

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANA CAROLINE DALLA BONA

CULICIDAE (DIPTERA) EM FLORESTA OMBRÓFILA Densa DE TERRAS BAIXAS  
E ANÁLISE DA IDADE FISIOLÓGICA, SOBREVIVÊNCIA DIÁRIA E DURAÇÃO DO  
CICLO GONOTRÓFICO DA POPULAÇÃO DE *Anopheles (kerteszia) cruzii* DYAR &  
KNAB, 1908

CURITIBA  
2008

ANA CAROLINE DALLA BONA

CULICIDAE (DIPTERA) EM FLORESTA OMBRÓFILA DENSA DE TERRAS BAIXAS  
E ANÁLISE DA IDADE FISIOLÓGICA, SOBREVIVÊNCIA DIÁRIA E DURAÇÃO DO  
CICLO GONOTRÓFICO DA POPULAÇÃO DE *Anopheles (kerteszia) cruzii* DYAR &  
KNAB, 1908

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Ciências  
Biológicas, Área de concentração em  
Entomologia, da Universidade Federal  
do Paraná, como requisito parcial para a  
obtenção do Título de Mestre em  
Ciências Biológicas.

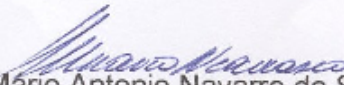
Orientador: Prof. Dr. Mário Antônio  
Navarro da Silva.

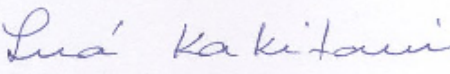
CURITIBA  
2008

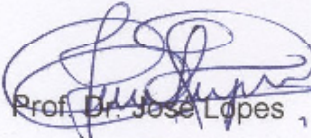
ANA CAROLINE DALLA BONA

"CULICIDAE (DIPTERA) EM FLORESTA OMBRÓFILA DENSA DE TERRAS  
BAIXAS E ANÁLISE DA IDADE FISIOLÓGICA, SOBREVIVÊNCIA DIÁRIA E  
DURAÇÃO DO CICLO GONOTRÓFICO DA POPULAÇÃO DE *Anopheles*  
*(kerteszia) cruzii* DYAR & KNAB, 1908."

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de "Mestre  
em Ciências Biológicas", no Programa de Pós-graduação em Ciências  
Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal  
do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

  
Prof. Dr. Mário Antonio Navarro da Silva (Orientador)  
(UFPR)

  
Profa. Dra. Iná Kakitani  
(FSP/USP)

  
Prof. Dr. José Lopes  
(UEL)

Curitiba, 22 de fevereiro de 2008.

Dedico aos meus pais Luiz Carlos Dalla Bona e Sueli Dalla Bona, e ao meu noivo Cezar Capriglioni Carvalho Jr.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, benção e proteção.

Aos meus pais Luiz Carlos Dalla Bona e Sueli Dalla Bona pelo incentivo, amor, amizade, carinho e apoio durante toda minha formação escolar, acadêmica e humana.

Ao meu orientador Mário Antônio Navarro da Silva, pela imensa contribuição na minha formação acadêmica, profissional e humana. Pelo apoio, orientação, paciência, divertida convivência e amizade.

Ao meu noivo Cezar Capriglioni Carvalho Jr. pelo amor, companheirismo, apoio, conselhos, e pelo auxílio na execução das coletas.

Aos meus familiares irmãos Evandro e Rodrigo, cunhadas Andressa e Luciana, sobrinhas Luiza e Julia, sobrinho Arthur e Tereza pelo amor, força, amizade, convivência e apoio.

Aos meus amigos do laboratório de Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária: Ana Cristina, Eduardo, Gersom, Elaine, Milena, Carolina, Isabel, Carla e Sandra, pela maravilhosa e divertida convivência, em especial a Lisiane, Josiane e Jonny, pelo apoio na execução das coletas, conselhos e auxílio para realização dos testes estatísticos.

Aos amigos do curso de mestrado: Everton, Marcelo, Olívia, Eduardo, Claudivã e Geovan.

A Dr. Andréia Aparecida Barbosa e Dr. Daniela Calado pela contribuição durante todo o percurso da dissertação.

Ao aluno da pós-graduação em Entomologia Jaime pelo auxílio na aprendizagem dos testes estatísticos.

Ao Prof. Dr. Raúl Prado do Departamento de Matemática da Universidade Federal do Paraná, pelo apoio na utilização do programa matemático.

Aos professores do curso de Pós Graduação em Entomologia da Universidade Federal do Paraná.

A Dra. Maria Anice Sallum da Faculdade de Saúde Pública (USP) pela conferência da identificação das espécies.

