



CRIAÇÃO DE *GLOSSINA MORSITANS* WEST.
NO LABORATÓRIO

J. FRAGA DE AZEVEDO
RUI DA COSTA PINHÃO
MÁRIO M. DE ARAÚJO ABREU
J. A. TRAVASSOS SANTOS DIAS

Separata dos ANAIS DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL, Volume XVII, N.º 1/2
Março/Junho de 1960

MT|CX07

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL
DE
LISBOA

BIBLIOTECA

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL
3.^a CADEIRA (ENTOMOLOGIA E HELMINTOLOGIA)
(Prof. J. FRAGA DE AZEVEDO)

CRIAÇÃO DE *GLOSSINA MORSITANS* WEST.
NO LABORATÓRIO *

J. FRAGA DE AZEVEDO
RUI DA COSTA PINHÃO
MÁRIO M. DE ARAÚJO ABREU
J. A. TRAVASSOS SANTOS DIAS

INTRODUÇÃO

Dispondo o Instituto de Medicina Tropical nas suas novas instalações dum insectário dotado das necessárias condições para quaisquer estudos entomológicos aplicados à Medicina e muito lhe interessando assegurar para fins diversos a criação de certas espécies de glossinas, iniciou esta tentativa, com a *Glossina morsitans* West. enviada de Moçambique.

O fim que de início se pretendia atingir era o de assegurar a manutenção em condições laboratoriais duma população glossínica, para seguidamente se proceder a diversos estudos sobre a biologia e a alguns aspectos da transmissão de tripanossomas polimorfos.

Do que foram os métodos usados e os resultados obtidos, julgados isoladamente e em comparação com os alcançados pelos poucos autores que do assunto se têm ocupado, se dá conta seguidamente.

* Entregue para publicação em 15-12-959.

1 — MATERIAL E MÉTODOS

1.1 — ESTIRPE

A criação foi iniciada com pupas de *Glossina morsitans orientalis*, colhidas na região do Govuro, Moçambique. Foram recebidos três lotes nas datas e condições que a seguir indicamos:

1.º lote — Recebido em 30-4-1959, com o carimbo dos CTT de Lourenço Marques do dia 29-4, o que representa um dia apenas de viagem. Das 71 pupas que nos foram remetidas aproveitaram-se 65, pois 6 dos invólucros pupais encontravam-se vazios. Dentro da embalagem vinham 3 imagos eclodidos durante a viagem, um deles já morto e 2 ainda vivos, mas que vieram a morrer no dia seguinte, não sendo por isso considerados nos elementos referentes à população aqui criada.

2.º lote — Recebido em 15-5, ignoramos o tempo que teve de viagem, mas supomos que este tenha sido longo, não só pelo precário estado em que se encontravam as pupas, como também pelo elevado número de imagos mortos que as acompanhavam. Das 23 pupas iniciais apenas se aproveitaram 11, apresentando-se os restantes 12 invólucros vazios e havendo 10 imagos mortos.

3.º lote — Recebido aqui em 17-6, apresentava o carimbo dos CTT de Lourenço Marques de 21-5, pelo que tinha 1 mês de viagem. Das 54 pupas iniciais, eclodiram em viagem 13 imagos, que aqui chegaram mortos, e foram rejeitadas 12, que se apresentavam colapsadas e secas, aproveitando-se apenas 29 que mantinham um aspecto normal.

Apenas do 1.º lote obtivemos eclosões de insectos normais, tendo sido ele, portanto, que constituiu a única fonte de onde se originou a nossa população. Às moscas nascidas deste lote de pupas chamaremos em conjunto *primeira geração*. Aos insectos filhos destas moscas designaremos por *segunda geração*.

1.2 — CONDIÇÕES DO MEIO

A população glossínica (pupas e imagos) foi sempre mantida numa câmara climatizada em que a temperatura e a humidade estavam reguladas respectivamente para 25° C e 55 %. Dentro desta

câmara era mantida, por meio de lâmpadas fluorescentes, uma luminosidade de 550 Lx. Este valor representa a média de uma série de determinações feitas no exterior em locais mais ou menos ensombrados, em dias de sol descoberto no Verão. Um regulador automático desligava as lâmpadas de iluminação às 18 horas, voltando a ligá-las às 6 horas do dia seguinte. Durante todo o tempo da experiência o condicionamento de ar funcionou bem, e de modo contínuo, mantendo os valores da temperatura e humidade dentro dos limites escolhidos, com oscilações de fraca amplitude. Os valores máximos de oscilação da temperatura foram de 24° e 27°, mantendo-se porém a maior parte do tempo em 25°. A humidade manteve-se também, de um modo geral, bastante constante e oscilou entre 50-60 %. (Utilizou-se para registo da temperatura e humidade um aparelho provido de um sistema de relojoaria que registava aqueles elementos num gráfico de papel. De início utilizámos gráficos diários, mas, depois de verificado o bom funcionamento do climatizador, passámos a utilizar gráficos semanais.) Nas figs. 1 e 2 apresentamos dois gráficos-tipo dos modelos utilizados.

1.3 — MATERIAL UTILIZADO

As pupas eram mantidas em caixas de eclosão com 41×31×26 cm, de madeira e paredes de rede metálica, tendo num dos lados uma abertura circular permitindo a introdução da mão, a que estava adaptada uma manga de tule (fig. 3).

As moscas eram mantidas em gaiolas do tipo Roubaud (10), constituídas por uma armação metálica com 14×8×5 cm, forrada por tule com malha de 2 mm. Utilizaram-se dois tipos de tule, de algodão e de *nylon*, indo as nossas preferências para o primeiro, por ser mais maleável e, sobretudo, mais resistente. As gaiolas eram colocadas dentro de tinas de vidro, apoiadas sobre duas varetas, de forma a deixar sob elas um intervalo que permitisse a queda das larvas no fundo dos recipientes.

Para a alimentação nos cobaios utilizámos alimentadores de modelo igual ao descrito por Geigy (5) (fig. 4). Para animais de maior porte (carneiro, porco) utilizámos uma mesa provida de orifícios circulares onde eram introduzidas as patas do animal e este fixado com correias (fig. 5).

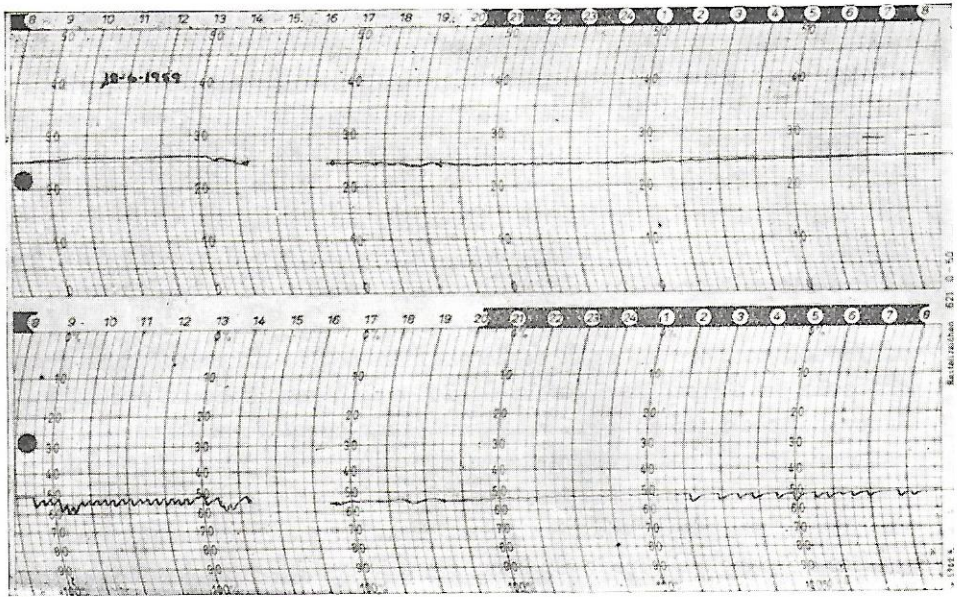


Fig. 1 — Gráfico de registo diário da temperatura (em cima) e da humidade (em baixo).

