumbi, juntamente com outros maciços, formam blocos altos e baixos que se elevam de 500 a 1000 m sobre o nível médio do Planalto. É uma região de Floresta Atlântica, intermediária entre o litoral e o Primeiro Planalto e possui denominação regional de “serra” (MAACK, 1981).

A composição fitoecológica é de floresta ombrófila densa que se caracteriza, segundo VELOSO *et al.* (1991), pela presença de fanerófitas, lianas lenhosas e epífitas em abundância. A característica ambrotérmica está vinculada aos fatores climáticos tropicais de elevadas temperaturas (médias de 25°C) e de alta precipitação pluviométrica, bem distribuída durante o ano (0 a 60 dias secos), o que determina uma situação com poucas épocas secas.

Procedimentos nas coletas

O planejamento de protocolos cronobiológicos deve levar em conta as modificações das condições fisiológicas e comportamentais que um organismo sofre à medida que o tempo passa, percorrendo assim uma seqüência de estados que se repete periodicamente (BENEDITO-SILVA, 1997). Sendo assim, são necessárias medidas e observações em repetidas vezes, no menor intervalo de tempo possível e o número total de observações varia, dependendo do tipo de fenômeno estudado.

O protocolo de coletas de *Anopheles cruzii* foi estabelecido após a análise dos dados preliminares de capturas efetuadas durante 72 horas consecutivas na referida área.

As coletas noturnas foram realizadas durante os meses de outubro de 1995 a janeiro de 1996, correspondendo a quatro ciclos lunares. Para cada fase do ciclo, coletava-se por três noites consecutivas, totalizando 48 noites de coleta. As fases lunares implicam em quatro padrões diferentes de variação de intensidade luminosa da lua nova, da lua cheia, da quarto-crescente e da quarto-minguante.

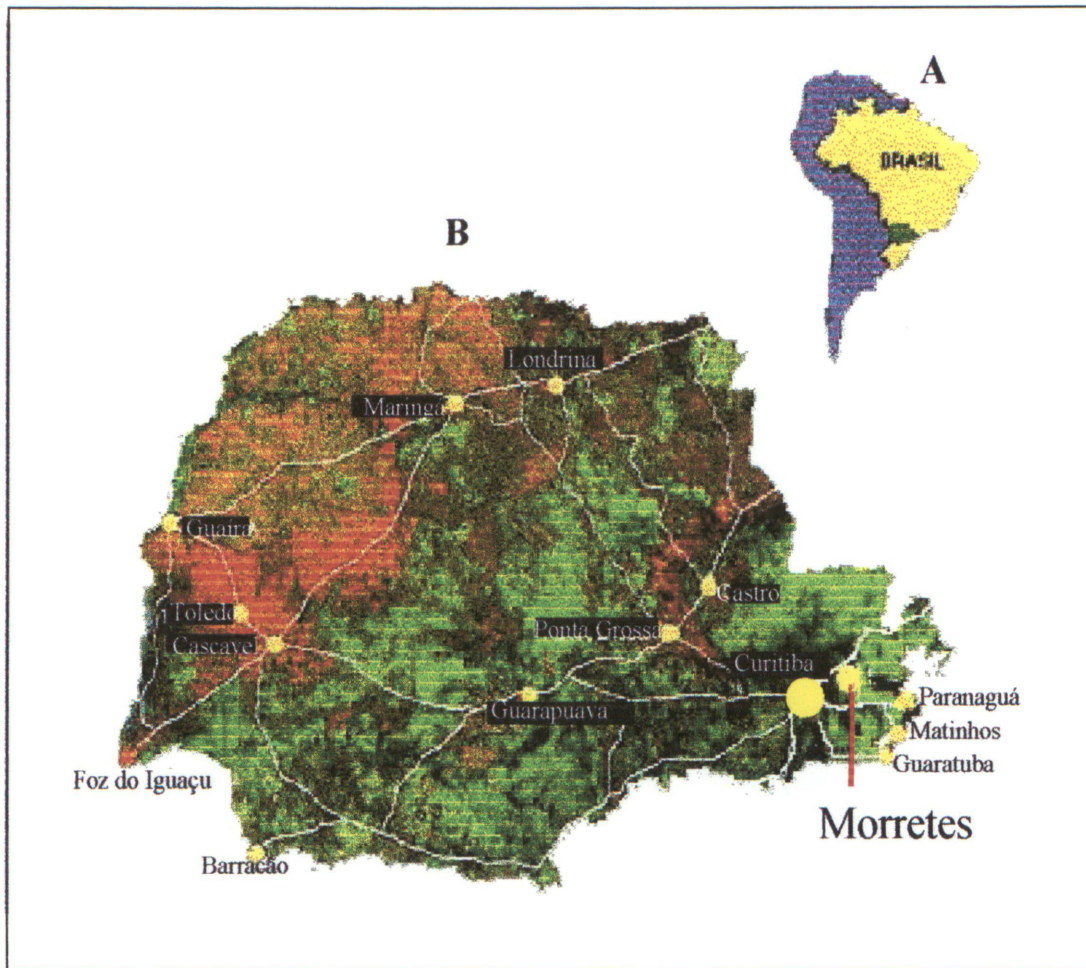


Figura 1. (A) Mapa da América do Sul, destacando o Brasil (amarelo) e o Estado do Paraná (verde). (B) Mapa do Estado do Paraná, destacando a localização do município de Morretes.

Devido às mudanças dos horários dos crepúsculos, decorrentes da variação natural do fotoperíodo, foi padronizado o critério de escolha do momento para iniciar as coletas. Esse procedimento foi necessário para evidenciar a atividade de *Anopheles cruzii* em intervalos mais precisos, utilizando sobretudo o crepúsculo vespertino como referência. Para isso, a armadilha de Shannon era instalada uma hora antes do crepúsculo vespertino e retirada após o término do matutino, seguindo-se horários crepusculares calculados com auxílio do Almanaque Náutico (1994).

Os anofelíneos eram capturados no interior da armadilha, em intervalos de duas horas com um aspirador manual movido a pilhas. Ao proceder a captura dos mosquitos, anotavam-se dados de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) com um termo-higrômetro SIGMA. Também nestes intervalos horários eram anotadas “in loco” as precipitações pluviométricas (mm) com auxílio de um pluviômetro e proveta volumétrica padrões. Além disso, um luxímetro de marca LUTRON foi empregado para medir a intensidade luminosa (lux), a fim de conferir os horários do anoitecer, do

amanhecer e para auxiliar a manter a constância da luminosidade nas paredes da armadilha em torno de 70 lux.

Os anofelíneos eram sacrificados para posterior identificação, pela exposição ao clorofórmio e acondicionados em caixinhas de papelão com tampas previamente etiquetadas conforme os intervalos horários.

Uma planilha foi elaborada contendo, para cada dia de coleta, os horários dos crepúsculos, da instalação da armadilha, das capturas iniciais e finais, e ainda do nascer e do ocaso da lua. Os dados sobre nascer e ocaso da lua foram obtidos no Departamento de Astronomia do Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo (Apêndices 1 e 2)

Procedimentos em laboratório

No laboratório, os mosquitos eram triados, montados em triângulos e identificados ao microscópio estereoscópico Wild M-5. Para identificação utilizaram-se as chaves e descrições de FORATTINI (1962), PEYTON *et al.* (1992), ZAVORTINK (1979), WILKERSON & PEYTON (1991).

Descrição dos dados

O protocolo do presente estudo foi preparado para obter séries temporais. Os dados principais, considerados como variável dependente, correspondem ao número de *Anopheles cruzii* capturados. As variáveis ambientais são as variáveis independentes. As análises desses dados foram feitas a partir de uma planilha geral (Apêndice 3), contendo 336 linhas, que correspondem ao número total de capturas realizadas no decorrer do trabalho. Estes dados representam os intervalos horários repetidos por três noites consecutivas, para cada fase do ciclo lunar, durante quatro meses. Contém ainda os dados locais da temperatura, da umidade relativa do ar e da pluviosidade.

Análises estatísticas

Para compreender melhor a influência do intervalo horário, da fase lunar, da temperatura, da chuva e ainda analisar a dependência e as possíveis interações entre esses fatores, foi desenvolvido um modelo estatístico a partir dos dados coletados.

Modelagem

Segundo DOBSON (1983), um modelo matemático pode ser melhor compreendido quando comparado à recepção e transmissão de um sinal, o qual é distorcido por um ruído.

Considerando dados científicos como medidas compostas de sinais e ruídos, é imprescindível que a construção de um modelo incorpore esses dois componentes. O sinal é determinístico e reúne os fatores principais de dados. O ruído envolve todas as características não explicáveis pelo componente sinal. Um modelo sugere um resumo ou redução dos dados representado pelo sinal, capaz de descrever padrões, que podem ser utilizados para estudos similares em outras épocas e locais.

A combinação sinal-ruído é probabilística e pode ser chamada de modelo estatístico. A modelagem estatística envolve três passos importantes: o primeiro é extrair dos dados o maior número de informações possível. Isto envolve uma **análise descritiva** prévia das variáveis envolvidas, como por exemplo, cálculo de médias, quartis, coeficientes de correlação, etc., bem como representações gráficas. Tal análise, combinada com os conhecimentos do pesquisador e com as características e propriedades do fenômeno em estudo, permite que se assumam uma distribuição probabilística que descreva a relação entre a variável dependente e as variáveis independentes. A primeira etapa da modelagem define uma fórmula matemática (sinal) que representa os dados e inclui parâmetros desconhecidos que devem ser ajustados.

O passo seguinte é **estimar valores para os parâmetros** envolvidos na descrição matemática do sinal. Os dois métodos mais comuns para estimar parâmetros são o método da máxima verossimilhança e o método dos mínimos quadrados. Eles consistem na escolha de valores numéricos dos parâmetros pela minimização de uma soma de quadrados (método dos mínimos quadrados) ou maximização de uma certa função dos parâmetros (método da máxima verossimilhança) e, se os dados forem normais, as duas soluções coincidirão numericamente. A escolha adequada dos parâmetros implica no melhor ajuste da fórmula aos dados. O terceiro passo para uma modelagem é **fazer inferências**, ou seja, obter regiões de confiança (intervalos de confiança) para os parâmetros, avaliar a qualidade do ajuste dos modelos ("goodness of fit") e finalmente estabelecer e testar hipóteses de interesse.

a) Análise Descritiva

Na análise descritiva deste trabalho foram calculadas médias, medianas, valores mínimos, valores máximos e quartis. Os quartis separam a distribuição dos dados ordenados (neste caso em ordem crescente) em quatro partes iguais. O primeiro quartil, por exemplo, é um número tal

que pelo menos $\frac{1}{4}$ (25%) das observações são menores do que este número. Todas estas medidas estatísticas foram utilizadas para a verificação de assimetrias, tendências e para assumir uma distribuição probabilística.

No presente estudo é improvável que os dados sejam independentes, uma vez que foram feitas observações repetidas (séries temporais) dentro de cada noite de coleta. Como a dependência deve ser levada em conta na etapa de estimação dos parâmetros do modelo, uma forma de lidar com o tipo de protocolo experimental elaborado foi considerá-lo como um estudo longitudinal. Em estudos longitudinais é analisado o comportamento da variável dependente (número de *Anopheles cruzii*) nas fases da lua, nos intervalos horários.

O primeiro modelo especificado é uma curva quadrática para o logaritmo das médias de mosquitos, com parâmetros diferentes para cada fase da lua. Esse modelo assume que há diferença na trajetória das contagens de mosquitos em pelo menos uma das fases da lua. A variável contínua “temperatura” e a variável binária “precipitação” (0 = sem precipitação, 1 = com precipitação) foram incluídas no modelo por serem identificadas na literatura como importantes para explicar a variação nas contagens. Utilizou-se um modelo de Poisson para os dados,

$$Y_{ijt} \sim \text{Poisson}(\mu_{ijt})$$

onde

$$\log(\mu_{ijt}) = \log E(Y_{ijt}) = \alpha_j + \beta_j t + \gamma_j t^2 + \delta \text{ temperatura}_{ijt} + \phi \text{ precipitação}_{ijt} \quad (\text{MODELO 1})$$

sendo “E” o valor esperado (valor médio teórico) da distribuição, Y_{ijt} denota a observação na noite de coleta $i = 1, \dots, 12$, na fase lunar $j = 1, 2, 3, 4$, no intervalo horário $t = 1, \dots, 7$. Neste modelo os fatores que compõem o **sinal** são multiplicativos e o **ruído** foi assumido ter distribuição de Poisson. Os símbolos α , β , γ , δ , ϕ são os parâmetros estimados de acordo com o item seguinte.

b) Estimação de Parâmetros

A estimação foi feita utilizando-se a abordagem na qual os parâmetros têm uma distribuição de probabilidade. No contexto deste trabalho, uma inferência Bayesiana exata não foi possível pelo fato de os dados não terem distribuição Normal, sendo necessário recorrer a algum tipo de aproximação. Quando a distribuição dos dados não é Normal e a relação entre a variável dependente e as variáveis independentes não é linear (i.e. não pode ser representada por

uma reta), surgem dificuldades na aplicação direta dos métodos de estimação dos parâmetros. McCULLAGH & NELDER (1989) unificaram a metodologia de estimação para esses casos, porém, a aplicação exige que os dados sejam assumidos como variáveis independentes.

Aqui foram utilizados métodos de simulação para obter aproximações a partir de uma amostra da distribuição de probabilidade dos parâmetros. Foi calculada uma média amostral e obtido um intervalo de confiança de 95% para testar a significância de cada parâmetro (verificando se o intervalo não inclui o valor zero).

No caso das observações perdidas, devido a falhas do equipamento de coleta, foram geradas amostras de suas distribuições, que resultou em um parâmetro automaticamente simulado. As simulações foram geradas no programa "BUGS" (SPIEGELHALTER *et al.*, 1995).

c) Inferências

A significância do fator "fase da lua" foi testada, comparando o modelo 1 com um modelo que ajusta uma única curva quadrática para todas as fases lunares. Assim, foram estabelecidas e testadas as hipóteses:

H_0 : não há influência do fator "fase da lua" sobre a atividade de *Anopheles cruzii*.

H_1 : há influência do fator "fase da lua" sobre a atividade de *Anopheles cruzii*.

O modelo desenvolvido para comparar com o modelo 1 foi:

$$\log(\mu_{jt}) = \alpha + \beta t + \gamma t^2 + \delta \text{ temperatura}_{ijt} + \phi \text{ precipitação}_{ijt} \quad (\text{MODELO 2})$$

Para saber se a influência da temperatura depende da fase da lua, foi testada a interação entre o fator "fase da lua" e a variável "temperatura", comparando-se o modelo 1 com um modelo que ajusta um efeito (coeficiente) de temperatura para cada fase lunar. Neste caso, as hipóteses testadas foram:

H_0 : não há interação entre "fase da lua" e temperatura.

H_1 : há interação entre "fase da lua" e temperatura.

O modelo utilizado para comparar com o modelo 1 foi:

$$\log(\mu_{jt}) = \alpha_j + \beta_j t + \gamma_j t^2 + \delta_j \text{ temperatura}_{ijt} + \phi \text{ precipitação}_{ijt} \quad (\text{MODELO 3})$$

A homogeneidade nos dados ao longo dos intervalos horários foi testada comparando-se o modelo 1, que descreve curvas, com um modelo que descreve uma reta para cada fase. Assim, foram testadas as hipóteses:

H_0 : não há picos ao longo dos intervalos horários de coleta.

H_1 : há picos ao longo dos intervalos horários de coleta.

Essas hipóteses foram testadas comparando-se o modelo 1 com o seguinte modelo:

$$\log(\mu_{it}) = \alpha_i + \delta \text{ temperatura} + \phi \text{ precipitação (MODELO 4)}$$

Para testar as hipóteses, foi utilizada uma medida de discrepância formada a partir do logaritmo de uma razão de verossimilhança, chamada “deviance” (McCULLAGH & NELDER, 1989). A idéia desse índice é comparar dois modelos, verificando se a adição de outras variáveis independentes melhora significativamente o ajuste. Quanto menor o “deviance”, melhor o ajuste e esse valor pode ser comparado com o percentil (valor tabelado) de uma distribuição qui-quadrado. Para dados com distribuição de Poisson a função “deviance” é dada por

$$-2 \sum_i \sum_t [y_{it} \log(\mu_{it}) - \mu_{it} - \log(y_{it}!)]$$

O número de graus de liberdade da distribuição qui-quadrado foi dado pela diferença entre o número de parâmetros dos modelos comparados. No modelo 1, tem-se um total de 14 parâmetros (3 parâmetros por fase lunar, descrevendo a curva quadrática e os coeficientes de temperatura e precipitação = $3 \times 4 + 2$). No modelo 2, existem 5 parâmetros (3 descrevendo a curva quadrática e os coeficientes de temperatura e precipitação = $3 + 2$). No modelo 3, há um total de 17 parâmetros (3 parâmetros por fase lunar da curva quadrática, os coeficientes de temperatura por fase lunar e precipitação = $3 \times 4 + 4 + 1$). No modelo 4, o número total de parâmetros é 6 (uma reta horizontal por fase lunar e os coeficientes de temperatura e precipitação = $4 + 2$).

RESULTADOS

Primeiramente são evidenciados os resultados das análises exploratórias e figuras que resumem o conjunto dos dados obtidos de modo a fornecer o máximo de informações possível do sistema estudado. Em seguida, são apresentados os passos para a seleção do melhor modelo, e que levaram à estimativa dos parâmetros e interpretação desse modelo, segundo as hipóteses estabelecidas. Os horários de captura constam no Apêndice 1 e 2, e não estão incluídos nas tabelas e figuras porque variam conforme as modificações naturais dos horários dos crepúsculos. São utilizados algarismos de 1 a 7 para denotar os sete intervalos horários de coleta do anofelíneo em estudo, sendo que cada intervalo era de duas horas e o intervalo 1 sempre continha o crepúsculo vespertino. Quanto ao crepúsculo matutino, sua localização nos intervalos variou ao longo dos meses, de acordo com a variação do fotoperíodo (Apêndice 2).

Análise descritiva

Os estudos prévios, mostraram maior frequência de ocorrência de *Anopheles cruzii* na fase escura do dia (Apêndice 4). Estes dados permitiram elaborar o protocolo de coletas para 48 noites, que foi empregado para o estudo do padrão de atividade do mosquito no campo.

Nos quatro meses de estudo, um total de 3.105 indivíduos de *Anopheles cruzii* foram coletados, sendo 2.953 (95,10%) fêmeas e 152 (4,89%) machos. Os machos diminuíram à medida que a noite avançava (Tabela I). A ocorrência de fêmeas foi consistentemente maior e a distribuição mostra um padrão bimodal (Figura 2).

Tabela I. Fêmeas, machos e número total de *Anopheles cruzii* capturados em armadilha de Shannon nos sete intervalos de coleta, no interior da Floresta Atlântica, Morretes – PR, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

<i>Anopheles cruzii</i>	Intervalos* de coleta							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
Fêmeas	346	924	542	351	491	199	97	2.953
Machos	62	37	19	15	10	9	3	152
Total	408	961	561	366	501	208	100	3.105

*Intervalos = 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência.

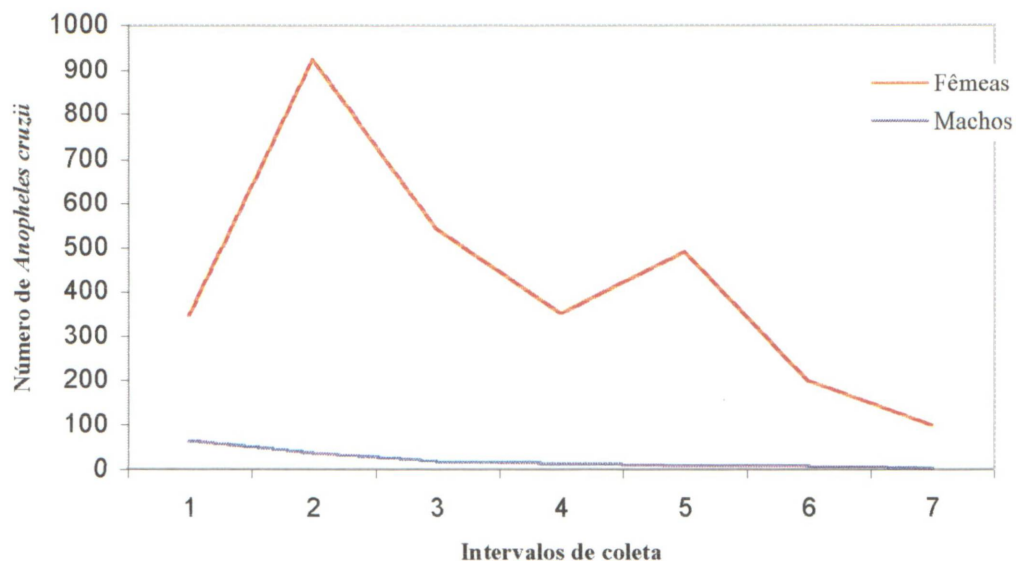


Figura 2. Número de machos e fêmeas de *Anopheles cruzii* capturados em armadilha de Shannon, nos sete intervalos de coleta. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

No decorrer da noite, o número de *Anopheles cruzii* variou conforme o intervalo de coleta (Tabela II). Foi observado um crescimento no segundo intervalo seguido por um padrão decrescente de atividade, como se pode observar pelas representações das médias na Figura 3. A figura revela que a maior atividade ocorre na primeira metade da noite. O pico no segundo intervalo indica maior atividade desse anofelíneo entre uma e três horas após o crepúsculo vespertino. Esse fato pôde ser observado porque foi mantida uma relação fixa do horário da instalação da armadilha com o horário do início do crepúsculo vespertino. No decorrer dos quatro meses de coleta, devido à variação sazonal do fotoperíodo, as noites do mês de outubro eram mais longas do que as noites dos meses subsequentes (Apêndices 1 e 2). Em outubro, o pico secundário ocorreu aproximadamente entre quatro e duas horas antes do crepúsculo matutino. Nos meses seguintes esse pico foi observado em torno de três horas a 48 minutos antes do amanhecer (Figura 4).

Tabela II. Médias e número total de *Anopheles cruzii* capturados em armadilha de Shannon nas 48 noites pesquisadas nos sete intervalos de coleta, no interior da Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

	Intervalos* de coleta						
	1	2	3	4	5	6	7
Totais	408	961	561	366	501	208	100
Médias	8,50	20,02	11,68	7,79	10,89	4,52	2,17

* Intervalos = 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência.

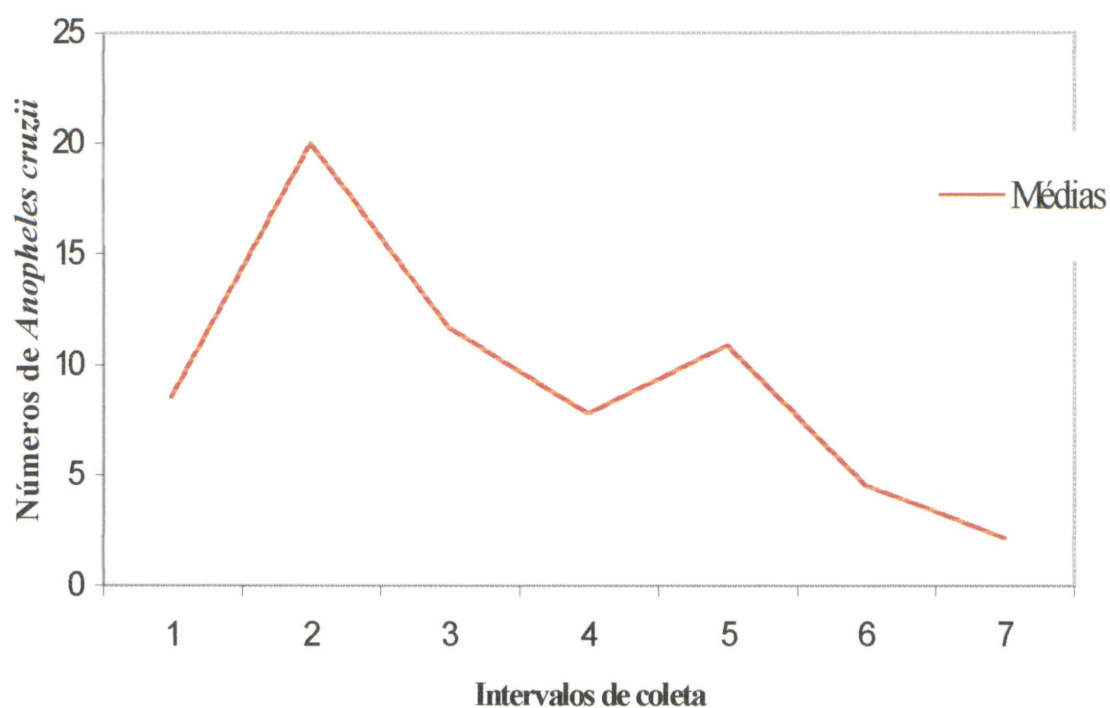


Figura 3. Média das contagens de *Anopheles cruzii* capturados em armadilha de Shannon, nos sete intervalos de coleta. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

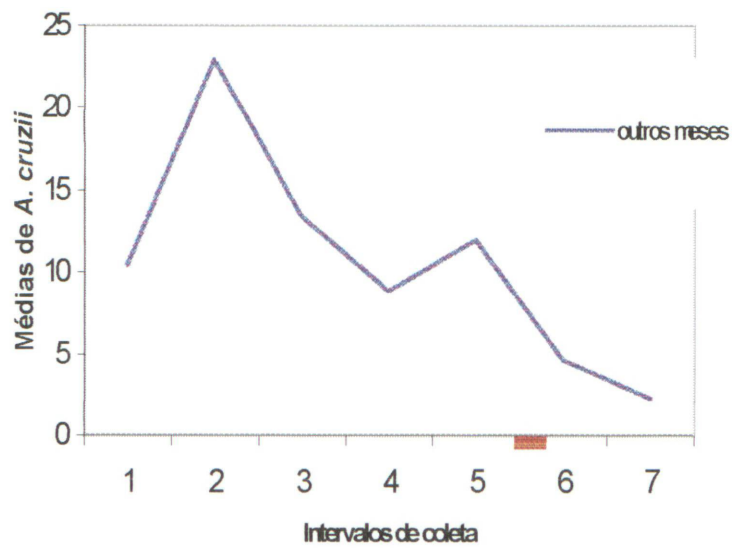
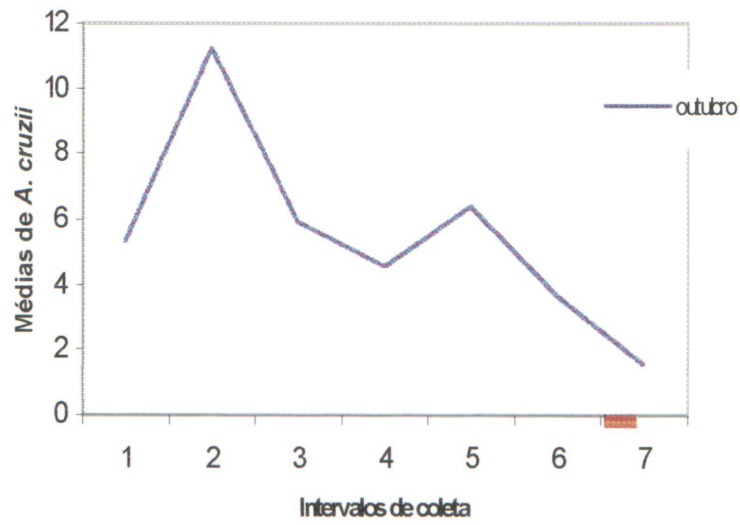


Figura 4. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* no mês de outubro e nos outros três meses de coleta (novembro, dezembro, janeiro), em relação ao crepúsculo matutino (■). Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

Considerando as fases da lua, foram coletados 560 anofelíneos (18,04%) na lua cheia, 507 (16,33%) na minguante, 771 (24,83%) na nova e 1.267 (40,80%) na crescente (Tabela III).

Tabela III. Totais e médias do número de *Anopheles cruzii* capturados em armadilha de Shannon, nos sete intervalos de coleta por fase do ciclo lunar. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná; outubro de 1995 a janeiro de 1996.

Intervalos* horários de coleta	<i>Anopheles cruzii</i> por fase lunar							
	Cheia		Minguante		Nova		Crescente	
	total	média	total	média	total	média	total	média
1	80	6,67	59	4,92	140	11,67	129	10,75
2	111	9,25	150	12,50	291	24,25	409	34,08
3	100	8,33	111	9,25	135	11,25	215	17,92
4	62	5,17	80	6,67	84	7,00	140	12,73
5	132	11,00	61	5,08	70	6,36	238	21,64
6	57	4,75	38	3,17	42	3,82	71	6,45
7	18	1,50	8	0,67	9	0,82	65	5,91
Total	560		507		771		1267	
Percentual	18,04		16,33		24,83		40,80	

* Intervalos = 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência.

As médias do número de mosquitos (Figura 5) por fase do ciclo lunar mostraram a ocorrência de diferentes padrões de curvas para cada fase, sendo que a maior atividade de *Anopheles cruzii* foi observada na lua crescente. A presença de um pico principal no segundo intervalo de coleta ocorreu na lua minguante, na nova e na crescente, além da presença de um pico secundário na lua crescente. Na lua cheia não ocorreram picos acentuados, no entanto foi observado um aumento da quantidade desse anofelíneo no quinto intervalo.

Diferenças foram detectadas quanto à amplitude do pico de atividade desse mosquito no segundo e no quinto intervalos conforme a fase lunar. Para facilitar a visualização dos resultados, as médias de *Anopheles cruzii* capturados nesses dois intervalos foram plotadas, separadamente do resto da série temporal, em um gráfico e a curva obtida foi duplicada. A figura assim construída revela a presença de uma oscilação dentro de um ciclo lunar completo (Figura 6). A figura mostra modificações da quantidade de mosquitos ao longo do ciclo, devidas a um aumento gradual da atividade dos mosquitos da lua cheia à lua crescente.