Ao Sistema de Meteorologia do Paraná, pelo fornecimento dos dados climáticos.

Ao Instituto Agrônomo do Paraná, por disponibilizar a Unidade de Conservação Floresta Estadual do Palmito para a realização da parte experimental.

Ao coordenador da Floresta Estadual do Palmito Oséas, pelo apoio na execução das coletas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa.

Minha alma não aspira à vida imortal,  
mas esgota o campo do possível.  
(Píndaro - poeta grego)

## RESUMO

O estudo da fauna Culicidae é importante pelo papel que desempenham na transmissão de agentes etiológicos causadores de doenças ao homem e a outros vertebrados. *Anopheles cruzii* é um mosquito silvestre, vetor primário do *Plasmodium* causador da malária humana no Sul e Sudeste do Brasil. Esta envolvido também na transmissão de *Plasmodium simium* e de *Plasmodium brasilianum* (parasitas da malária simiana). Esta espécie desempenhou relevante papel na epidemia de malária na região Sul do Brasil no período de 1940 a 1960. O objetivo da investigação foi analisar a variação da diversidade, abundância das espécies de Culicidae e sua relação com algumas variáveis ambientais. Assim como, analisar a idade fisiológica, desenvolvimento ovarioar, sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico das fêmeas de *Anopheles cruzii*, visando avaliar o risco de transmissão do agente etiológico da malária, nas populações de mosquito do litoral do Paraná. O estudo foi desenvolvido em Floresta Ombrófila Densa da Mata Atlântica, localizada no Estado do Paraná, denominada de Floresta Estadual do Palmito. As capturas foram executadas quinzenalmente, de dezembro/2006 a março/2007, utilizando a técnica de “aspiração menor”, iniciando antes e finalizando após os períodos crepusculares vespertino e matutino. As disseções foram conduzidas utilizando-se a técnica de Detinova, Polovodova, Christophers & Mer, e a avaliação da condição de sangue no intestino médio. Foi utilizado o método de Vercruysse para determinar a sobrevivência diária e o método de Davidson para estimar a duração do ciclo gonotrófico. Foram detectadas 25 espécies, sendo as mais abundantes *Anopheles cruzii* (65,2%), *Culex sacchettiae* (11,2%) e *Anopheles bellator* (8,5%). De acordo com análise de variância, ocorreu diferença significativa na frequência entre os períodos crepusculares vespertino e matutino para seguintes espécies: *Aedes scapularis* ( $p= 0,03651$ ), *Coquillettidia chrysonotum* ( $p= 0,00795$ ), *Mansonia fonsecai* ( $p= 0,00804$ ), e *Runchomyia theobaldi* ( $p= 0,01996$ ). Não houve correlação significativa com a abundância das principais espécies capturadas e as médias dos fatores abióticos avaliados. A comparação de similaridade entre os crepúsculos apontou para elevada semelhança da composição específica. *Anopheles cruzii* atingiu dominância nos períodos vespertinos e matutinos, sendo a diversidade de espécies, de forma geral reduzida nestes períodos. As sobrevivências diárias para as populações de *Anopheles cruzii* foram de  $0,24 \pm 0,03$  para a população total (vespertina e matutina),  $0,51 \pm 0,04$  para a população vespertina e  $0,25 \pm 0,03$  para a população matutina. A média da duração do ciclo gonotrófico foi de 1,56 dias. Os resultados permitiram afirmar que o risco de transmissão do *Plasmodium* sp. pelo *Anopheles cruzii* no litoral do Paraná é baixo, pois a maioria da população é constituída por fêmeas jovens, sendo que poucas sobrevivem o período extrínseco do parasita.

Palavras-chave: *Anopheles bellator*. *Culex sacchettiae*. Paridade. Longevidade. Desenvolvimento ovariano. Malária.