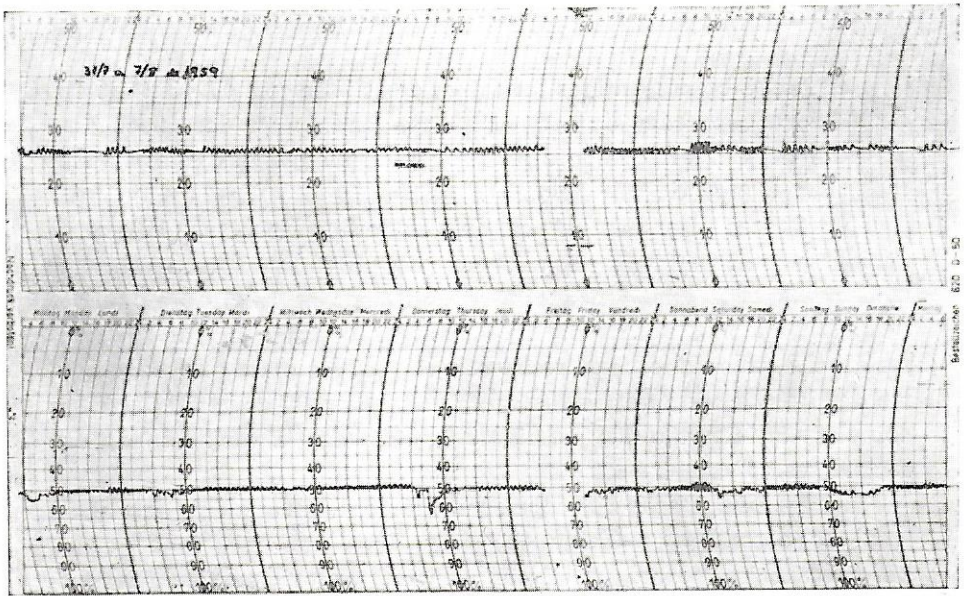


Fig. 2 — Gráfico de registo semanal da temperatura (em cima) e da humidade (em baixo).

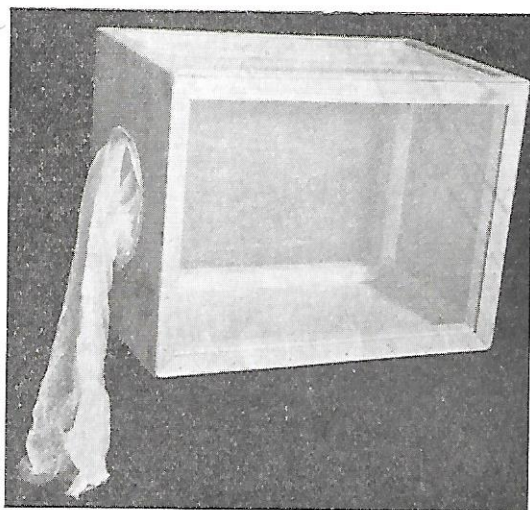


Fig. 3 — Caixa de eclosão.

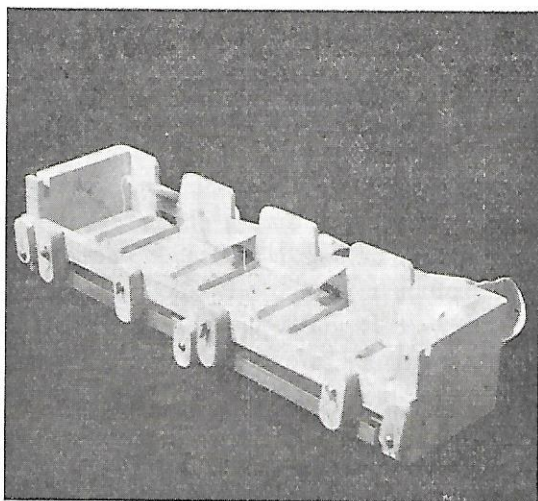


Fig. 4 — Alimentador para cobaios, modelo Geigy.

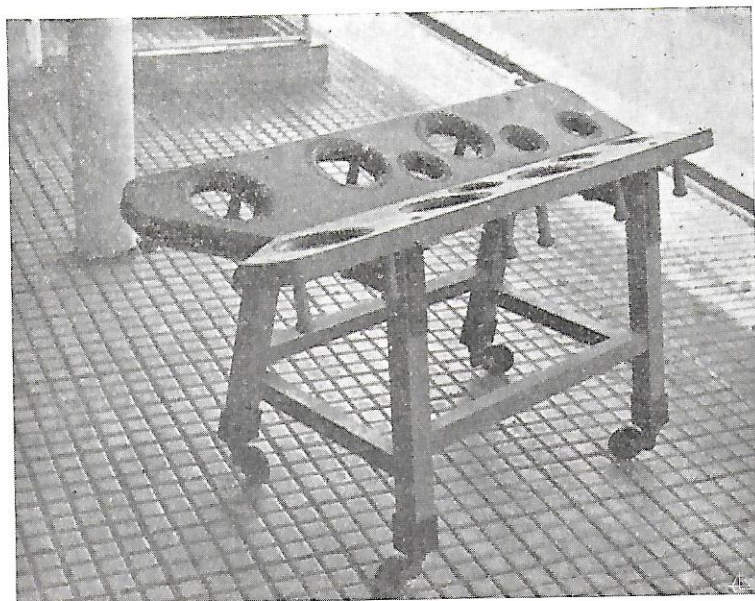


Fig. 5 — Alimentador para animais de grande porte.

1.4 — ALIMENTAÇÃO

Como animais de laboratório utilizaram-se sobretudo cobaias e carneiros, embora algumas vezes se tivesse recorrido a porcos e coelhos. O alimentador de Geigy é na realidade prático, pois permite a colocação simultânea de 8 gaiolas em 4 cobaios, sem necessitar de grande vigilância durante o período que dura a alimentação. A prática apenas nos revelou a necessidade de uma modificação naqueles que utilizámos. As travessas que limitam o espaço ocupado pelas cobaias devem ser mais altas (4-5 cm), de forma a impedir que aquelas levantem as patas e as apoiem nas gaiolas, afastando-as do seu corpo e danificando-as com as unhas, o que sucede com certa frequência. Com vista à utilização de coelhos construiu-se um alimentador do mesmo modelo, mas adaptado às dimensões deste animal. Infelizmente verificámos que um aparelho tão prático para as cobaias era inteiramente incapaz de ser utilizado com coelhos. A grande força destes animais revela o fraco poder do sistema de fixação e com facilidade eles se movem e

fazem cair as gaiolas ou as rompem totalmente com as patas. Além disso a configuração do corpo dos coelhos não facilita a boa adaptação das gaiolas. Ao passo que as faces laterais do corpo das cobaias é regular e mais saliente a meio — o que permite um encosto total da gaiola — o corpo do coelho é reentrante a meio, sendo salientes as espáduas e ancas, o que oferece uma pequena área de contacto às paredes das gaiolas. Por estas razões utilizámos apenas dois dias o coelho na alimentação das glossinas. O carneiro revelou-se um óptimo animal de laboratório para este fim. Muito pacífico, facilmente se deixava colocar e imobilizar na mesa usada, mantendo-se quieto durante todo o tempo que durava a alimentação, nunca tendo feito cair gaiola alguma. O seu volume permitia que se lhe fixassem ao dorso e flancos 12 gaiolas simultâneamente. O único inconveniente de ordem prática que há a apontar-lhes é a necessidade de frequentes tosquiadas com produção fácil de pequenas escoriações, o que, associado à acção das picadas das moscas, leva a um endurecimento e espessamento da pele que obriga, como assinala Foster (3), a mudar de animal com relativa frequência, mesmo que se usem especiais cuidados no tratamento da pele — lavagem e desinfecção diária e aplicação de substâncias oleosas. Quanto ao porco, a sua utilização deu-nos bastantes desgostos e fomos forçados a abandoná-la. Em primeiro lugar, o porco adulto começa por exigir três a quatro homens para o colocarem no alimentador. Mesmo para quatro homens a tarefa não é fácil nem se leva a cabo sem alguns acidentes e é acompanhada de grunhidos, verdadeiramente atroadores. Este barulho mantém-se aliás durante todo o período que dura a alimentação, sendo necessária a presença permanente de um auxiliar para vigiar as gaiolas, pois, por muito bem amarrado que o animal se encontre, consegue sempre mover-se bastante. Por esta razão passámos a utilizar apenas leitões, que mais facilmente eram imobilizados, mas que têm o inconveniente de permitirem a fixação simultânea de um pequeno número de gaiolas — 4 a 6 —, o que torna alimentação bastante mais morosa.

A alimentação foi feita de início diariamente, com excepção dos domingos, a partir de determinada altura. De um modo geral ficámos com a impressão de que as glossinas raras vezes se alimentam mais do que dois ou três dias consecutivos, sendo mais frequente alimentarem-se apenas em dias alternados. As fêmeas alimentavam-se mais frequente e abundantemente que os machos. No dia ou dias que ante-

cediam a larvipostura as fêmeas quase que invariavelmente não se alimentavam, mas nos períodos interlarvares era frequente alimentarem-se dias seguidos. Quanto aos machos raramente vimos um alimentar-se dois dias consecutivos.