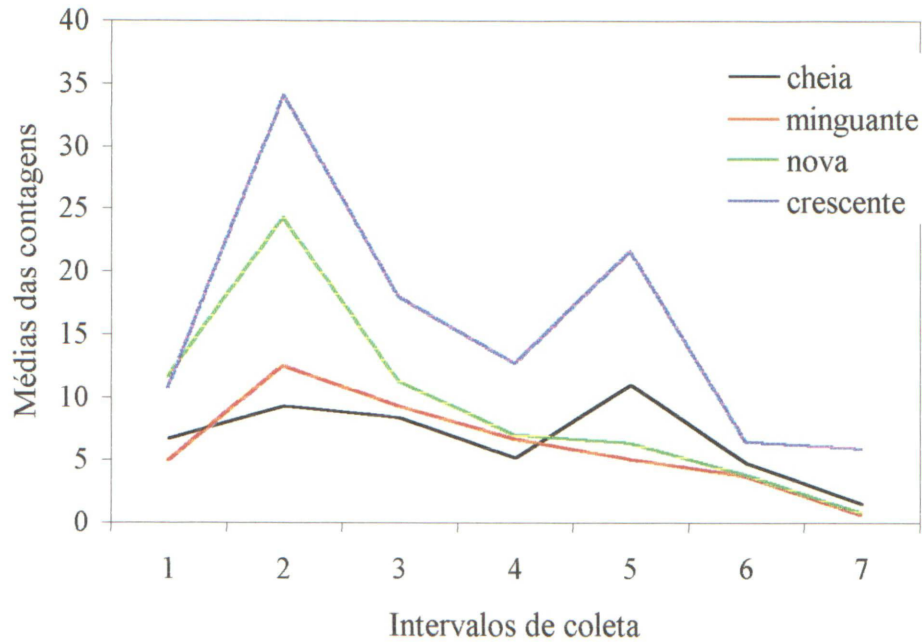


Figura 5. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* por fase da lua, capturados em armadilha de Shannon, nos sete intervalos de coleta. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

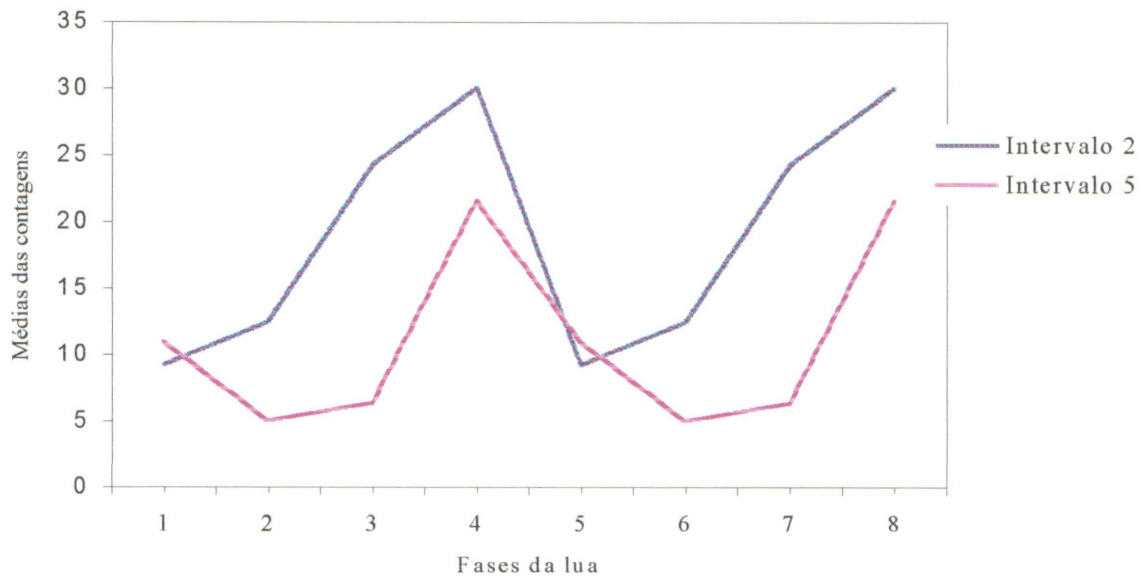


Figura 6. Dupla plotagem das médias das contagens de *Anopheles cruzii* nos intervalos 2 e 5 para cada fase da lua. Esses intervalos representam horários de ocorrência de picos de atividade (1 e 5 representam a lua cheia, 2 e 6 a minguante, 3 e 7 a nova e 4 e 8 a lua crescente). Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

Ao relacionar o intervalo 2, em que ocorreram os números mais elevados de *Anopheles cruzii* na maioria das fases lunares, com os horários da presença e ausência da lua (Apêndice 1 e Figura 7) não foi observado nenhum padrão de ajuste dos picos, pois eles ocorreram sempre na primeira metade da noite e não acompanharam horários em que a intensidade luminosa era maior ou menor conforme o nascer e o ocaso lunar. Este fato é melhor visualizado numa plotagem das médias de *Anopheles cruzii* capturados na lua minguante e na crescente (Figura 8). É importante notar que a fase iluminada da noite nestas duas luas é oposta (Figura 7), mesmo que elas forneçam a mesma intensidade luminosa. As curvas da Figura 8, mostram uma clara diferença de amplitude e a supressão do segundo pico de atividade na lua minguante.

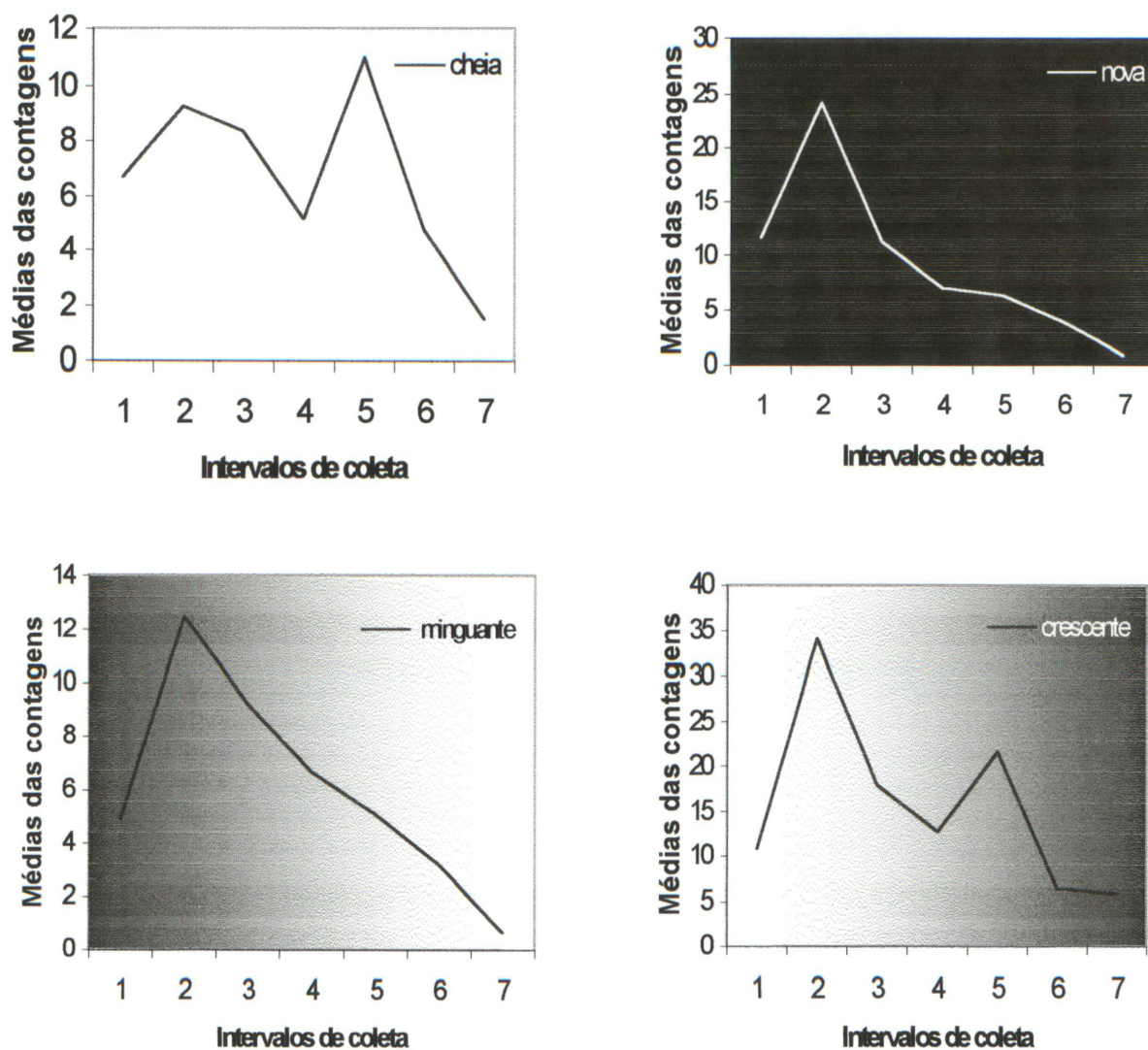


Figura 7. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* ao longo dos intervalos de coleta, de acordo com a presença e ausência da lua (nascer e ocaso da lua). Cada intervalo corresponde a 2 horas e as áreas sombreadas simbolizam a variação da intensidade luminosa lunar, Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996. Os valores das ordenadas são diferentes nos quatro gráficos para facilitar a visualização do comportamento do fenômeno.

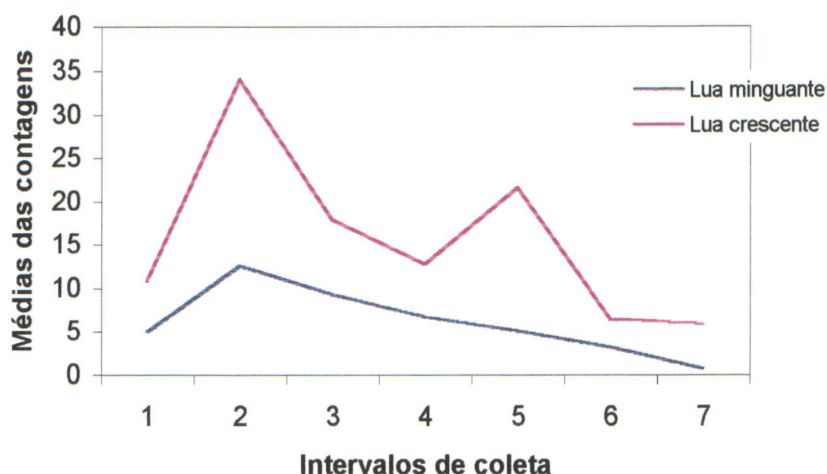


Figura 8. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* na lua minguante e na crescente capturados em armadilha de Shannon, nos sete intervalos de coleta. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

Na maioria das coletas, o número de indivíduos de *Anopheles cruzii* foi pequeno e apenas em algumas capturas ocorreram números elevados (Figura 9). A Tabela IV evidencia que os valores máximos e mínimos foram discrepantes em todas as fases da lua, indicando uma grande dispersão nos dados. Além disso, as diferenças entre os quartis e a mediana revelaram assimetria nos dados em todas as fases lunares. Devido a essas características, aproximações normais (ou Gaussianas) foram evitadas e considerou-se mais apropriado utilizar um modelo baseado na distribuição de Poisson, que permite a descrição de ocorrências ao acaso quando a probabilidade de tais ocorrências é pequena (ZAR, 1996).

Tabela IV. Valores extremos (mínimos e máximos) quartis e as médias das contagens de *Anopheles cruzii* para cada fase da lua, considerando todos os intervalos horários de observação. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

Lua	Quartis					Média	Dados perdidos
	Mínimo	1º Quartil	Mediana*	3º Quartil	Máximo		
cheia	0	0.50	3.00	6.00	93	6.67	0
minguante	0	1.00	3.50	7.25	28	6.04	0
nova	0	1.00	4.00	9.00	114	9.52	3
crescente	0	2.00	7.00	21.00	127	15.84	4

* ou 2º Quartil.

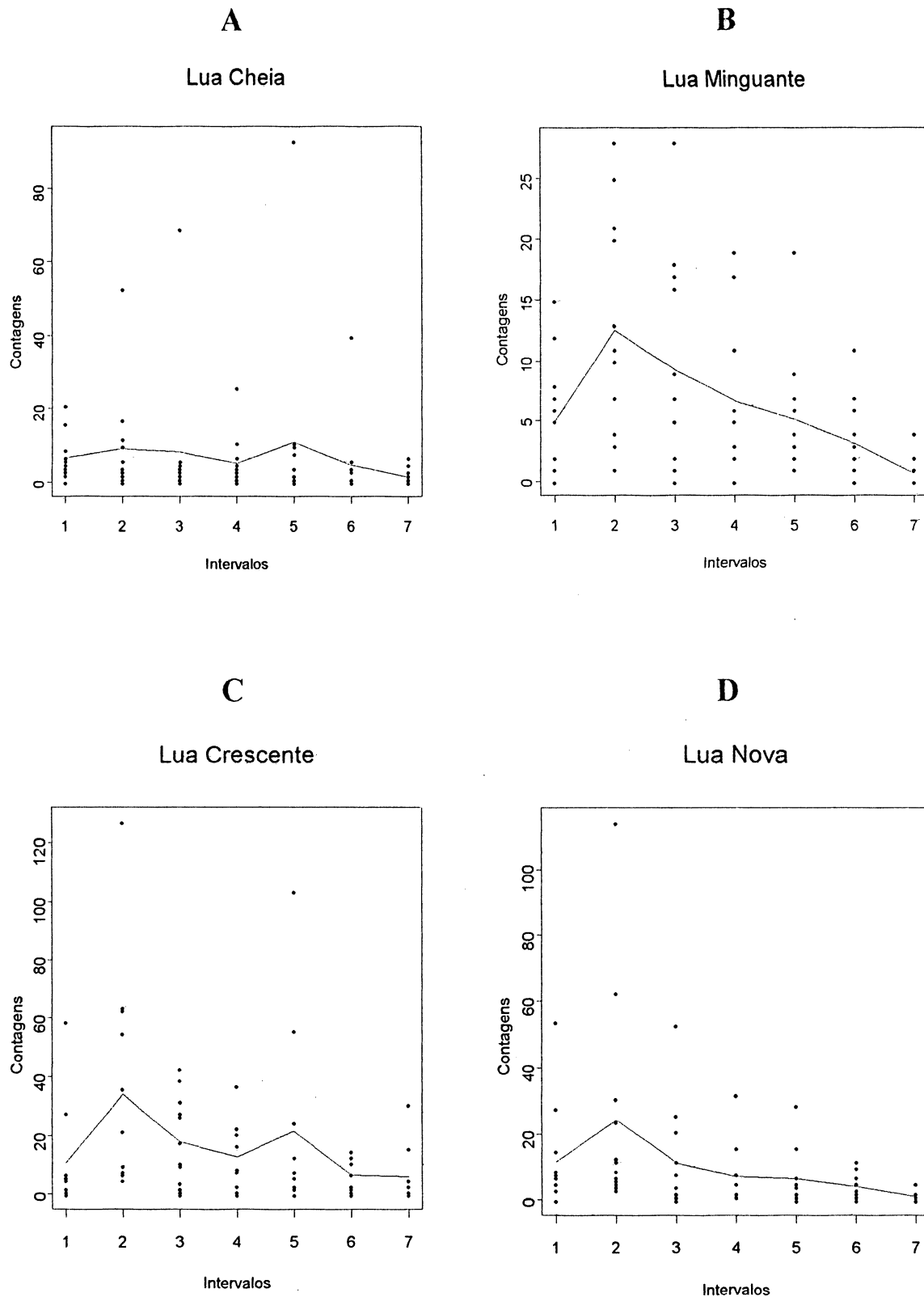


Figura 9. Número de indivíduos de *Anopheles cruzii* coletados em cada fase do ciclo lunar (A, B, C, D) estão representados por pontos e as médias dessas contagens por linhas cheias com escalas diferentes. A escala da Figura B foi aumentada para evidenciar o pico. Cada intervalo horário corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

Uma tendência de aumento na média de ocorrência de *Anopheles cruzii* na presença de chuva foi observada no decorrer do trabalho. A Tabela V mostra essa tendência em mais da metade das caselas. Através das plotagens das médias das contagens dos mosquitos nos intervalos de coleta, foi detectado aumento da amplitude dos dois picos de atividade quando chovia (Figura 10). Aumento na amplitude dos picos de atividade também foi observado de acordo com as fases da lua (Figura 11). Estes fatos, associados a indicações da importância da precipitação na literatura, levaram a inclusão dessa variável no modelo estatístico.

Tabela V. Médias da ocorrência de *Anopheles cruzii* por fase da lua ao longo dos intervalos de coleta com a presença ou ausência de chuva. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

Lua	Precipitação	Intervalos* de coleta						
		1	2	3	4	5	6	7
cheia	Sim	5.00	6.50	5.50	13.67	50.50	23.00	5.00
	Não	7.00	9.80	8.90	2.33	3.10	1.10	0.80
minguante	Sim	6.50	16.00	1.00	4.33	5.50	2.00	-
	Não	4.60	11.33	10.90	7.44	5.00	3.27	0.67
nova	Sim	-	-	-	8.00	7.00	-	1.00
	Não	11.67	24.25	11.25	6.91	6.30	3.82	0.80
crescente	Sim	15.57	45.20	20.75	22.50	32.20	11.50	3.50
	Não	4.00	26.14	16.50	7.14	12.83	3.57	7.29

- Caselas vazias indicam que não houve combinação de níveis dos fatores.

* Intervalos = 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência.

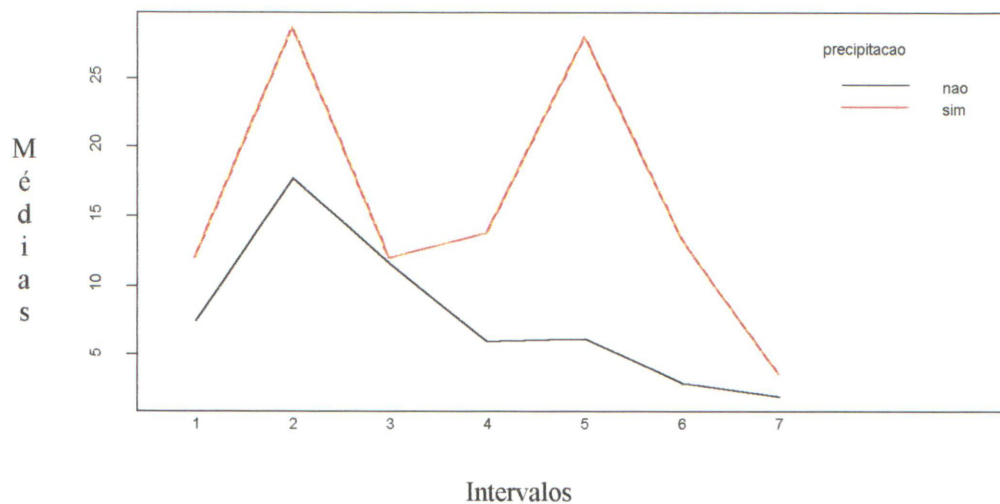


Figura 10. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* ao longo dos intervalos de coleta, em armadilha de Shannon, com a presença e ausência de chuva. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

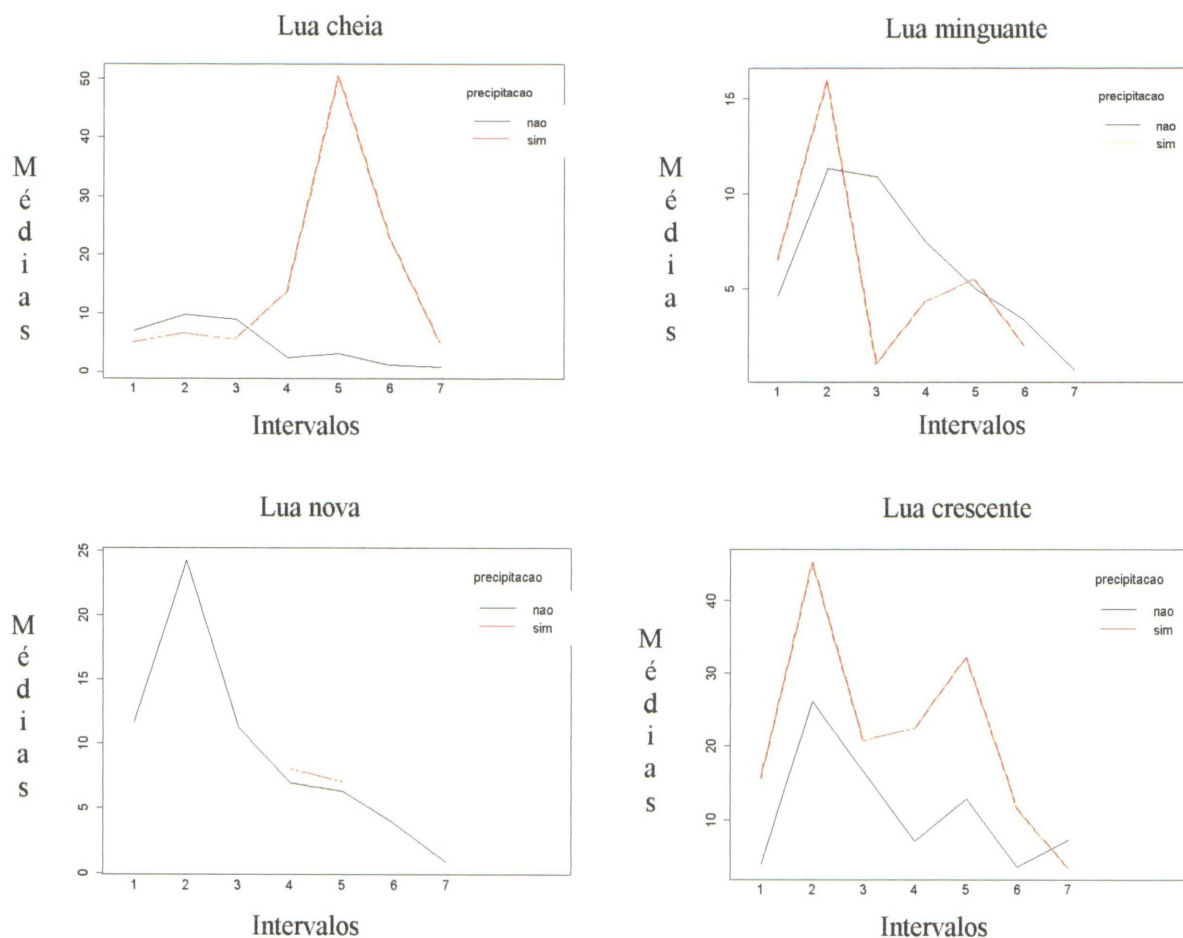


Figura 11. Médias das contagens de *Anopheles cruzii* por fase lunar ao longo dos intervalos de coleta, em armadilha de Shannon, com a presença e ausência de chuva. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

No local de coleta, a temperatura variou de 12 a 27 °C nos quatro meses de estudo. A tendência observada foi de queda da temperatura ao longo da noite até o intervalo 6, voltando a subir no intervalo seguinte (Apêndice 6). A Tabela VI evidencia uma tendência no aumento das contagens dos anofelíneos com o aumento da temperatura, exceto na última classe de valores. As temperaturas mais frequentes foram entre 20 e 23°C, em que se verificou também a maior média de ocorrência de *Anopheles cruzii* (Tabela VI). O Apêndice 7 mostra que na maioria dos intervalos de coleta, as médias mais elevadas de mosquitos ocorreram nessa mesma classe de temperatura, ou seja, entre 20 e 23°C. Os intervalos 2 e 5 apresentaram as maiores médias de *Anopheles cruzii*, sendo observadas sobretudo a 21 e 22°C. Além disso, no intervalo 2 verificou-se média elevada também entre 17 e 18°C. Sendo assim, a variável temperatura foi incluída no modelo e além disso, a literatura aponta a temperatura como possível “zeitgeber”.

Quanto à umidade relativa do ar, a Tabela VI mostra que os valores mais frequentes

ficaram entre 89 e 98 % (86,31%). Como as variações das médias de ocorrência de *Anopheles cruzii* foram pequenas, em relação a essa variável no decorrer da noite, a variável não foi incluída no modelo.

Tabela VI. Distribuição da frequência de temperatura, umidade relativa do ar e médias do número de *Anopheles cruzii*, coletados em armadilha de Shannon, de acordo com as classes dessas variáveis ambientais. As tomadas de temperatura e umidade relativa foram feitas nos momentos das capturas dos mosquitos. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

Temperatura (°C)				
Classes	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)	Nº de <i>A. cruzii</i>	Médias de <i>A. cruzii</i> *
12 – 15	36	10,71	179	4,97
16 – 19	103	30,65	520	5,05
20 – 23	174	51,79	2276	13,08
24 – 27	23	6,85	130	6,65
Totais	336	100	3105	
Umidade relativa do ar (%)				
67 – 77	5	1,49	51	10,20
78 – 88	41	12,20	198	4,83
89 – 98	290	86,31	2856	9,85
Totais	336	100	3105	

* Nº de mosquitos pela frequência absoluta.

Seleção e interpretação do modelo estatístico

Na Tabela VII constam as comparações, segundo o “deviance”, entre os modelos considerados neste estudo. É importante evidenciar que quanto menor o “deviance”, melhor a qualidade do ajuste.

Tabela VII. “Deviance” mínimo de cada modelo e as diferenças comparadas com valores tabelados da distribuição qui-quadrado, para verificar se a adição de variáveis independentes melhora significativamente a qualidade do ajuste. Comparou-se modelo 1 com os modelos 2, 3 e 4. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

Modelo	“deviance” mínimo	Diferença	Graus de liberdade
1	4110,0	-	-
2	4620,0	510,0*	9
3	4110,0	0,0	3
4	4874,0	764,0*	5

* significativo ao nível de 5%

Para saber se houve influência da lua, a comparação entre os modelos 1 e 2 resultou num “deviance” significativamente menor para o modelo 1, que descreve uma curva com parâmetros

diferentes para cada fase da lua, do que aquele calculado para o modelo 2, que ajusta uma curva para cada fase. Isto indica que o padrão de atividade de *Anopheles cruzii* foi realmente influenciado pelas fases lunares, rejeitando-se a hipótese H_0 .

Com relação à interação entre lua e temperatura, não houve diferença entre o “deviance” calculado para o modelo 3, que ajusta um coeficiente de temperatura para cada fase da lua e o calculado para o modelo 1, que ajusta um único coeficiente. Neste caso, a inclusão de parâmetros extras não melhorou a qualidade do ajuste e o modelo 1 foi selecionado por ser mais parcimonioso. Isto resultou na aceitação da hipótese H_0 de que não há interação, ou seja, a influência da temperatura sobre a atividade não depende da fase lunar.

As estimações dos parâmetros do modelo selecionado (modelo 1) constam na Tabela VIII. Foi verificado efeito do intervalo de coleta, pois os parâmetros das curvas quadráticas são significativos (os intervalos de confiança dos parâmetros β e γ das curvas não contêm o valor zero). Desta forma, verificou-se que não há homogeneidade nos dados, ocorrendo picos em determinados intervalos horários. Esse fato foi constatado comparando-se o modelo 1 com o modelo 4, que descreve uma reta horizontal por fase lunar. O “deviance” do modelo 1 foi significativamente menor do que o do modelo 4, portanto, a hipótese H_0 foi rejeitada. Assim, foi evidenciada e validada a presença de um ritmo.

Tabela VIII: Valores estimados e intervalos de confiança de 95% para os parâmetros do modelo selecionado (modelo 1).

Parâmetros	Valores estimados	Intervalos de confiança
α_{cheia}	-1,53	-2,02 ; -1,03
$\alpha_{minguante}$	-1,74	-2,23 ; -1,26
α_{nova}	-0,24	-0,65 ; 0,17
$\alpha_{crescente}$	-0,73	-1,12 ; -0,32
β_{cheia}	0,67	0,45 ; 0,89
$\beta_{minguante}$	0,94	0,71 ; 1,17
β_{nova}	0,50	0,33 ; 0,70
$\beta_{crescente}$	0,73	0,60 ; 0,87
γ_{cheia}	-0,10	-0,13 ; -0,07
$\gamma_{minguante}$	-0,15	-0,18 ; -0,12
γ_{nova}	-0,12	-0,15 ; -0,09
$\gamma_{crescente}$	-0,11	-0,13 ; -0,10
δ (temperatura)	0,12	0,11 ; 0,13
ϕ (precipitação)	0,68	0,60 ; 0,76

\wedge = símbolo que denota valor estimado dos parâmetros do modelo.

Observou-se também efeitos significativos da precipitação pluviométrica sobre o número de mosquitos. Além disso, o efeito de precipitação sobre a média do número de mosquitos é exponencial de 0,68 ($\cong 1,97$), isto é, deve-se esperar um aumento de aproximadamente 97% nas contagens quando ocorre precipitação.

O modelo 1 descreve uma equação que representa as contagens estimadas ao longo dos intervalos horários de observação para cada fase lunar. Essa equação exhibe curvas ajustadas que são curvas médias utilizadas para explicar a ação conjunta de diversos fatores ambientais sobre a atividade de *Anopheles cruzii*. A Figura 12 apresenta as trajetórias das contagens estimadas pelo modelo 1. Para traçar essas curvas, a equação, abaixo descrita, considera a variável precipitação com valor igual a 0, a temperatura igual a 19,80°C (média - Apêndice 5) e α_j , β_j , γ_j , δ e ϕ correspondem aos valores estimados dos parâmetros do modelo.

$$\mu_{jt} = \exp (\alpha_j + \beta_j t + \gamma_j t^2 + \delta \text{ temperatura média} + \phi \text{ precipitação})$$

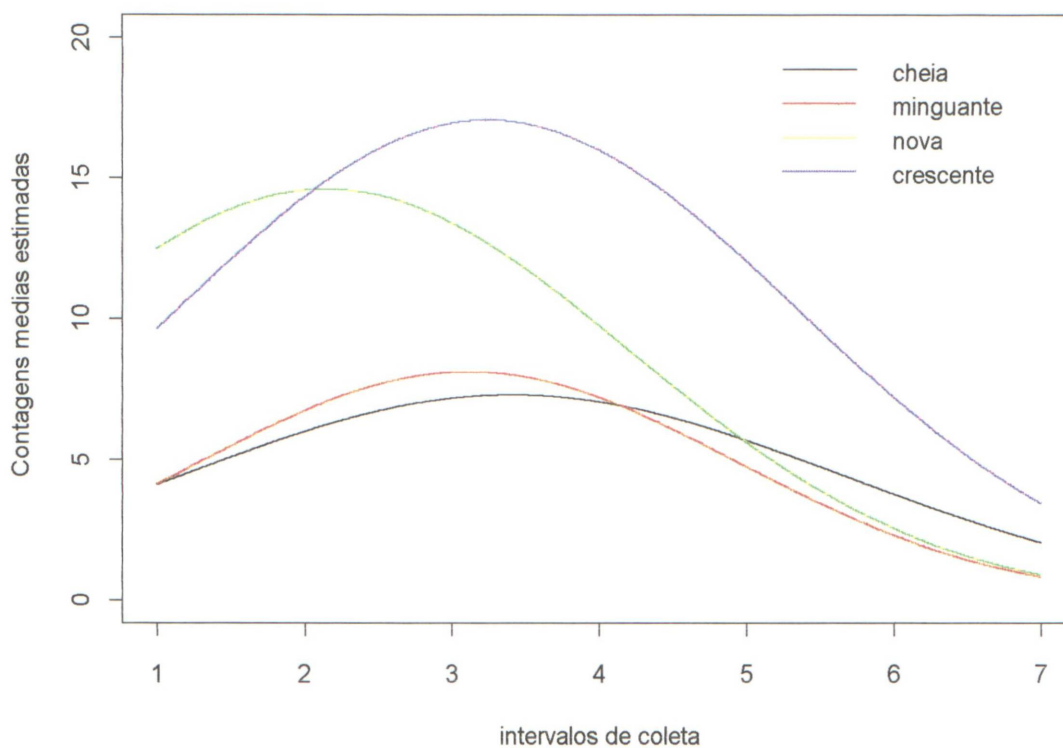


Figura 12. Trajetória das contagens de *Anopheles*, segundo o modelo estimado, ao longo dos intervalos horários para cada fase lunar. Cada intervalo corresponde a 2 horas, tendo o crepúsculo vespertino como referência. Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, outubro de 1995 a janeiro de 1996.