## ABSTRACT

The Culicidae fauna study is important by the paper perform in the etiologic agents transmission causal of diseases to the man and others vertebrate. *Anopheles cruzii* is a sylvatic mosquito and primary human *Plasmodium* vector in Southern and Southeastern Brazil. This it involved also in the transmission of *Plasmodium simium* e de *Plasmodium brasilianum* (simian malaria parasites). This specie performed prominent paper the malaria epidemic in the South region Brazil in the period of 1940 to 1960. The aim of this investigation was to know the diversity and abundance of Culicidae associating with the climatic factors. As well as, analyze the parity state, ovarian development, daily survival and the duration of the gonotrophic cycle in females of *Anopheles (Kerteszia) cruzii* Dyar & Knab, aiming the evaluation of the transmission risk of malaria etiologic agent in populations of the coast of Paraná. The study was developed in a dense rain forest in Atlantic Forest, located in the State of the Paraná, named of Palmito State Park. The captures were performed every 15 days, occurring before until after morning and evening crepuscular periods during the summer of 2006/2007, utilizing "smaller aspiration" technical. The dissections were made based on the Detinova, Polovodova, Christophers & Mer criteria, and the evaluation of the blood condition in the medium intestine. The Vercruysse method was used to determine the daily survivor, and the Davidson method to estimate the gonotrophic cycle duration. 25 species that belong to Culicidae were identified, the tree most abundant species were *Anopheles cruzii* (65,2%), *Culex sacchettae* (11,2%) e *Anopheles bellator* (8,5%). According to variance analysis, significant difference in frequency, was detected between crepuscular periods, for the following species: *Aedes scapularis* (p= 0,03651), *Coquillettidia chrysonotum* (p= 0,00795), *Mansonia fonsecai* (p= 0,00804), e *Runchomyia theobaldi* (p= 0,01996). The tree most captured species didn't show a significant correlation to the climatic factors. The similarity comparison between matutine and vespertine crepuscular periods revealed an elevated resemblance in the specific composition. *Anopheles cruzii* was dominant specie in the crepuscular periods. The diversity in the crepuscular periods was considered decrease. The daily survivor was  $0,24 \pm 0,03$  for the total population, including matutinal and vespertine, being  $0,51 \pm 0,04$  for vespertine, and  $0,25 \pm 0,03$  for the matutinal population. The average gonotrophic cycle duration was of 1,56 days. Based on the results, it is possible to affirm that the protozoan transmission risk by *Anopheles cruzii* in the coast of Paraná is low, due to the fact that most of the population is formed by young females, and only a few survive the parasite extrinsic period.

Key words: *Anopheles bellator*. *Culex sacchettae*. Parity. Longevity. Ovarian Development. Malaria.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1. Freqüência das espécies de Culicidae, de acordo com a Média de Willians ( $X_w$ ), capturados no período crepuscular vespertino e matutino, com a “técnica de aspiração menor” entre dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----38
- FIGURA 2. Freqüência de *Anopheles cruzii*, *Culex sacchettæ* e *Anopheles bellator* capturados durante o período crepuscular vespertino (A) e matutino (B), com a “técnica de aspiração menor” entre dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----42
- FIGURA 3. Número de fêmeas de *Anopheles cruzii* capturadas e dissecadas por horário de captura, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----43
- FIGURA 4. Distribuição do número de fêmeas paridas e não paridas de *Anopheles cruzii* por período vespertino e matutino, segundo a técnica de Detinova, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----44
- FIGURA 5. Ovário da fêmea de *Anopheles cruzii* não parida (A) e parida (B) de acordo com a técnica de Detinova.-----45
- FIGURA 6. Taxa de paridade de *Anopheles cruzii*, segundo a técnica de Detinova, por horário de captura durante o período vespertino, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----46
- FIGURA 7. Taxa de paridade de *Anopheles cruzii*, segundo a técnica de Detinova, por horário de captura durante o período matutino, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----46
- FIGURA 8. Distribuição dos estádios de desenvolvimento ovarioilar, segundo Christophers e Mer, durante o período vespertino e matutino, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----47
- FIGURA 9. Fêmea de *Anopheles cruzii* com folículo em estágio IV de Christophers e Mer.----48
- FIGURA 10. Distribuição dos estádios de desenvolvimento ovarioilar por horário de captura, segundo Christophers e Mer, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----48
- Figura 11. Fêmeas de *Anopheles cruzii* dissecadas e classificadas segundo a técnica de Polovodova, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” durante os períodos vespertino e matutino de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----50
- FIGURA 12. Condição ou ausência de sangue no intestino médio das fêmeas de *Anopheles cruzii*, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” durante os períodos crepusculares de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----52