As gaiolas eram mantidas no alimentador um mínimo de 45 minutos. Sempre que se verificava que uma determinada mosca não se alimentava dois ou três dias consecutivos ela era deixada mais tempo no alimentador e se o resultado continuava a ser nulo procurava-se levá-la a picar encostando-a directamente ao animal ou até, por vezes, na nossa própria mão. Algumas vezes conseguimos assim que moscas se alimentassem; porém, muitas vezes não conseguimos alcançar o nosso objectivo. Regra geral, essas moscas, que recusavam alimentar-se sistematicamente, vinham a falecer ao cabo de pouco tempo.

1.5 — MANUTENÇÃO DAS PUPAS

Todas as pupas foram colocadas em caixas de eclosão conservadas na câmara de cultura. As pupas aqui nascidas eram medidas logo que se colhiam e colocadas em pequenas cápsulas individuais, de vidro, com o fundo forrado a cartão, devidamente rotuladas quanto à gaiola de onde provinham e à data da larvipostura.

1.6 — MANUTENÇÃO DOS ADULTOS

Diariamente se retiravam das caixas de eclosão os imagos eclodidos, por meio de um tubo de ensaio. Em cada gaiola colocava-se apenas um casal. Regra geral, a cada fêmea nascida se juntava um macho já com alguns dias de vida, mas quando na caixa de eclosão encontrávamos simultaneamente machos e fêmeas procedíamos logo ao seu acasalamento nas gaiolas, pois verificámos uma vez que uma fêmea saiu já fecundada da caixa de eclosão.

2 — RESULTADOS OBTIDOS

2.1 — EVOLUÇÃO DA POPULAÇÃO

No gráfico I apresentamos a evolução da população glossínica aqui criada, em número de moscas diário. A tracejado (curva I) repre-

sentamos a evolução da 1.^a geração, constituída, como atrás dissemos, pelas glossinas nascidas das pupas recebidas de Moçambique. A ponteado (curva II) representamos a evolução da 2.^a geração, isto é, glossinas provenientes de larvas aqui nascidas. A cheio representamos a evolução da população total naquele período em que coexistiram as duas gerações. Para efeitos da análise da evolução destas populações não consideramos os dois insectos nascidos em 7 e 17-9, depois de a população se ter extinguido em 1-9. Aliás, estes dois insectos pertencem já a uma terceira geração, que não é possível analisar, por ter sido apenas representada por três insectos.

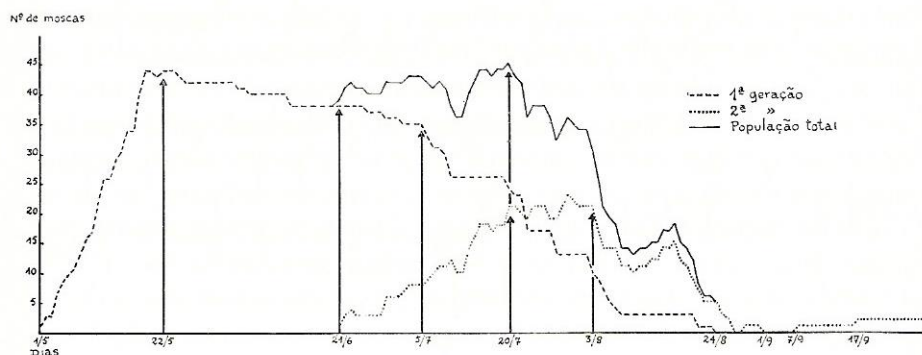


GRÁFICO I — Existência diária de glossinas

Em qualquer das três curvas distinguimos três períodos distintos: uma fase de crescimento, uma fase de estabilização e uma fase de declínio. Cada um destes períodos apresenta, porém, características e durações diferentes, como apreciaremos analisando separadamente as três curvas.

Curva I — 1.^a geração: de 1-5 a 24-8 (115 dias).

1.^o período: de 1-5 a 22-5 (21 dias) — Corresponde ao período de eclosões das pupas recebidas de Moçambique, que se fizeram a uma média superior a 2 diárias. Dos 45 insectos nascidos apenas um morreu. Tratava-se duma mosca que eclodiu defeituosa, não chegando a distender as asas e que morreu ao fim de 2 dias, sem se ter alimentado.

2.º período: de 22-5 a 5-7 (44 dias) — Corresponde a uma fase de estabilização da população, durante a qual se verificaram apenas nove mortes.

3.º período: de 5-7 a 24-8 (50 dias) — Durante este período a queda fez-se de um modo quase contínuo até à extinção da população.

· *Curva II* — 2.ª geração: de 21-6 a 1-9 (72 dias).

1.º período: de 21-6 a 20-7 (29 dias) — Corresponde à fase de crescimento da população, com eclosões em número muito superior às mortes. Eclosionaram 25 insectos e faleceram 4, um dos quais nascido anormal.

2.º período: de 20-7 a 3-8 (14 dias) — Durante este período deu-se uma estabilização da população, pois as eclosões que se verificaram foram compensadas pelas mortes, ambas em número de 6, tendo-se atingido um número máximo de 23 insectos.

3.º período: de 3-8 a 1-9 (29 dias) — Verificou-se uma extinção rápida e progressiva da população, com um número de mortes muito superior às eclosões.

Curva III — População total: de 1-5 a 1-9 (4 meses).

1.º período: de 1-5 a 22-5 (21 dias) — Corresponde ao 1.º período da curva I.

2.º período: de 22-5 a 20-7 (59 dias) — Corresponde a uma fase de estabilização da população total, com 44 glossinas no seu início e 45 no fim, representando este último o valor máximo atingido. Podemos dividir este período em duas fases:

a) Uma primeira fase, que termina em 20-6, em que apenas existiram insectos da 1.ª geração e em que o número diminuiu muito lentamente até 38; praticamente corresponde à fase de estabilização da 1.ª geração;

b) Uma segunda fase, que se inicia em 21-6 com a primeira eclosão da 2.ª geração e em que o aumento desta anula a diminuição da geração anterior; corresponde exactamente ao 1.º período da curva II.

3.º período: de 20-7 a 1-9 (43 dias) — Diminuição progressiva da população, acentuada sobretudo depois que termina a fase estável da 2.ª geração.

2.2 — LONGEVIDADE

No quadro I indicamos a longevidade média para machos e fêmeas dentro de cada geração e para a população total, bem como os máximos e mínimos de longevidade atingidos. Nos quadros II e III apresentamos em números absolutos e percentagens os mesmos elementos, agrupados por períodos de longevidade. Nos quadros I, II e III não incluímos duas moscas que nasceram anormais nem as moscas n.ºs 105 e 109, pertencentes à 3.^a geração, e que ainda actualmente se encontram vivas (1).

Como se vê da análise desses quadros, verificou-se uma diferença muito grande entre a longevidade dos elementos da primeira e da segunda gerações.

Reservamos para depois as considerações que o facto nos merece. Diremos desde já, no entanto, que, se os valores obtidos na primeira geração são francamente bons em comparação com os resultados obtidos por outros investigadores, os da segunda geração são muito inferiores ao que tem sido verificado.

Algumas das mortes foram consequência de traumatismos: 2 moscas foram mortas pelas patas de um coelho e uma cobaia que romperam as redes das respectivas gaiolas; 1 outra foi traumatizada ao ser colhida para um tubo de ensaio de dentro da caixa de eclosão e faleceu dois dias depois; um dos insectos faleceu quatro dias depois de ter sido anestesiado, a fim de ser filmado, nunca se tendo alimentado nesse intervalo de tempo. Verificámos que muitos insectos, apresentando evidentes sinais de excitação, buscavam com afincado introduzir-se nas pregas do tecido que constituía a manga de abertura das gaiolas, ficando aí aprisionados e traumatizando patas e asas. Era vulgar encontrarmos, no período de maior mortalidade, vários insectos nessas condições; libertávamo-los então o mais delicadamente possível, mas grande número vinha a falecer no dia ou dias seguintes, às vezes mesmo poucos momentos depois. Adiante referiremos a possível causa da excitação das glossinas, que as levava a introduzir-se entre as pregas do tecido, o que devia ter sido certamente a principal causa da exagerada mortalidade verificada na nossa criação.

(1) Estas moscas vieram a falecer com, respectivamente, 68 e 93 dias de vida.