A Figura 12 mostra que o padrão rítmico da atividade de *Anopheles cruzii* mantém-se em todas as fases lunares. Quanto aos parâmetros dessa ritmicidade, observa-se ligeiro deslocamento da fase do pico na lua nova e evidente achatamento da amplitude nas luas cheia e minguante.

DISCUSSÃO

Distribuição noturna da atividade de *Anopheles cruzii* e evidências de um sistema multioscilaratório

Os critérios para considerar um animal como noturno, diurno ou crepuscular, não são muito óbvios. No presente estudo, observou-se maior atividade de vôo de *Anopheles cruzii* durante a noite com um padrão difásico e esses picos não ocorreram exatamente dentro dos intervalos crepusculares. Isto indica que, com a metodologia de coleta empregada, observou-se uma atividade noturna ao invés daquela efetivamente crepuscular detectada por FORATTINI *et al.* (1986a, 1986b) e TUBAKI *et al.* (1993) com isca humana. A diferença entre os dados provavelmente está relacionada ao tipo de sistema de detecção da isca atrativa. Os mosquitos possuem uma grande variedade de sensilas responsáveis pela percepção dos estímulos externos de natureza muito diversa, como luminosos, mecânicos, químicos e outros. Quando se trata de isca humana, estruturas como mecanorreceptores, barorreceptores e quimiorreceptores (McIVER, 1973; BOWEN, 1991), estão envolvidas na detecção do hospedeiro. Quando se emprega uma fonte luminosa, como no caso do presente trabalho, a detecção fica a cargo da visão. O emprego de iscas distintas pode explicar as diferenças dos resultados obtidos no presente trabalho comparados com os da literatura. Sabe-se que todos os sistemas circadianos, segundo MARQUES (1997), consistem de pelo menos três elementos principais: uma via aferente que transmite informações do ambiente, um ou mais osciladores circadianos capazes de gerar a oscilação e vias eferentes através das quais o oscilador regula a expressão de diversos ritmos. Sabe-se que há uma diferença circadiana de sensibilidade que envolve essas vias de recepção e geração das respostas rítmicas. Sendo assim, pode-se postular que as diferenças nos horários dos picos de atividade entre os trabalhos que envolvem isca humana e isca luminosa para atrair *Anopheles cruzii*, parecem ter relação com o próprio ciclo de sensibilidade dos receptores envolvidos. Uma outra possibilidade para as diferenças entre os padrões de atividade observados nesse trabalho, quando comparados a outros estudos, pode estar relacionada com a variação regional das populações, considerando a hipótese dessa espécie ser um complexo (RAMIREZ, 1994).

A atividade da população de *Anopheles cruzii* no presente trabalho descreve um duplo pico, que se modifica por diferentes componentes externos ligados aos ciclos ambientais. Nesse contexto, um fato a ser considerado é a relação entre os crepúsculos e os picos de atividade, pois essa relação possui um significado adaptativo da espécie frente às mudanças sazonais dos horários dos crepúsculos. O reconhecimento da hora local pelo sistema oscilatório é uma das

implicações importantes, que tem a sincronização como responsável por manter uma relação estável da fase do sistema oscilatório com a fase do ciclo ambiental. Segundo BECK (1980), os crepúsculos são sinais espaçados temporalmente pelos quais os insetos respondem de diferentes formas adaptativas. Neste contexto, foi levantada por PITTENDRIGH & DAAN (1976) a hipótese de que haveria um sistema de dois osciladores que sugerem o sistema de duplo oscilador como a base para uma acomodação às mudanças sazonais dentro do padrão diário e também a resposta diferencial ao amanhecer e ao anoitecer. Estas propriedades fazem deste sistema bi-oscilatório um relógio adequado para os diferentes padrões diários ao longo do ano. Mesmo considerando que em outubro anoitecia mais cedo do que nos outros meses de coleta, *Anopheles cruzii* manteve o pico principal de atividade no mesmo intervalo durante os quatro meses de estudo, o que evidencia a possibilidade de haver um ângulo de fase estável entre o pico principal de atividade desse mosquito e o crepúsculo vespertino. O mesmo não foi possível afirmar sobre o segundo pico em relação ao crepúsculo matutino, porque, como era de se esperar, ele variou do intervalo 7 em outubro, para o intervalo 6 nos outros meses e essas horas de diferença tiveram variação grande demais para se afirmar que houve uma relação com o amanhecer. No entanto, há indicações que o segundo pico possa estar refletindo a ação de um outro oscilador, que mantém uma relação de fase mais flexível com “zeitgeber”.

A interpretação de *Anopheles cruzii* como espécie noturna implica em que a maior parte de sua atividade locomotora esteja ocorrendo durante à noite e é durante a fase escura do ciclo diário que diferentes tipos de comportamento devem estar acontecendo. A fotorrecepção tem relação com diferentes atividades e sendo assim, além da procura pelo hospedeiro, outras atividades podem estar envolvidas, como por exemplo, a procura de sítios de oviposição, acasalamento e fuga às condições desfavoráveis.

Uma população composta por indivíduos de idades e sexos diferentes terá necessariamente, diferentes componentes fisiológicos envolvidos. A atividade dos machos, por exemplo, é provável que esteja mais próxima do crepúsculo vespertino. Apesar da pequena quantidade de indivíduos machos capturados no presente estudo, observou-se que sua atividade acontece no início da noite, ou seja, no intervalo onde se encontra o crepúsculo vespertino. ROWLAND (1989) detectou um pico significativo de *Anopheles (Cellia) stephensi* Liston, 1901 no início da noite e demonstrou, em laboratório, que a função desse pico é de sincronizar o acasalamento. Se esse fato também ocorrer em *Anopheles cruzii*, mais um tipo de atividade deve estar envolvida dentro ou próximo ao crepúsculo vespertino e que tem uma relação com a fotorrecepção, além de quimiorrecepção, que é a atividade de fêmeas preparadas para serem inseminadas.

A hipótese levantada aqui sobre a possível presença de um duplo oscilador não deixa dúvida sobre sua importância para *Anopheles cruzii*, no entanto, a efetividade dos picos, principalmente do segundo pico, só poderá ser confirmada com estudos dos padrões de atividade em condições de laboratório, conhecendo-se os estados fisiológicos dos anofelíneos testados.

Influência dos ciclos ambientais sobre o ritmo de atividade de *Anopheles cruzii*

Os padrões de atividade de *Anopheles cruzii* observados nesta investigação são controlados pelos ciclos ambientais em diferentes níveis. Alguns ciclos devem estar sincronizando os ritmos, atuando, portanto, como “zeitgebers” (ASCHOFF, 1960; 1988) e outros são capazes de induzir respostas de forma imediata, como agentes mascaradores.

É importante saber que certas fases do ritmo estão mais sob o controle do oscilador e outras são mais sensíveis ao mascaramento (ASCHOFF, 1988). Esse fato foi demonstrado por JONES *et al.* (1967) em actogramas de atividade de vôo de *Anopheles (Cellia) gambiae* Giles, 1902 em que o pico secundário mostrou-se mais lábil e mais suscetível à ação de fatores ambientais do que o pico principal. Isso levou o autor a interpretar o pico principal como resultado da ação do oscilador e o secundário, como a expressão do mascaramento.

O tipo de influência dos ciclos ambientais sobre os ritmos depende da espécie estudada e varia bastante. O ciclo claro/escuro é considerado o “zeitgeber” universal que arrasta os ritmos da maior parte das espécies que vivem na superfície. Dificilmente um único “zeitgeber” é responsável pela completa sincronização do ritmo. Sua ação é complementada por outros ciclos, como os de temperatura, som, disponibilidade de alimentos e interações sociais (ASCHOFF, 1981). Todavia, qualquer um desses fatores pode também atuar como agente mascarador, se atuar diretamente sobre o ritmo e não sobre o relógio biológico.

Os trabalhos de campo não permitem que se responda ao certo se um determinado ciclo ambiental está atuando como “zeitgeber” ou como agente mascarador, mas algumas inferências são possíveis. A seguir, são feitas considerações sobre os dados obtidos, separados de acordo com os diferentes ciclos e variáveis ambientais.

a. Influência do dia lunar

Tendo em vista as indicações, no presente estudo, sobre a manutenção da relação de fase entre o início do crepúsculo vespertino e o principal pico de ocorrência de *Anopheles cruzii*, há evidências mais claras de um controle do ritmo circadiano pelo ciclo claro/escuro, do que pela

interferência da luminosidade da lua. Na literatura, as interpretações sobre os efeitos do dia lunar são bastante variadas. BIDLINGMAYER (1964) relacionou a ocorrência de *Aedes taeniorhynchus* e *Aedes sollicitans* com horários com e sem lua. Observou que, tanto na lua crescente, quanto na minguante, a maior atividade do mosquito ocorria na parte iluminada da noite. Observações semelhantes também foram feitas por CHARLWOOD *et al.* (1986) com *Anopheles farauti*. Estes resultados diferem daqueles de ROSENBERG & MAHESWARY (1982) em *Anopheles (Cellia) dirus* Peyton & Harrison, 1979, DAVIES (1975) e BALSEIRO (1981) com várias espécies de Culicidae. Observou-se em todas as espécies estudadas uma atividade maior na primeira metade da noite, tanto na lua crescente como na minguante, a exemplo do que aconteceu no presente trabalho.

Sabe-se pela literatura cronobiológica, que as diferentes intensidades de iluminação proporcionadas pelas diferentes fases da lua podem arrastar o ritmo de atividade, como acontece no caso do Chironomidae *Chunio marinus* (NEUMANN, 1981). Apesar de no caso de *Anopheles cruzii* ter havido manutenção da relação de fase entre o crepúsculo vespertino e o pico principal de atividade em todas as fases lunares, não parece que tenha ocorrido arrastamento. Observou-se, como efeito do dia lunar, uma modificação da amplitude dos picos, provavelmente causada pelas diferentes fases iluminadas nas diferentes fases lunares. O que se detectou, aumentos e diminuições da quantidade de mosquitos no segundo e quinto intervalos de coleta, talvez seja uma resposta direta do ritmo de atividade aos momentos iluminados pela lua ao longo da noite.

Ao contrário do efeito observado por NEUMANN (1981), o dia lunar não parece agir como “zeitgeber” do ritmo de atividade de *Anopheles cruzii*. Neste caso, a explicação mais provável parece ser mascaramento. ASCHOFF (1988) mostra que o efeito de um mesmo agente mascarador tem efeito diferente sobre o ritmo observado, dependendo da fase em que o mascaramento ocorre. Pode-se dizer que para *Anopheles cruzii* o efeito da iluminação lunar nas fases finais da noite modula o ritmo no sentido de diminuir sua amplitude. O fato de ter sido observado um segundo pico na lua cheia explica-se por terem sido capturados poucos exemplares nessa fase. Ambos os picos foram menos acentuados que nas outras fases lunares e uma pequena variação no número de indivíduos coletados pode ter causado a acentuação do segundo pico. No entanto, novos dados são necessários para comprovar tal hipótese.

b. Influência do mês lunar

Os dados obtidos mostram um maior número de indivíduos na lua crescente do que nas outras fases. Resultado semelhante foi obtido por ROSENBERG & MAHESWARY (1982) com

Anopheles dirus em Bangladesh. Em ambos os casos caracteriza-se uma influência do mês lunar sobre a ocorrência dos mosquitos.

Outras informações da literatura sobre a influência lunar mostram sempre maior abundância da espécie ocorrendo em uma ou outra fase. Uma série de trabalhos relaciona a efetividade da armadilha luminosa com o elevado número de mosquitos coletado na lua nova. Alguns deles incluem resultados obtidos com *Anopheles finestus* apresentados por RIBBANDS (1946) na África Ocidental, com *Anopheles muneztovari* por RUBIO-PALIS (1992) na Venezuela e várias espécies coletadas por PROVOST (1959) na Flórida (E.U.A.). Estas observações não foram corroboradas no presente estudo, porque a atividade de *Anopheles cruzii* na lua nova não foi mais intensa do que nas outras fases.

Outros resultados diferentes dos obtidos na presente pesquisa tratam dos padrões cuja atividade de mosquitos foi mais acentuada na lua cheia. Resultado desse tipo foi verificado, por exemplo, por PANDIAN & CHANDRASHEKARAN (1980) com *Aedes subalbatus* (atual *Armigeres subalbatus*) na Índia, e CHADEE (1992) nas coletas de *Anopheles bellator* em Trinidad. No caso da lua cheia, a quantidade de *Anopheles cruzii* foi a segunda menor comparada com as outras fases lunares.

O modelo estatístico revelou que há diferentes padrões de atividade conforme a fase lunar, levando em consideração o aumento e diminuição da quantidade de mosquitos. Sendo assim, o ritmo de mês lunar, visto na Figura 5, pode estar refletindo uma condição de mascaramento.

c. Temperatura

Foi detectado que a temperatura é um fator ambiental importante para *Anopheles cruzii*, influenciando a atividade desse mosquito, independentemente das fases do ciclo lunar. As maiores médias de ocorrência de mosquitos foram observadas principalmente em 21 e 22°C, que foram também as temperaturas mais frequentes, inclusive nos intervalos dos picos (Apêndices 6 e 7). CHIBA *et al.* (1982) observaram os efeitos de diferentes temperaturas sobre os dois picos de atividade observados para *Culex pipiens pallens* e para *Culex pipiens molestus*. Numa relação com um ciclo de claro/escuro artificial, observaram no laboratório diminuições na amplitude dos picos e também deslocamento desses picos conforme a temperatura testada. Os dados obtidos para *Anopheles cruzii* parecem manter esta mesma tendência. Quando se leva em conta a temperatura nos momentos que antecedem os picos e nos horários de picos (Apêndices 6 e 7), nota-se que um aumento de temperatura provoca um incremento da resposta. Assim, no intervalo

1 ocorreram 11 indivíduos quando a temperatura ficou entre 15 e 16°C, mas, no mesmo intervalo, o número saltou para 40 na faixa de 17 e 18°C e para 188 na faixa de 21-22°C. Também no intervalo 2, esta resposta é evidente quando se observa que entre 15 e 16°C ocorreram 25 indivíduos e o número foi quase 6 vezes maior (141) quando a temperatura era 17 e 18°C, aumentando ainda mais (546) na faixa de 21 e 22°C. Estas reações e a independência da influência da temperatura daquela do ciclo lunar apontam para o ciclo de temperatura com um provável “zeitgeber”. Mesmo assim, o ciclo claro/escuro permanece como “zeitgeber” principal, uma vez que a intensidade de ocorrência é significativamente maior no escuro do que no claro. Em outro nível, mas igualmente importante, fica a relação do pico de atividade com o crepúsculo vespertino, o que é evidente quando se considera os mesmos números acima, na mesma faixa de temperatura: a 17 e 18°C, ocorrem 40 indivíduos no intervalo 1 e 141, no intervalo 2; e na faixa de 21 e 22°C, foram 188 indivíduos no intervalo 1 e 546, no intervalo 2. Considerando estas relações, pode-se reafirmar a tentativa de colocação da temperatura como “zeitgeber” secundário. Na verdade, esta hierarquia de “zeitgebers” ocorre com uma certa frequência nos insetos e vem sendo demonstrada em diversas espécies, desde que ROBERTS (1962) mostrou que o ritmo de atividade da barata *Leucophaea maderae* (Blattodea, Blattidae) é eficientemente sincronizado por um ciclo de temperatura na ausência do ciclo claro/escuro.

d. Umidade relativa do ar

PITTENDRIGH (1948, 1950) demonstrou a importância dessa variável ambiental na distribuição das espécies de *Anopheles* do subgênero *Kerteszia* em Trinidad. O autor detectou uma diferença na distribuição claramente relacionada com gradientes de umidade de acordo com um perfil da floresta. A importância dessa variável foi também verificada por DOW & GERRISH (1970), que obtiveram correlação positiva da umidade relativa do ar com a abundância de *Culex (Culex) nigripalpus* Theobald, 1901 coletados na Flórida, E.U.A. Por outro lado, esses mesmos autores não detectaram correlação dessa variável com a atividade de *Aedes taeniorhynchus* na mesma localidade. No presente estudo, as variações das médias de ocorrência de *Anopheles cruzii* foram pequenas dentro das frequências de umidade relativa do ar. A maioria das medidas no campo mantiveram-se em 89-98%, isto é, a umidade mantinha-se alta na maior parte do tempo. No entanto, como os trabalhos foram conduzidos somente durante à noite e não num ciclo diário completo, não se tem registros dos limites de variação e nenhum tipo de associação foi possível. Sendo assim, ela não foi incluída no modelo estatístico, mas sua

importância deve ser avaliada em trabalhos futuros.

e. Precipitação pluviométrica

Raras são as referências na literatura sobre a importância e possível influência das chuvas na ocorrência de anofelíneos. Uma exceção é o trabalho de MILLER *et al.* (1970) que não indica nenhuma relação entre abundância de mosquitos e temperatura nem umidade relativa do ar. No entanto, os autores constataram que a abundância de algumas espécies coletadas em armadilha luminosa estava significativamente relacionada à chuva. Com relação a *Anopheles cruzii*, a temperatura e a pluviosidade são as duas variáveis que tiveram grande importância nas modificações dos padrões de atividade dos mosquitos. O regime das chuvas seria provavelmente um modulador do ritmo, atuando como agente mascarador positivo, pois foi observado aumento da atividade sempre que chovia. A rápida resposta da população é muito semelhante aos exemplos de mascaramento que se encontram na literatura (ASCHOFF, 1988), e o efeito mascarador foi claramente observado nas modificações que ocorrem nos dois picos de atividade. Existe também a possibilidade de que estas respostas possam não ser devidas à chuva em si, mas às modificações climáticas associadas a ela, como a pressão barométrica, por exemplo, que os mosquitos percebem perfeitamente. A existência de estruturas sensoriais que detectam variações de pressão pode permitir uma reação imediata, no caso de *Anopheles cruzii* (Apêndices 12 e 13). A reação direta é a característica básica do mascaramento e é considerada por PAGE (1989) uma adaptação fina do sistema circadiano, importante para a sobrevivência da espécie. Sabendo-se que a presença/ausência de chuvas não é um ciclo tão preciso quanto o claro/escuro e que a chuva e as variações de pressão atmosférica, que a precedem, têm influência direta na emergência do imago (ver capítulo 2 desta tese), o fato de o adulto reagir à chuva faz do possível mascaramento do ritmo um elemento importante para a sobrevivência do indivíduo e manutenção da espécie.

Neste ponto, é necessário frisar que diversas inferências apresentadas nesta discussão são apenas inferências e a comprovação do que está sendo sugerido virá somente com um trabalho experimental. A demonstração do caráter endógeno de um ritmo só pode ser feita quando as condições ambientais são constantes (livre-curso). Do mesmo modo, a comprovação do papel de uma variável ambiental como “zeitgeber” ou como agente mascarador só vem com a verificação de sua eficiência ao sincronizar um ritmo em livre-curso, no primeiro caso, ou a modificação instantânea e temporária de sua expressão, no segundo.

Igualmente, ao longo deste trabalho, a captura de *Anopheles cruzii* no campo foi usada como indício de sua ocorrência e esta como inferência de sua atividade. Como se sabe, ambas interpretações podem ser incompletas. A interferência do coletor e de seu equipamento no habitat pode exercer uma atração artificial sobre os mosquitos. Quanto à ocorrência estar sendo usada para avaliar atividade, também pode levar a uma subestimativa; a não ocorrência do mosquito não significa que ele esteja necessariamente em repouso.

CONCLUSÕES

- A atividade de *Anopheles cruzii* é rítmica com distribuição predominantemente noturna. Dois picos de ocorrência são evidentes e o pico principal mantém uma relação fixa com o anoitecer, indicando o claro/escuro como um “zeitgeber” para a espécie.
- A presença do duplo pico de atividade é indicação de um controle circadiano por dois osciladores: um controlando a atividade locomotora ao anoitecer e ao amanhecer.
- A maior atividade de *Anopheles cruzii* ocorre na primeira metade da noite sendo assim, não são verificados ajustes dos picos quanto aos horários de presença e ausência da lua.
- As fases da lua influenciam o padrão de atividade de *Anopheles cruzii*. Provavelmente a ação dos ciclos e fases lunares acontece via mascaramento, que parece ser dependente da fase do ritmo circadiano de atividade. O mascaramento pode ser positivo ou negativo e no caso da lua crescente é positivo e provoca um aumento da amplitude do pico de ocorrência.
- A influência da temperatura sobre o padrão de atividade não depende da fase da lua. Além disso, o ciclo de temperatura tem uma relação com o ciclo claro/escuro. Há indicações de que este ciclo seja um “zeitgeber” secundário.
- As temperaturas 21 e 22°C são as mais frequentes durante a noite e nessa faixa verificam-se maiores médias de ocorrência dos mosquitos, sobretudo quando ocorrem no segundo e quinto intervalos de coleta. No segundo intervalo encontram-se médias elevadas também, entre 17 e 18°C.
- A umidade relativa do ar é um sinal bastante estável durante a noite na área de estudo e é possível que essa variável seja um sinal importante de marcação ambiental para a espécie estudada.
- Espera-se um aumento de aproximadamente 97% na atividade de *Anopheles cruzii* quando ocorre precipitação pluviométrica. Esse fato aponta para a chuva como um modulador do ritmo, atuando como agente mascarador positivo. Apesar de não ser possível afirmar se os

mosquitos respondem à chuva ou à variação da pressão atmosférica, a existência de estruturas sensoriais cuticulares torna a segunda possibilidade mais plausível.

Capítulo 2

RITMOS DE POSTURA E DE EVENTOS DO DESENVOLVIMENTO PÓS-EMBRIONÁRIO

“O que, então é tempo? Se ninguém me perguntar, eu sei o que é. Se pretendo explicá-lo àquele que me pergunta, não sei. No entanto, eu sei que, se nada se passasse, não haveria um tempo passado; e, se nada mais estivesse para acontecer, não haveria um tempo futuro; e se nada afinal existisse, não haveria um tempo presente.”

St.º Agostinho (354-430 D.C.)

RITMOS DE POSTURAS E DE EVENTOS DO DESENVOLVIMENTO PÓS- EMBRIONÁRIO

Resumo: Foram realizadas observações com *Anopheles cruzii* para caracterizar temporalmente algumas etapas ligadas à reprodução e ao desenvolvimento pós-embrionário desse anofelíneo. Fêmeas foram capturadas na Floresta Atlântica, na encosta da Serra do Marumbi, a seis quilômetros ao norte da cidade de Morretes, Paraná. Utilizou-se uma armadilha de Shannon munida de uma fonte luminosa como isca atrativa. As fêmeas foram capturadas individualmente em frascos de acrílico, contendo mel diluído como alimento e posteriormente levadas ao laboratório. As observações foram conduzidas sob fotoperíodo natural e temperatura de $25 \pm 0,7^\circ\text{C}$. Processos de postura, de ecdise do terceiro para quarto instar larval, de pupação e de emergência de adultos foram observados por inspeção visual, em intervalos de tempo definidos, durante três dias consecutivos exceto para as emergências, que totalizaram quatro dias. Os resultados foram analisados através da estatística circular. Um total de 79 fêmeas foi dividido em dois grupos; as fêmeas do primeiro receberam repasto sangüíneo pela manhã e aquelas do segundo, à tarde. Dessas fêmeas, 36 ovipuseram 1063 ovos, e 667 (62,75%) deles eclodiram. Parte das fêmeas efetuaram posturas parceladas. A observação contínua do processo possibilitou medir a duração das diversas fases do desenvolvimento de *Anopheles cruzii*. Da postura até a emergência de adultos o tempo médio foi de 30,71 dias ($s = 3,57$ dias), sendo as fases larvais bastante longas, sobretudo no primeiro e quarto instares. As posturas tiveram um ritmo circadiano com um pico noturno às 23:24h ($s = 3:47\text{h}$), ou seja, 2 a 5 horas após o anoitecer. A análise revelou também que o horário dos repastos sangüíneos não interfere no ritmo de postura. As ecdises de terceiro para quarto instar larval, as pupações e as emergências dos adultos não seguiram um padrão rítmico. Apesar destas arritmidades, o trabalho discute a possibilidade de haver um processo rítmico na síntese e liberação de hormônios nas etapas envolvidas. Inclui também discussão sobre hipóteses de funcionamento do sistema oscilatório no controle da atividade locomotora das larvas e dos adultos.

INTRODUÇÃO

Mudas e metamorfose - características rítmicas na fisiologia e endocrinologia

A metamorfose nos insetos implica em modificações morfológicas ao longo do seu desenvolvimento até a fase adulta. Insetos são denominados hemimetábolos quando sofrem modificações graduais durante o desenvolvimento e mudam para uma outra forma semelhante. Já em holometábolos as transformações são mais acentuadas, sobretudo, entre a última fase larval e o adulto onde ocorre a muda para a pupa. Na fase larval os indivíduos alimentam-se, crescem e acumulam reservas, enquanto que na pupa ocorre a metamorfose, quando os tecidos do adulto são formados. A muda é o intervalo de tempo onde acontece a apólise e a ecdise. Na apólise, a cutícula

velha é fisicamente separada da epiderme e o fluido da muda é secretado no espaço formado entre elas. Quando a nova cutícula já foi formada, ocorre a ecdise, em que a cutícula velha é descartada (CHAPMAN, 1982; HEPBURN, 1985).

As mudanças na forma do inseto por metamorfose são conhecidas por serem controladas por um balanço entre o hormônio ecdisona e o hormônio juvenil. Apesar de haver um grande número de estruturas envolvidas na sua síntese e secreção, estes hormônios, controladores do desenvolvimento dos insetos, são provenientes principalmente da atividade das células neurosecretoras medianas do cérebro (“pars intercerebralis”) que produzem o hormônio protoracicotrópico, os “corpora allata” que produzem o hormônio juvenil e a glândula protorácica que produz a ecdisona. A ecdisona é o hormônio que inicia a ecdise e direciona o desenvolvimento rumo à diferenciação. Sua ação é balanceada e/ou modificada pelo hormônio juvenil que em nível elevado, mantém o caráter larval na muda e retarda a ecdise para o imago. A glândula protorácica e “corpora allata”, por sua vez, são controlados pelo hormônio protoracicotrópico que ativa a secreção da ecdisona e influencia a produção do hormônio juvenil. (NAYAR, 1967a; 1967b; CHAPMAN, 1982; HEPBURN, 1985).

A questão de como o sistema oscilatório impõe a periodicidade nos processos fisiológicos e endócrinos da metamorfose tem sido estudada sob o ponto de vista da localização dos osciladores (relógios biológicos) e alguns aspectos das células neurosecretoras do sistema nervoso central e do sistema endócrino.

Nos hemimetábolos esses osciladores encontram-se nos lobos ópticos e nos holometábolos, na região protocerebral (CHIBA & TOMIOKA, 1987). Um fator importante é que os relógios biológicos dos imaturos nem sempre são os mesmos dos adultos, ou seja, relógios das larvas e dos adultos podem apresentar propriedades diferentes. Em *Drosophila pseudobscura* (Diptera, Drosophilidae) o mesmo relógio parece controlar as atividades dos imaturos e dos adultos (PITTENDRIGH, 1966). Há exemplos em que o relógio do adulto começa a se expressar quando cessa o funcionamento do relógio da larva, ou então, em outras espécies ambos funcionam juntos o tempo todo (SAUNDERS, 1982). Os estudos com *Culex pipiens pallens* realizados por CHIBA (1966) apontam que o relógio que governa a atividade de vôo começa a funcionar pouco antes da emergência do adulto. Em *Aedes taeniorhynchus*, NAYAR (1967b) sugere que o relógio que controla o desenvolvimento dessa espécie para após controlar o desencadeamento da pupação e volta a funcionar um tempo depois da emergência. *Anopheles gambiae* foi considerado por JONES & REITER (1975) como tendo dois processos distintos de temporização ao longo do ciclo de vida, ou seja, um relógio controlando o desenvolvimento e a metamorfose e outro, o comportamento dos adultos. Nesse contexto é importante assinalar que o relógio do adulto não controla simplesmente a

atividade de vôo, mas sim, todos os processos associados à locomoção e que desencadeiam a expressão de uma atividade circadiana.

Quanto ao controle circadiano nos sistemas hormonais, um exemplo claro foi observado por TRUMAN (1972) na liberação do hormônio protoracicotrópico, em mudas de larva para larva de *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae). O referido autor observou um ritmo na liberação desse hormônio que desencadeia um processo rítmico nas mudas larvais. NAYAR (1967a) atribuiu os picos diurnos de pupação de *Aedes taeniorhynchus*, às diferenças nos níveis do hormônio protoracicotrópico e do hormônio juvenil durante o claro/escuro do ciclo diário. Esse autor estudou a liberação de hormônios das células cerebrais e do complexo glandular (“corpora allata”, glândula protorácica e “corpora cardiaca”) no tecido cerebral de larvas de 4º instar. Também descobriu que o padrão de mitoses nas células cerebrais é diurno e bimodal e demonstrou que os núcleos das células neurosecretoras atingiam seu tamanho máximo durante a fase de claro. Este aumento de tamanho corresponde ao pico de liberação do hormônio. Assim como, a exemplo do que ocorre nos demais processos, a síntese diária de trealose também tem seu máximo durante o claro. Pelo fato da regulação da trealose ser controlada por hormônios neurosecretores estocados nos “corpora cardiaca”, deduz-se que o ritmo de síntese da trealose seja regulado pela liberação rítmica diurna de hormônios dessas glândulas endócrinas.

Ritmicidade nos processos de desenvolvimento

A maioria dos estudos dos padrões temporais concentra-se na atividade locomotora, porém, num mesmo organismo coexistem vários processos que podem apresentar-se rítmicos. Eventos relacionados ao desenvolvimento dos insetos, tais como uma determinada ecdise, pupação e emergência do adulto ocorrem somente uma vez na vida do inseto e são considerados “ritmos de evento único” e, sendo assim, só podem ser detectados em populações. Além disso, os osciladores de todos os indivíduos devem estar sincronizados pelo mesmo “zeitgeber”. Como eclosão dos ovos, ecdise e emergência de larvas e adultos representam momentos críticos para a sobrevivência do indivíduo e, mesmo para a manutenção da espécie devem ocorrer quando as condições ambientais forem propícias (PITTENDRIGH, 1966). Uma garantia para esta condição é a de que todos os indivíduos estejam sincronizados pelo mesmo ciclo ambiental, ou seja, o sinal que irá deflagrar o início do processo é percebido simultaneamente por toda a população.

Já foi observado em um número muito grande de espécies, que a oviposição e também os processos de desenvolvimento ocorrem em fases bem determinadas do dia, naqueles intervalos que reúnem as condições mais favoráveis de iluminação, temperatura, umidade relativa do ar,

pluviosidade entre outras (SAUNDERS, 1982). Em algumas espécies observa-se uma característica especial do relógio biológico, que é a ocorrência de “gates” (comportas). Um ritmo é “gated” quando o fenômeno, emergência por exemplo, expressa-se exclusivamente durante um intervalo muito curto (“gate”) do dia e se esta expressão não ocorrer, somente 24 horas depois o fenômeno será observado, no mesmo intervalo, como foi proposto por PITTENDRIGH (1966). Segundo o autor, somente o intervalo em que o “gate” se abre reúne as condições ambientais permissivas para a expressão do fenômeno e as outras fases são consideradas “não-permissivas”.