## LISTA DE TABELAS

TABELA I - Duração do crepúsculo segundo cálculos do Almanaque Náutico, durante dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----	28
TABELA II. Espécies de Culicidae capturados com a técnica de “aspiração menor”, no período de dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----	36
TABELA III. Culicídeos capturados no período crepuscular vespertino e matutino, com a técnica de “aspiração menor” entre dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, Paraná, com os respectivos percentuais de incidência, médias horárias (mH) e de Williams (Xw).-----	37
TABELA IV. Média e desvio padrão da temperatura média (T méd), temperatura máxima (T máx), temperatura mínima (T mín), umidade relativa do ar (U rel) e precipitação acumulada (Prec acum); 5 15 e 20 dias anteriores às coletas realizadas, durante dezembro/2006 a março/2007 na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----	39
TABELA V. Coeficiente de correlação de Pearson entre as médias das variáveis meteorológicas e as espécies mais abundantes, entre dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----	40
TABELA VI. Distribuição do número de fêmeas de <i>Anopheles cruzii</i> por paridade e por horário de captura, segundo a técnica de Detinova, a partir dos exemplares capturados com a técnica de “aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----	44
TABELA VII. Distribuição dos estádios de desenvolvimento ovarioilar por horário de captura, segundo Christophers e Mer, a partir dos exemplares capturados com a técnica de “aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----	49
TABELA VIII. Fêmeas de <i>Anopheles cruzii</i> dissecadas segundo a técnica de Polovodova por horário de captura, a partir dos exemplares capturados com a técnica de “aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----	50
TABELA IX. Fêmeas oníparas de <i>Anopheles cruzii</i> dissecadas segundo a técnica de Polovodova, com presença de saco ovarioilar ou dilatação no pedicelo do folículo.-----	51
TABELA X. Condição ou ausência de sangue no intestino médio das fêmeas de <i>Anopheles cruzii</i> , por horário de captura, a partir dos exemplares capturados com a técnica de “aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----	52
TABELA XI. Fêmeas de <i>Anopheles cruzii</i> dissecadas e classificadas segundo a técnica Polovodova, e fases de desenvolvimento ovarioilar de acordo com os critérios de Christophers e Mer, por horário de captura, a partir dos exemplares capturados com a técnica de “aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----	53
TABELA XII. Fêmeas de <i>Anopheles cruzii</i> dissecadas segundo os estádios de desenvolvimento ovarioilar de Christophers e Mer e o conteúdo de sangue no intestino médio, por horário crepuscular, a partir dos exemplares capturados com a técnica de “aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----	53
TABELA XIII. Aplicação da fórmula de Verduyn (1985) e Davidson (1954) na população das fêmeas de <i>Anopheles cruzii</i> capturadas com a técnica de “aspiração menor” de dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.-----	55

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO-----	12
1.1 Diversidade de Culicidae-----	12
1.2 <i>Anopheles (Kerteszia) cruzii</i> e bromélia-malária-----	14
1.3 Idade fisiológica, sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico-----	17
1.4 Justificativa da pesquisa-----	22
2. OBJETIVO GERAL-----	23
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS-----	24
3. MATERIAL E MÉTODOS-----	25
3.1 Área de estudo-----	25
3.2 Procedimentos em campo-----	27
3.3 Procedimentos em laboratório-----	29
3.3.1 Diversidade de Culicidae-----	29
3.3.2 Idade fisiológica, sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico de <i>Anopheles (Kerteszia) cruzii</i> -----	32
4. RESULTADOS-----	35
4.1 Diversidade de Culicidae-----	35
4.2 Idade fisiológica, sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico de <i>Anopheles (Kerteszia) cruzii</i> -----	43
5. DISCUSSÃO-----	56
5.1 Diversidade de Culicidae-----	56
5.2 Idade fisiológica, sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico de <i>Anopheles (kerteszia) cruzii</i> -----	60
6. CONCLUSÕES-----	64
6.1 Diversidade de Culicidae-----	64
6.2 Idade fisiológica, sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico de <i>Anopheles (Kerteszia) cruzii</i> -----	64
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	65
8. ANEXOS-----	74
8.1 Cálculos da sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico para população total-----	74

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Diversidade de Culicidae

A Mata Atlântica é um dos 25 *hotspots* mundiais de biodiversidade, restando cerca de 7% da formação florestal original (Tabarelli *et al.* 2005). Este ecossistema foi duramente alterado sem ter sido conhecido. Neste quadro, os fragmentos florestais de diversos tamanhos e formas, assumem fundamental importância para a perenidade do bioma Mata Atlântica e a conservação das espécies existentes.

Estas formações florestas remanescentes são consideradas de elevada diversidade, o qual potencialmente apresenta multiplicidade de opções de nichos para o desenvolvimento de imaturos de Culicidae, assim como da fauna de vertebrados que podem ser utilizados como hospedeiros para exercício de hematofagia.

A família Culicidae está representada por duas subfamílias: Culicinae e Anophelinae. A primeira subfamília citada é formada por 11 tribos: Aedeomyiini, Aedini, Culicini, Culisetini, Ficalbiinae, Hodgesiini, Mansoniini, Orthopodomyiini, Sabethini, Uranotaeniini e Toxorhynchitini (Forattini 2002).

Anophelinae é composta por três gêneros: *Anopheles*, *Chagasia* e *Bironella*, este existente apenas na região australiana. O gênero *Anopheles* é considerado monofilético, compreende cerca de 400 espécies representadas por quatro subgêneros: *Anopheles* Meigen, 1818; *Kerteszia* Theobald, 1905; *Nyssorhynchus* Blanchard, 1902 e *Cellia* Theobald, 1902 (Sallum *et al.* 2002).