QUADRO I

	1. ^a geração			2. ^a geração			População total		
	♂♂	♀♀	Total	♂♂	♀♀	Total	♂♂	♀♀	Total
	Longevidade média	59,4	74,3	66,5	18,1	14,0	13,5	31,8	40,4
Longevidade mínima	13	25	13	1	1	1	1	1	1
Longevidade máxima	98	106	106	54	57	57	98	106	106

QUADRO II — Longevidade da 1.^a e 2.^a gerações

Longevidade	1. ^a geração			2. ^a geração		
	♀♀	♂♂	Total	♀♀	♂♂	Total
	Menos de 1 mês	1- 4,8 0/0	3- 13,1 0/0	4- 9,11 0/0	23- 85,2 0/0	30- 88,2 0/0
De 1 a 2 meses	3- 14,3 »	5- 21,7 »	8- 18,2 »	4- 14,8 »	4- 11,8 »	8- 13,1 »
De 2 a 3 meses	13- 61,9 »	14- 60,9 »	27- 61,4 »	—	—	—
Mais de 3 meses	4- 19 »	1- 4,3 »	5- 11,3 »	—	—	—
	21-100 »	23-100 »	44-100 »	27-100 »	34-100 »	61-100 »

QUADRO III — Longevidade da população total

Longevidade	♀ ♀	♂ ♂	Total
Menos de 1 mês	24- 50 0/0	33- 57,9 0/0	57- 54,3 0/0
De 1 a 2 meses	7- 14,6 »	9- 15,8 »	16- 15,2 »
De 2 a 3 meses	13- 27,1 »	14- 24,6 »	27- 25,7 »
Mais de 3 meses	4- 8,3 »	1- 1,7 »	5- 4,8 »
	48-100 »	57-100 »	105-100 »

2.3 — FERTILIDADE

No quadro IV apresentamos os elementos referentes ao número de larvas e descendentes das fêmeas da 1.^a geração. Para a marcação dos intervalos entre as larviposturas contamos com a expulsão de larvas em estados atrasados de evolução, que designámos como abortos, visto termos verificado que tais acidentes nos pareceram surgir na altura correspondente a uma larvipostura normal e não fortuitamente dentro desses períodos. É possível que nos tenham escapado alguns abortos, visto se tratar de formas larvares que não saíam espontaneamente das gaiolas e, tendo passado despercebidas, poderiam ter caído durante o manuseamento daquelas. Uma das vezes nos sucedeu termo-las encontrado caídas no alimentador para cobaias, ao tirarmos de lá as gaiolas. Dado o que atrás dissemos sobre o momento em que se verificam os abortos em relação ao ciclo normal, podemos até pensar que alguns intervalos maiores entre duas larviposturas normais que aparecem no quadro, tenham na realidade sido cortadas pela produção de um aborto.

Em relação à 2.^a geração, não elaborámos nenhum quadro com os resultados verificados, em virtude de o número de elementos a apresentar ser tão escasso que não permite conclusões de ordem prática. Apenas quatro fêmeas atingiram a idade da primeira postura. Dessas, uma foi estéril e as outras puseram respectivamente 2, 2 e 1 larva. Verificámos além disso três abortos. Das cinco larvas eclodiram três insectos. Com estes elementos não é possível tirar conclusões seguras, embora pareça que, se a longevidade da população fosse tão grande como a da 1.^a geração, os elementos relativos à fertilidade também seriam semelhantes.

QUADRO IV

Número de ordem	Longevidade em dias	Número de larvas	Número de abortos	Intervalo entre as larvideposições (incluindo abortos)									Descendentes
				1. ^a	2. ^a	3. ^a	4. ^a	5. ^a	6. ^a	7. ^a	8. ^a	9. ^a	
1	83	5	0	31	9	9	7	7	—	—	—	—	5
4	31	1	0	26	—	—	—	—	—	—	—	—	0
7	94	8	0	18	12	3	9	8	8	8	13	—	7
9	77	5	0	16	27	8	8	15	—	—	—	—	4
10	89	9	0	14	9	9	8	8	7	13	9	10	6
11	106	3	3	16	19	20 a	20	8 a	15 a	—	—	—	3
15	87	5	0	38	16	8	8	9	—	—	—	—	2
16	88	8	0	15	19	8	8	8	8	7	11	—	6
18	60	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	60	3	0	16	11	19	—	—	—	—	—	—	3
20	71	3	1	42	8	8	7 a	—	—	—	—	—	2
21	73	4	2	30	9	10	8 a	8	7 a	—	—	—	1
23	104	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
27	67	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30	82	7	0	19	10	9	8	7	11	10	—	—	6
31	53	4	0	18	10	10	8	—	—	—	—	—	4
34	82	7	0	29	9	8	7	10	8	9	—	—	6
35	57	4	0	16	9	10	8	—	—	—	—	—	4
38	77	3	1	40	9	10	12 a	—	—	—	—	—	1
40	95	4	0	37	9	7	8	—	—	—	—	—	1
42	25	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		83	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	61

Número total de fêmeas	21
Porcentagem de fêmeas férteis	80,95 %
Média de larvas por fêmea	3,95
Média de larvas por fêmea fértil	4,9
Número total de descendentes	61
Média de descendentes por fêmea	2,9
Média de descendentes por fêmea fértil	3,6
Intervalos entre as larvideposições:	1. ^a 24,8 dias
	2. ^a 12,2 >
	3. ^a 9,7 >
	4. ^a 8,9 >
	5. ^a 8,8 >
	6. ^a 9,1 >
	7. ^a 9,4 >
	8. ^a 11 >
	9. ^a 10 >
Intervalo médio entre as 2. ^{as} larvideposições	10 >

2.4 — PROPORÇÃO DOS SEXOS

Não se verificaram diferenças significativas nas proporções dos sexos da 1.^a e 2.^a gerações. As percentagens de fêmeas foram respectivamente 48 % e 44 %. Não se verificou diminuição do nascimento de fêmeas no fim da criação, pois na primeira e segunda metades da população que constituiu a 2.^a geração houve respectivamente 11 e 16 fêmeas.

2.5 — ESTUDO DAS PUPAS

No quadro V apresentamos os elementos colhidos sobre as características e evolução das pupas com que trabalhámos.

QUADRO V — *Elementos sobre as pupas*

Origem	N.º	Eclôsões		Duração do p. pupal	Dimensões	
		N.º	%		Comprimento	Largura
Moçambique	65	45	69,2	?	—	—
Locais	88	64	72,7	29,2 dias (25 — 58)	5,4 mm	3,1 mm
					(6,2 — 4,6)	(3,5 — 2,5)
<i>Total</i>	153	109	71,2	—	—	—

No número de pupas recebidas de Moçambique apenas consideramos as que constituíam o primeiro lote que recebemos, pelas razões que no início indicámos, isto é, por ter sido o único que nos chegou aqui com um tempo de viagem suficientemente curto, muito inferior ao período normal de evolução pupal. Só desse, portanto, podemos tirar elementos válidos sobre a percentagem de eclôsões. Se abstrairmos do factor tempo e considerarmos apenas o aspecto das pupas recebidas, teríamos então no conjunto das três remessas um total de 105 pupas, o que nos reduziria a percentagem de eclôsões para 42,9. Se considerarmos a totalidade das pupas que nos foram enviadas, teremos uma percentagem de eclôsões de apenas 30,4 %, número que apresentamos não pelo seu interesse biológico — que é nulo — mas por

nos dar uma noção sobre o volume de pupas que será necessário colher na origem para se obter uma determinada população inicial, isto, é claro, mantendo-se iguais as condições e rapidez das remessas. No número de eclosões apenas consideramos os insectos que chegaram a libertar-se completamente do invólucro pupal e que, embora de aspecto anormal, viveram algumas horas. Excluimos, portanto, um insecto que não chegou a libertar a metade posterior do corpo do invólucro.

Na indicação do período pupal figura o valor médio e as durações máxima e mínima verificadas. O valor que apresentamos para a duração máxima foi verificado apenas uma vez e afasta-se extraordinariamente da totalidade dos outros casos, pois a seguir a ele o máximo verificado foi apenas trinta e quatro dias. Trata-se, portanto, dum valor nitidamente anormal, que nunca vimos citado na literatura. Dado o sistema utilizado para a manutenção das pupas, não nos foi possível determinar o período pupal separadamente para os dois sexos, mas ficámos com a impressão de que ele deve ter sido superior nos machos, embora a diferença não deva ter sido muito acentuada.

Não verificámos diferenças significativas nos elementos colhidos separados em dois lotes, cada um dos quais abrangendo metade da população, o que significa não ter havido tendência, com o correr do tempo, para aparecerem pupas mais pequenas ou se modificar a duração do período pupal.