Um verdadeiro ritmo “gated” foi constatado na pupação de *Aedes taeniorhynchus* e esse ritmo, com pico diurno, foi comprovadamente circadiano segundo NAYAR (1967a). Ele observou que a ritmicidade exibe uma forte indicação intrínseca do envolvimento do sistema neuro-endócrino controlando a ecdise pupal.

Arritmicidade nos processos de desenvolvimento

Em *Aedes (Stegomyia) aegypti* Theobald, 1901 foi observado um ritmo na postura (GILLET, 1962) porém não se detectou periodicidade na pupação McCLELLAND & GREEN (1970), nem na emergência de adultos (HADDOW *et al.*, 1959).

Muitas vezes algumas das etapas do processo de desenvolvimento não ocorrem regularmente e portanto não se detecta um ritmo na população. No entanto, não se pode afirmar que um evento não tenha um controle temporal mesmo quando não se observa um padrão rítmico num determinado processo. Por trás de um processo arritmico pode haver processos rítmicos como é o caso da liberação de hormônios. A ecdise em si é arritmica mas a liberação hormonal, que ocorreu no início da muda, pode não ser.

Aedes taeniorhynchus é um exemplo onde o controle temporal ocorre em um evento anterior (NAYAR, 1967a). Nessa espécie, o ritmo de emergência de adultos é um reflexo da pupação que é um ritmo “gated”. Então as emergências são uma decorrência do momento em que se iniciou a metamorfose. Esse tipo de ritmo, que é reflexo de um evento anterior, é denominado “gate” fortuito. Um outro exemplo clássico de “gate” fortuito foi observado por TRUMAN (1972) em estudos com o lepidoptero *Manduca sexta*. Ele detectou que cada ecdise ocorria cada vez mais tarde em relação à ecdise anterior e que a distribuição desses horários na população se ampliava. Ele mostrou que as primeiras mudas larvais eram perfeitamente sincrônicas em uma população, mas a precisão do processo perdia-se nos instares mais adiantados. A explicação para esse fenômeno foi que a ecdise em si não era “gated” mas a liberação do hormônio protoracicotrópico, que acontecia no início de cada muda, era “gated”. À

medida que a larva cresce, mais tempo era necessário para formar a nova e maior cutícula e portanto, completar o desenvolvimento requeria mais tempo. Dessa forma, ecdise de indivíduos mais velhos acontecia mais tarde no dia e o “gate” da muda desaparecia, mesmo sendo mantido aquele de liberação do hormônio protoracicotrópico (PAGE, 1985).

Ritmicidade no desenvolvimento de *Anopheles cruzii* e aspectos do seu ciclo de vida

No caso de *Anopheles cruzii*, os padrões temporais de posturas e dos processos de desenvolvimento pós-embrionário ainda não são conhecidos. Observações de RACHOU (1950) mencionam a possibilidade das posturas e eclosões dos ovos de *Anopheles cruzii* acontecerem durante a noite. Isso aponta para o fato de que, havendo ritmo de alguns dos eventos ligados ao desenvolvimento, provavelmente o pico seria durante a noite, pelo menos, nas posturas e emergência das larvas.

Anopheles cruzii e outras espécies do subgênero *Kerteszia*, são conhecidas pela lentidão de desenvolvimento dos imaturos. Essa espécie efetua suas posturas no interior das rosetas de bromélias onde há acúmulo constante de água. São criadouros permanentes e as condições para o desenvolvimento dos imaturos são favoráveis devido ao ambiente pouco inóspito. Esse tipo de ambiente dá condições aos imaturos de permanecerem mais tempo num determinado instar. ARAGÃO (1968b) verificou que, dependendo da estação do ano, o ciclo de três espécies de *Kerteszia*, inclusive *Anopheles cruzii*, poderia durar até quatro meses no ambiente natural. Em experimentos de laboratório a variação da duração do ciclo de ovo a adulto dessa espécie ficou entre 20 e 35 dias (CORRÊA, 1942 e 1943; WILKERSON & PEYTON, 1991). Sendo assim, cuidados devem ser tomados, sobretudo com a alimentação das larvas, quando se pretende um estudo que envolva as fases de desenvolvimento desse anofelíneo.

Algumas etapas do ciclo de vida dos mosquitos, como a postura e a emergência de adultos, estão relacionadas à atividade de vôo. Isso implica no fato de que o padrão de atividade de vôo de uma população no campo pode estar refletindo diferentes atividades, inclusive de indivíduos com idades distintas como fêmeas à procura de locais para postura, atividades hematofágicas, acasalamento e até mesmo a presença de mosquitos recém-emergidos.

O estudo dos padrões de ocorrência dos eventos ligados à reprodução e ao desenvolvimento dos insetos necessita de um bom conhecimento do ciclo da espécie, sobretudo do tempo de duração desse ciclo e dos ínstaes que o compõem. Esse conhecimento é necessário para se prevenir o momento em que um evento pode acontecer, principalmente nos casos em que as observações são feitas por inspeção visual sem a ajuda de equipamentos automatizados. Em vista do que foi exposto,

para se obter informações sobre a atividade de postura e de alguns eventos relacionados ao desenvolvimento pós-embrionário de *Anopheles cruzii*, estabeleceu-se os seguintes objetivos:

- Observar padrões temporais de postura, das ecdises das fases imaturas e das emergência de adultos evidenciando possíveis ritmos;
- Averiguar o tempo de duração do ciclo das fases de desenvolvimento desse anofelíneo;
- Comparar os padrões temporais de postura e emergência de adultos com os resultados da atividade de vôo no seu habitat natural.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de adultos

Em 25 de janeiro de 1998, na Floresta Atlântica ao sopé da Serra do Marumbi nas proximidades de Morretes, Paraná, 141 fêmeas de *Anopheles cruzii* foram coletadas individualmente em frascos de acrílico (5 cm de altura por 2,5 cm de diâmetro) cujo fundo foi forrado com papel de filtro sobre algodão e tampados com tela. Cuidados foram tomados para não capturar fêmeas ingurgitadas. As fêmeas foram acondicionadas em uma caixa de poliestireno termicamente isolada (isopor) e alimentadas com mel diluído a 5%. A umidade foi mantida com auxílio de toalha úmida e pela umidade provinda do chumaço de algodão embebido em solução alimentar contido em cada frasco. Posteriormente as fêmeas foram transportadas ao laboratório de Ritmos Biológicos do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, para efetuar as observações dos processos de postura, eclosão, mudas, pupação e emergência de adultos.

Detalhes da área de estudo e os procedimentos de captura dos mosquitos foram descritos no Capítulo 1.

Experiência-piloto

Para obter dados confiáveis sobre a sobrevivência das fêmeas de *Anopheles cruzii*, foram efetuados testes no laboratório do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR, de maio a julho de 1996. A longevidade dessa espécie forneceu segurança para transportar fêmeas até o Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo - SP e para a realização dos demais trabalhos de laboratório.

Para o estudo da postura e fenômenos relacionados ao desenvolvimento de *Anopheles cruzii* realizou-se primeiramente uma criação-teste, seguindo sugestões de KAKITANI (1992) e KAKITANI (1997, informação pessoal). Esse estudo foi realizado de maio a julho de 1997 no Museu de Zoologia da USP e possibilitou o domínio da técnica de criação.

Condições de laboratório

A criação dos mosquitos e a maior parte dos experimentos foram conduzidos em condições naturais de fotoperíodo. A temperatura e a umidade relativa do ar foram monitoradas com um termo-higrômetro. Para as observações noturnas foram mantidas acesas noite e dia, durante todo o experimento, duas lâmpadas fluorescentes de 20 Watts revestidas por filtro

vermelho letraset Letravisión modelo LV207 PAF-7 (comprimento de onda 660nm, aproximadamente).

Monitoramento da postura

No laboratório, as fêmeas foram mantidas individualizadas nos mesmos frascos em que vieram do campo e separadas em dois grupos; um que recebia repasto sangüíneo no intervalo 09:00-10:30 h e o outro, no intervalo 18:30-20:00 h. Esse procedimento foi repetido durante três dias consecutivos. Antes da oferta de sangue, as fêmeas eram mantidas em jejum por aproximadamente 24 horas. Após a hematofagia, foi oferecido solução de mel *ad libitum* embebido em um pequeno chumaço de algodão que era substituído a cada 2-3 dias para evitar proliferação de fungos. O monitoramento das fêmeas grávidas era feito a cada 3 horas, durante 3 dias consecutivos para detectar a presença de ovos sobre o papel de filtro. Posteriormente os ovos eram contados e transferidos para bacias com água, devidamente etiquetadas, contendo código da fêmea, horário de jejum, de hematofagia e de postura. Essas bacias eram brancas, com 9,5 cm de diâmetro superior, 8,0 cm de diâmetro inferior e 6 cm de profundidade e continham cada uma, 200 ml de água de baixa salinidade (solução de cloreto de sódio 1%) e alimento floculado para peixes, Tetramin. Água destilada era acrescentada todos os dias para evitar que os ovos aderissem às paredes do recipiente, por tensão superficial, em consequência da evaporação.

Monitoramento da eclosão

Como se conhecem os efeitos adversos da iluminação constante sobre o desenvolvimento do embrião (PITTENDRIGH & DAAN, 1976) e os possíveis deslocamentos de fase provocados por pulsos de luz durante a fase escura, optou-se por não observar as eclosões durante a noite. Deste modo, este processo foi monitorado regularmente a cada 24 horas, no intervalo de 11:00 - 13:00h, quando era possível visualizar as posturas sem interferências mais drásticas. A cada dia as larvas recém-emergidas eram contadas e transferidas para recipientes de 14,5 cm de diâmetro superior, 11,5 cm de diâmetro inferior e 8 cm de profundidade. Um número máximo de 50 larvas era mantido em 400 ml de água. Da mesma forma que para os ovos, também era usada água salinizada com cloreto de sódio a 1% e o mesmo alimento floculado para peixes. A água era trocada a cada três dias ou sempre que houvesse fermentação do alimento.

Monitoramento do desenvolvimento larval

As larvas de 1^o ao 3^o instar foram observadas diariamente e contado o número de exúvias.

Um lote de 114 larvas de 3^o instar foi monitorado durante três dias consecutivos em intervalos de quatro horas. A cada intervalo horário, eram registradas as larvas que passavam para o 4^o instar.

Monitoramento da pupação

Um total de 120 larvas de 4^o instar foi observado a cada hora durante 3 dias consecutivos. Em seguida, as pupas eram individualizadas em pequenos tubos de 2,0 cm de diâmetro por 4,5 cm de altura, contendo água destilada. Esses tubos eram colocados dentro de frasco de vidro com 4,0 cm de diâmetro por 8,5 cm de altura tampados com tela afixada por elástico.

Monitoramento da emergência de adultos

Um lote de 145 pupas individualizadas foi monitorado a cada 30 minutos durante 4 dias consecutivos (96 horas) para observação da emergência dos adultos.

Análise estatística

Foram realizadas análises descritivas como percentuais, médias e desvios padrões e os resultados foram organizados em tabelas e figuras.

Para o estudo dos ritmos de postura, pupação e emergência de adultos de *Anopheles cruzii*, os dados foram organizados em séries temporais e analisados através de técnicas de estatística circular. A hipótese de presença e ausência de ritmo foi verificada pelo teste de Rayleigh (BATSCHELET, 1981; ZAR, 1996) ao nível de significância de 5%. Esse teste mostra a hora média do pico de ocorrência (média), tamanho do vetor resultante (R), coeficiente de correlação (r), tamanho da amostra (n) e desvio padrão (s) em horas. A significância é verificada pelo valor de nr^2 , sendo significativos valores maiores do que 3,0. Os resultados foram obtidos com auxílio do programa "Circular" (RAMOS, 1998) desenvolvido em Visual Basic. O teste de Watson & Williams também foi aplicado através do programa "Circular". Este teste compara os ângulos médios dos vetores de duas amostras e possibilita a detecção de diferenças significativas

entre elas. Para esse teste, o valor crítico de F' (valor tabelado de distribuição de frequência) é 4,00, ou seja, valores de F' abaixo do valor crítico indicam que diferença entre as amostras não é significativa ($\alpha = 0,05$).

A representação gráfica dada pela estatística circular mostra o momento em que um determinado evento acontece. A circunferência representa o período de 24 horas correspondendo a 360° , assim, 1 hora é 15° , e meio dia é 180° . Cada pequena circunferência que se distribui ao redor do círculo grande representa o evento observado em determinado intervalo horário, ou seja a postura, a eclise ou a emergência. Esses eventos são distribuídos conforme o intervalo em que ocorrem e os dias são representados pelas cores dessas pequenas circunferências. A significância provém das coordenadas retangulares e polares que levam a um vetor resultante. Para a análise são importantes a magnitude e a direção desse vetor. Quanto maior o tamanho do vetor, mais significativo é o pico de ocorrência dos dados no horário em que o vetor está apontado. A linha cheia que aparece no interior da circunferência denota o desvio padrão da distribuição dos dados.

RESULTADOS

Postura

Durante o processo de postura, a temperatura ambiente manteve-se em $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa do ar em 57 a 81%. Apesar de as fêmeas ficarem mantidas dentro dos frascos, elas realizavam movimentos na forma de episódios de vôo. Após a ingestão de sangue, observou-se que elas realizavam poucos movimentos e esse comportamento se manteve até a postura.

Um total de 1063 ovos foram colocados por 36 fêmeas em 65 posturas (Apêndices 9 e 10). O número médio de ovos por postura foi de 16,35 ovos, entre números que variaram de 1 a 78. Dessas posturas, 33 (50,78%) totalizaram de 1 a 29 ovos e 83,08% do total tiveram menos de 59 ovos (Tabela I). Considerando o número de ovos por fêmea, a média foi de 29,53 ovos.

Tabela I. Distribuição de freqüências do número de ovos por postura de *Anopheles cruzii* em laboratório sob fotoperíodo natural, temperatura ambiente $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar 57 a 81%.

Número de ovos	Freqüências			
	Absoluta	Relativa (%)	Absoluta acumulada	Relativa acumulada (%)
1-14	38	23,08	15	23,08
15-29	15	27,70	33	50,77
30-44	7	10,77	40	61,54
45-59	3	21,54	54	83,08
60-74	1	9,23	60	92,31
75-89	1	7,70	65	100,00
Total	65	100		

Das 36 fêmeas que realizaram posturas, 18 (50%) colocaram seus ovos num lote único e as 18 (50%) restantes, em diferentes horários ou até mesmo em diferentes dias. Das fêmeas que puseram ovos parceladamente, 10 o fizeram em duas vezes, 5 em três vezes e 3 delas em quatro vezes (Apêndices 9 e 10 e 11). O intervalo de tempo entre as posturas parceladas foi bastante variável e não seguiram um padrão (Apêndice 11).

Aspectos cronobiológicos

Nas observações a cada três horas por três dias consecutivos, foram contadas 58 posturas, sendo que a estatística circular revelou a presença de um ritmo validado pelo teste de Rayleigh. A acrofase ocorreu em média às 23:24 h com desvio padrão de 3:47 h para todos os dados de postura, sendo que o intervalo do pico foi entre 21:00-24:00 h (Tabela II, Figura 1 e 2). Separando os dados em dois lotes, de acordo com os grupos que receberam repasto sanguíneo em momentos diferentes do dia, observou-se que, para o grupo de repasto 9:00-10:30 h, a acrofase da postura ocorreu às 00:13 h com desvio de 3:55 h e para o grupo de repasto 18:30-20:00 h, a acrofase foi às 22:36 h com desvio de 3:24 h (Figuras 3). Pelo teste de Watson & Williams, constatou-se que as diferenças entre os grupos não foram significativas. O valor de F foi 1,45 e isso significa que ficou abaixo do valor crítico para esse teste, que é $F = 4,00$. Isso significa que o momento em que a postura ocorreu era independente da hora em que a fêmea alimentou-se. As figuras 1, 2 e 3, apesar de representarem dados e métodos de análise diferentes, em todas é possível identificar um claro ritmo circadiano de postura, com pico acontecendo no intervalo das 21:00 à 0:00 h (Figura 1).

Tabela II. Números e percentuais de posturas de *Anopheles cruzii* observados em laboratório, a cada três horas, sob fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar 57 a 81%, durante três dias consecutivos.

Intervalos horários	Dias						Total
	1º	%	2º	%	3º	%	
06:00-09:00	0	0,00	4	13,79	2	14,29	6
09:00-12:00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
12:00-15:00	0	0,00	2	6,90	0	0,00	2
15:00-18:00	3	20,00	2	6,90	1	7,14	6
18:00-21:00	3	20,00	5	17,24	4	28,57	12
21:00-00:00	7	46,67	11	37,93	6	42,86	24
00:00-03:00	0	0,00	2	6,90	1	7,14	3
03:00-06:00	2	13,33	3	10,34	0	0,00	5
Total	15	100	29	100	14	100	58

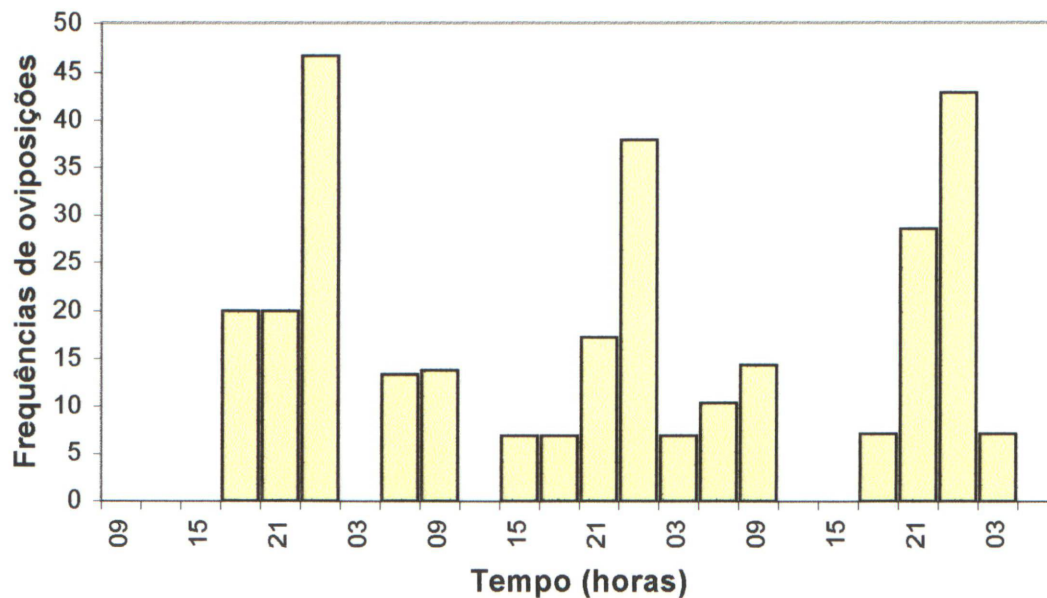


Figura 1. Frequências de posturas de *Anopheles cruzii* nos três dias consecutivos a intervalos de três horas, sob fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 57 a 81%.

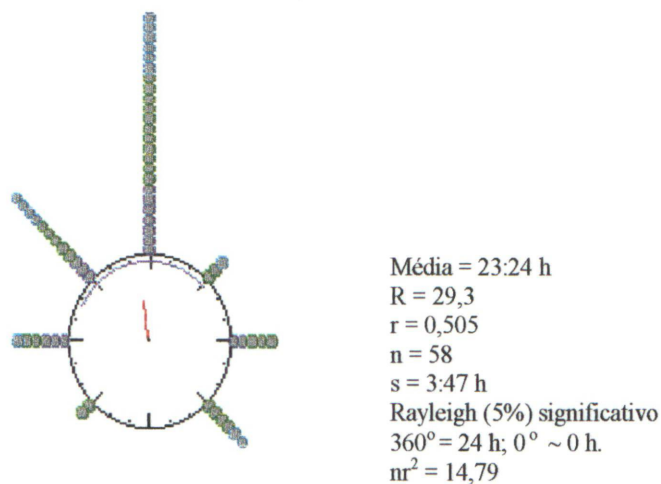


Figura 2. Distribuição horária da postura de *Anopheles cruzii* nas 24 horas do dia com observações em intervalos de 3 horas durante 72 horas consecutivas. Fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar 57 a 81%.

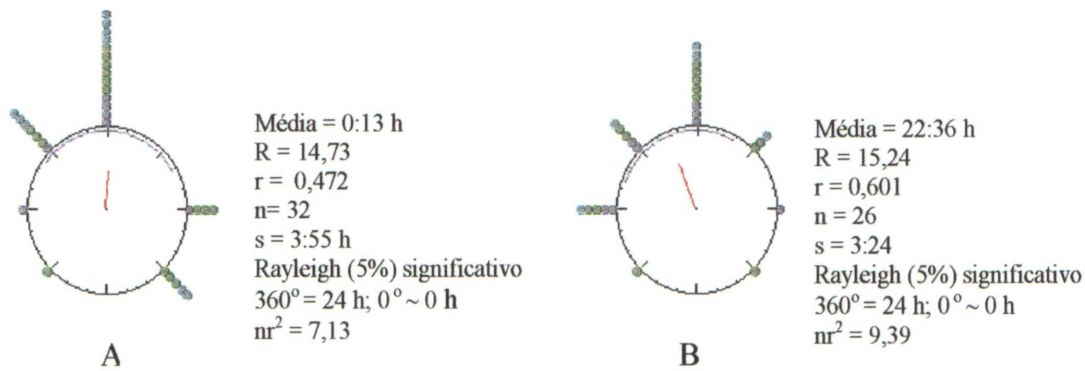


Figura 3. Distribuição horária da postura de *Anopheles cruzii* nas 24 horas do dia com observações em intervalos de 3 horas durante 72 horas consecutivas. (A) Repasto sanguíneo realizado 09:00 - 10:30h e (B) 18:30 - 20:00h. Fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar 57 a 81%.

Eclosão dos ovos e ecdises larvais

Dos 1063 ovos, 667 (62,75%) eclodiram. Detalhes dos percentuais de eclosão por fêmea estão no Apêndice 9 e os percentuais por postura, no Apêndice 10. Os percentuais de emergência das larvas foram bastante heterogêneos, variando de zero a 100% dos ovos de uma determinada fêmea ou lote de ovos.

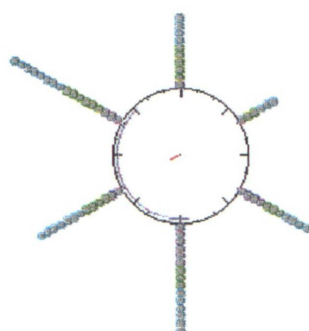
Nos dois primeiros dias após a emergência, as larvas eram muito pequenas e difíceis de serem visualizadas. Aquelas recém-emergidas dificilmente eram vistas sem o auxílio de uma lupa. Durante o 1º ínstar, observou-se que as larvas tiveram crescimento acentuado antes de passarem para o 2º ínstar. No 2º ínstar, elas proporcionalmente cresceram menos do que no primeiro e em seguida já passaram para o 3º ínstar. No 3º e 4º ínstars foi observado que as larvas adquiriam coloração de acordo com a cor do alimento oferecido. Aquelas que se alimentavam de flocos esverdeados adquiriam coloração esverdeada e as que ingeriam flocos de cor vermelha ficavam com coloração avermelhada. Quando próximas à pupação, as larvas tornavam-se mais escuras e além disso, também diminuíam a movimentação. E um fato que foi observado quanto a movimentação das larvas, independente do ínstar, é que elas respondem mais intensamente na fase clara do que na fase escura do dia.

Das 667 larvas que emergiram, 446 (66,87 %) chegaram ao 4º ínstar e dessas foram sacrificadas 140, seguindo-se com a criação, um total de 306 larvas. Durante o processo de

desenvolvimento larval, a temperatura no laboratório foi de $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa do ar variou entre 57 e 81%. De acordo com o teste de Rayleigh, as 72 larvas de 3^o ínstar, observadas a cada quatro horas durante três dias consecutivos, não mostraram um ritmo de ecdise para o 4^o ínstar larval (Tabela III, Figura 4).

Tabela III. Números e percentuais de ecdise de 3^o para 4^o ínstar larval de *Anopheles cruzii* observados em laboratório a cada quatro horas, durante três dias consecutivos, sob fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa entre 57 e 81%.

Intervalos horários	Dias						Total
	1 ^o	%	2 ^o	%	3 ^o	%	
12:00-16:00	2	11,76	4	17,39	7	21,88	13
16:00-20:00	3	17,65	6	26,09	8	25,00	17
20:00-00:00	1	5,88	5	21,74	4	12,50	10
00:00-04:00	1	5,88	2	8,70	3	9,37	6
04:00-08:00	4	23,54	3	13,04	4	12,50	11
08:00-12:00	6	35,29	3	13,04	6	18,75	15
Total	17	100	23	100	32	100	72



Média = 16:15 h
 R = 12,53
 r = 0,17
 n = 72
 s = 4:54 h
 Rayleigh (5%) não significativo
 $360^{\circ} = 24 \text{ h}; 0^{\circ} \sim 0 \text{ h}$
 $nr^2 = 2,08$

Figura 4. Distribuição horária da ecdise de 3^o para 4^o ínstar larval de *Anopheles cruzii* nas 24 horas do dia com observações em intervalos de 4 horas durante 72 horas consecutivas. Fotoperíodo natural, temperatura $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa entre 57 e 81%.

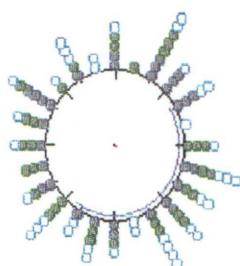
Pupação

As 306 larvas que alcançaram o 4^o ínstar chegaram a pupa. Durante a pupação a temperatura foi de $24,6 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa do ar variou entre 72 e 87%. Das 306 larvas, 103 foram isoladas para observações das pupações, onde constatou-se que elas não apresentavam um ritmo. Essas observações foram validadas pelo teste de Rayleigh (Tabela IV e Figura 5). Tanto as larvas como também as pupas, reagiam a estímulos. Se não incomodadas, as pupas permaneciam flutuando e imóveis. No início da fase pupal, os indivíduos possuíam coloração avermelhada que

escurecia gradualmente a cada dia. Quando próximas à emergência, adquiriam uma coloração negra.

Tabela IV. Números e percentuais de pupação de *Anopheles cruzii* observados em laboratório a cada hora durante três dias consecutivos sob fotoperíodo natural, temperatura $24,6 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 72 e 87%.

Intervalos horários	Dias						Total
	1 ^o	%	2 ^o	%	3 ^o	%	
17:00-18:00	1	3,23	2	6,06	1	2,56	4
18:00-19:00	1	3,23	2	6,06	1	2,56	4
19:00-20:00	4	12,90	1	3,03	1	2,56	6
20:00-21:00	0	0,00	1	3,03	1	2,56	2
21:00-22:00	1	3,23	1	3,03	3	7,69	5
22:00-23:00	0	0,00	0	0,00	2	5,13	2
23:00-00:00	2	6,45	2	6,06	1	2,56	5
00:00-01:00	0	0,00	1	3,03	0	0,00	1
01:00-02:00	3	9,67	3	9,09	2	5,13	8
02:00-03:00	3	9,67	0	0,00	1	2,56	4
03:00-04:00	3	9,67	0	0,00	2	5,13	5
04:00-05:00	0	0,00	0	0,00	1	2,56	1
05:00-06:00	0	0,00	3	9,09	1	2,56	4
06:00-07:00	2	6,45	2	6,06	3	7,69	7
07:00-08:00	1	3,23	2	6,06	2	10,26	5
08:00-09:00	2	6,45	2	6,06	2	5,13	6
09:00-10:00	1	3,23	2	6,06	4	10,26	7
10:00-11:00	0	0,00	0	0,00	2	5,13	2
11:00-12:00	2	6,45	1	3,03	1	2,56	4
12:00-13:00	1	3,23	2	6,06	2	5,13	5
13:00-14:00	1	3,23	0	0,00	2	5,13	3
14:00-15:00	0	0,00	3	9,09	3	7,69	6
15:00-16:00	2	6,45	1	3,03	1	2,56	4
16:00-17:00	1	3,23	2	6,06	0	0,00	3
Total	31	100	33	100	39	100	103



Média = 8:58 h
R = 6,82
r = 0,066
n = 103
s = 5:13 h
Rayleigh (5%) não significativo
 $360^{\circ} = 24 \text{ h}; 0^{\circ} \sim 0 \text{ h}$
 $nr^2 = 0,45$

Figura 5. Distribuição horária da pupação de *Anopheles cruzii* nas 24 horas do dia com observações em intervalos de 1 hora durante 72 horas consecutivas. Fotoperíodo natural, temperatura $24,6 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 72 e 87%.

Emergência de adultos

Das 306 pupas, 11 morreram e, portanto, emergiram um total de 295 mosquitos; desses, 156 eram machos e 139 eram fêmeas. Durante o processo de emergência de adultos, a temperatura foi de $25,2 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$ e a umidade relativa do ar variou entre 65 e 86%. Um lote de 145 pupas de *Anopheles cruzii* foi observado durante quatro dias consecutivos com monitoramento a cada 30 minutos, no entanto não se detectou um ritmo de emergência (Tabela V e Figura 6). Nesse caso, o teste de Rayleigh resultou significativo devido ao elevado número de mosquitos observados, e o nr^2 foi de 3,67 ultrapassando o valor 3,0 que delimita a significância do teste. No entanto, pode-se observar pela Figura 5 que o “r” foi extremamente pequeno (0,159).

Durante as observações, a ocorrência da emergência parecia distribuir-se de modo praticamente uniforme ao longo do dia (Figura 6). No entanto, nos dois últimos dias de observação, quando aconteceram fortes tempestades à tarde, verificou-se um súbito aumento no número de emergências nas horas que antecederam as chuvas.

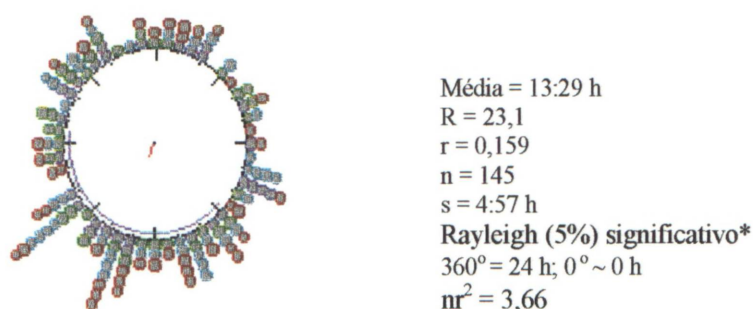


Figura 6. Distribuição horária da emergência de *Anopheles cruzii* nas 24 horas do dia com observações em intervalos de 30 minutos durante 96 horas consecutivas. *O teste de Rayleigh foi significativo devido ao nr^2 ser maior do que 3,0, no entanto, o valor de “r” é pequeno para se considerar um ritmo. Fotoperíodo natural, temperatura $25,2 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 65 e 86%.

Tabela V. Números e percentuais de emergência de adultos de *Anopheles cruzii* observados em laboratório a cada 30' durante quatro dias consecutivos, sob fotoperíodo natural, temperatura $25,2 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 65 e 86%.