As fêmeas de Culicidae necessitam da digestão de proteínas presentes no sangue para iniciar a vitelogênese, por isso buscam o hospedeiro para realizar a hematofagia. As mudanças de intensidade da luz determinam alterações comportamentais para realização desta atividade. Espécies dos gêneros *Anopheles* e *Culex* Linnaeus, 1758 possuem hábitos crepusculares. De maneira geral, os culicídeos têm hábitos diurnos como, por exemplo, *Aedes*, *Psorophora* e *Sabethini*, finalizando sua atividade com

o ocaso do sol (Forattini 2002). O comportamento de atividade hematófaga, embora sob comando endógeno, está sensivelmente sujeito a influência exógena, torna-se particularmente importante observá-lo em vários tipos de ambientes (Forattini *et al.* 1986).

Devido às necessidades hematofágicas, os culicídeos são importantes na saúde pública, pelo papel que desempenham na transmissão de agentes causadores de doenças ao homem e a outros vertebrados. Esse quadro pode ser gravado pelo contato direto entre o mosquito e a população humana em regiões caracterizadas como fragmento de mata, inseridas em ambiente urbano ou rural, pois o homem pode facilmente envolver-se em ciclos enzoóticos de doenças infecciosas e parasitárias.

Duas espécies de culicídeos encontradas em áreas de Mata Atlântica da planície litorânea do Paraná apresentam destacada importância epidemiológica. *Aedes (Ochlerotatus) scapularis* (Rondone, 1848), envolvida na transmissão de arbovírus, como encefalite eqüina venezuelana, febre amarela, vetor secundário da filariose bancroftiana, vírus do Rocio no Sudeste do Brasil, e recentemente investigado como vetor da *Dilofilaria imitis* (San't Ana & Lozovei 2001). A outra espécie é *Anopheles (kerteszia) cruzii* Dyar & Knab 1908 importante epidemiologicamente no Sudeste e Sul do Brasil (Chahad –Ehles *et al.* 2007), envolvida com a transmissão do agente etiológico da malária humana e simiana (Carvalho-Pinto & Lourenço de Oliveira 2004). Estudos realizados no ecossistema de Mata Atlântica demonstram alta freqüência de *Anopheles cruzii* em ambientes com cobertura vegetal primitiva (Forattini *et al.* 1996), onde é encontrada grande diversidade de bromeliácea.

Ecótopo naturais, com histórico de utilização intensiva e posterior conservação, como a área sob análise, devem ser acompanhados de avaliações periódicas da diversidade e hábitos dos vetores biológicos, para melhor compreensão do impacto das intervenções antrópicas e sua implicações epidemiológicas.

## 1.2 *Anopheles (Kerteszia) cruzii* e bromélia-malária

Dentre os anofelíneos neotropicais, *Anopheles (Kerteszia) cruzii* é considerado vetor primário de *Plasmodium* Marchiafava & Celli, 1885 nos litorais Sul e Sudeste do Brasil (Forattini 2002, Carvalho-Pinto & Lourenço de Oliveira 2004). Está envolvido na transmissão da malária humana que ocorre na Floresta Atlântica litorânea (Branquinho *et al.* 1997). Também é considerada vetor da malária simiana no Brasil. Para *Anopheles cruzii* o ecletismo e mobilidade vertical entre solo e copa das árvores tornam possível a ocorrência de infecção humana por plasmódios de macacos em áreas com incidência de malária simiana (Deane 1984; Ueno *et al.* 2007). Recentemente *Anopheles cruzii* foi encontrado naturalmente infectado pelo flavivírus Iguape em Juquitiba, Estado de São Paulo, este achado sugere que o vetor pode atuar no ciclo de transmissão do vírus Iguape em ambiente natural (Bocato-Chamelet *et al.* 2001).

Atualmente admiti-se que a distribuição de *Anopheles cruzii* restringe-se ao sistema montanhoso que caracteriza a Floresta Mata Atlântica, desde o Estado do Sergipe até a Região Sul do Brasil. Incluindo a região adjacente da Argentina, representadas pelas províncias de Chaco e Misiones (Forattini 2002).

Os imaturos de *Anopheles cruzii* são encontrados em bromeliáceas de diversas capacidades de armazenamento de água, tendo preferência por locais sombreados (Velooso *et al.* 1956). Em função do tipo de local de desenvolvimento de seus ovos e formas imaturas, o quadro epidemiológico, abrangendo o litoral desde o Sul do Estado de São Paulo até o Norte do Estado do Rio Grande do Sul, originado pela transmissão de plasmódios por anofelíneos *Kerteszia* é conhecido por Bromélia-Malária (Aragão 1956).