2.6 — OBSERVAÇÕES DIVERSAS

Alimentação — Não nos pareceu que as moscas mostrassem qualquer preferência por algum dos animais utilizados, nem que estes apresentassem diferenças no seu valor alimentar. Esta é, no entanto, uma impressão apenas, pois não estudámos o problema objectivamente, o que achamos que deveria ser tentado, pois os resultados de Willett (13) que adiante citamos (4.4), embora não conclusivos, levantam dúvidas que seria útil esclarecer.

Verificámos que a morte das moscas era sempre, ou quase sempre, precedida de um período de jejum mais ou menos prolongado. Não nos pareceu, porém, que, na maioria dos casos, a morte fosse consequência directa do jejum, mas sim que este representava já uma manifestação da anomalia que levava à morte. Vimos várias

vezes uma mosca traumatizada falecer uns dias depois, sem entretanto voltar a alimentar-se. Foi o que sucedeu, por exemplo, com um macho que foi filmado e esteve 15 minutos sujeito à acção dum anestésico, o éter, e sob um foco luminoso bastante intenso. Embora tivesse recuperado bem da anestesia e ficado aparentemente normal, não voltou a alimentar-se, morrendo passados quatro dias. Outras vezes, porém, um traumatismo era seguido de morte, sem qualquer causa aparente, e apesar de a mosca ter continuado a alimentar-se. Uma vez, entalámos com a boca do tubo de ensaio uma mosca quando a recolhíamos na caixa de eclosão. Ficou bastante tempo imóvel, mas pareceu recuperar depois totalmente e alimentou-se bem, tendo, porém, vindo a falecer ao terceiro dia. Encontrámos um dia moribunda uma mosca que não se alimentava há três dias. Colocámo-la sobre um cobaio e procurámos pô-la em boa posição para picar, o que conseguimos ao fim de várias tentativas. Ingurgitou-se bem e, com surpresa nossa, vimo-lo voar com aspecto normal, passado pouco tempo. Ficámos portanto com a impressão de que a causa do estado em que a encontramos era apenas a fome, mas a verdade é que, apesar da alimentação, a encontramos morta passadas vinte e quatro horas.

Muitas vezes verificámos factos semelhantes: moscas que estavam sem se alimentar há dois ou três dias, e que conseguíamos alimentar à custa de muita insistência e paciência, vinham a morrer no dia ou dias seguintes. Por outro lado, muitas moscas estavam alguns dias sem se alimentarem, faziam-no depois espontaneamente ou após alguma insistência nossa e continuavam vivas durante muito tempo. Sobretudo para o fim da população, as moscas morriam com um ou dois dias de vida sem se terem alimentado, enquanto que muitas outras vezes continuavam vivas, embora não se alimentassem no dia da eclosão. Tivemos de uma vez uma perfeita demonstração de que a morte nestes casos não era devida à fome. Uma mosca que não se alimentou, no dia da eclosão, no animal de laboratório onde esteve durante uma hora, foi depois colocada sobre a nossa mão e passado pouco tempo sentíamos com grande intensidade a sua picada. Durante 20 minutos, manteve-se a picar-nos e mais de uma vez sentimos o seu ferrão abrir novo trajecto, o que era sempre bastante doloroso. Aparentemente, a mosca fazia grandes esforços para se alimentar, baixando e levantando o corpo, erguendo o abdómen em movimentos compassados e introduzindo mais ou menos o ferrão, deixando a picada que nos fez

a sangrar depois que se soltou. No entanto, não vimos no seu abdómen o menor vestígio de sangue nem aumento de volume e no dia seguinte estava morta. A uma mosca normal bastam alguns segundos para ingerir uma quantidade de sangue perfeitamente visível através do tegumento abdominal. Comprovámos o facto pessoalmente, pois uma mosca que nos picou na mão, quando a tínhamos introduzido na caixa de eclosão e que rapidamente enxotámos, apresentava no abdómen, ao ser retirada, uma quantidade de sangue bastante apreciável.

Fecundação — Várias vezes verificámos que os machos recém-eclodidos imediatamente iniciavam uma cópula, ao serem juntos a uma fêmea. A cópula, como atrás dissemos, chegou até a ser praticada dentro da caixa de eclosão, por insectos com menos de 24 horas de vida. Estas cópulas precoces foram praticamente sempre férteis, o que não está de acordo com a afirmação de Foster de que o melhor período para a fecundação é, nas fêmeas, o 3.º e 4.º e, nos machos, entre o 10.º e o 14.º dias de vida.

Não nos pareceu que a junção permanente do macho com a fêmea aparentasse quaisquer vantagens ou inconvenientes pelo que diz respeito à fertilidade ou produção de abortos desta última. No entanto não realizámos uma investigação cuidada a este respeito. É, porém, um aspecto da técnica da criação de glossinas que tencionamos estudar no futuro.

Parasitismo — Uma pupa do 1.º lote, quatro do segundo e duas do terceiro apresentavam-se parasitadas por *Thyridanthrax abruptus* Lw.

3 — ANALISE DOS RESULTADOS

Ao pretendermos valorizar os resultados que obtivemos, socorremos-nos, fundamentalmente, da sua comparação com os obtidos pelos vários autores que realizaram experiências sobre criação de glossinas. Não são estas porém muito numerosas e, além disso, foram empreendidas, em grande parte, ou com objectivos limitados, ou com o propósito principal de obter moscas para trabalhos experimentais sobre a doença do sono. Todas elas são, portanto, bastante omissas sobre elementos que mais nos interessam, como, por exemplo, a longevidade e reprodutividade. Diversas têm sido também as espécies criadas e, embora de todas as experiências algo de comum se possa aproveitar,

pensamos que só nos é lícito estabelecer comparações válidas com criações de *Glossina morsitans*, espécie com características bioecológicas bem definidas e, sob certos aspectos, até bem diferentes das de outras espécies.

Glossinas foram pela primeira vez criadas fora do seu *habitat* natural por Roubaud (10, 11) em 1913, e foi precisamente uma população de *Glossina morsitans* que ele conseguiu manter em Paris durante três anos. Em 1939, Broom (1) manteve em Londres uma pequena colônia de *Glossina morsitans*, mas fê-lo com o objectivo de obter moscas para um estudo de tripanossomiase e a sua comunicação é para nós de pouco interesse, pela escassez de elementos que fornece. Apenas conhecemos estas duas experiências de criação de *Glossina morsitans* em laboratórios europeus. Em África são relativamente numerosas as publicações sobre criação de glossinas no laboratório, mas na grande maioria de casos as populações são mantidas à custa de sucessivas remessas de pupas ou imagos colhidos na natureza, o que nos impede de estabelecer comparações com os nossos resultados. Por esta razão recorreremos fundamentalmente aos resultados obtidos por Willett (13) e Foster (3, 4), que publicaram os trabalhos mais completos até à data sobre o estudo das possibilidades de manutenção de uma colônia de *Glossina morsitans* no laboratório. Sobretudo o último, orientou a sua experiência em moldes muito semelhantes aos que seguimos, o que torna o seu trabalho particularmente valioso para nós.

3.1 — EVOLUÇÃO DAS POPULAÇÕES

Roubaud (10, 11), a partir de pupas que levou de Brazzaville para Paris, obteve 6 glossinas, 2 machos e 4 fêmeas, das quais apenas uma deu descendência: 4 larvas que constituíram o começo duma população que se manteve durante três anos e que atingiu o efectivo máximo de 32 moscas. Passado este tempo a população extinguiu-se pela concorrência de dois fenómenos: aumento da produção de machos e diminuição da fecundidade das fêmeas.

Willett (13) iniciou a sua criação com 37 fêmeas colhidas na natureza e manteve uma população que se extinguiu à 5.^a geração, a qual foi constituída apenas por dois machos.

Foster publicou em 1957 os resultados de uma primeira tentativa de criação de *Glossina morsitans* no laboratório e posteriormente, já

com melhores condições de trabalho (câmara climatizada), repetiu a experiência com três novas colônias, variando as condições experimentais (diferentes periodicidades na alimentação). Transcrevemos os termos em que Foster resume a evolução da sua colônia: «The colony originated from a batch of wild caught pupal, and three principal facts emerged from subsequent history. First, the number of flies increased satisfactorily for a time, a steady and progressive rise in total numbers of about 7 % per week being observed. But secondly, each generation appeared less virile than the previous one, and thirdly only while the first generation was the predominant part of the colony did the latter show an increase in total numbers. Latter a steady decline was observed.»