Intervalos horários	Dias								Total
	1º	%	2º	%	3º	%	4º	%	
19:30-20:00	2	6,67	0	0,00	2	5,13	0	0,00	4
20:00-20:30	1	1,33	2	5,88	0	0,00	1	2,38	4
20:30-21:00	0	0,00	1	2,94	2	5,13	0	0,00	3
21:00-21:30	1	1,33	1	2,94	0	0,00	1	2,38	3
21:30-22:00	2	6,67	1	2,94	1	2,56	1	2,38	5
22:00-22:30	0	0,00	1	2,94	0	0,00	0	0,00	1
22:30-23:00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
23:00-23:30	1	1,33	1	2,94	1	2,56	1	2,38	4
23:30-00:00	0	0,00	1	2,94	0	0,00	1	2,38	2
00:00-00:30	0	0,00	1	2,94	1	2,56	1	2,38	3
00:30-01:00	1	1,33	0	0,00	0	0,00	2	4,76	3
01:00-01:30	1	1,33	0	0,00	1	2,56	1	2,38	3
01:30-02:00	2	6,67	0	0,00	1	2,56	1	2,38	4
02:00-02:30	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
02:30-03:00	0	0,00	1	2,94	1	2,56	0	0,00	2
03:00-03:30	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	2,38	1
03:30-04:00	0	0,00	2	5,88	0	0,00	0	0,00	2
04:00-04:30	1	1,33	1	2,94	0	0,00	1	2,38	3
04:30-05:00	0	0,00	1	2,94	1	2,56	0	0,00	2
05:00-05:30	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	2,38	1
05:30-06:00	1	1,33	0	0,00	0	0,00	1	2,38	2
06:00-06:30	0	0,00	0	0,00	1	2,56	0	0,00	1
06:30-07:00	0	0,00	0	0,00	4	10,26	0	0,00	4
07:00-07:30	4	1,33	0	0,00	0	0,00	1	2,38	5
07:30-08:00	0	0,00	1	2,94	1	2,56	0	0,00	2
08:00-08:30	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	4,76	2
08:30-09:00	1	1,33	1	2,94	1	2,56	1	2,38	4
09:00-09:30	1	1,33	1	2,94	1	2,56	2	4,76	5
09:30-10:00	0	0,00	1	2,94	1	2,56	1	2,38	3
10:00-10:30	1	1,33	1	2,94	3	7,69	0	0,00	5
10:30-11:00	0	0,00	0	0,00	2	5,13	3	7,14	5
11:00-11:30	0	0,00	1	2,94	0	0,00	1	2,38	2
11:30-12:00	0	0,00	1	2,94	1	2,56	1	2,38	3
12:00-12:30	0	0,00	1	2,94	1	2,56	1	2,38	3
12:30-13:00	2	6,67	1	2,94	0	0,00	3*	7,14	6
13:00-13:30	1	1,33	1	2,94	3	7,69	3*	7,14	8
13:30-14:00	1	1,33	0	0,00	1	2,56	1*	2,38	3
14:00-14:30	2	6,67	1	2,94	0	0,00	0	0,00	3
14:30-15:00	0	0,00	1	2,94	0	0,00	0	0,00	1
15:00-15:30	1	1,33	2	5,88	4*	10,26	2	4,76	9
15:30-16:00	1	1,33	0	0,00	2*	5,13	2	4,76	5
16:00-16:30	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
16:30-17:00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	4,76	2
17:00-17:30	1	1,33	1	2,94	0	0,00	1	2,38	3
17:30-18:00	0	0,00	1	2,94	1	2,56	1	2,38	3
18:00-18:30	0	0,00	2	5,88	0	0,00	0	0,00	2
18:30-19:00	1	1,33	2	5,88	0	0,00	0	0,00	3
19:00-19:30	0	0,00	0	0,00	1	2,56	0	0,00	1
Total	30	100	34	100	39	100	42	100	145

* Valores que se elevaram pouco antes de chuva intensa.

Duração das fases de desenvolvimento

Das 141 fêmeas coletadas, 113 sobreviveram às condições de transporte do campo ao laboratório. Dessas, 79 ingurgitaram, sendo que 36 (45,57%) realizaram posturas. A partir dos ovos assim obtidos, acompanhou-se o desenvolvimento deste anofelíneo até a fase adulta. Para a avaliação do ciclo foram utilizadas 446 larvas que chegaram até o 4º instar e a partir de 306 pupas atingiram adulto um total de 295. Durante todo o processo de criação a temperatura do laboratório foi de $24,2 \pm 1,8^\circ\text{C}$ e a umidade relativa do ar variou entre 50 e 87%.

A Tabela VI mostra os tempos médios e desvios padrão, em dias, de cada estágio de desenvolvimento embrionário e pós-embrionário de *Anopheles cruzii*. Essa tabela foi elaborada a partir do Apêndice 8, que inclui todos os dados obtidos durante a criação, com as correções de acordo com os horários em que cada etapa foi observada. A média do tempo entre o repasto sangüíneo e a postura foi de 4,36 ($s = 0,78$) dias. A fase de ovo durou em média 4,36 ($s = 1,00$) e a larval 23,56 ($s = 1,89$) dias. Dos instares larvais, as maiores médias de duração foram verificadas no primeiro e quarto instares. Quanto à fase de pupa, esta foi mais curta do que as outras fases, verificando-se a emergência em 3,20 ($s = 0,76$) dias. O tempo total para esse anofelíneo completar o ciclo foi de 30,71 ($s = 3,57$) dias.

Tabela VI. Médias e desvios padrão, em dias, das fases de desenvolvimento de *Anopheles cruzii* criado em laboratório sob fotoperíodo natural, temperatura $24,2 \pm 1,8^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar entre 50 e 87%.

Tempo médio de:	Média (dias)	Desvio Padrão (dias)
Repasto a postura	4,36	0,78
Fase de ovo	4,36	1,00
1º instar	16,52	2,91
2º instar	3,63	1,21
3º instar	4,50	1,21
4º instar	7,84	1,25
Desenvolvimento pupal	3,20	0,76
Desenvolvimento larval	23,56	1,89
Eclosão ao adulto	26,38	3,56
Total de desenvolvimento pós embrionário	30,71	3,57
Repasto a adulto	34,43	3,58

DISCUSSÃO

Fases do desenvolvimento

a. Postura

No presente estudo, o tempo médio de 4,36 ($s = 0,78$) dias, que as fêmeas de *Anopheles cruzii* levaram para a colocarem seus ovos após a hematofagia, foi menor do que o tempo esperado de 6 a 7 dias (KAKITANI, 1992). Uma possibilidade para explicar a diferença do tempo entre repasto e postura no presente trabalho é o fato de os indivíduos terem sido trazidos do campo e, apesar dos cuidados para não capturar fêmeas ingurgitadas, é possível que algumas delas tenham realizado repasto prévio antes da captura. No entanto, esse fato só poderá ser confirmado com estudos sobre o desenvolvimento dos folículos em fêmeas provenientes dessa mesma localidade. O motivo para isso é que se *Anopheles cruzii* for realmente um complexo (RAMIREZ, 1994), as linhagens podem apresentar diferenças nas condições reprodutivas como acontece com o complexo *Culex pipiens* (SHINKAWA *et al.*, 1994).

No caso de *Anopheles (Kerteszia) neivai* Howard, Dyar & Knab, 1912 (1913) estudado por BAERG & MELVIN (1974), as posturas só foram conseguidas a partir de uma segunda ou terceira ingestão sangüínea e as fêmeas colocaram seus ovos 4-5 dias depois. Resultado semelhante encontraram MURILLO *et al.* (1989) com a mesma espécie, que levou 4 ¼ dias para ovipositar após uma segunda hematofagia. Esse é provavelmente o tempo médio requerido por essa espécie para a maturação dos folículos e mostrou-se semelhante ao conseguido no presente trabalho. A diferença é que em *Anopheles cruzii*, o desenvolvimento folicular é completado com uma única hematofagia.

O número médio de ovos por postura no presente trabalho foi menor do que o observado por RACHOU (1950). Esse autor obteve uma média de 67,3 ovos com um máximo de 176 e mínimo de 12 ovos num mesmo processo. Na presente investigação, considerando o número médio de ovos por fêmea, a média aumenta de 16,35 para 29,53 ovos mas, mesmo assim a diferença entre os dois trabalhos ainda é grande. É possível que esse fato seja ligado a alguma condição ambiental ou fisiológica. Associado a isto, o fato de as fêmeas terem efetuado posturas parceladas pode ser uma indicação de uma condição de estresse, pois, como as observações eram realizadas em intervalos rígidos, a interferência das condições necessárias à observação pode ter causado a suspensão momentânea do processo. Com a interrupção, a postura continuaria no

intervalo seguinte ou mais tarde. Esse fato foi observado algumas vezes, pela diferença de horas entre uma postura e outra, como pode ser visto no Apêndice 11. A retenção de ovos é um fato observado por GILLET (1962) e ocorre em *Aedes aegypti*. Para essa espécie, os ovos podem ficar retidos e serem colocados antes ou depois da realização da próxima alimentação sanguínea. Apesar disso, existe a possibilidade de *Anopheles cruzii* efetuar realmente suas posturas de forma parcelada no ambiente natural. Esse fato pode significar uma estratégia da espécie para distribuir seus ovos por diversos criadouros, usada como recurso para garantir a procriação. A distribuição parcelada dos ovos poderia ter essa explicação, além da mortalidade natural e predação, para o fato de a densidade larval por bromélia ser tão baixa. Esse fato foi observado por RACHOU *et al.* (1949b) em Brusque, Santa Catarina, onde obtiveram 0,46 larvas por bromélia examinada (2,46 por bromélia positiva) e também por FORATTINI *et al.* (1961) com 0,26 larvas por bromélia em Cananéia, São Paulo.

b. Desenvolvimento embrionário

A média de 4,36 ($s = 1,00$) dias de duração da fase de ovo em *Anopheles cruzii* observada neste estudo ficou dentro do esperado para a espécie e dos valores obtidos por outros autores. CORRÊA (1942) obteve em seus experimentos, duração de três dias da fase de ovo, e RACHOU (1950), de 2-18 dias, sendo 5 dias a duração mais freqüente. MURILLO *et al.* (1989) obtiveram, com *Anopheles neivai*, uma média 3,17 dias. Isso indica que essa fase possui duração semelhante para ambas as espécies supra citadas do subgênero *Kerteszia*.

RACHOU (1950) obteve um percentual de eclosão dos ovos de *Anopheles cruzii* de 34,8% (5410 ovos e 1884 larvas emergidas), que foi bem menor do que os 62,75% (1063 ovos e 667 larvas emergidas) no presente estudo. As razões para essa diferença são difíceis de avaliar, pois esse autor não discute em que condições os ovos foram mantidos. Esta diferença pode estar relacionada por exemplo com a dessecação dos ovos, pois eles facilmente aderem às paredes do recipiente no processo natural de evaporação da água.

c. Larvas e pupas

De acordo com BAERG & MELVIN (1974), a fase larval de *Anopheles neivai* foi de 20 a 30 dias. Trabalhando com a mesma espécie, MURILLO *et al.* (1989) obtiveram duração média de 20 dias, ou seja um tempo médio um pouco menor. Esses últimos autores atribuem tal diferença à temperatura, que foi mantida mais baixa no trabalho de BAERG & MELVIN (1974). A duração da

fase larval em torno de 20 dias parece ser uma característica comum às duas espécies, *Anopheles neivai* e *Anopheles cruzii*, cuja média foi de 23,56 ($s = 1,89$) dias. Possivelmente essa duração média deve ser semelhante às outras espécies do subgênero *Kerteszia*.

CORRÊA (1942) registrou uma duração de 15 dias da fase larval de *Anopheles cruzii*. A diferença com o presente estudo (23,56, $s=1,89$ dias) deve-se principalmente à duração do primeiro ínstar larval, que o autor mostrou ser de apenas 5 dias, ou seja, bem mais curta em relação à média de 16,52 dias obtida neste trabalho. É possível que essa diferença seja devida à grande variação das condições ambientais durante o desenvolvimento. Segundo os estudos da fisiologia do crescimento realizados por NAYAR (1967a, 1967b) com *Aedes taeniorhynchus*, onde a quantidade de alimento disponível para as larvas é um dos principais fatores controladores do padrão de duração do crescimento, além da densidade populacional, variação fotoperiódica e a salinidade da água. Assim uma possível explicação para a diferença do tempo de duração da fase larval, pode estar relacionada à alimentação das larvas e temperatura em que a criação foi mantida. CORRÊA (1942) utilizou coalhada lavada como alimento, diferindo do presente estudo em que foi utilizada a ração de peixe. Uma causa mais provável da diferença dos resultados obtidos por CORRÊA (1942) talvez seja a variação muito acentuada da temperatura ambiente que o autor diz ter sido de 10 °C (variando entre 20 e 30°C). Esta variação pode provocar uma aceleração dos processos metabólicos subjacentes ao desenvolvimento (CHAPMAN, 1982).

Os dados aqui apresentados estão de acordo com os de MURILLO *et al.* (1989) que também detectaram uma duração maior do primeiro ínstar, bem como do quarto ínstar larval em *Anopheles neivai*. É importante salientar que os dados de ARAGÃO (1968b) corroboram com estas durações diferentes em estudos de campo, em que observou que as larvas de primeiro e quarto ínstares, de algumas espécies de *Kerteszia*, eram mais abundantes que as dos demais ínstares. Nesses ínstares ocorre maior crescimento das larvas, e isso provavelmente se deve ao fato de que as reservas armazenadas nas larvas de insetos holometábolos são utilizadas principalmente durante a metamorfose, quando os tecidos do adulto são formados. Cada ínstar tem sua duração, o que parece refletir uma variação no balanço nutricional devido à variação da necessidade de cada ínstar. A larva de primeiro ínstar de *Anopheles cruzii* necessita da alimentação para seu crescimento e a do quarto ínstar, deve estar acumulando reservas no corpo gorduroso como preparo antecipado para a fase de pupa.

O desenvolvimento dos caracteres adultos depende do grau de modificação da larva e em geral, em Diptera, os tecidos são quase totalmente reconstruídos após histólises e fagocitoses dos tecidos larvais (CHAPMAN, 1982). Apesar dessas transformações drásticas, *Anopheles cruzii* permanece por bem pouco tempo na fase de pupa, quando se compara com a duração dos ínstares

larvais. CORRÊA (1942) detectou uma duração de dois dias para as pupas desse anofelíneo e WILKERSON & PEYTON (1991) uma duração de três dias. No presente estudo, a duração em *Anopheles cruzii* coincidiu com a de *Anopheles neivai*, observada por MURILLO *et al.* (1989), em exatamente 3,20 dias, diferindo apenas no desvio padrão de 0,76 dias para os 0,69 obtidos por esses autores. O tipo de ambiente aquático ocupado pelas fases imaturas da maioria das espécies do subgênero *Kerteszia* é comum a diversos grupos animais e provavelmente muitos deles devem ser predadores. Sendo assim, um rápido desenvolvimento pupal, associado à necessidade de evitar gastos de energia com movimentações representa uma provável estratégia da espécie para evitar predação nessa fase do ciclo.

d. Duração do ciclo

Os registros de duração entre postura até a emergência de adultos variam pouco nos diferentes trabalhos e entre os representantes do subgênero *Kerteszia*. A média de 30,71 (s = 3,57) dias, obtida no presente estudo, pouco difere do resultado de WILKERSON & PEYTON (1991) com *Anopheles cruzii* proveniente de coletas em Iguape, São Paulo. Apesar desses autores não registrarem as condições de criação, pois a criação não era o objetivo do trabalho deles, e assim mesmo obtiveram um total de 35 dias para o ciclo. MURILLO *et al.* (1989), na Colômbia, em trabalho com *Anopheles neivai*, observaram 35 dias entre a fase de ovo e adulto. Esses resultados também não diferiram significativamente daqueles registrados por BAERG & MELVIN (1974) com a mesma espécie no Panamá onde obtiveram um total de quatro a cinco semanas na duração do ciclo. O ciclo mais curto de um *Kerteszia* foi observado por CORRÊA (1942) com *Anopheles cruzii*, totalizando 20 dias e que é reflexo da curta duração do primeiro instar larval e da pupa, como discutido anteriormente.

Ritmicidade no processo de postura de *Anopheles cruzii*

A maioria dos estudos de posturas em anofelíneos aponta para um padrão noturno com intervalos de pico que variam conforme a espécie. O pico em *Anopheles (Lophopodomyia) albimanus* Wildemann, 1821 segundo CHADEE *et al.* (1993), ocorre entre 24:00-02:00 horas. CHADEE & BEIER (1996) detectaram um pico noturno de postura de *Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi* (Peryassú) 1922, ocorrendo entre 22:00 e 2:00 h. No caso de *Anopheles (Nyssorhynchus) aquasalis* Curry, 1932 o pico de postura foi um pouco mais tarde, entre 24:00 e 04:00 h (CHADEE & MOHAMMED, 1996). No presente estudo, as posturas de

Anopheles cruzii mostraram um ritmo com um pico também noturno, porém mais cedo do que as espécies supra citadas. A maior incidência verificada no intervalo de 21:00-24:00 h significa que as fêmeas colocaram seus ovos principalmente entre 2 e 5 horas após o anoitecer.

GILLET (1962), trabalhando com *Aedes aegypti*, observou um ritmo “gated” no processo de postura. Esse autor observou intervalos de 55 horas (2,29 dias) entre a alimentação sangüínea e as posturas e detectou um intervalo de 24 horas entre as posturas. Em *Aedes krombeini*, JOSHI (1996) também observou “gates” em posturas de duas linhagens dessa espécie. Com relação a *Anopheles cruzii*, na presente pesquisa, foi detectado que o intervalo entre hematofagia e postura foi de 4,36 dias e o horário da hematofagia não interfere significativamente no horário da postura. Nos anofelíneos acima referidos ocorre um ritmo, no entanto, ele não é “gated”. Quando foram observados intervalos entre as posturas, daquelas fêmeas que colocaram ovos parceladamente, também não ocorreu um ritmo “gated” caracterizado, pois não foram detectados intervalos fixos entre uma postura e outra.

É comum os picos de oviposição estarem associados aos picos de atividade locomotora, ou seja, ambos ocorrem no mesmo pulso de atividade. Do ponto de vista adaptativo, segundo BRADY (1981), isto implica que a oviposição depende do ritmo de atividade. No caso de mosquitos, esse fato foi observado em diversas espécies, como *Anopheles gambiae* (JONES & GUBBINS, 1978; JONES *et al.*, 1972), *Anopheles oswaldoi* (CHADEE & BEIER, 1996) e *Anopheles aquasalis* (CHADEE & MOHAMMED, 1996). No presente estudo, *Anopheles cruzii* também mostra um pico de postura associado ao pico principal de atividade de vôo (Capítulo 1), porque ambos ocorrem na primeira metade da noite e aproximadamente no mesmo intervalo.

Arritmicidade em processos de desenvolvimento de *Anopheles cruzii*

A vinculação da emergência do imago a um “gate” levaria a pensar na possibilidade de a hora da emergência manter um intervalo fixo com o momento da pupação, como verificado em *Aedes taeniorhynchus* por NAYAR (1967a). Para essa espécie, o relógio da larva controla o “gate” de pupação e as emergências, por “gate” fortuito, ou seja, existe um intervalo rígido que não é ativamente controlado pelo relógio, mas apenas representa o tempo necessário para o desenvolvimento completar-se. No entanto, quando foi observado que as pupações de *Anopheles cruzii* não apresentavam ritmo, era de se esperar, como foi o resultado, que as emergências também não seriam rítmicas. Com essas observações, surge a pergunta: “se existe um processo rítmico no desenvolvimento de *Anopheles cruzii*, onde ele poderia estar? ”

A falta de ritmicidade nas ecdises e emergências observadas em *Anopheles cruzii* leva a crer

que possa estar ocorrendo um controle hormonal em instares iniciais, como sugerido por TRUMAN (1972) no Lepidoptera *Manduca sexta*. Como no anofelíneo não foi detectada ritmicidade na ecdise de 3º para 4º instar, isto sugere que possivelmente haja um ritmo relacionado à emergência da larva ou então na primeira ou segunda muda, com a liberação do hormônio protoracicotrópico proveniente das células neurosecretoras medianas do cérebro. Esse ritmo de liberação hormonal geralmente é “gated” e pode estar se refletindo, como num “gate” fortuito, nas mudas posteriores. Conforme aumenta o tamanho da larva, aumenta o tempo para formar a nova cutícula e o ritmo acaba se diluindo nos instares posteriores, inclusive na emergência dos adultos.

Arritmicidade de ecdise e de emergência não significa que não haja ritmo nos estágios pós-embrionários. A atividade locomotora do imaturo e a ocorrência de muda implicam processos distintos de temporização. Uma evidência disto foi a clara diferença da taxa de locomoção e de reação a estímulos mostrada pelas larvas de todos os instares ao longo do dia; todas as formas têm atividade mais intensa e reagem mais prontamente durante o claro. Isto leva a crer que haja um ritmo circadiano na locomoção das larvas e na reação das pupas a perturbações no criadouro. Esse ritmo circadiano também foi observado em outros grupos de insetos (SAUNDERS, 1982) e sua natureza endógena demonstrada. Como o relógio circadiano dos insetos holometábolos encontra-se no lobo protocerebral, que não é histolisado durante a metamorfose, uma primeira suposição é que em *Anopheles cruzii* o oscilador seja mantido da larva até o adulto sem modificações significativas. Sendo assim, é possível que o relógio que controla a atividade locomotora das larvas seja o mesmo que controla a atividade locomotora dos adultos.

Por outro lado, há evidências na literatura de diferenças ontogenéticas entre os relógios das larvas e dos adultos, como menciona SAUNDERS (1982). Essas diferenças levam a algumas conhecidas hipóteses de funcionamento do sistema oscilatório em mosquitos, que desvinculam as funções do relógio, que controla a atividade locomotora das larvas, daquelas dos adultos. No caso de *Aedes taeniorrhyncus*, o relógio do adulto só inicia seu funcionamento 36 horas após a emergência (NAYAR, 1967a, 1967b). Há o caso também do relógio do adulto que começa a funcionar pouco antes da emergência, como acontece em *Culex pipiens pallens*, estudado por CHIBA (1966). Nesse caso, diferentemente do anterior, as emergências são controladas pelo relógio do adulto e não pelo da larva. Uma outra forma de controle circadiano foi citada por JONES & REITER (1975) e JONES (1976). Nesta, há distintos processos de temporização atuando entre larva e adulto de *Anopheles gambiae*, porém eles funcionam de maneira sobreposta, isto é, estão ativos ao mesmo tempo. Estas evidências levam a uma segunda hipótese para o funcionamento do sistema oscilatório em *Anopheles cruzii* que é a possibilidade de serem separados, ou seja, de existirem relógios distintos para larva e adulto. Como as emergências de *Anopheles cruzii* parecem ser

reflexos de um controle hormonal no início do desenvolvimento larval, este fato leva a crer que as emergências em *Anopheles cruzii* sejam controladas pelo sistema oscilatório da larva e não do adulto e se houver os dois sistemas, o oscilador que controla a atividade do adulto deve começar a atuar após a emergência do mesmo, ou então, como no caso de *Anopheles gambiae*, ambos devem estar funcionando ao mesmo tempo.

Para saber qual das possibilidades aplica-se aos estágios de desenvolvimento de *Anopheles cruzii* será necessário desenvolver um protocolo específico que inclua experimentos que caracterizem o oscilador através do mapeamento dos deslocamentos de fase provocados por pulsos de luz ou temperatura em diferentes momentos do ciclo de vida do mosquito. Seja qual for o tipo de sistema oscilatório que controla a ritmicidade em larvas e adultos de um holometábolo, como é o caso de *Anopheles cruzii*, é possível inferir que esse sistema não seja completamente desorganizado no decorrer do desenvolvimento e pode estar presente o tempo todo, apesar de sua ativação e da instalação das características rítmicas do adulto poderem acontecer algum tempo após a emergência.

CONCLUSÕES

- As fêmeas de *Anopheles cruzii* efetuam posturas em um intervalo médio de 4,36 dias ($s = 0,78$ dias) após o repasto sanguíneo.
- Parte das fêmeas realizam posturas parceladas. Mesmo havendo a possibilidade destes episódios estarem refletindo na interferência do observador, é possível que posturas parceladas ocorram naturalmente, relacionadas à uma estratégia da espécie em distribuir seus ovos por diversos criadouros.
- Nas condições em que os ovos foram mantidos no laboratório: temperatura de $25,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar de 57 a 81%, o percentual de eclosão é de 62,75%.
- A fase larval tem duração média de 23,56 dias ($s = 1,89$ dias), sendo que o crescimento é mais lento nos primeiro e quarto ínstaros que são também os mais longos. Provavelmente no primeiro ínstar, a exigência alimentar seja mais intensa, tendo em vista o crescimento das larvas. No quarto ínstar reservas são acumuladas no corpo gorduroso como preparação para a metamorfose.
- A duração da fase de pupa é bastante rápida quando comparada com a fase larval e mesmo com os ínstaros larvais. “A pupa não é completamente imóvel, mas observa-se locomoção apenas quando ela é perturbada”. O fato de pouca movimentação explica que a energia orgânica é direcionada para a metamorfose pupal.
- O tempo médio do desenvolvimento pós-embrionário de *Anopheles cruzii*, nas condições mantidas no laboratório, é de 30,71 ($s = 3,57$) dias.
- Há um ritmo no processo de postura de *Anopheles cruzii*, com um pico noturno ocorrendo, entre 21:00 e 24:00 horas, ou seja, 2 a 5 horas após o anoitecer.
- O fato de não terem sido detectados ritmos nas últimas etapas do processo de desenvolvimento e emergência do adulto não exclui a possibilidade de haver ritmos de síntese e liberação de hormônios em qualquer uma ou em todas as etapas envolvidas. Neste caso, a arritmicidade

detectada pode ser devida à maior quantidade de cutícula a ser formada nos últimos instares e o tempo gasto para essa formação é cada vez maior levando à perda da ritmicidade nas ecdises e emergências dos adultos.

- Há duas hipóteses de relógio circadiano controlando a atividade locomotora de larvas e de adultos. Uma que seria o mesmo sistema oscilatório para ambas as formas e outra que seriam distintos, porém, o oscilador que controla a atividade do adulto, ou está atuando de maneira sobreposta ao oscilador da larva, ou então começa a funcionar somente após a emergência do adulto.
- O pico de postura do anofelíneo estudado está associado à atividade de vôo. Isto sugere que um pico de atividade possa estar incluindo indivíduos envolvidos em atividades diferentes.
- Apesar de não ter sido detectado um pico de emergência noturna, *Anopheles cruzii* recém-emergidos podem estar ativos à noite, pois as emergências ocorrem durante as 24 horas do dia.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Padrões rítmicos foram evidenciados em *Anopheles cruzii* na postura, atividade da larva e ocorrência do adulto. Os resultados indicaram que para a geração dos ritmos observados existe por trás dos processos um sistema ativo e auto-sustentado (relógio biológico). A ausência de ritmos verificada em algumas etapas do desenvolvimento não desmente a existência de um relógio biológico. Nestas etapas pode estar havendo apenas falta da expressão rítmica, ou mesmo esta expressão estar sendo sobrepujada por outras funções.
- Ritmos observados em *Anopheles cruzii* estão associados ao ambiente em diversos níveis. Alguns ciclos ambientais podem estar agindo como “zeitgeber” na atividade dos adultos, como é o caso do claro/escuro e possivelmente a temperatura. Por outro lado também ocorrem modulações dos ritmos por eventos ambientais instantâneos e cíclicos. Um importante fator não-cíclico é a presença de chuva, que modula tanto a ocorrência quanto a emergência dos adultos. O papel modulador do ciclo lunar parece dar-se nos diferentes níveis diários de iluminação ao longo da noite e nas alternâncias ao longo do mês lunar. Também não pode ser descartada a hipótese do ciclo do mês lunar ser um “zeitgeber” que sincroniza o desenvolvimento pós-embrionário de *Anopheles cruzii*, tendo em vista que a duração do desenvolvimento coincide com a do ciclo lunar.
- Imagens de microscopia eletrônica de varredura revelaram a presença de mecanorreceptores do tipo campaniforme, que provavelmente são barorreceptores (Apêndices 12 e 13). Estas estruturas ainda não foram estudadas detalhadamente, mas tudo indica que sejam responsáveis pela percepção de mudanças da pressão atmosférica que acompanham chuva. As respostas no comportamento de *Anopheles cruzii* à presença de chuva foram detectadas no campo, com o aumento da quantidade de mosquitos atraídos pela armadilha e também no laboratório, com o aumento no número de emergências.
- O trabalho aponta para uma diversidade de estratégias na adaptação da espécie ao ambiente em que ocorre. Posturas parceladas, ausência de “gates” e divisão do pico de ocorrência parecem ser eficientes como proteção contra a predação e também podem aumentar as dificuldades na eficiência de um método de controle ao vetor. Não é nada fácil pensar no controle de uma espécie como *Anopheles cruzii*, que vive num ambiente de floresta. Além disto, a estabilidade do habitat de bromélia também representa uma proteção importante. Como o micro-ambiente

não muda, não se observa o sincronismo de desenvolvimento da população, como acontece em espécies que se desenvolvem em ambientes sujeitos a mudanças periódicas. Nestas espécies, a aplicação de um método de controle baseado na aplicação de drogas ou hormônios, surte efeito uma vez que todos, ou a maior parte, dos indivíduos da população vão estar na mesma etapa de desenvolvimento. No caso de *Anopheles cruzii*, os métodos de controle empregados no passado, destruição de bromélias e extensos desmatamentos, não são mais admitidos hoje. E mesmo esses métodos podem não ser completamente eficientes, tendo em vista os resultados aqui apresentados. As opções ligadas à liberação de adultos estéreis parecem mais promissoras do que aquelas empregadas até o momento e que visam as formas imaturas.