Os ovos dos representantes do gênero *Anopheles* medem aproximadamente 0,5 mm de comprimento e são dotados de flutuadores nas laterais que lhes permitem que permaneçam na superfície da água, uma fêmea de *Anopheles cruzii* pode por em média 31,15 ovos em cada postura, sob condições de laboratório (Kakitani 1992).

O período de desenvolvimento varia dependendo das condições ambientais e da espécie. Em *Anopheles cruzii* também em condições de laboratório foi observado que a duração do ovo ao adulto é de aproximadamente 35 dias (Wilkerson & Peyton 1991). Segundo Chahad-Ehlers *et al.* (2007) este intervalo varia de  $30.71 \pm 3,57$  dias.

A sobrevivência do adulto para as diversas espécies de anofelíneos no ambiente natural pode variar dependendo das condições de temperatura e umidade. Em fêmeas de *Anopheles cruzii*, o período de sobrevivência, observado em condições naturais foi de 35 a 56 dias (Ferreira *et al.* 1969 a).

O tempo de vida de mosquitos transmissores de parasitas causadores de doenças e sua densidade são fatores importantes do ponto de vista epidemiológico. A densidade populacional dos anofelíneos *Kerteszia* aumenta, por ocasião do período marcado pelas chuvas e elevadas temperaturas devido as suas peculiaridades biológicas (Forattini *et al.* 1996; Guimarães *et al.* 2000 a; Forattini 2002).

O pico de atividade hematofágica dos *Kerteszia* ocorre no crepúsculo vespertino, em seguida ao anoitecer, com a inversão microclimática entre as matas e as zonas abertas, passam a predominar nessas últimas, se aproximando das residências (Aragão 1974). Ataca indiscriminadamente o homem, outros mamíferos e aves (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994).

É conhecido o comportamento de anofelíneos *Kerteszia* em relação ao ambiente domiciliar apesar de silvestres e exofílicas, as espécies deste subgênero invadem a habitação humana para realização da hematofagia apresentando, preferencialmente atividade peridomiciliar (Forattini *et al.* 1978, 1990, 1993 a, b, 1996, 1999; Forattini 2002).

No entanto, as populações de *Kerteszia* abandonam o interior das residências após o repasto sangüíneo, procurando abrigo pós-prandial nas áreas adjacentes, correspondendo ao peridomicílio, e preferencialmente, no extra domicílio, representado pela mata circunvizinha (Forattini *et al.* 1990, 1993 a; Guimarães *et al.* 2000 b).

Dessa forma, a frequência desse vetor no domicílio estaria diretamente relacionada com a proximidade do mesmo com o ambiente silvestre (Forattini *et al.* 1968). Observações feitas por Forattini *et al.* (1990) mostram a capacidade migratória de *Anopheles cruzii* entre a floresta e residências no Vale do Ribeira, São Paulo à procura de repasto sanguíneo.

Ferreira *et al.* (1969 b) comprovaram capacidade de dispersão de 1000 m dessa espécie no município de Guaratuba, Paraná. O alcance de vôo de mosquitos vetores, pode resultar em maior potencial de dispersão, ampliando o território sujeito a ocorrência de determinado agravo à saúde humana ou de animais.

Na metade do século passado, populações de *Anopheles cruzii* mantiveram na litoral do Paraná, endemia de malária, na época a principal metodologia adotada para sua profilaxia era dirigida à retirada manual de bromélias e o uso de inseticidas e larvicidas, aliado ao emprego de Aceto-arcenito de Cobre pulverizado sobre áreas com bromélias (Luz *et al.* 1979).

O controle da endemia foi atingido em 1964, com casos autóctones e esporádicos e registros de ocorrência até 1997 (Luz *et al.* 1979; Bertoli & Moitinho 2001). No entanto, desde 1977 houve ausência de investigação sobre a população vetora de *Anopheles cruzii*, após a ocorrência da endemia, apesar das grandes transformações nos ecossistemas naturais e urbanos do litoral do Estado do Paraná.

### **1.3 Idade fisiológica, sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico**

A importância epidemiológica de uma espécie pode ser avaliada pela sua competência e capacidade vetorial. Este é um parâmetro crucial para estimar o risco de transmissão de um determinado patógeno em áreas consideradas endêmicas. Neste ponto é importante fazermos distinção entre competência e capacidade do vetor. Utilizaremos o conceito apresentado por Forattini (1992):

Competência vetora resulta de avaliação, de caráter experimental, da propriedade do vetor de se infectar, propiciar a multiplicação e/ou desenvolvimento, e a subsequente transmissão do agente infeccioso a novo hospedeiro. E capacidade vetora é a propriedade de transmitir a infecção ao homem, em condições naturais e que, assim, se traduz epidemiologicamente pelo aparecimento de novos casos.