Estas palavras resumem o que se passou com todas as populações criadas no laboratório, incluindo a nossa. Apenas no que diz respeito ao número de gerações obtidas em cada uma delas se verificaram diferenças, aliás pouco acentuadas. Ignoramos o número de gerações que obteve Roubaud, mas, dado que a sua população durou três anos, elas foram certamente em número superior às nossas. Willett, num dos seus lotes (alimentadas em cobaias), chegou à 5.^a geração e no outro (alimentadas no carneiro) chegou apenas à 4.^a geração. Como porém iniciou as populações com moscas, a sua 2.^a geração corresponde à nossa 1.^a e, como na realidade chegámos a obter insectos da 3.^a geração, os seus resultados apenas são superiores aos nossos por ter iniciado a população com um número de insectos inferior a nós. Foster, na sua primeira colônia, que iniciou com 539 moscas, apenas chegou também à 3.^a geração.

Podemos pois dizer, em resumo, que a nossa população teve uma evolução idêntica à das anteriormente criadas no laboratório por vários experimentadores.

3.2 — LONGEVIDADE

Roubaud não apresenta valores das longevidades obtidas, mas de alguns elementos que fornece pode deduzir-se que a longevidade média das suas fêmeas foi de 65-66 dias. Duas delas viveram mais de 150 dias, mas a maioria ($\frac{2}{3}$) viveu menos de dois meses.

Willett apresenta os seguintes valores da longevidade das fêmeas

das sucessivas gerações: 56,6, 57,6 e 38,4 dias nas alimentadas em cobaios e 39,0, 78,5 e 67,0 dias nas alimentadas em carneiros.

Foster obteve nas suas quatro colônias os seguintes valores para a longevidade média das fêmeas: 60,8, 40,3, 87,6 e 90 dias, na 1.^a geração. Na colônia número 1, única de que possuímos elementos completos, a longevidade média das fêmeas da 2.^a e 3.^a gerações foi, respectivamente, 61,9 e 24,6 dias.

Podemos, pois, considerar a longevidade da nossa 1.^a geração bastante boa, apenas tendo sido ultrapassada pela das duas últimas colônias de Foster. Pelo contrário, a nossa 2.^a geração teve uma longevidade média muitíssimo baixa.

Na 1.^a colônia de Foster, 20 % das fêmeas da 1.^a geração viveram menos de 10 dias (0 no nosso caso) e 58,6 % viveram menos de 1 mês (4,8 % no nosso caso). Na 2.^a e 3.^a gerações os números de Foster para a mortalidade ao mês são de 39,2 % e 66,7 % respectivamente (85,2 % no nosso caso).

3.3 — FERTILIDADE

Roubaud não nos dá elementos sobre o número médio de larviposturas, mas diz-nos que a maioria das moscas não ultrapassou o número de 5 larvas; duas moscas deram 12 larvas e uma 14.

Sobre o número de fêmeas estéreis diz-nos que ele foi elevado. Podemos pois considerar os seus resultados inferiores aos nossos.

As médias de larvas que Willett aponta para as suas 4 gerações oscila entre 3 e 1, valores, portanto, inferiores aos nossos.

Também Foster obteve resultados inferiores aos nossos. Nos seus 4 lotes apresenta os seguintes resultados:

Porcentagem de fêmeas férteis: 27, 38, 62 e 70 % (80,95 % na nossa colônia).

Porcentagem de fêmeas em idade de reprodução férteis: 65, 64, 74 e 76 % (*idem*).

Média de larvas por fêmea: 1,25, 1,20, 2,15 e 2,38 (3,95 na nossa colônia).

Média de larvas por fêmea fértil: 4,65, 3,20, 3,48 e 3,40 (4,9 na nossa colônia).

Roubaud não nos dá elementos sobre a data da primeira larvipostura. Apenas nos diz que esta se verificava em média de 15 a

20 dias após a fecundação, mas ignoramos quando esta se realizava. Willett também não fornece elemento algum sobre a primeira postura nem os intervalos subsequentes. Foster não indica a data da 1.^a larvipostura, mas, como diz que várias moscas tiveram alguns abortos antes de porem uma larva normal, supomos que, em média, o prazo deve ter sido relativamente longo. Quanto aos intervalos subsequentes, diz ter sido de 13 dias o mais vulgar, mas que eram comuns intervalos de 25, 40, 52 e 78 dias, números que frisa serem todos múltiplos próximos de 13. É pena não nos referir se verificou ou não abortos entre estas larviposturas mais espaçadas, pois seria interessante verificar se eles se produziram com a periodicidade normal, como nos pareceu verificar na nossa colónia.

3.4 — ESTUDO DAS PUPAS

Roubaud obteve fracas percentagens de eclosões, citando-nos dois lotes em que as não eclosões se verificaram em $\frac{1}{3}$ e $\frac{2}{3}$ das pupas. Willett e Foster obtiveram percentagens de eclosões respectivamente de 76,6 % e 70 %. O valor por nós obtido é, pois, bastante bom. Quanto à duração do período pupal, o valor normalmente citado anda à volta de 30 dias, sendo superior nos machos.

Os autores citados não nos dão elementos sobre as dimensões das pupas. Willett foi o único que lhes dedicou particular atenção, mas recorreu ao elemento peso nas suas observações. Kinghorn (7), que pela primeira vez deu uma descrição pormenorizada das pupas de *Glossina morsitans*, em 1912, apresentou os seguintes valores médios: 5,53 mm para o comprimento e 3,2 mm para a largura.

4 — REVISÃO DOS MÉTODOS DE CRIAÇÃO

Da análise a que procedemos dos nossos resultados verificámos que num aspecto a nossa população se comportou de um modo inferior ao que até à data tem sido verificado em experiências semelhantes. Embora a diminuição da longevidade das gerações mais avançadas seja fenómeno geral sempre observado, o decréscimo que se verificou na nossa 2.^a geração foi particularmente brusco e acentuado. Pensá-mos, pois, que seria útil proceder a uma análise comparativa dos

métodos até à data utilizados. Além do interesse de ordem particular que esta comparação tem para nós, ela tem também um evidente interesse de ordem geral, pois o problema das condições óptimas para a criação de glossinas está longe de se considerar resolvido.

Foster, no seu trabalho de 1957, resumia assim a situação: «When working with tsetse flies it is often important that the vital statistics of the flies be known (e.g. age), but although these flies are maintained in a number of laboratories, the problem of maintaining a self-supporting colony without the addition of wild pupae is of long standing. The most notable success appears to have been with *Glossina palpalis* in West Africa, and there seems to have been little success with the East African savannah species.»

4.1 — CONDIÇÕES DO MEIO AMBIENTE

Roubaud manteve as moscas em estufas de Roux a uma média térmica de 25° e 27° C, com 50-55 % de humidade relativa. Durante um período em que a temperatura subiu a 32° e a humidade baixou para 50 %, verificou-se grande mortalidade na população. Foster diz ter verificado, na sua primeira colónia, que a variação diurna óptima de temperatura era de 23,5 a 26,5, mas as restantes colónias foram mantidas em câmara climatizada à temperatura constante de 26° C. Ignoramos o valor da humidade relativa que adoptou na câmara, mas na sua colónia inicial diz ter verificado que os valores óptimos oscilavam entre 60-75 %.

Quanto à luminosidade, apenas Foster nos dá alguns elementos, pois este factor parece ter sido bastante negligenciado até à data. Foster tinha luz artificial 6 a 8 horas por dia, sendo a intensidade junto às moscas de aproximadamente 214 Lx. Verificou posteriormente que a alimentação melhorava mantendo as moscas à luz do dia (43 Lx aproximadamente) e pensa que é possível que um período de iluminação maior por dia tivesse melhorado os resultados da colónia.

4.2 — MANUTENÇÃO DOS ADULTOS

Roubaud e Willett conservaram as suas moscas em caixas do tipo das que utilizámos, mantendo um número relativamente elevado de moscas em cada gaiola.

Foster utilizou inicialmente gaiolas de tipo Roubaud, mas passou depois para uma criação do tipo individual, em que as glossinas eram mantidas em tubos de vidro com $2,5 \times 7,5$ cm. A razão que Foster invoca para esta mudança interessou-nos particularmente, por vir de encontro a um facto que observámos e que pode reconhecer a mesma causa. Diz Foster que o facto de as gaiolas ao fim de um certo tempo ficarem impregnadas do cheiro do animal alimentador provocaria nas glossinas uma excitação considerável, levando-as a um voo contínuo e repetidas tentativas de picada. Quando na realidade lhes era oferecida comida, muitas moscas estavam demasiado extenuadas para se alimentarem. Na sua opinião, este facto era responsável por elevada mortalidade. Também nas nossas moscas verificámos a certa altura, como atrás dissemos, uma considerável excitação, com tendência à introdução dos insectos nas pregas do tecido das gaiolas, o que, em nossa opinião, foi uma causa de grande mortalidade. Regra geral, as moscas em que verificámos anormal excitação não se alimentavam. Será a explicação deste facto a que aponta Foster? Não o podemos afirmar, mas o facto parece-nos ser de considerar e merece uma tentativa de esclarecimento. A técnica do engaiolamento individual apresenta um inconveniente sério: torna muito mais morosa a operação da alimentação. No entanto, ele oferece-nos possibilidades de estudo muito mais seguras e eficazes da evolução e comportamento biológico das glossinas e parece-nos que é o método ideal de estudo.