- Os resultados apresentados nesta tese apontam para diversas alternativas de prosseguimento do estudo de padrões rítmicos em *Anopheles cruzii*. Somente com experimentos complementares será possível elucidar alguns pontos, tais como:

a) Estudo do estado fisiológico dos mosquitos que apresentam sua atividade concentrada em diferentes picos. Só assim será possível confirmar a efetividade dos picos.

b) Demonstração do caráter endógeno do ritmo de atividade observado no campo e do papel das variáveis ambientais que sincronizam ou mascaram o ritmo. Sob condições ambientais constantes pode-se introduzir cada uma das variáveis separadamente e verificar sua eficiência como sincronizador do ritmo em livre-curso, no caso de arrastamento, ou modificador de sua expressão, no mascaramento.

c) Caracterização do papel do estado de desenvolvimento dos folículos em fêmeas de *Anopheles cruzii* provenientes de áreas geográficas diferentes, com o objetivo de verificar prováveis diferenças do tempo entre repasto e postura resultantes de expressões polimórficas.

d) Estudo dos ritmos de atividade de larvas e adultos em condições de laboratório, caracterizando cronobiologicamente todos os seus parâmetros. As diferenças e semelhanças desses parâmetros permitirão definir quais osciladores, da larva e do adulto, determinam os padrões rítmicos de cada uma das fases da ontogênese.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMANAQUE NÁUTICO 1994. **Almanaque náutico para 1995**. 51 ed., Rio de Janeiro, Ministério da Marinha, Brasil. 287p.
- ARAGÃO, M. B. 1953. Utilização de mosquitos radioativos na avaliação do raio de vôo. **Revista Brasileira de Malariologia & Doenças Tropicais**, 5(2): 137-143.
- ARAGÃO, M. B. 1964. Distribuição geográfica e abundância das espécies de *Anopheles* (*Kerteszia*) (Diptera, Culicidae). **Revista Brasileira de Malariologia & Doenças Tropicais**, 16(1): 73-109.
- ARAGÃO, M. B. 1968a. Sobre a distribuição vertical dos criadouros de *Anopheles* do subgênero *Kerteszia*, no sul do Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 66(2): 131-144.
- ARAGÃO, M. B. 1968b. O ciclo anual dos *Anopheles* do subgênero *Kerteszia*, no sul do Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 66(1): 85-106.
- ARAGÃO, M. B. 1974. O comportamento dos anofelinos do subgênero *Kerteszia*, no sul do Brasil e o efeito do inseticida DDT. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 72: 147-172.
- ARAGÃO, M. B.; FERREIRA-NETO, J. A.; MARTINS, C. M. & NETO, J. A. F. 1973. Observações sobre anofelinos em Santa Catarina, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 7(5): 289-303.
- ASCHOFF, J. 1960. Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, 25: 11-28.
- ASCHOFF, J. 1988. Masking of circadian rhythms by zeitgebers as opposed to entrainment. In: Hekkens, W. T. J. M.; Kerkhof, G. A. & Rietveld, W. J. (eds). **Trends in Chronobiology**. Oxford, Pergamon Press. p.149-161.
- BALSEIRO, E. C. 1981. Analisis de la actividad nocturna de *Culex* (*C.*) *eduardoi* Garcia y Casal y *Aedes* (*O.*) *crinifer* (Theobald) (Diptera, Culicidae), mediante el empleo de un atractivo luminico. **Revista de la Sociedad Entomologica Argentina**, 40(1-4): 211-219.
- BAERG, D. C. & MELVIN, M. B. 1974. *Anopheles neivai* Howard, Dyar & Knab: Laboratory observations on the life cycle and description of the egg stage (Diptera, Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, 11: 629-630.

- BATSCHLET, E. 1981. **Circular statistics in biology**. London, Academic Press. 371p.
- BECK, S. D. 1980. **Insect photoperiodism**. 2 ed. New York, Academic Press. 387p.
- BENEDITO-SILVA, A. A. 1997. Aspectos metodológicos da cronobiologia **In**: Marques, N. & Menna-Barreto, L. (eds). **Cronobiologia: princípios e aplicações**. São Paulo, Edusp. p.215-238.
- BIDLINGMAYER, W. L. 1964. The effect of moonlight on the flight activity of mosquitoes. **Ecology**, **45**(1):87-94.
- BORBA, A. M.; CONSOLIM, J.; VIEIRA, A. M. & LUZ, E. 1978. Alguns aspectos epidemiológicos da persistência de transmissão de malária no litoral Paranaense. II- Quantidade de sangue ingerido por *Anopheles cruzii* (Diptera, Culicidae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, **21**(1): 19-21
- BOWEN, M. F. 1991. The sensory physiology of host-seeking behavior in mosquitoes. **Annual Review of Entomology**, **36**: 139-158.
- BRADY, J. 1981. Behavioral rhythms in invertebrates. **In**: Aschoff, J. (eds). **Handbook of behavioral neurobiology**. New York & London, Plenum Press. v. 4, p.125-144.
- BRANQUINHO, M. S.; MARRELLI, M. T.; CURADO, I. ; NATAL, D. ; BARATA J. M. S.; TUBAKI, R. M.; CARRERI-BRUNO, G. C.; MENEZES, R. T. & KLOETZEL, J. K. 1997. Infection of *Anopheles (Kerteszia) cruzii* by *Plasmodium vivax* an *Plasmodium vivax* variant VK247 in the municipalities of São Vicente and Juititaba, São Paulo. **Revista Panamericana de Salud Pública**, **2**(3): 189-193.
- CHADEE, D. D. 1992. Effects of moonlight on the landing activity of *Anopheles bellator* Dyar and Knab (Diptera: Culicidae) in Trinidad, West Indies. **Bulletin of the Society for Vector Ecology**, **17**(2): 119-124.
- CHADEE, D. D. & BEIER, J. C. 1996. Diel oviposition and fecundity of *Anopheles oswaldoi* in Trinidad, West Indies. **Journal of the American Mosquito Control Association**, **12**(3): 402-405.
- CHADEE, D. D. & MOHAMMED, R. T. 1996. Diel of rhythms of oviposition and fecundity of *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. **Journal of Medical Entomology**, **33**(4): 686-655.

- CHADEE, D. D.; MENDIS, C. & BEIER, J. C. 1993. Diel oviposition periodicity of anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae) from the Americas: *Anopheles albimanus* Wiedermann and *Anopheles freeborni* Aitken. **Annals of Tropical and Parasitology**, **87**(5): 501-507.
- CHAPMAN, R. F. 1982. **The insects. Structure and function**. Cambridge, Harvard University Press. 919p.
- CHARLWOOD, J. D.; RAFAEL, J. A. & WILKES, T. T. 1980. Métodos de determinar a idade fisiológica em Diptera de importância médica. Uma revisão com especial referência aos vetores de doenças na América do Sul. **Acta Amazonica**, **10**: 311-333.
- CHARLWOOD, J. D.; PARU, R.; DAGORO, H. & LAGOG, M. 1986. Influence of moonlight and gonotrophic age on biting activity of *Anopheles farauti* (Diptera: Culicidae) from Papua New Guinea. **Journal of Medical Entomology**, **23**(2): 132-135.
- CHIBA, Y. 1966. The diurnal activity of the mosquito *Culex pipiens pallens* in relation to light condition. III. The effect of the rearing light condition the spontaneous diurnal rhythm. **Science Reports of Tohoku University Series IV (Biology)**, **32**: 105-109.
- CHIBA, Y. & TOMIOKA, K. 1987. Insect circadian activity with special reference to the localization of the pacemaker. **Zoological Science**, **4**: 945-954.
- CHIBA, Y & TOMIOKA, K. 1992. Entrainability of difasic circadian activity of the mosquito, *Culex pipiens molestus* to 24-hour light-dark cycles: a physiological significance of critical light-to-dark ratio. **Zoological Science**, **9**: 185-192.
- CHIBA Y.; KUBOTA, M. & NAKAMURA, Y. 1982. Differential effects of temperature upon evening and morning peaks in the circadian activity of mosquitoes, *Culex pipiens pallens* and *C. pipiens molestus*. **Journal Interdisciplinary Cycle Researchs**, **13**(1): 55-60.
- CHIBA, Y; YAMAMOTO, Y; SHIMIZU, C. ZAITSU, M.; UKI, M.; YOSHII, M. & TOMIOKA, K. 1990. Insemination-dependent modification of circadian activity of the mosquito, *Culex pipiens pallens*. **Zoological Science**, **7**: 895- 906.
- CHRISTOPHERS, S. R. 1911. The development of the egg follicle in *Anopheles*. **Paludism**, **2**: 73-78.
- CLOPTON, J. R. 1984. Mosquito circadian and circa-bi-dian flight rhythms: a two-oscillator model. **Journal of Comparative Physiology, (A)** **155**: 1-12.

- CONSOLIM, J.; LUZ E.; VIEIRA, A. M. & BORBA, A. M. 1979a. Alguns aspectos epidemiológicos sobre a persistência de transmissão de malária no litoral paranaense. III. Entrada e permanência de *Anopheles cruzii* na habitação humana. (Diptera, Culicidae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, 22(2): 173-179.
- CONSOLIM, J.; BORBA, A. M.; VIEIRA, A. M. & LUZ, E. 1979b. Alguns aspectos epidemiológicos sobre a persistência de transmissão de malária no litoral paranaense. VI. Suscetibilidade de *Anopheles cruzii* ao DDT. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, 22(2): 181-182.
- CORRÊA, R. R. 1942. Do ciclo evolutivo, em condições experimentais, do *Anopheles (Kerteszia) cruzii* Dyar and Knab, 1908. **Anais Paulistas de Medicina e Cirurgia**, 44(3): 228-232.
- CORRÊA, R. R. 1943. Do ciclo evolutivo, em condições experimentais, do *Anopheles (Kerteszia) cruzii* Dyar and Knab, 1908. **Folia Clinica et Biologica**, 15(1): 64-68.
- CORRÊA, R.; FORATTINI, O. P.; GUARITA, O. F. & RABELLO, E. X. 1961. Observações sobre o vôo do *Anopheles (Kerteszia) cruzii* e do *A. (K.) bellator*, vetores de malária (Diptera, Culicidae). **Arquivos de Higiene e Saúde Pública**, 26: 333-342.
- DAVIES, J. B. 1975. Moonlight and the biting activity of *Culex (Melanoconion) portesi* Senevet & Abonnenc and *C. (M) taeniopus* D. & K. (Diptera, Culicidae) in Trinidad forests. **Bulletin of Entomological Research**, 65(1): 81-96.
- DEANE, L. M. 1992. Simian malaria in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 87 (supl. 3): 1-20.
- DEANE, L. M.; FERREIRA, J. A. & LIMA, M. M. 1984. The vertical dispersion of *Anopheles (Kerteszia) cruzii* in a forest in southern Brazil suggests that human cases of malaria of simian origin might be expected. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 76(4): 416-463.
- DESSEN, E. M. B. 1997. [Informações genéticas sobre a possibilidade de *Anopheles cruzii* ser um complexo] (Comunicação pessoal).
- DOBSON, A. J. 1983. **Introduction to statistical modelling**. New York, Chapman and Hall. 125p.
- DOW, R. P. & GERRISH, G. M. 1970. Day-to-day change in relative humidity and the activity of *Culex nigripalpus* (Diptera: Culicidae). **Annals of the Entomological Society of America**, 63: 995-999.

- ERKERT, H. G. 1974. Der Einfluß des mondlichtes auf de aktivitätsperiodik nachtaktiver säugetiere. **Oecologia**, 14: 269-287.
- FERREIRA, M. O.; RACHOU, R. G. & LIMA, M. M. 1951. Considerações sobre o combate ao *Anopheles (Kerteszia) cruzii* em Caldas da Imperatriz (S. Catarina) pelo desmatamento; abrigos naturais dessa espécie. **Revista Brasileira de Malariologia & Doenças Tropicais**, 3(1): 14-35.
- FORATTINI, O. P. 1962. **Entomologia médica**. vol. 1. Generalidades, Anophelini, malária. São Paulo, Edusp. 662p.
- FORATTINI, O. P.; CORRÊA, R. R.; RABELLO, E. X. & GUARITA, O. 1961. Algumas observações sobre a densidade de anofelinos *Kerteszia* no Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos de Higiêne e Saúde Pública**, 262: 46-56.
- FORATTINI, O. P.; LOPES, O. P. & RABELLO, E. X. 1968. Investigações sobre o comportamento de formas adultas de mosquitos silvestres no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, 2(2): 111-173.
- FORATTINI, O. P.; GOMES, A. C.; GALATI, E. A. B.; RABELLO, E. X. & IVERSSON, L. B. 1978. Estudos ecológicos sobre mosquitos Culicidae no sistema da Serra do Mar, Brasil. 1- Observações no ambiente extradomiciliar. **Revista de Saúde Pública**, 12: 297-325.
- FORATTINI, O. P.; GOMES, A. C.; SANTOS, J. L. F.; GALATI, E. A. B.; RABELLO, E. X. & NATAL, D. 1981. Observações sobre a atividade de mosquitos Culicidae, em mata residual no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, 15: 557-86.
- FORATTINI, O. P.; ALVES, A. C.; NATAL, D. S.; CASTRO-ALVES, J. L. F.; CASTRO-ALVES, A. & FERREIRA-SANTOS, J. L. 1986a. Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae em mata primitiva da encosta do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, 20(1): 1-20.
- FORATTINI, O. P.; GOMES, A. D.; NATAL, D. & SANTOS, J. L. F. 1986b. Observações sobre a atividade de mosquitos Culicidae em matas primitivas da planície e perfis epidemiológicos de vários ambientes no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, 20(3): 178-203.
- FORATTINI, O. P.; GOMES, A. C.; NATAL, D.; KAKITANI, I. & MARUCCI, D. 1989. Preferências alimentares e domiciliação de mosquitos Culicidae no Vale do Paraíba, São Paulo, Brasil, com especial referência a *Aedes scapularis* e *Culex (Melanoconion)*. **Revista de Saúde Pública**, 23(1): 9-19.

- FORATTINI, O. P.; GOMES, A. D. C.; SANTOS, J. L. F.; KAKITANI, I. & MARUCCI, D. 1990. Frequência ao ambiente humano e dispersão de mosquitos Culicidae em área adjacente à Mata Atlântica Primitiva da Planície. **Revista de Saúde Pública**, 24(2): 101-107.
- FORATTINI, O. P.; KAKITANI, I.; MASSAD, E. & GOMES, A. C. 1993a. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 1- Parity of blood seeking *Anopheles (Kerteszia)* in South-Eastern Brazil. **Revista de Saúde Pública**, 27(1): 1-8.
- FORATTINI, O. P.; KAKITANI, I.; MASSAD, E. & MARUCCI, D. 1993b. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 4 - Survey of resting adult and synanthropic behaviour in South-Eastern Brazil. **Revista de Saúde Pública**, 27(6): 398-411.
- FORATTINI, O. P.; KAKITANI, I.; MASSAD, E. & MARUCCI, D. 1996. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 11 - Biting activity and blood-seeking parity of *Anopheles (Kerteszia)* in south-eastern Brazil. **Revista de Saúde Pública**, 30(2): 107-114.
- GILLET, J. D. 1962. Contributions to the oviposition-cycle by the individual mosquitoes in a population. **Journal Insect Physiology**, 8: 665-681.
- GOMES, A. D. C.; FORATTINI, O. P. & NATAL, D. 1987. Composição e atividade de mosquitos Culicidae. Emprego de armadilha CDC no Vale do Ribeira, estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, 21(5): 363-370.
- GUIMARÃES, A. E. & ARLÉ, M. 1984. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I- Distribuição estacional. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 79(3): 309-323.
- GUIMARÃES, A. E. & VICTÓRIO, V. M. N. 1986. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. III-Preferência horária para hematofagia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 81(1): 93-103.
- GUIMARÃES, A. E.; ARLÉ, M. & MACHADO, R. N. M. 1985. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. II- Distribuição vertical. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 80: 171-185.
- HADDOW, A. J.; GILLET, T. D. & CORBET, P. S. 1959. Laboratory observations on pupation and emergence in the mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, 53: 123-131.

- HASTINGS, J. W.; RUSAK, B. & BOULOS, Z. 1991. Circadian rhythms: the physiology of biological timing. In: Prosser, C. L. (ed.). **Neural and integrative animal physiology**. New York, Wiley-Liss Publ. p.435-546.
- HEPBURN, H. R. 1985. Structure of the integument. In: Kerkut, G. A. & Gilbert, L. I. (eds.). **Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology**. Oxford, Pergamon Press. v. 3, p.1-58.
- JONES, M. D. R. 1976. Persistence in continuous light of a circadian rhythm in the mosquito *Culex pipiens fatigans* Wid. **Nature**, **261**: 491-492.
- JONES, M. D. R. 1981. The programming of circadian flight-activity in relation to mating and the gonotrophic cycle in mosquito, *Aedes aegypti*. **Physiological Entomology**, **6**: 307-313.
- JONES, M. D. R. 1982. Coupled oscillators controlling circadian flight activity in the mosquito, *Culex pipiens quinquefasciatus*. **Physiological Entomology**, **7**: 281-289.
- JONES, M. D. R. & REITER, P. 1975. Entrainment of the pupation and adult activity rhythms during development in the mosquito *Anopheles gambiae*. **Nature**, **254**: 242-244.
- JONES, M. D. R. & GUBBINS, S. J. 1978. Changes in circadian flight activity of the mosquito *Anopheles gambiae* in relation to insemination, feeding and oviposition. **Physiological Entomology**, **3**: 213-220.
- JONES, M. D. R. ; HILL, M. & HOPE, A. M. 1967. The circadian flight activity of the mosquito *Anopheles gambiae*: phase setting by the light regime. **Journal Experimental Biology**, **47**: 503-511.
- JONES, M. D. R.; GUBBINS, C. M. & MARSH, D. 1972. Light-on effects and the question of bimodality in the circadian flight activity of the mosquito *Anopheles gambiae*. **Journal Experimental Biology**, **57**: 347-357.
- JOSHI, D. S. 1994. Relationship between longevity and periods of entraining light-dark cycle in the mosquito *Aedes krombeini*. **Zoologischer Anzeiger**, **233**(5/6): 247-250.
- JOSHI, D. S. 1996. Psi-mutation affects phase angle difference, free-running period and phase shifts in *Aedes krombeini* (Stegomyia). **Biological Rhythm Research**, **27**(4): 421-430.

- KAKITANI, I. 1992. Observações preliminares sobre a paridade de *Anopheles (Kerteszia) cruzii*. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. 42p. Tese de mestrado.
- KAKITANI, I. 1997 [Informações sobre métodos de criação de *Anopheles cruzii* e desenvolvimento dos folículos ovarianos da espécie]. (Comunicação pessoal).
- LUZ, E.; CONSOLIM, J.; VIEIRA, A. M. & BORBA, A. M. 1977. Sobre a longevidade de *Anopheles cruzii* em laboratório (Diptera, Culicidae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, 20(1-2): 31-33.
- LUZ, E.; CONSOLIM, J.; VIEIRA, A. M. & BORBA, A. M. 1979. Alguns aspectos epidemiológicos da persistência de transmissão de malária no litoral paranaense. 1. Idade fisiológica de *Anopheles cruzii*. (Diptera, Culicidae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, 22(1): 63-88.
- MAACK, R. 1981. **Geografia física do Estado do Paraná**. 2 ed. Rio de Janeiro, J. Olímpio. 450p.
- MARQUES, M. D. 1997. Mecanismos de temporização em unicelulares, plantas e invertebrados. **In: Marques, N. & Menna-Barreto, L. (eds.). Cronobiologia: princípios e aplicações**. São Paulo, Edusp. 317p.
- MARQUES, N. & MENNA-BARRETO, L. **Cronobiologia: princípios e aplicações**. São Paulo, Edusp. p.45-84.
- MARQUES, M. D., GOLOMBEK, D. & MORENO, C. 1997. Adaptação temporal. **In: Marques, N. & Menna-Barreto, L. (eds.). Cronobiologia: princípios e aplicações**. São Paulo, Edusp. p.45-84.
- McCLELLAND, G. A. H. & GREEN, C. A. 1970. Subtle periodicity of pupation in rapidly developing mosquitoes. **Bulletin of Wildlife Health**, 42: 951-955.
- McCULLAGH, P. & NELDER, J. A. 1989. **Generalized linear models**, 3 ed. London, Chapman and Hall. 540p.
- McIVER, S. B. 1973. Fine structure of antennal sensilla coeloconica of culicine mosquitoes. **Tissue & Cell** 5(1): 105-112.

- MER, G. G. 1936. Experimental study on the development of the ovary in *Anopheles elutus*, Edw. (Dipt. Culic.). **Bulletin of Wildlife Health**, 27: 351-359.
- MILLER, T. A.; STRYKER, R. G.; WILKINSON, R. N. & ESAH, S. 1970. The influence of moonlight and other environmental factors on the abundance of certain mosquito species in light-trap collections in Thailand. **Journal of Medical Entomology**, 7(5): 555-561.
- MURILLO, C.; QUINTERO, J.; JARAMILLO, C.; SUÁREZ, M. & CARVAJAL, H. 1989. Observaciones sobre el ciclo de vida de *Anopheles (K) neivai* H. D. & K. 1913 en la costa pacífica colombiana. **Actualidades Biológicas**, 18(65): 65-69.
- NASCI, R. S. & EDMAN, J. D. 1981. Vertical and temporal flight activity of the mosquito *Culiseta melamura* (Diptera: Culicidae) in southeastern Massachusetts. **Journal of Medical Entomology**, 18(6): 501-504.
- NAYAR, J. K. 1967a. Endogenous diurnal rhythm of pupation in a mosquito. **Nature**, 214: 828-829.
- NAYAR, J. K. 1967b. The pupation rhythm in *Aedes taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). II. Ontogenetic timing, rate of development, and endogenous diurnal rhythm of pupation. **Annals of the Entomological Society of America**, 60(5): 946-971.
- NAYLOR, E. 1996. Crab clockwork: the case for interactive circatidal and circadian oscillators controlling rhythmic locomotor activity of *Carcinus maenas*. **Chronobiology International**, 13: 153-161.
- NAYLOR, E. 1997. Crab clockwork rewound. **Chronobiology International**, 14: 427-430.
- NEUMANN, D. 1981. Tidal and lunar rhythms. In: J. Aschoff (ed.). **Biological rhythms, handbook of behavioral neurobiology**. New York, Plenum Press. v.4, p.351-380.
- PAGE, T. L. 1985. Clocks and circadian rhythms. In: Kerkut, G. A. & Gilbert, L. I. (eds.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. Oxford, Pergamon Press. v. 6, p.577-652.
- PAGE, T. L. 1989. Masking in invertebrates. **Chronobiology International**, 6 (1): 3-11.

- PALMER, J. D. 1995 Review of the dual-clock control of tidal rhythms and the hypothesis that the same clock governs both circatidal and circadian rhythms. **Chronobiology International**, 12 (5): 299-310.
- PALMER, J. D. 1997 Dueling hypotheses: circatidal versus circalunidian battle basics. **Chronobiology International**, 14 (4): 337-346.
- PANDIAN, R. S. & CHANDRASHEKARAN, M. K. 1980. Rhythms in the biting behaviour of a mosquito *Armigeres subalbatus*. **Oecologia**, 47(1): 89-95.
- PETERSON, E. 1980. The temporal pattern of mosquito flight activity. **Behaviour**, 72: 1-25.
- PETERSON, E. L. & JONES, M. D. R. 1979. Do circadian oscillators ever stop in constant light? **Nature**, 280: 677-679.
- PEYTON E. L.; WILKERSON, R. C. & HARBACH, R. E. 1992. Comparative analysis of the subgenera *Kerteszia* and *Nyssorhynchus* of *Anopheles* (Diptera, Culicidae). **Mosquito Systematics**, 24(1): 51-69.
- PITTENDRIGH, C. S. 1948. The bromeliad-anopheles-malaria complex in Trinidad. I - The Bromeliad flora. **Evolution**, 2(1): 58-89.
- PITTENDRIGH, C. S. 1950. The ecoclimatic divergence of *Anopheles bellator* and *A. homunculus*. **Evolution**, 4(1): 43-63.
- PITTENDRIGH, C. S. 1960. Circadian rhythms and circadian organization of living systems. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, 25: 159-184.
- PITTENDRIGH, C. S. 1966. The circadian oscillation in *Drosophila pseudoobscura* pupae: a model for the photoperiodic clock. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, 54: 275-307.
- PITTENDRIGH, C. S. & BRUCE, V. G. 1959. Daily rhythms as coupled oscillator system and their relation to thermoperiodism and photoperiodism. **Publications of American Association for Advanced Society**, 55: 475-505.
- PITTENDRIGH, C. S. & DAAN, S. 1976. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V. pacemaker structure: a clock for all seasons. **Journal of Comparative Physiology**, 106A: 333-355.

- PROVOST, M. W. 1959. The influence of moonlight on light-trap catches of mosquitoes. **Annals of the Entomological Society of America**, 52: 261-271.
- RACHOU, R. G. 1950. Observação sobre o ciclo evolutivo dos anofelinos do sub-gênero *Kerteszia* em laboratório: Fase de ovo. **Revista Brasileira de Malariologia**, 2(2): 111-118.
- RACHOU, R. G. & LIMA, M. M. 1950. Do pouso dos anofelinos do subgênero *Kerteszia* no interior dos domicílios. **Revista Brasileira de Malariologia**, 2(2): 166-185.
- RACHOU, R. G.; RICCIARDI, I.; LUZ, E & GARBELLINI, J. J. 1949a. Observações, no Estado do Paraná, sobre o pouso dos anofelinos, vetores de malária no interior das casas. **Revista Brasileira de Malariologia**, 1(4): 288-298.
- RACHOU, R. G.; NETO, J. A. F. & MARTINS, C. M. 1949b. Alguns dados relativos à densidade de anofelinos do sub-gênero *Kerteszia* em matas de Brusque (Santa Catarina). **Revista Brasileira de Malariologia**, 1(2): 113-127.
- RACHOU, R. G.; RICCIARDI, I. & LUZ, E. 1949c. Dispersão ativa e passiva dos anofelinos do sub-gênero *Kerteszia* no litoral paranaense. **Revista Brasileira de Malariologia**, 1(3): 211-220.
- RAMIREZ, C. C. L. 1994. Estudo do polimorfismo de inversões cromossômicas em populações naturais de *Anopheles (Kerteszia) cruzii*. 131p. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Tese de doutorado.
- RAMIREZ, C. C. L & DESSEN, E. M. B. 1994. Cytogenetic analysis of a natural population of *Anopheles cruzii*. **Revista Brasileira de Genética**, 17(1): 41-46.
- RAMIREZ, C. C. L; DESSEN, E. M. B. & OTTO, P. 1994. A inversion polymorphism in a natural population of *Anopheles cruzii*. **Caryologia**, 47(2), 4: 121-130.
- RAMOS, T. C. 1998. ["Circular": programa em "Visual Basic" para análises estatísticas de séries temporais]. (Preparado no Museu de Zoologia da USP, versão não concluída).
- RIBBANDS, C. R. 1946. Moonlight and house haunting habits of female *Anopheles* in W. Africa. **Bulletin of Entomological Research**, 36: 395-415.

- RIETVELD, W. J; MINORS, D. S. & WATERHOUSE, J. M. 1993. Circadian rhythms and masking: an overview. **Chronobiology International**, 19(4): 306-312.
- ROBERTS, S. K. 1962. Circadian activity in cockroaches. II. Entrainment and phase-shifting. **Journal of Cell Comparative Physiology**, 59: 175-186.
- ROSENBERG, R. & MAHESWARY N. P. 1982. Forest malaria in Bangladesh. II. Transmission by *Anopheles dirus*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 31(2): 183-191.
- ROWLAND, M. 1989. Changes in the circadian flight activity of the mosquito *Anopheles stephensi* associated with insemination, blood-feeding, oviposition and nocturnal light intensity. **Physiological Entomology**, 14: 77-84.
- RUBIO-PALIS, Y. 1992. Influence of moonlight on light trap catches of the malaria vector *Anopheles muneztovari* in Venezuela. **Journal American Mosquito Control Association** 8(2): 178-180.
- SAUNDERS, D. S. 1982. **Insect clocks**. 2 ed. Oxford, Pergamon Press. 409p.
- SHINKAWA, Y.; TAKEDA, S. I.; TOMIOKA, K.; MATSUMOTO, A.; ODA, T. & CHIBA, Y. 1994. Variability in circadian activity patterns within the *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, 31(1): 49-56.
- SINGH, N. & MISHRA, A. K. 1996. Influence of moonlight on light-trap catches of the malaria vector *Anopheles culicifacies* (Diptera, Culicidae) in central India. **Bulletin of Entomological Research**, 86: 475-479.
- SPIEGELHALTER, D. J.; THOMAS, A.; BEST, N. G. & GILKS, W. R. 1995. "BUGGS": **Bayesian inference using Gibbs sampling: Version 0.5**. Cambridge, UK, Technical Report, Biostatistics Unit-MRC. (Internet: <http://www.mrc-bsu.cam.ac.uk/bugs/>).
- TRUMAN, J. W. 1972. Physiology of insect rhythm. I Circadian organization of the endocrine events underlying the moulting cycle of larval tobacco hornworms. **Journal of Experimental Biology**, 57: 805-820.
- TUBAKI, R. M.; CARRERI-BRUNO, G. C.; GLASSER, C. M. & CIARAVOLO, R. M. C. 1993. Biting activity of *Anopheles (Kerteszia) cruzii* (Diptera, Culicidae) in domiciliary habitats in the southern Atlantic forest, Peruibe, State of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, 37(3): 569-575.

VELOSO, H. P.; RANGEL, A. R. L. & LIMA, J. C. A. 1991. **Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro, IBGE. 123p.

WANDERLEY, D. M. V. 1985. Malária no Estado de São Paulo, Brasil, 1980 a 1983. **Revista de Saúde Pública**, 19: 28-36.

WILKERSON, R. C. & PEYTON, E. L. 1991. The Brazilian malaria vector *Anopheles* (*Kerteszia*) *cruzi*: life stages and biology (Diptera: Culicidae). **Mosquito Systematics**, 23(2): 110-122.

ZAR, J. H. 1996. **Biostatistical analysis**. New Jersey, Prentice-Hall. 662p.

ZAVORTINK, T. J. 1979. Mosquito studies (Diptera, Culicidae). XXIX. A review of the subgenus *Kerteszia* of *Anopheles*. **Contributions of the American Entomological Institute**, 9(3): 1-54.

Apêndice 1. Representação dos horários de crepúsculos, de instalação da armadilha, capturas inicial e final de *Anopheles cruzii* e intervalo de tempo da presença da lua para cada noite de coleta. Outubro de 1995 a novembro de 1996, Floresta Atlântica, Morretes - Paraná, Brasil.