Gomes (2002) menciona os possíveis indicadores da capacidade vetorial: a capacidade endófila da espécie, a atividade horária diurna e noturna, as fontes hematofágicas; as preferências das fêmeas por tipos de hospedeiros; atividade intradomiciliar; os picos de abundância sazonal; as condições ambientais e as climáticas que permeiam os relacionamentos durante os ciclos de transmissão dos patógenos; e a exposição do homem a ambos.

A capacidade do vetor transmitir o patógeno é uma interação complexa de muitos fatores, incluindo a densidade do vetor e dos hospedeiros, frequência de hematofagia, competência de transferir o patógeno, e a probabilidade que este tem de sobreviver tempo suficiente para picar um hospedeiro novamente e transmitir o patógeno (Black & Moore 1996 apud Hoeck *et al.* 2003, p.1), em articulação com as variáveis ambientais.

A longevidade é um fator chave na análise da capacidade vetorial do mosquito. Quanto maior a sobrevivência das fêmeas maior a probabilidade dessas se infectarem por agentes patogênicos, ao qual a espécie é suscetível e transmiti-los (Fernandez & Forattini 2003).

Estimar a sobrevivência do vetor, ou a probabilidade do mesmo sobreviver por um dia, implica o conhecimento prévio da duração do ciclo gonotrófico e idade fisiológica do vetor (Kakitani & Forattini 2000).

O ciclo gonotrófico dos mosquitos consiste na procura do hospedeiro, repasto sangüíneo, digestão e maturação dos ovos e oviposição (Forattini 1962). Estimar a duração do ciclo gonotrófico é de grande importância para a saúde pública, pois revela a frequência de contato do vetor com o hospedeiro, e fornece a estimativa de aquisição e transmissão do parasita (Kakitani & Forattini 2000). Uma fêmea de *Aedes aegypti* que sobreviva vinte dias pode realizar de quatro a cinco ciclos gonotróficos, com um considerável potencial para transmissão do vírus (Hoeck *et al.* 2003).

A idade fisiológica das fêmeas pode ser estimada através das mudanças decorrentes da oviposição no aparelho reprodutor feminino, durante os ciclos gonotróficos. Métodos acurados para determinar a idade da população estão baseados em mudanças reprodutivas e somáticas, tais como acúmulo de vitelo, desenvolvimento folicular, aparência das traquéolas ovarianas, dilatações no pedicelo ovarioles, tamanho da ampola, presença de ovos retidos, coloração verde e condições dos tubos de Malpighi, crescimento cuticular, presença de ácaros fixados ao exoesqueleto (Charlwood *et al.* 1980; Tyndale-Biscoe 1984; Hoc 1995).

A nutrição das fêmeas de Culicidae tem conseqüências fisiológicas, reprodutivas e epidemiológicas. Os mosquitos adultos alimentam-se de substâncias açucaradas, encontradas no néctar floral, extrafloral e *honeydew*. A alimentação açucarada complementa a dieta nas fêmeas, tornando-se essencial para os machos. Através da alimentação sanguínea, as fêmeas necessitam ativar mecanismos neuroendócrinos para completar a maturação ovarioles. Os nutrientes do sangue complementam as reservas energéticas vindas da fase larvária, iniciando o processo de deposição de vitelo nos folículos ovarianos. A digestão proteolítica do sangue no intestino médio é seguida pela vitelogênese. A proteína *vitellogenin* é sintetizada no corpo gorduroso e transportada via hemolinfa para os oócitos como vitelo (Ramasamy *et al.* 2000; Zhou *et al.* 2004).

Em espécie com concordância gonotrófica a cada ciclo gonotrófico a fêmea realiza um repasto sanguíneo. No entanto algumas espécies entram em contato com mais de um hospedeiro para amadurecer seus ovos, estas possuem discordância gonotrófica (Forattini 2002). Ramasamy *et al.* (2000) mostram que quando uma fêmea realiza múltiplas alimentações sanguíneas no mesmo ciclo gonotrófico a sua fecundidade aumenta.

Christophers e Mer classificaram o desenvolvimento dos folículos ovarianos em cinco estádios, de acordo com a forma do folículo e quantidade de vitelo. Sob condições normais o desenvolvimento além do estágio II não se processará sem que a fêmea obtenha o repasto sanguíneo. Fêmeas que necessitam de repasto sanguíneo para o desenvolvimento do primeiro lote de ovos são chamadas de anautógenas (Charlwood *et al.* 1980).