4.3 — MANUTENÇÃO DAS PUPAS

Roubaud não nos dá pormenores sobre a manutenção das suas pupas, mas certamente que as conservava na mesma estufa dos adultos. Refere-nos que a certa altura pensou imitar o que se passa na natureza e colocou as gaiolas sobre uma camada de areia, na espessura da qual as larvas penetravam e efectuavam a pupação. Abandonou, porém, o método por nenhuma das pupas nestas condições ter dado origem a insectos adultos. Foster voltou a recorrer ao mesmo método, mas desta vez com bons resultados. A pupação dava-se nos tubos onde viviam as moscas e depois colocava as pupas em caixas de madeira contendo areia numa espessura de 2 cm aproximadamente. Os insectos eclodidos saíam da caixa atraídos pela luz, através dum orifício aberto na tampa, sobre o qual estava invertido um frasco.

As pupas eram mantidas à temperatura da sala e a uma humidade de 55-60 %. Verificou que a elevação da humidade para 80 % diminuía consideravelmente o número de eclosões.

4.4 — ALIMENTAÇÃO

Roubaud utilizou como animais alimentadores cobaios e coelhos, cremos que sem variar a alimentação das moscas. Ao começar a verificar diminuição da fertilidade da sua colónia, resolveu variar a alimentação individual, passando da cobaia para o coelho e depois para galinhas, fazendo a alimentação diàriamente. Não colheu, porém, efeitos benéficos desta variação.

Willett dividiu as suas moscas em dois lotes, cada um alimentado diàriamente no mesmo animal — cobaio e carneiro —, mas não obteve diferenças concludentes entre os dois lotes no que diz respeito à longevidade ou fertilidade.

Foster utilizou o carneiro durante a maior parte do tempo que viveu a sua colónia. Inicialmente, utilizou coelhos e cobaios, mas a mudança para o carneiro melhorou a produção de pupas. Quando uma mosca estava muitos dias sem se alimentar (10 dias ou mais!) no carneiro, mudava-a para o cobaio e diz que 56-60 % das moscas neste caso se alimentavam então, voltando depois para o carneiro. Foster diz ter verificado que a alimentação diária originava uma série de alimentações parciais, o que tinha um efeito prejudicial sobre a produção de pupas. Por outro lado, verificou que havia uma relação directa entre a duração do período interlarvar e o intervalo máximo sem alimentação durante esse período e que um número de alimentações em intervalos curtos não era suficiente para contrabalançar o efeito de um intervalo longo sem alimentação. Por isso, escolheu alimentar as moscas de 4 em 4 dias, insistindo diàriamente com as que não se alimentavam, até o conseguir, e retomando então o ciclo de 4 dias. Nas suas colónias 3 e 4, diminuiu o intervalo entre as alimentações para respectivamente 3 e 2 dias e esta experiência confirmou a observação anterior: diminuiu o período interlarvar, mas diminuiu também a produção de larvas por mosca.

Foster apresenta também elementos interessantes sobre o efeito da temperatura e iluminação na alimentação. A temperatura no local de alimentação parece ser fundamental. A alimentação era realizada

num local mais aquecido que o local onde as moscas repousavam (80°-81° F). A 79° F a alimentação era apenas fraca e a 78° F (25,6) e 82° F (27,7) era inadequada. Diz-nos também que as moscas recentemente eclodidas, particularmente na 2.^a e 3.^a gerações, frequentemente se mostravam desinteressadas da alimentação, se durante a noite anterior à eclosão a temperatura ambiente baixava a menos de 74° F (23,3), o que é curioso, visto no seu *habitat* natural a temperatura mínima baixar frequentemente além deste valor. Na sua colônia, porém, 75 % das moscas eclodidas nestas condições recusavam alimentar-se e praticamente morriam todas dentro de 2-3 dias; as restantes 25 %, que se alimentavam, comportavam-se depois normalmente. Quanto à iluminação, diz-nos também ter verificado que a alimentação requeria uma intensidade luminosa mínima de 2-3 Lx.

No que respeita à duração da alimentação, Foster apenas nos dá elementos sobre o método que adoptou. As moscas eram colocadas no animal alimentador durante 10 minutos apenas, picando 50-60 % delas. Eram de novo colocadas num animal passados uns 15 a 20 minutos e desta vez obtinha resultado positivo em mais de 20-30 %, conseguindo um resultado final de 70-90 % de moscas que picavam.

5 — CONSIDERAÇÕES FINAIS

Da comparação que fizemos dos nossos métodos e resultados com os de outros investigadores, pensámos que uma conclusão se pode tirar: não se poder atribuir à influência das condições de criação a curta longevidade da nossa 2.^a geração. Aliás, os métodos que adoptámos são idênticos aos utilizados pelos outros investigadores e as diferenças que apresentam de cada um deles não são superiores àquelas que eles próprios apresentam entre si. Pensamos que sob alguns aspectos a técnica que seguimos pode ser talvez aperfeiçoada, mas a verdade é que as condições de criação foram iguais para as duas gerações que obtivemos e não é lógico pensar que, tendo sido de molde a permitir os excelentes resultados que obtivemos na 1.^a geração, possam ser incriminadas pelo fraco resultado da segunda geração.

Pusemos a nós próprios a hipótese de, a determinada altura, ter surgido qualquer factor nocivo (infeccioso, por exemplo) que nos passasse despercebido e tivesse sido o responsável pela mortalidade

observada. Não a aceitamos, porém, já que, logicamente, esse factor atingiria simultaneamente todas as moscas e as mais velhas teriam desaparecido, pelo menos com a mesma velocidade das mais novas. Ora, na verdade, a 1.^a geração, como vimos, extinguiu-se quase ao mesmo tempo da segunda, isto é, as moscas mais velhas da primeira geração duraram todo o tempo que levou o nascimento e extinção da 2.^a geração. Teríamos de admitir que esse factor nocivo apenas teria actuado sobre as moscas da 2.^a geração, hipótese muito pouco verosímil.

Podemos, no entanto, admitir que a causa da inferioridade das moscas da 2.^a geração tenha sido bastante mais precoce e se filie na existência de condições adversas, ou insuficientes, durante o seu desenvolvimento larvar. Não possuímos infelizmente tantos conhecimentos sobre a biologia das formas larvares como sobre a dos imagos das glossinas. Diz Buxton, referindo-se a esta deficiência dos nossos conhecimentos: «The life of the larva is so brief that there is a tendency to neglect it and we have very little information about death in this stage». Pensamos, porém, que é possível admitir-se que a sujeição a condições adversas durante a fase de desenvolvimento, desde o período de maturação folicular até ao período pupal, provoque o nascimento de insectos que, embora morfológicamente normais, venham fisiologicamente inferiorizados. Citámos atrás a observação de Foster sobre a influência do abaixamento da temperatura durante o período imediatamente anterior à eclosão, sobre o aparecimento de elevada percentagem de insectos que não se alimentavam e morriam em pouco tempo. Este é, cremos, um bom exemplo da existência de uma inferiorização fisiológica nítida, provocada por um traumatismo exercido sobre a pupa. Este aspecto do problema não se encontra suficientemente estudado e é possível que ele seja fundamental para a criação de possibilidades de tornar uma população auto-suficiente no laboratório. Ao que sabemos, apenas Geigy o afluorou na comunicação que fez sobre a sua criação de *Glossina palpalis*. Apesar de se tratar aí duma espécie diferente, pensamos que a sua experiência tem aspectos gerais bastante importantes para justificar uma referência especial.