OUTUBRO							
Data da coleta	Fases da lua	Crep. vespertino	Crep. matutino	Instalação da armadilha	captura inicial	captura final	Presença da Lua (nascer - ocaso)
7	cheia	18:18-18:41	4:59-5:23	17:18	19:18	7:18	17:31-4:56
8	cheia	18:18-18:41	4:59-5:23	17:18	19:18	7:18	18:27-5:35
9	cheia	18:18-18:41	4:59-5:23	17:18	19:18	7:18	19:22-6:15
15	ming.	18:22-18:45	5:16-5:39	17:13	19:13	7:13	*10:44
16	ming.	18:22-18:45	5:16-5:39	17:13	19:13	7:13	00:21-11:35
17	ming.	18:22-18:45	5:16-5:39	17:13	19:13	7:13	1:03-12:26
22	nova	18:25-18:48	5:11-5:34	17:05	19:05	7:05	4:19-17:01
23	nova	18:25-18:48	5:11-5:34	17:05	19:05	7:05	5:01-18:02
24	nova	18:25-18:48	5:11-5:34	17:05	19:05	7:05	5:47-19:04
28	cresc.	18:28-18:53	5:05-5:29	17:02	19:02	7:02	9:27-23:09
29	cresc.	18:28-18:53	5:05-5:29	17:02	19:02	7:02	10:28*
30	cresc.	18:28-18:53	5:05-5:29	17:02	19:02	7:02	11:30-00:02
NOVEMBRO							
5	cheia	18:35-18:59	4:59-5:23	17:35	19:35	7:35	17:13-4:13
6	cheia	18:35-18:59	4:59-5:23	17:35	19:35	7:35	18:07-4:52
7	cheia	18:35-18:59	4:59-5:23	17:35	19:35	7:35	19:01-5:34
16	ming.	18:41-19:07	4:53-5:19	17:41	19:41	7:41	00:56-12:53
17	ming.	18:41-19:07	4:53-5:19	17:41	19:41	7:41	1:33-13:47
18	ming.	18:41-19:07	4:53-5:19	17:41	19:41	7:41	2:12-14:44
21	nova	18:46-19:11	4:52-5:16	17:46	19:46	7:46	4:22-17:48
22	nova	18:46-19:11	4:52-5:16	17:46	19:46	7:46	5:14-18:53
23	nova	18:46-19:11	4:52-5:16	17:46	19:46	7:46	6:10-19:57
27	cresc.	18:47-19:13	4:50-5:18	17:47	19:47	7:47	10:23-23:33
28	cresc.	18:47-19:13	4:50-5:18	17:47	19:47	7:47	11:24*
29	cresc.	18:47-19:13	4:50-5:18	17:47	19:47	7:47	12:22-00:16
DEZEMBRO							
5	cheia	18:55-19:21	4:50-5:16	17:55	19:55	7:55	17:47-4:14
6	cheia	18:55-19:21	4:50-5:16	17:55	19:55	7:55	18:38-4:58
7	cheia	18:55-19:21	4:50-5:16	17:55	19:55	7:55	19:26-5:44
13	ming.	19:01-19:21	4:52-5:17	18:01	20:01	8:01	23:31-10:45
14	ming.	19:01-19:21	4:52-5:17	18:01	20:01	8:01	*11:37
15	ming.	19:01-19:21	4:52-5:17	18:01	20:01	8:01	00:08-12:31
20	nova	19:07-19:31	4:55-5:21	18:07	20:07	8:07	3:51-17:34
21	nova	19:07-19:31	4:55-5:21	18:07	20:07	8:07	4:50-18:38
22	nova	19:07-19:31	4:55-5:21	18:07	20:07	8:07	5:53-19:39
27	cresc.	19:08-19:34	4:59-5:24	18:08	20:08	8:08	11:12-23:35
28	cresc.	19:08-19:34	4:59-5:24	18:08	20:08	8:08	12:09*
29	cresc.	19:08-19:34	4:59-5:24	18:08	20:08	8:08	13:04-00:14
JANEIRO							
3	cheia	19:10-19:36	5:02-5:28	18:10	20:10	8:10	17:23-3:41
4	cheia	19:10-19:36	5:02-5:28	18:10	20:10	8:10	18:10-4:28
5	cheia	19:10-19:36	5:02-5:28	18:10	20:10	8:10	18:55-5:17
10	ming.	19:11-19:37	5:09-5:34	18:11	20:11	8:11	22:09-9:32
11	ming.	19:11-19:37	5:09-5:34	18:11	20:11	8:11	22:46-10:24
12	ming.	19:11-19:37	5:09-5:34	18:11	20:11	8:11	23:23-11:18
18	nova	19:11-19:36	5:16-5:42	18:11	20:11	8:11	3:30-17:17
19	nova	19:11-19:36	5:16-5:42	18:11	20:11	8:11	4:34-18:16
20	nova	19:11-19:36	5:16-5:42	18:11	20:11	8:11	5:41-19:11
25	cresc.	19:08-19:34	4:59-5:24	18:08	20:08	8:08	10:54-22:51
26	cresc.	19:08-19:34	4:59-5:24	18:08	20:08	8:08	11:50-23:32
27	cresc.	19:08-19:34	4:59-5:24	18:08	20:08	8:08	12:45*

* indica que não ocorreu o fenômeno, pois o dia Lunar é mais longo que o Solar.

Apêndice 2. Representação dos horários de instalação da armadilha (1 hora antes do crepúsculo vespertino), horários de coleta (1 a 7), crepúsculo vespertino e matutino, horários de picos de ocorrência de *A. cruzii* e também, intervalo de tempo entre o horário 5 (pico-2) e crepúsculo matutino. (1) outubro, (2) novembro, (3) dezembro e (4) janeiro.

Instalação	Crepúsculo vespertino	1	2 (pico-1)	3	4	5 (pico-2)	6 e Crepúsculo matutino	7	5 até Crep. matutino		
(1)	17:18	18:18-18:41	19:18	21:18	23:18	1:18	3:18	5:18	4:59-5:23*	7:18	1h 41'
	17:13	18:22-18:45	19:13	21:13	23:13	1:13	3:13	5:13	5:16-5:39	7:13	2h 3'
	17:05	18:25-18:48	19:05	21:05	23:05	1:05	3:05	5:05	5:11-5:34	7:05	2h 6'
	17:02	18:28-18:53	19:02	21:02	23:02	1:02	3:02	5:02	5:05-5:29	7:02	2h 3'
(2)	17:35	18:35-18:59	19:35	21:35	23:35	1:35	3:35	4:59-5:23	5:35	7:35	1h 24'
	17:41	18:41-19:07	19:41	21:41	23:41	1:41	3:41	4:53-5:19	5:41	7:41	1h 12'
	17:46	18:46-19:11	19:46	21:46	23:46	1:46	3:46	4:52-5:16	5:46	7:46	1h 6'
	17:47	18:47-19:13	19:47	21:47	23:47	1:47	3:47	4:50-5:18	5:47	7:47	1h 19'
(3)	17:55	18:55-19:21	19:55	21:55	23:55	1:55	3:55	4:50-5:16	5:55	7:55	55'
	18:01	19:01-19:21	20:01	22:01	0:01	2:01	4:01	4:52-5:17	6:01	8:01	51'
	18:07	19:07-19:31	20:07	22:07	0:07	2:07	4:07	4:55-5:21	6:07	8:07	48'
	18:08	19:08-19:34	20:08	22:08	0:08	2:08	4:08	4:59-5:24	6:08	8:08	51'
(4)	18:10	19:10-19:36	20:10	22:10	0:10	2:10	4:10	5:02-5:28	6:10	8:10	58'
	18:11	19:11-19:37	20:11	22:11	0:11	2:11	4:11	5:09-5:34	6:11	8:11	58'
	18:11	19:11-19:37	20:11	22:11	0:11	2:11	4:11	5:09-5:34	6:11	8:11	1h 5'
	18:08	19:08-19:34	20:08	22:08	0:08	2:08	4:08	4:59-5:24	6:08	8:08	51'

* Coleta dentro do crepúsculo

Apêndice 3. Total de capturas realizadas (No) de outubro de 1995 a janeiro de 1996 (Mês) divididos em sete intervalos de horários de coleta (Int.) nos três dias consecutivos (Dia) para cada fase da lua (Lua). Constam as variáveis ambientais: temperatura (Temp.), umidade relativa do ar (U.R.) e precipitação pluviométrica (Chuva e Chuvisco). Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, Brasil.

No	Mês	Lua	Int.	Dia	Temp.	U.R.	Chuvisco	Chuva	Chuva (mm)	Chuva + Chuvisco
9	out	cheia	1	1	19	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
6	out	cheia	2	1	19	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	out	cheia	3	1	18	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	out	cheia	4	1	17	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	out	cheia	5	1	17	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	out	cheia	6	1	16	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	out	cheia	7	1	17	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	out	cheia	1	2	20	98	NÃO	SIM	17	SIM
3	out	cheia	2	2	19	98	NÃO	SIM	21,25	SIM
6	out	cheia	3	2	19	98	NÃO	SIM	1,5	SIM
11	out	cheia	4	2	18	98	NÃO	SIM	1,5	SIM
8	out	cheia	5	2	18	98	NÃO	SIM	2,5	SIM
6	out	cheia	6	2	17	98	NÃO	SIM	2,5	SIM
3	out	cheia	7	2	18	98	NÃO	SIM	2,5	SIM
7	out	cheia	1	3	21	98	NÃO	SIM	0,5	SIM
0	out	cheia	2	3	20	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	out	cheia	3	3	18	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	out	cheia	4	3	17	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	out	cheia	5	3	16	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	cheia	6	3	14	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	cheia	7	3	16	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	out	ming	1	1	20	87	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	out	ming	2	1	19	94	SIM	NÃO	0	SIM
1	out	ming	3	1	19	98	SIM	NÃO	0	SIM
6	out	ming	4	1	19	98	SIM	NÃO	0	SIM
4	out	ming	5	1	19	98	SIM	NÃO	0	SIM
4	out	ming	6	1	18	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	ming	7	1	19	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	out	ming	1	2	22	83	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	out	ming	2	2	21	82	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	out	ming	3	2	20	92	SIM	NÃO	0	SIM
2	out	ming	4	2	20	98	NÃO	SIM	1,5	SIM
7	out	ming	5	2	19	98	NÃO	SIM	4,5	SIM
2	out	ming	6	2	18	98	NÃO	SIM	1	SIM
4	out	ming	7	2	18	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	ming	1	3	20	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	out	ming	2	3	20	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	ming	3	3	19	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	ming	4	3	18	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	out	ming	5	3	18	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	ming	6	3	18	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	ming	7	3	19	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
9	out	nova	1	1	16	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
13	out	nova	2	1	16	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
4	out	nova	3	1	15	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	out	nova	4	1	14	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	out	nova	5	1	13	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	out	nova	6	1	12	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	nova	7	1	14	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	out	nova	1	2	18	87	NÃO	NÃO	0	NÃO
4	out	nova	2	2	16	91	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	out	nova	3	2	15	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	out	nova	4	2	14	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	out	nova	5	2	13	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	out	nova	6	2	12	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	out	nova	7	2	14	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	nova	1	3	19	86	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	out	nova	2	3	18	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	out	nova	3	3	17	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	out	nova	4	3	16	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	nova	5	3	17	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	out	nova	6	3	17	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	nova	7	3	19	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
28	out	cresc	1	1	17	67	SIM	NÃO	0	SIM
63	out	cresc	2	1	17	98	NÃO	SIM	2	SIM
28	out	cresc	3	1	16	98	SIM	NÃO	0	SIM
21	out	cresc	4	1	16	98	NÃO	SIM	1,5	SIM
25	out	cresc	5	1	15	98	NÃO	SIM	2	SIM
15	out	cresc	6	1	14	98	SIM	NÃO	0	SIM

No	Mês	Lua	Int.	Dia	Temp.	U.R.	Chuvisco	Chuva	Chuva (mm)	Chuva + Chuvisco
5	out	cresc	7	1	14	98	NÃO	SIM	0,5	SIM
2	out	cresc	1	2	15	95	SIM	NÃO	0	SIM
22	out	cresc	2	2	14	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
18	out	cresc	3	2	14	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	out	cresc	4	2	14	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
13	out	cresc	5	2	14	98	SIM	NÃO	0	SIM
7	out	cresc	6	2	14	98	SIM	NÃO	0	SIM
3	out	cresc	7	2	14	98	SIM	NÃO	0	SIM
0	out	cresc	1	3	16	97	SIM	NÃO	0	SIM
8	out	cresc	2	3	15	98	NÃO	SIM	0,5	SIM
4	out	cresc	3	3	15	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	out	cresc	4	3	15	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
8	out	cresc	5	3	15	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	out	cresc	6	3	15	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	out	cresc	7	3	15	98	SIM	NÃO	0	SIM
3	nov	cheia	1	1	23	88	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	cheia	2	1	22	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	cheia	3	1	21	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	cheia	4	1	21	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
4	nov	cheia	5	1	20	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
4	nov	cheia	6	1	20	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	cheia	7	1	21	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
4	nov	cheia	1	2	22	93	NÃO	NÃO	0	NÃO
4	nov	cheia	2	2	21	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
4	nov	cheia	3	2	21	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	cheia	4	2	20	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	cheia	5	2	19	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	cheia	6	2	19	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	cheia	7	2	22	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	cheia	1	3	24	89	NÃO	NÃO	0	NÃO
17	nov	cheia	2	3	23	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	cheia	3	3	22	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	cheia	4	3	22	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
10	nov	cheia	5	3	22	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	cheia	6	3	22	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	cheia	7	3	23	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	nov	ming	1	1	21	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
11	nov	ming	2	1	21	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
9	nov	ming	3	1	21	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
11	nov	ming	4	1	20	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	nov	ming	5	1	15	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
6	nov	ming	6	1	18	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	ming	7	1	23	89	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	ming	1	2	24	79	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	nov	ming	2	2	22	80	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	nov	ming	3	2	20	83	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	nov	ming	4	2	18	88	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	ming	5	2	17	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	ming	6	2	16	91	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	ming	7	2	21	81	NÃO	NÃO	0	NÃO
15	nov	ming	1	3	20	85	NÃO	NÃO	0	NÃO
21	nov	ming	2	3	19	87	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	nov	ming	3	3	18	89	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	nov	ming	4	3	18	89	SIM	NÃO	0	SIM
1	nov	ming	5	3	17	91	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	ming	6	3	16	93	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	ming	7	3	19	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
15	nov	nova	1	1	20	77	NÃO	NÃO	0	NÃO
24	nov	nova	2	1	17	84	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	nova	3	1	16	88	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	nova	4	1	15	89	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	nova	5	1	15	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	nova	6	1	14	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	nova	7	1	19	89	NÃO	NÃO	0	NÃO
8	nov	nova	1	2	21	77	NÃO	NÃO	0	NÃO
9	nov	nova	2	2	20	81	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	nova	3	2	20	87	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	nov	nova	4	2	19	89	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	nova	5	2	17	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	nova	6	2	17	91	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	nova	7	2	19	89	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	nov	nova	1	3	21	82	NÃO	NÃO	0	NÃO
6	nov	nova	2	3	21	88	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	nova	3	3	20	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	nov	nova	4	3	20	93	NÃO	NÃO	0	NÃO

No	Mês	Lua	Int.	Dia	Temp.	U.R.	Chuvisco	Chuva	Chuva (mm)	Chuva + Chuvisco
2	nov	nova	5	3	20	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	nova	6	3	20	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	nova	7	3	22	93	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	nov	cresc	1	1	22	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	nov	cresc	2	1	22	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	cresc	3	1	21	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	cresc	4	1	20	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	cresc	5	1	20	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	cresc	6	1	20	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	cresc	7	1	22	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	cresc	1	2	18	91	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	nov	cresc	2	2	17	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	cresc	3	2	17	94	SIM	NÃO	0	SIM
9	nov	cresc	4	2	17	94	SIM	NÃO	0	SIM
6	nov	cresc	5	2	17	95	SIM	NÃO	0	SIM
3	nov	cresc	6	2	17	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	cresc	7	2	19	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	nov	cresc	1	3	20	83	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	nov	cresc	2	3	20	86	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	cresc	3	3	19	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	cresc	4	3	19	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	cresc	5	3	19	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	nov	cresc	6	3	19	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	nov	cresc	7	3	23	87	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	dez	cheia	1	1	23	82	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	cheia	2	1	22	88	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	cheia	3	1	20	89	NÃO	NÃO	0	NÃO
4	dez	cheia	4	1	20	92	SIM	NÃO	0	SIM
2	dez	cheia	5	1	19	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	cheia	6	1	19	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	dez	cheia	7	1	20	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	cheia	1	2	23	79	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	dez	cheia	2	2	21	81	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	dez	cheia	3	2	20	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	dez	cheia	4	2	19	93	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	cheia	5	2	19	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	cheia	6	2	19	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	cheia	7	2	23	85	NÃO	NÃO	0	NÃO
6	dez	cheia	1	3	23	83	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	dez	cheia	2	3	23	86	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	dez	cheia	3	3	21	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	dez	cheia	4	3	20	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	cheia	5	3	19	93	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	cheia	6	3	18	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	cheia	7	3	23	86	NÃO	NÃO	0	NÃO
8	dez	ming	1	1	18	88	NÃO	NÃO	0	NÃO
25	dez	ming	2	1	18	91	NÃO	NÃO	0	NÃO
18	dez	ming	3	1	17	91	NÃO	NÃO	0	NÃO
6	dez	ming	4	1	16	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	dez	ming	5	1	14	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	dez	ming	6	1	14	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	ming	7	1	19	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	dez	ming	1	2	19	83	NÃO	NÃO	0	NÃO
4	dez	ming	2	2	17	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	dez	ming	3	2	16	91	NÃO	NÃO	0	NÃO
6	dez	ming	4	2	15	91	NÃO	NÃO	0	NÃO
6	dez	ming	5	2	14	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	ming	6	2	14	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	ming	7	2	19	88	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	ming	1	3	21	81	NÃO	NÃO	0	NÃO
10	dez	ming	2	3	19	88	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	dez	ming	3	3	18	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	dez	ming	4	3	17	91	NÃO	NÃO	0	NÃO
6	dez	ming	5	3	17	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	ming	6	3	16	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	ming	7	3	20	89	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	dez	nova	1	1	23	82	NÃO	NÃO	0	NÃO
31	dez	nova	2	1	22	87	NÃO	NÃO	0	NÃO
21	dez	nova	3	1	21	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	dez	nova	4	1	21	93	NÃO	NÃO	0	NÃO
4	dez	nova	5	1	21	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	dez	nova	6	1	20	93	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	dez	nova	7	1	24	82	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	dez	nova	1	2	25	86	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	dez	nova	2	2	24	92	NÃO	NÃO	0	NÃO

No	Mês	Lua	Int.	Dia	Temp.	U.R.	Chuvisco	Chuva	Chuva (mm)	Chuva + Chuvisco
4	dez	nova	3	2	23	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	dez	nova	4	2	23	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
	dez	nova	5	2	22	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
	dez	nova	6	2	23	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
	dez	nova	7	2	24	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	dez	nova	1	3	23	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
12	dez	nova	2	3	23	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
8	dez	nova	3	3	23	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	dez	nova	4	3	23	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	dez	nova	5	3	22	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	dez	nova	6	3	23	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	dez	nova	7	3	25	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
59	dez	cresc	1	1	21	95	NÃO	SIM	0,5	SIM
127	dez	cresc	2	1	21	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
27	dez	cresc	3	1	21	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
37	dez	cresc	4	1	21	97	SIM	NÃO	0	SIM
13	dez	cresc	5	1	21	97	NÃO	SIM	0,7	SIM
13	dez	cresc	6	1	21	97	SIM	NÃO	0	SIM
5	dez	cresc	7	1	22	98	SIM	NÃO	0	SIM
7	dez	cresc	1	2	22	96	NÃO	SIM	3,6	SIM
36	dez	cresc	2	2	21	97	NÃO	SIM	10	SIM
43	dez	cresc	3	2	21	97	NÃO	SIM	8,5	SIM
	dez	cresc	4	2	21	98	SIM	NÃO	0	SIM
	dez	cresc	5	2	21	98	SIM	NÃO	0	SIM
	dez	cresc	6	2	21	98	SIM	NÃO	0	SIM
	dez	cresc	7	2	22	98	SIM	NÃO	0	SIM
7	dez	cresc	1	3	20	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	dez	cresc	2	3	20	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
10	dez	cresc	3	3	19	97	SIM	NÃO	0	SIM
8	dez	cresc	4	3	19	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	dez	cresc	5	3	19	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	dez	cresc	6	3	19	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	dez	cresc	7	3	20	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
21	jan	cheia	1	1	22	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
53	jan	cheia	2	1	21	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
69	jan	cheia	3	1	21	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	jan	cheia	4	1	21	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
11	jan	cheia	5	1	21	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	jan	cheia	6	1	21	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	jan	cheia	7	1	23	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
4	jan	cheia	1	2	23	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
12	jan	cheia	2	2	23	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
6	jan	cheia	3	2	22	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	jan	cheia	4	2	22	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	jan	cheia	5	2	24	68	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	jan	cheia	6	2	24	78	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	jan	cheia	7	2	26	77	NÃO	NÃO	0	NÃO
16	jan	cheia	1	3	23	91	NÃO	NÃO	0	NÃO
10	jan	cheia	2	3	23	95	SIM	NÃO	0	SIM
5	jan	cheia	3	3	23	96	NÃO	SIM	4	SIM
26	jan	cheia	4	3	22	98	NÃO	SIM	2	SIM
93	jan	cheia	5	3	21	98	NÃO	SIM	1,4	SIM
40	jan	cheia	6	3	21	98	NÃO	SIM	0,7	SIM
7	jan	cheia	7	3	21	98	NÃO	SIM	5,3	SIM
6	jan	ming	1	1	23	95	NÃO	SIM	0,5	SIM
28	jan	ming	2	1	22	96	SIM	NÃO	0	SIM
28	jan	ming	3	1	21	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
19	jan	ming	4	1	21	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
19	jan	ming	5	1	20	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	jan	ming	6	1	20	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	jan	ming	7	1	24	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
12	jan	ming	1	2	25	89	NÃO	NÃO	0	NÃO
20	jan	ming	2	2	25	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
16	jan	ming	3	2	25	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	jan	ming	4	2	24	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	jan	ming	5	2	23	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
3	jan	ming	6	2	23	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	jan	ming	7	2	27	88	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	jan	ming	1	3	23	98	NÃO	SIM	5,5	SIM
13	jan	ming	2	3	23	98	SIM	NÃO	0	SIM
17	jan	ming	3	3	23	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
17	jan	ming	4	3	23	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
9	jan	ming	5	3	22	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
11	jan	ming	6	3	22	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	jan	ming	7	3	25	98	NÃO	NÃO	0	NÃO

No	Mês	Lua	Int.	Dia	Temp.	U.R.	Chuvisco	Chuva	Chuva (mm)	Chuva + Chuvisco
28	jan	nova	1	1	22	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
114	jan	nova	2	1	22	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
53	jan	nova	3	1	21	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
16	jan	nova	4	1	20	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
29	jan	nova	5	1	20	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	jan	nova	6	1	19	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
0	jan	nova	7	1	21	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
54	jan	nova	1	2	22	93	NÃO	NÃO	0	NÃO
63	jan	nova	2	2	21	95	NÃO	NÃO	0	NÃO
26	jan	nova	3	2	21	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
32	jan	nova	4	2	20	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
16	jan	nova	5	2	20	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
12	jan	nova	6	2	20	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	jan	nova	7	2	22	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	jan	nova	1	3	23	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	jan	nova	2	3	23	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
12	jan	nova	3	3	22	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
8	jan	nova	4	3	22	98	SIM	NÃO	0	SIM
7	jan	nova	5	3	22	98	SIM	NÃO	0	SIM
10	jan	nova	6	3	22	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	jan	nova	7	3	22	98	SIM	NÃO	0	SIM
6	jan	crese	1	1	24	91	SIM	NÃO	0	SIM
64	jan	crese	2	1	23	95	SIM	NÃO	0	SIM
32	jan	crese	3	1	23	96	NÃO	NÃO	0	NÃO
23	jan	crese	4	1	23	97	SIM	NÃO	0	SIM
104	jan	crese	5	1	22	97	NÃO	SIM	1,6	SIM
11	jan	crese	6	1	21	97	SIM	NÃO	0	SIM
31	jan	crese	7	1	25	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
5	jan	crese	1	2	25	90	NÃO	NÃO	0	NÃO
10	jan	crese	2	2	25	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
11	jan	crese	3	2	24	94	NÃO	NÃO	0	NÃO
17	jan	crese	4	2	23	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
8	jan	crese	5	2	23	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
2	jan	crese	6	2	23	97	NÃO	NÃO	0	NÃO
1	jan	crese	7	2	26	92	NÃO	NÃO	0	NÃO
7	jan	crese	1	3	22	97	NÃO	SIM	10,5	SIM
55	jan	crese	2	3	22	98	NÃO	SIM	1,5	SIM
39	jan	crese	3	3	21	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
21	jan	crese	4	3	21	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
56	jan	crese	5	3	21	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
13	jan	crese	6	3	20	98	NÃO	NÃO	0	NÃO
16	jan	crese	7	3	23	98	NÃO	NÃO	0	NÃO

Apêndice 4. Captura de *Anopheles cruzii* no estudo preliminar, durante 72 horas consecutivas na floresta Atlântica, Morretes - Paraná, Brasil, maio de 1995 (T°C = temperatura).

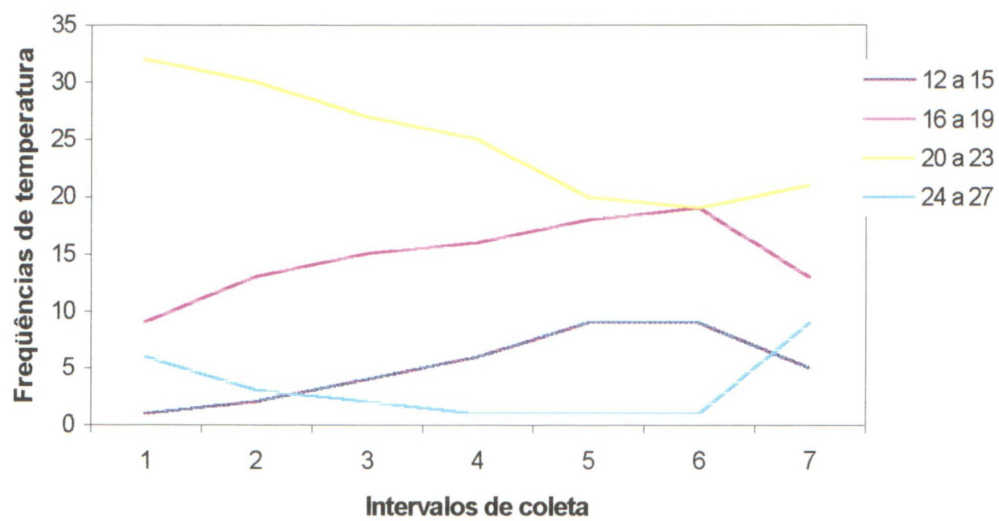
Horário	Número de <i>A. cruzii</i>	T°C
15:00	5	23
18:00	20	21
21:00	142	19
24:00	95	18
3:00	39	18
6:00	40	19
9:00	6	20
12:00	1	20
15:00	1	21
18:00	2	21
21:00	64	20
24:00	45	20
3:00	31	20
6:00	61	20
9:00	22	19
12:00	2	19
15:00	1	18
18:00	67	18
21:00	101	18
24:00	75	18
3:00	41	18
6:00	18	18
9:00	17	18
12:00	1	20
	897	média = 19,3

Apêndice 5. Médias e valores extremos (mínimos e máximos) da temperatura ambiente para cada fase da lua, considerando os intervalos de observação como um todo.

Lua	Temperatura (°C)		
	Mínima	Máxima	Média
cheia	14,00	20,55	26,00
minguante	14,00	27,00	19,63
nova	12,00	25,00	19,56
crescente	14,00	26,00	29,46
média	12,00	27,00	19,80

Apêndice 6. Distribuição da frequência de temperatura em tomadas feitas nos momentos de capturas de *Anopheles cruzii* nos sete intervalos de coleta em Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, Brasil.

Classes	Frequência relativa						
	1	2	3	4	5	6	7
12 - 15	1	2	4	6	9	9	5
16 - 19	9	13	15	16	18	19	13
20 - 23	32	30	27	25	20	19	21
24 - 27	6	3	2	1	1	1	9
Totais	48	48	48	48	48	48	48



Representação gráfica da distribuição da frequência de temperatura em tomadas feitas nos momentos de capturas de *Anopheles cruzii* nos sete intervalos de coleta em Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, Brasil.

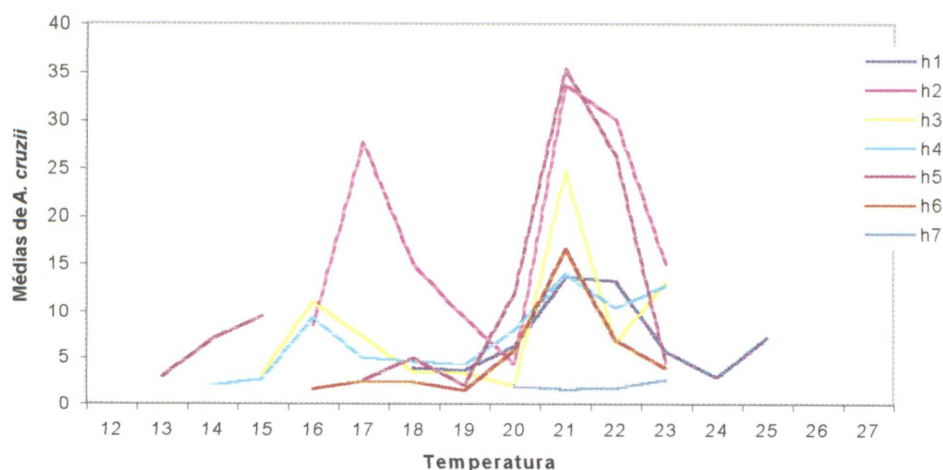
Apêndice 7. Distribuição das médias de *Anopheles cruzii* de acordo com a temperatura em cada intervalo de coleta. Entre parênteses constam números de mosquitos e o número de vezes em que a temperatura ocorre (frequência). As tomadas de temperatura foram feitas nos momentos das capturas dos mosquitos em Floresta Atlântica; Morretes, Paraná, Brasil.

T oC	Intervalos de coleta						
	1	2	3	4	5	6	7
12						(3/2)	
						1,50	
13					(6/2)		
					3,00		
14		(22/1)	(18/1)	(6/3)	(21/3)	(24/6)	(9/4)
		22,00*	18,00*	2,00	7,00	4,00	2,25
15	(2/1)	(8/1)	(10/3)	(8/3)	(38/4)	(3/1)	(1/1)
	2,00*	8*,00	3,30	2,70	9,50	3,00*	1*
16	(9/2)	(17/2)	(33/3)	(28/3)	(1/1)	(7/4)	(0/1)
	4,50	8,50	11,00	9,30	1*	1,70	0**
17	(28/1)	(111/4)	(22/3)	(20/4)	(18/7)	(10/4)	(2/1)
	28,00*	27,75	7,30	5,00	2,60	2,50	2,00*
18	(12/3)	(30/2)	(14/4)	(19/4)	(10/2)	(12/5)	(7/2)
	4,00	15,00	3,50	4,70	5,00	2,40	3,50
19	(11/3)	(47/5)	(17/5)	(21/5)	(17/8)	(9/6)	(1/9)
	3,70	9,40	3,40	4,20	2,10	1,50	0,01***
20	(44/7)	(22/5)	(12/6)	(72/9)	(72/6)	(41/7)	(6/3)
	6,30	4,40	2,00	8,00	12,00	5,90	2,00
21	(82/6)	(304/9)	(322/13)	(84/6)	(177/5)	(67/4)	(7/4)
	13,70	33,70	24,80	14,00	35,40	16,75	1,70
22	(106/8)	(242/8)	(20/3)	(42/4)	(132/5)	(21/3)	(11/6)
	13,30	30,25	6,70	10,50	26,40	7,00	1,80
23	(63/11)	(121/8)	(66/5)	(64/5)	(9/2)	(12/3)	(19/7)
	5,70	15,1	13,20	12,80	4,50	4,00	2,70
24	(9/3)	(3/1)	(11/1)	(2/1)	(0/1)	(0/1)	(1/2)
	3,00	3,00*	11,00*	2,00*	0**	0**	0,5***
25	(22/3)	(30/2)	(16/1)				(35/3)
	7,30	15,00	16,00*				11,70
26							(1/2)
							0,5***
27							(0/1)
							0**

* uma ocorrência de temperatura

** não ocorreu nenhum mosquito

*** número de mosquito foi menor do que a frequência de temperatura



Representação gráfica da distribuição das médias de *Anopheles cruzii* de acordo com a temperatura em cada intervalo de coleta. As tomadas de temperatura foram feitas nos momentos das capturas dos mosquitos em Floresta Atlântica, Morretes, Paraná, Brasil.

Apêndice 8. Contagens e cálculos relacionados aos processos de hematofagia (Hem), postura (ovi), eclosão (Eclos), ecdises (Muda 1-3), pupação (Pupa) e a emergência de adultos (Adult) de *A. cruzii* em laboratório de janeiro a março de 1998. Estão incluídas correções (Co), levando em conta a hora mínima (mín) e máxima (máx) em que os mosquitos realizavam um determinado processo. As expressões matemáticas constam em observações ao rodapé da tabela.

Código da fêmea	Dia*	Hora** Hem	Hem ¹	Dia*** Ovi	Hora mín Hem	Hora máx Hem	Co-mín Hem ²	Co-máx Hem ³	Tempo ⁴ Hem-Ovi	Ovi ⁵	Dia Eclos	Hora mín Eclos
1 ^a	1	9,5	33,5	5	15	18	135	138	103	136,5	9	11
1b	1	9,5	33,5	5	18	24	138	144	107,5	141	9	11
1c	1	9,5	33,5	7	3	6	171	174	139	172,5	11	11
7 ^a	1	9,6	33,6	5	18	24	138	144	107,4	141	9	11
8 ^a	1	9,4	33,4	5	18	24	138	144	107,6	141	10	11
6 ^a	1	18,7	42,7	5	18	24	138	144	98,3	141	9	11
6b	1	18,7	42,7	6	6	9	150	153	108,8	151,5	10	11
6c	1	18,7	42,7	6	21	24	165	168	123,8	166,5	10	11
6d	1	18,7	42,7	8	12	15	204	207	162,8	205,5		
17 ^a	1	19	43	6	15	18	159	162	117,5	160,5		
5 ^a	1	19,2	43,2	5	18	24	138	144	97,8	141	9	11
2 ^a	1	19,2	43,2	5	15	18	135	138	93,3	136,5	13	11
4 ^a	1	19,9	43,9	5	18	24	138	144	97,1	141	9	11
4b	1	19,9	43,9	6	21	24	165	168	122,6	166,5		
15 ^a	2	9,2	57,2	6	6	9	150	153	94,3	151,5	10	11
24 ^a	2	9,25	57,25	6	21	24	165	168	109,25	166,5	12	11
13 ^a	2	9,5	57,5	6	6	9	150	153	94	151,5	9	11
13b	2	9,5	57,5	6	12	15	156	159	100	157,5	9	11
13c	2	9,5	57,5	6	18	21	162	165	106	163,5	11	11
13d	2	9,5	57,5	7	21	24	189	192	133	190,5	13	11
10 ^a	2	9,75	57,75	5	18	24	138	144	83,25	141	9	11
10b	2	9,75	57,75	6	3	6	147	150	90,75	148,5	10	11
14 ^a	2	9,8	57,8	6	6	9	150	153	93,7	151,5	9	11
14b	2	9,8	57,8	6	21	24	165	168	108,7	166,5		
23 ^a	2	9,8	57,8	6	21	24	165	168	108,7	166,5	13	11
23b	2	9,8	57,8	7	3	6	171	174	114,7	172,5	11	11
23c	2	9,8	57,8	7	6	9	174	177	117,7	175,5	11	11
23d	2	9,8	57,8	7	18	21	186	189	129,7	187,5		
25 ^a	2	10,1	58,1	7	6	9	174	177	117,4	175,5	12	11
25b	2	10,1	58,1	8	6	9	198	201	141,4	199,5		
9 ^a	2	10,2	58,2	5	18	24	138	144	82,8	141	10	11
9b	2	10,2	58,2	6	18	21	162	165	105,3	163,5	10	11
27 ^a	2	10,3	58,3	7	21	24	189	192	132,2	190,5		
3 ^a	2	18,3	66,25	5	15	18	135	138	70,25	136,5	9	11
3b	2	18,3	66,25	5	18	24	138	144	74,75	141	9	11
22 ^a	2	18,6	66,6	6	21	24	165	168	99,9	166,5		
22b	2	18,6	66,6	7	0	3	168	171	102,9	169,5	11	11
22c	2	18,6	66,6	7	15	18	183	186	117,9	184,5	11	11
16 ^a	2	19,1	67,1	6	12	15	156	159	90,4	157,5	10	11
16b	2	19,1	67,1	6	15	18	159	162	93,4	160,5	10	11
18 ^a	2	19,4	67,4	6	18	21	162	165	96,1	163,5		
18b	2	19,4	67,4	6	21	24	165	168	99,1	166,5		
18c	2	19,4	67,4	7	0	3	168	171	102,1	169,5		
12 ^a	2	19,4	67,4	6	3	6	147	150	81,1	148,5	10	11
12b	2	19,4	67,4	6	21	24	165	168	99,1	166,5	11	11
12c	2	19,4	67,4	8	6	9	198	201	132,1	199,5		
29 ^a	2	18,7	66,7	7	21	24	189	192	123,8	190,5		
31 ^a	2	19,3	67,3	7	21	24	189	192	123,2	190,5	13	11
34 ^a	2	19,5	67,5	6	18	21	162	165	96	163,5	13	11
34b	2	19,5	67,5	8	9	12	201	204	135	202,5		
19 ^a	3	10,2	82,2	6	18	21	162	165	81,3	163,5	10	11
19b	3	10,2	82,2	6	21	24	165	168	84,3	166,5	10	11
21 ^a	3	10,2	82,2	6	21	24	165	168	84,3	166,5	10	11
21b	3	10,2	82,2	7	18	21	186	189	105,3	187,5	13	11
20 ^a	3	10,3	82,3	6	21	24	165	168	84,2	166,5	10	11
20b	3	10,3	82,3	7	3	6	171	174	90,2	172,5	11	11
20c	3	10,3	82,3	7	18	21	186	189	105,2	187,5		
26 ^a	3	9,7	81,7	7	18	21	186	189	105,8	187,5	13	11
28 ^a	3	10,3	82,25	7	21	24	189	192	108,25	190,5	13	11
30 ^a	3	18,5	90,5	7	21	24	189	192	100	190,5	12	11
32 ^a	3	18,6	90,6	8	0	3	192	195	102,9	193,5	12	11
33 ^a	3	18,8	90,75	8	6	9	198	201	108,75	199,5		
11 ^a	3	19	91	5	18	24	138	144	50	141	9	11
35												
36												
Média									104,71	166,54		
Desvio padrão									18,864			
Média (dias)									4,36			
Desv. pad. (dias)									0,78			

¹Dia Hem x 24 + Hora Hem; ²Dia Ovi x 24 + Hora mín Hem; ³Dia Ovi x 24 + Hora máx Hem; ⁴Ovi - Hem; ⁵Co-mín Hem + Co-máx Hem ÷ 2; * Foram 3 dias de hematofagia: dia 28-30/janeiro=1,2,3 e ***dias subsequentes até 11/março= 43 para todas as etapas de desenvolvimento. ** Hora + minuto (0=0; 5=1; 10=2; 15=25; 20=3; 25=4; 30=5; 35=6; 40=7; 45=75; 50=8; 55=9)

Hora máx Eclos	Co-mín Eclos ⁶	Co-max Eclos ⁷	Tempo ⁸ Ovi-Eclos	Eclos ⁹	Tempo ¹⁰ Hem-Eclos	Dia Muda1 mín	Dia Muda 1 máx	Co-mín ¹¹ Muda 1	Co-max ¹² Muda 1	Tempo ¹³ Eclos-Muda 1
13	227	229	91,5	228	194,5	14	14	336	336	108
13	227	229	87	228	194,5	16	16	384	384	156
13	275	277	103,5	276	242,5	18	18	432	432	156
13	227	229	87	228	194,4	18	18	432	432	204
13	251	253	111	252	218,6	19	21	456	504	228
13	227	229	87	228	185,3	20	23	480	552	288
13	251	253	100,5	252	209,3	20	22	480	528	252
13	251	253	85,5	252	209,3	19	19	456	456	204
13	227	229	87	228	184,8	16	16	384	384	156
13	323	325	187,5	324	280,8	19	19	456	456	132
13	227	229	87	228	184,1	18	23	432	552	264
13	251	253	100,5	252	194,8	18	18	432	432	180
13	299	301	133,5	300	242,75	17	17	408	408	108
13	227	229	76,5	228	170,5	19	19	456	456	228
13	227	229	70,5	228	170,5	17	17	408	408	180
13	275	277	112,5	276	218,5	18	18	432	432	156
13	323	325	133,5	324	266,5	18	18	432	432	108
13	227	229	87	228	170,25	14	14	336	336	108
13	251	253	103,5	252	194,25	16	16	384	384	132
13	227	229	76,5	228	170,2	18	18	432	432	204
13	323	325	157,5	324	266,2	18	18	432	432	108
13	275	277	103,5	276	218,2	18	18	432	432	156
13	275	277	100,5	276	218,2					
13	299	301	124,5	300	241,9	18	18	432	432	132
13	251	253	111	252	193,8	17	17	408	408	156
13	251	253	88,5	252	193,8	20	20	480	480	228
13	227	229	91,5	228	161,75	16	16	384	384	156
13	227	229	87	228	161,75	19	19	456	456	228
13	275	277	106,5	276	209,4	18	18	432	432	156
13	275	277	91,5	276	209,4	20	20	480	480	204
13	251	253	94,5	252	184,9	16	16	384	384	132
13	251	253	91,5	252	184,9	17	21	408	504	204
13	251	253	103,5	252	184,6	19	19	456	456	204
13	275	277	109,5	276	208,6	20	23	480	552	240
13	323	325	133,5	324	256,7	18	18	432	432	108
13	323	325	160,5	324	256,5	18	18	432	432	108
13	251	253	88,5	252	169,8	20	24	480	576	276
13	251	253	85,5	252	169,8	20	23	480	552	264
13	251	253	85,5	252	169,8	17	22	408	528	216
13	323	325	136,5	324	241,8	18	18	432	432	108
13	251	253	85,5	252	169,7	18	23	432	552	240
13	275	277	103,5	276	193,7	18	23	432	552	216
13	323	325	136,5	324	242,3	19	19	456	456	132
13	323	325	133,5	324	241,75	18	18	432	432	108
13	299	301	109,5	300	209,5	19	19	456	456	156
13	299	301	106,5	300	209,4	20	24	480	576	228
13	227	229	87	228	137	14	14	336	336	108
						14	14	336	336	336
						14	14	336	336	336
Média			104,71		204,29					183,25
Desvio padrão			24,142		32,712					62,16878193
Média (dias)			4,36		8,511					16,52
Desvio padrão (dias)			1,005		1,363					2,917

⁶Dia Eclos x 24 + Hora mín Eclos; ⁷Dia Eclos x 24 + Hora máx Eclos; ⁸Eclos - Ovi; ⁹Co-mín Eclos + Co-máx Eclos ÷ 2 ⇒
¹⁰Eclos - Hem; ¹¹Dia Muda1 mín x 24; ¹²Dia Muda1 máx x 24; ¹³Muda1 - Eclos

Muda1 ¹⁴	Dia Muda 2 mín	Dia Muda 2 máx	Co-mín ¹⁵ Muda 2	Co-máx ¹⁶ Muda2	Tempo ¹⁷ Muda1 - Muda2	Muda2 ¹⁸	Dia Muda3 mín
336	18	21	432	504	132	468	22
384	18	21	432	504	84	468	21
432	22	24	528	576	120	552	28
432	21	21	504	504	72	504	
480	23	23	552	552	72	552	27
516	22	25	528	600	48	564	27
504	22	22	528	528	24	528	
456	22	22	528	528	72	528	
384	21	21	504	504	120	504	23
456	22	24	528	576	96	552	26
492	22	24	528	576	60	552	27
432	21	21	504	504	72	504	
408	20	24	480	576	120	528	25
456	22	22	528	528	72	528	26
408	22	22	528	528	120	528	24
432	21	23	504	552	96	528	27
432	21	21	504	504	72	504	
336	21	21	504	504	168	504	25
384	18	22	432	528	96	480	24
432	21	22	504	528	84	516	24
432							
432	21	21	504	504	72	504	
432	21	21	504	504	72	504	
408	21	24	504	576	132	540	25
480	23	23	552	552	72	552	28
384	19	21	456	504	96	480	21
456	25	25	600	600	144	600	
432	22	24	528	576	120	552	25
480	22	23	528	552	60	540	27
384	18	22	432	528	96	480	22
456	23	23	552	552	96	552	28
456	25	25	600	600	144	600	30
516	22	27	528	648	72	588	28
432	22	22	528	528	96	528	25
432	21	21	504	504	72	504	
528	22	26	528	624	48	576	26
516	23	25	552	600	60	576	28
468	20	25	480	600	72	540	26
432	21	21	504	504	72	504	
492	22	24	528	576	60	552	25
492	22	24	528	576	60	552	25
456	24	24	576	576	120	576	27
432	21	21	504	504	72	504	
456	21	23	504	552	72	528	27
528	24	27	576	648	84	612	28
336	18	18	432	432	96	432	
336	17	17	408	408	72	408	20
336	17	17	408	408	72	408	20
Média					87,31914894		
Desvio padrão					29,04053118		
Média (dias)					3,638		
Desvio padrão (dias)					1,21		

¹⁴Co-mín Muda1 + Co-máx Muda1 ÷ 2; ¹⁵Dia Muda2 mín x 24; ¹⁶Dia Muda2 máx x 24
¹⁷Muda2- Muda1; ¹⁸Co-mín Muda2 + Co-máx Muda2 ÷ 2 ⇒

Dia Muda3 máx	Co-mín ¹⁹ Muda3	Co-max ²⁰ Muda3	Tempo ²¹ Muda2-Muda3	Muda3 ²²	Dia Pupa mín	Dia Pupa máx	Co-mín ²³ Pupa
30	528	720	156	624	30	38	720
27	504	648	108	576	29	38	696
29	672	696	132	684	34	34	816
29	648	696	120	672	33	36	792
27	648	648	84	648	33	36	792
					34	36	816
26	552	624	84	588	30	37	720
27	624	648	84	636	34	34	816
30	648	720	132	684	36	38	864
29	600	696	120	648	31	36	744
26	624	624	96	624	33	33	792
25	576	600	60	588	29	35	696
28	648	672	132	660	31	36	744
26	600	624	108	612	33	36	792
26	576	624	120	600	31	36	744
24	576	576	60	576	31	34	744
					36	36	864
29	600	696	108	648	32	37	768
29	672	696	132	684			
27	504	648	96	576	29	34	696
					32	34	768
25	600	600	48	600	31	37	744
27	648	648	108	648			
27	528	648	108	588	31	38	744
30	672	720	144	696	33	38	792
30	720	720	120	720			
29	672	696	96	684			
26	600	624	84	612	32	33	768
					34	34	816
29	624	696	84	660	35	39	840
30	672	720	120	696	35	39	840
29	624	696	120	660	33	39	792
30	600	720	108	660			
29	600	696	96	648	35	39	840
					33	39	792
27	648	648	72	648			
					36	36	864
27	648	648	120	648			
30	672	720	84	696	34	36	816
					37	39	888
					35	35	840
26	480	624	144	552	28	31	672
30	480	720	192	600	29	38	696

Média	108
Desvio padrão	29,104275
Média (dias)	4,5
Desvio padrão (dias)	1,21

¹⁹Dia Muda3 mín x 24; ²⁰Dia Muda3 máx x 24; ²¹Muda3- Muda2; ²²Co-mín Muda3 + Co-máx Muda3 ÷ 2 ⇒

²³Dia Pupa mín x 24

Co-máx ²⁴ pupa	Tempo ²⁵ Muda3-Pupa	Pupa ²⁶	Dia Adult mín	Dia Adult máx	Co-mín ²⁷ Adult
912	192	816	33	41	792
912	228	804	32	41	768
816	132	816	37	37	888
864	156	828	36	42	864
864	180	828	36	39	864
864		840	37	39	888
888	216	804	33	41	792
816	180	816	38	38	912
912	204	888	39	41	936
864	156	804	34	41	816
792	168	792	36		864
840	180	768	32	38	768
864	144	804	34	39	816
864	216	828	36	39	864
864	204	804	34	39	816
816	204	780	34	37	816
864		864	39	39	936
			39	39	936
888	180	828	35	41	840
816	180	756	32	37	768
816		792	35	37	840
888	216	816	34	41	816
912	240	828	34	41	816
912	156	852	36	41	864
			36	42	864
792	168	780	35	36	840
816		816	37	37	888
936	228	888	38	42	912
936	192	888	38	42	912
936	204	864	36	42	864
			38	42	912
936	240	888	36	42	864
936		864			
			39	39	936
864		864			
			38	39	912
864	144	840	41	42	984
936		912			
840		840	38	38	912
744	156	708	28	35	672
912	204	804	32	41	768
Média	188,1428571				
Desvio padrão	30,12039334				
Média (dias)	7,839				
Desvio padrão (dias)	1,255				

²⁴Dia Pupa máx x 24; ²⁵ Pupa- Muda3; ²⁶Co-mín Pupa + Co-máx Pupa ÷ 2; ²⁷Dia Adult mín x 24 ⇒

Co-máx ²⁸ Adult	Tempo ²⁹ Pupa-Adult	Adult ³⁰	Tempo ³¹ Eclos-Pupa	Tempo ³² Eclos-Adult	Tempo ³³ Ovi-Adulto	Tempo ³⁴ Hem-Adulto
984	72	888	588	660	751,5	854,5
984	72	876	576	648	735	842,5
888	72	888	540	612	715,5	854,5
1008	108	936	576	684	795	902,6
936	72	900	600	672	759	857,3
936	72	912	588	660	760,5	869,3
984	84	888	576	660	747	844,8
912	96	912	492	588	775,5	868,8
984	72	960	660	732	819	916,1
984	96	900	504	600	733,5	842,75
		432	564	204	280,5	374,5
912	72	840	540	612	682,5	782,5
936	72	876	528	600	712,5	818,5
936	72	900	600	672	759	842,25
936	72	876	552	624	727,5	818,25
888	72	852	552	624	700,5	794,2
936	72	936	540	612	769,5	878,2
936		936		660	763,5	878,2
984	84	912	576	660	771	853,8
888	72	828	528	600	691,5	761,75
888	72	864	564	636	723	797,75
984	84	900	540	624	730,5	833,4
984	72	900	576	648	742,5	832,9
984	72	924	600	672	763,5	856,9
1008		936		660	769,5	868,6
864	72	852	456	528	661,5	784,7
888	72	888	492	564	724,5	820,5
1008	72	960	636	708	796,5	877,8
1008	72	960	636	708	793,5	877,8
1008	72	936	612	684	769,5	853,8
1008		960		708	793,5	877,7
1008	48	936	612	660	763,5	853,7
936		936		612	748,5	854,3
			540			
936		924		624	733,5	833,5
1008	156	996	540	696	802,5	905,4
912	72	912	612	684	771	821
840	48	756				
984	72	876				
Média	76,875		565,5	633,3333333	737,125	833,4736111
Desvio padrão	18,2522646		45,490871	85,48617265	85,75816288	85,99843976
Média (dias)	3,20		23,56	26,38	30,71	34,428
Desv. pad. (dias)	0,76		1,89	3,561	3,57	3,583

²⁸Dia Adult máx x 24; ²⁹Adult- Pupa; ³⁰Co-mín Adult + Co-máx Adult ÷ 2; ³¹Pupa - Eclos; ³²Adult - Eclos
³³Adult - Ovi; ³⁴Adult - Hem

Apêndice 9. Horário do repasto sanguíneo, número de ovos por fêmea de *Anopheles cruzii*, número de larvas e percentual de eclosão obtidos em laboratório.

Código da fêmea	Horário do repasto (manhã* ou noite**)	No de posturas	Número de ovos	Número de larvas	Percentual de eclosão
1	manhã	3	79	66	83,54
2	noite	1	7	4	57,14
3	noite	2	70	21	30,00
4	noite	2	72	47	65,28
5	noite	1	38	37	97,37
6	noite	4	50	33	66,00
7	manhã	1	4	1	25,00
8	manhã	1	21	14	66,67
9	manhã	2	26	24	92,31
10	manhã	2	30	22	73,33
11	noite	1	17	11	64,71
12	noite	3	43	25	58,14
13	manhã	4	25	19	76,00
14	manhã	2	21	6	28,57
15	manhã	1	6	1	16,67
16	noite	2	45	41	91,11
17	noite	1	2	0	0,00
18	noite	3	10	0	0,00
19	manhã	2	74	59	79,73
20	manhã	3	56	42	75,00
21	manhã	2	82	67	81,71
22	noite	3	51	22	43,14
23	manhã	4	20	4	20,00
24	manhã	1	15	10	66,67
25	manhã	2	10	1	10,00
26	noite	1	12	3	25,00
27	manhã	1	2	0	0,00
28	manhã	1	2	1	50,00
29	noite	1	2	0	0,00
30	noite	1	15	10	66,67
31	noite	1	3	3	100,00
32	noite	1	51	23	45,10
33	noite	1	2	0	0,00
34	noite	2	21	1	4,76
35	-	1	34	22	64,71
36	-	1	45	27	60,00
Total	manhã=16; noite=18 Total = 34 + 2 (?) = 36	65	1063	667	62,75%

*Manhã: 09:00 - 10:30h

**Noite: 18:30 - 20:00h

Apêndice 10. Números de ovos, larvas, ovos não eclodidos e percentual de eclosão de cada postura das 65 fêmeas de *Anopheles cruzii* que sobreviveram do total de 141 capturadas.

Código da postura*	Horário do repasto: manhã ¹ ou noite ²	Horário de postura: manhã ³ , tarde ⁴ , noite ⁵ , madrugada ⁶	Ovos	Larvas	Ovos não eclodidos	Percentual de eclosão
01a	manhã	tarde	19	17	2	89,47
01b		noite	32	30	2	93,75
01c		madrugada	28	19	9	67,86
02a	noite	tarde	7	4	3	57,14
03a	noite	tarde	40	17	23	42,50
03b		noite	30	4	26	13,33
04a	noite	noite	69	47	22	68,12
04b		noite	3	0	3	0,00
05a	noite	noite	38	37	1	97,37
06a	noite	noite	23	19	4	82,61
06b		manhã	14	11	3	78,57
06c		noite	7	3	4	42,86
06d		tarde	6	0	6	0,00
07a	manhã	noite	4	1	3	25,00
08a	manhã	noite	21	14	7	66,67
09a	manhã	noite	19	17	2	89,47
09b		noite	7	7	0	100,00
10a	manhã	noite	9	8	1	88,89
10b		madrugada	21	14	7	66,67
11a	noite	noite	17	11	6	64,71
12a	noite	madrugada	5	4	1	80,00
12b		noite	37	21	16	56,76
12c		manhã	1	0	1	0,00
13a	manhã	manhã	4	2	2	50,00
13b		manhã	9	6	3	66,67
13c		noite	10	10	0	100,00
13d		noite	2	1	1	50,00
14a	manhã	manhã	20	6	14	30,00
14b		noite	1	0	1	0,00
15a	manhã	manhã	6	1	5	16,67
16a	noite	tarde	25	21	4	84,00
16b		tarde	20	20	0	100,00
17a	noite	tarde	2	0	2	0,00
18a	noite	noite	3	0	3	0,00
18b		noite	6	0	6	0,00
18c		madrugada	1	0	1	0,00
19a	manhã	noite	27	23	4	85,19
19b		noite	47	36	11	76,60
20a	manhã	noite	27	23	4	85,19
20b		madrugada	26	19	7	73,08
20c		noite	3	0	3	0,00
21a	manhã	noite	78	66	12	84,62
21b		noite	4	1	3	25,00
22a	noite	noite	12	0	12	0,00
22b		madrugada	34	19	15	55,88
22c		tarde	5	3	2	60,00
23a	manhã	noite	2	2	0	100,00
23b		madrugada	6	1	5	16,67
23c		manhã	11	1	10	9,09
23d		noite	1	0	1	0,00

Código da postura*	Horário do repasto: manhã ¹ ou noite ²	Horário de postura: manhã ³ , tarde ⁴ , noite ⁵	Ovos	Larvas	Ovos não eclodidos	Percentual de eclosão
24a	manhã	noite	15	10	5	66,67
25a	manhã	manhã	8	1	7	12,50
25b		manhã	2	0	2	0,00
26a	noite	noite	12	3	9	25,00
27a	manhã	noite	2	0	2	0,00
28a	manhã	noite	2	1	1	50,00
29a	noite	noite	2	0	2	0,00
30a	noite	noite	15	10	5	66,67
31a	noite	noite	3	3	0	100,00
32a	noite	madrugada	51	23	28	45,10
33a	noite	manhã	2	0	2	0,00
34a	noite	noite	8	1	7	12,50
34b		manhã	13	0	13	0,00
35a	?	?	34	22	12	64,71
36a	?	?	45	27	18	60,00
Total	manhã=16; noite=18 Total=34 + 2(?)=36	manhã=11; tarde=8 noite=36; madrugada=8 Total=63+2(?)=65	1063	667	396	62,75%

* as letras a, b, c, d indicam posturas parceladas (a=1^a, b=2^a, c=3^a, d=4^a).

¹manhã: 09:00 - 10:30h; ²noite: 18:30 - 20:00h

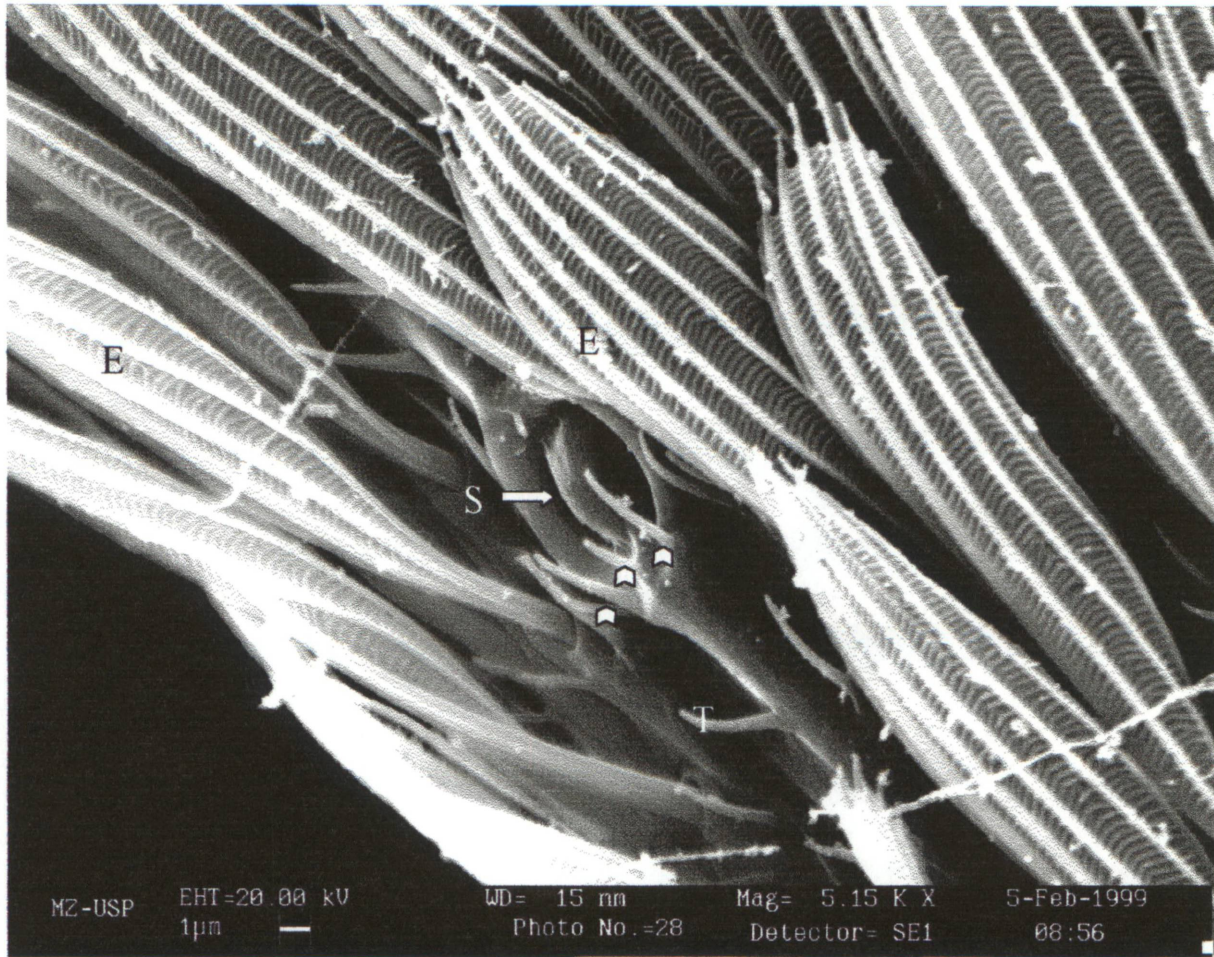
³manhã: 6:00-12:00h; ⁴tarde: 12:00-18:00; ⁵noite: 18:00-0:00; ⁶madrugada: 0:00-6:00h

Apêndice 11. Fêmeas de *Anopheles cruzii* que ovipositaram mais de uma vez e as diferenças (em horas) entre uma e outra parcela. As letras a, b, c, d indicam posturas parceladas (a = 1^a, b = 2^a, c = 3^a, d = 4^a). Anotação dos intervalos entre 20 e 30 horas.

Código das fêmeas	Dia da postura	Hora mínima da postura	Hora máxima da postura	Diferença (horas)	Intervalo de postura entre 20 e 30 horas
1a	5	15	18		
1b	5	21	24	6	
1c	7	3	6	30	*
3a	5	15	18		
3b	5	21	24	6	
4a	5	21	24		
4b	6	21	24	24	*
6a	5	18	21		
6b	6	6	9	12	
6c	6	21	24	15	
6d	8	12	15	39	
9a	5	21	24		
9b	6	18	21	21	*
10a	5	18	21		
10b	6	3	6	9	
12a	6	3	6		
12b	6	21	24	18	
12c	8	6	9	33	
13a	6	6	9		
13b	6	12	15	6	
13c	6	18	21	6	
13d	7	21	24	27	*
14a	6	6	9	15	
14b	6	21	24	15	
16a	6	12	15		
16b	6	15	18	3	
18a	6	18	21		
18b	6	21	24	3	
18c	7	0	3	3	
19a	6	18	21		
19b	6	21	24	3	
20a	6	21	24		
20b	7	3	6	6	
20c	7	18	21	15	
21a	6	21	24		
21b	7	18	21	21	*
22a	6	21	24		
22b	7	0	3	3	
22c	7	15	18	15	
23a	6	21	24		
23b	7	3	6	6	
23c	7	6	9	3	
23d	7	18	21	12	
25a	7	6	9		
25b	8	6	9	24	*
34a	6	18	21		
34b	8	9	12	36	



Apêndice 12. Conjunto de botões sensoriais (setas), provavelmente sensilas campaniformes, sem poro, com bordos elevados e filamentos radiais entre o domo e o bordo. Diversas sensilas tricódeas (T) e escamas (E) recobrem a região proximal da perna protorácica de *Anopheles cruzii*. Eletromicrografia ao microscópio eletrônico de varredura. Material recoberto com carbono. x 1.500



Apêndice 13. Botão sensorial (S) isolado com cúpula em domo, sem poro, com bordos elevados e na base três sensilas tricódeas (setas), localizados na perna mesotorácica de *Anopheles cruzii*. A estrutura é recoberta por escamas (E) e no campo aparecem ainda sensilas tricódeas (T) esparsas. Eletromicrografia ao microscópio eletrônico de varredura. Material recoberto com ouro. x 5.150