Geigy (5), em 1945 transportou de avião, de Brazzaville para a Suíça, um lote de glossinas conservadas numa geleira à temperatura de 8° C. Henrard verificara já ser possível manter glossinas vivas durante alguns dias a baixas temperaturas; a 8° C elas tornavam-se

imóveis, continuando a digerir lentamente o sangue absorvido. Apesar da mortalidade elevada (42%), Geigy conseguiu assim um lote inicial de 120 moscas que originou uma população auto-suficiente, que, passados três anos, tinha mais de mil glossinas. Durante este período, Geigy recebeu, em diferentes alturas, cinco lotes de pupas da mesma proveniência, das quais obteve cinco populações que manteve separadas entre si e da população principal, mas que foram criadas exactamente nas mesmas condições desta última. Apesar do número elevado de pupas que constituía cada lote (entre 200 e 481), todas estas populações se extinguíram ao fim de um tempo bastante curto e que foi sempre proporcional ao número inicial de insectos de cada lote. Comparando a excelente evolução da primeira população com o malogro verificado nas outras cinco, Geigy escreve: «On est porté à croire que la vitalité et peut-être aussi le pouvoir reproducteur des imagos, eclos de pupes transportées, ont été diminués et que par conséquent leur populations sont condamnées à s'éteindre plus vite. Nous avons, en effect, observé que les mouches des populations a) à e) présentent plus de mortalité que celles de l'élevage principal. Pour pousser plus loin l'analyse de cet intéressant phénomène nous avons croisé quelques individus de l'élevage principal avec des individus appartenant à une des populations en déclin. Il s'agit de voir si l'apport génétique de la souche principale est capable de ranimer la vitalité de la descendance resultant de ces croisements». Pensamos que este é um caminho que merece ser encarado a sério, não só pelo interesse teórico do problema, mas porque pode ter consequências práticas importantes sob o aspecto de fornecer possibilidades de dispor de glossinas perfeitamente adaptadas ao laboratório. Para já, o resultado obtido por Geigy, com uma espécie considerada mais difícil do que a *Glossina morsitans* (Rodhain et Van Hoof) (9), constitui o primeiro e único, ao que supomos, sucesso a contrapor ao panorama geral que Foster nos traçou na frase atrás citada.

Para terminar, queremos encarar ainda uma outra possível explicação para a mortalidade que a certa altura se verificou na nossa população, qual seja a de ela ter sido provocada, não por um factor nocivo eventual, mas sim por um processo biológico natural, que ocorra na natureza de um modo cíclico. Não são novas observações sobre o fenómeno da diminuição espontânea, na natureza das populações glossínicas, em determinados periodos do ano. Jackson (6), no Tanga-

nhica, verificou que populações de *Glossina morsitans* apresentavam uma variação cíclica, com um máximo situado em Julho e Agosto e um mínimo em Dezembro. Nash (8), na Nigéria, verificou também uma pronunciada expansão e contracção estacional das populações de *Glossina morsitans* e *G. sub-morsitans*. Estes autores relacionaram tais modificações cíclicas com as variações climáticas. Diz Nash: «The density of the population of both races follows a seasonal cycle that is basically the same; density decreases in the dry season, becoming minimal towards the end; density starts to increase at the beginning of the rains, becoming maximal some months later. This density cycle is closely related to seasonal saturation deficiency and evaporation». Após citar estas observações, Buxton (2) acrescenta que: «Evidence from other parts of Africa is scattered or incomplete, but suggests that throughout its range there are annual, and longer, cycles in the numbers of *Glossina morsitans*». Se tais ciclos dependem ou não apenas de factores climáticos, não considera que existam suficientes dados de observação para o afirmar. É possível que não, pois se pode citar a existência pelo menos de um outro factor que concorre para o mesmo efeito. Referimo-nos ao parasitismo das pupas por outros insectos, como, por exemplo, os *Thyritanthrax* que encontrámos nas nossas pupas, e que se sabe ser mais intenso em certas épocas do ano. Porém, além das causas externas, climáticas, parasitárias ou outras, interessa ao nosso problema a possibilidade da existência de um ciclo biológico natural, que leva à diminuição espontânea das populações, e que poderia explicar o que se verificou na nossa população. Não temos possibilidade de nos pronunciarmos sobre esta hipótese, pois não encontrámos na literatura elementos suficientes. Impressionou-nos porém uma referência de Geigy, que transcrevemos, por considerarmos que constitui uma importante sugestão neste sentido. Analisando a evolução da sua população, Geigy verificou, em Agosto de 1948, uma elevada mortalidade que não pode ser explicada por quaisquer modificações nas condições de criação.

Por essa razão, diz: «Nous ignorons s'il s'agit là d'un phénomène saisonnier conditionné par des facteurs internes; ce ne serait qu'au bout de quelques années qu'on pourrait se prononcer là-dessus». É curioso que foi também em Agosto que se registou a maior mortalidade da nossa população. Apesar da ausência de modificações climáticas, tanto na população de Geigy como na nossa, verificou-se

elevada mortalidade no mesmo período do ano em que o mesmo facto se verifica na natureza. Aqui, também, parece apresentar-se-nos um interessante campo de estudo, ainda não explorado, sobre a biologia das glossinas.

RESUMO

Os autores apresentam os resultados obtidos com uma cultura, no laboratório, de *Glossina morsitans* West. a partir de pupas recebidas de Moçambique e comparam-nos com os de tentativas semelhantes, fazendo uma revisão crítica sobre os métodos utilizados por diversos autores. Insistindo sobre o interesse de se conseguir a adaptação ao laboratório das glossinas, os autores são levados a pôr a hipótese de os insucessos até à data verificados não serem devidos, principalmente, a defeitos na técnica de cultura, mas sim a factores biológicos específicos ainda não conhecidos.

RÉSUMÉ

Les auteurs présentent les résultats obtenus avec une culture, faite au laboratoire, de *Glossina morsitans* West. en partant des pupes reçues du Moçambique. Ils font la comparaison avec les résultats obtenus dans d'autres tentatives pareilles, en faisant une révision critique sur les méthodes utilisées par les différents auteurs. Ils insistent sur l'intérêt de parvenir à l'adaptation au laboratoire des glossines et ils sont amenés à poser l'hypothèse selon laquelle les échecs vérifiés jusqu'ici ne sont pas dus à des défauts de technique des cultures, mais, et principalement, à des facteurs biologiques spécifiques qui ne sont pas encore connus.

SUMMARY

The authors present the results obtained with the *Glossina morsitans* West. culture, in laboratory, starting from pupae from Moçambique. They compare these results to those obtained in similar experiments, reviewing the methods employed by different authors. They emphasise the interest of achieving the adaptation of glossinae to laboratory and present the hypothesis that the failures which have been verified up to the present are not due to defective methods of culture, mainly, but to specific biological factors still unknown.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BROOM, J. C. — Maintenance of *Glossina morsitans* in England for experimental work — *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 32: 633, 1939.
- 2 — BUXTON, P. A. — The Natural History of Tsetse Flies — London School of Trop. Med., Memoir 10.

AZEVEDO, J. F. DE, *et alii* — *Glossina morsitans* West.

- 3 — FOSTER, R. — Observations on laboratory colonies of the Tsetse flies *G. morsitans* West. and *G. austeni* Newstead — *Parasitology*, 47: 361, 1957.
- 4 — FOSTER, R. — Colonies de mouches Tsetse *Glossina morsitans* en laboratoire — C.C.T.A., B.P.I.T.T., Publication n.° 217-T, 1959.
- 5 — GEIGY, R. — Elevage de *Glossina palpalis* — *Acta Tropica*, 5: 201, 1948.
- 6 — JACKSON — The analysis of a tsetse fly population — III Ann. Eugen., Camb., 14: 91, 1948.
- 7 — KINGHORN, A. — Notes on the preliminary stages of *Glossina morsitans*, West. — *Bull. Ent. Res.*, 2: 291, 1912.
- 8 — NASH, T. A. M. — Climate, the vital factor in the ecology of *Glossina* — *Bull. Ent. Res.*, 28: 75, 1937.
- 9 — RODHAIN, J., et VAN HOOFF, M. J. — Au sujet d'un élevage de *Glossina palpalis* en Europe et de quelques essais d'évolution chez cette glossine des Trypanosomes lewisi et cruzi — *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 24: 54, 1944.
- 10 — ROUBAUD, E. — Sur un essai d'élevage de glossines dans les laboratoires d'Europe — *Bull. Soc. Path. Exot.*, 8: 34, 1915.
- 11 — ROUBAUD, E. — Histoire d'un élevage de *Glossina morsitans* (*sub-morsitans*) — *Bull. Soc. Path. Exot.*, 10: 629, 1917.
- 12 — ROUBAUD, E., et COLAS-BELCOUR, J. — Observations biologiques sur les glossines (*G. palpalis*, *G. morsitans*) — *Bull. Soc. Path. Exot.*, 29: 691, 1936.
- 13 — WILLETT, K. C. — The laboratory maintenance of *Glossina* — *Parasitology*, 43: 110, 1953.

Imprensa Portuguesa ★ Rua Formosa, 108-116 ★ PORTO

SEP26