Barata *et al.* (2001) verificando a condição de sangue no intestino médio em fêmeas de *Aedes aegypti* observaram 35,1% das fêmeas com sangue de coloração vermelha e 32,4% com sangue de coloração marrom, confirmando a anautogenia deste mosquito.

Algumas fêmeas não precisam realizar a hematofagia, no primeiro ciclo de vitelogênese, estas são chamadas de autógenas. Elas podem utilizar reservas provenientes da fase larvária para amadurecer seus ovos durante o primeiro ciclo gonotrófico (Zhou *et al.* 2004). Suwabe & Moribayashi. (2000) indicam que o elevado conteúdo de lipídio antes da emergência do inseto pode ter um papel importante na indução do desenvolvimento autógeno do ovário. Uma das substâncias produzida pela glândula acessória do macho (MAG) também pode contribuir para o desenvolvimento autógeno dos ovos, funcionando como um estímulo para a maturação dos ovos (O'Meara & Evans 1977; Klowden & Russell 2004). Forattini (2002) considera que a autogenia ocorre, graças ao comando genético.

A determinação da paridade é um método relativamente fácil e econômico. Segundo Detinova (1962) são chamadas de paridas aquelas fêmeas que já desenvolveram seus ovos pelo menos uma vez, e podem ser distinguidas das fêmeas nulíparas (que nunca ovipositaram) através de observações das traquéolas ovariolares. Os ovários dos mosquitos têm um rico suprimento de oxigênio, fornecido por uma rede de traquéolas. Em

fêmeas que realizam o primeiro ciclo gonotrófico nos estádios I e II de Christophers e Mer, as finas terminações traqueolares apresentam-se enoveladas.

Com o desenvolvimento dos ovos além do estágio II, começa o desenovelamento das traquéolas, formando uma rede dispersa, sendo esta mudança irreversível. Assim o enovelamento terminal das traquéolas é uma indicação que a fêmea é nulípara.

Para um aspecto mais pormenorizado na condição de paridade das fêmeas utiliza-se a técnica de Polovodova para obter os graus de oniparidade das fêmeas (Charlwood *et al.* 1980). Com esta técnica observa-se as pequenas dilatações alveolares deixadas no tubo folicular como conseqüência da oviposição. Assim sendo, em fêmeas com concordância gonotrófica, pode-se considerar a ocorrência de um ciclo ovariano a cada dilatação encontrada e, conseqüentemente, o número de dilatações será igual ao seu grau de paridade.

A Escola Clássica preconiza que nos dias que seguem a oviposição dá-se a contração do saco ovarioles formando a dilatação que migra em direção ao cálice do ovário. Com outra postura forma-se outro saco, mas o vestígio do saco anterior permanece além da base do ovaríolo. As fêmeas oníparas são designadas através das dilatações e do saco ovarioles indistintamente (Forattini 2002).

Devido ao baixo grau de paridade e certas aberrações encontradas em algumas espécies de mosquito Hoc & Charlwood (1990) apresentaram novas interpretações dos conceitos anteriores e propuseram que os sacos foliculares não se contraem, não sendo possível correlacionar o número de ciclos gonotróficos com o grau de paridade. As dilatações encontradas são produtos da oogênese abortiva. Quando uma oogênese normal ocorre após uma abortiva, a dilatação formada anteriormente é eliminada. Somente a presença de sacos foliculares indicará a ocorrência da oogênese normal. Surgindo assim à chamada “Escola Nova” (Fox & Brust 1994).

De qualquer modo até que se estabeleçam conceituações mais sólidas é recomendável que se continue a utilizar o critério que se baseiam na contagem do maior número possíveis de dilatações (Forattini 2002) bem como a presença de dilatação ou saco ovarioles.

Com conhecimento da proporção de fêmeas paridas e duração do ciclo gonotrófico, a probabilidade de sobrevivência diária dos vetores pode ser calculada e sua longevidade pode ser estimada (Ree & Hwang 2000).

Vários modelos biológicos têm sido utilizados para estimar a sobrevivência das fêmeas em ambiente natural. Uma das alternativas para medir a longevidade das fêmeas é dividir a população capturada em campo em grupos de acordo com a idade fisiológica do vetor.

Davidson (1954) determinando a proporção de fêmeas paridas em populações naturais, de acordo com o tamanho da ampola, estimou a sobrevivência diária. Para este modelo existe a necessidade de conhecer a duração do ciclo gonotrófico das fêmeas analisadas. Este método vem sendo utilizado em vários trabalhos (Russel 1987b; Rebollar-Téllez 1995; Kakitani & Forattini 2000; Ulloa *et al.* 2006).

Vercruysse (1985) estima a sobrevivência diária de *Anopheles arabiensis* Patton, dividindo a população em três grupos distintos: pré-grávidas, nulíparas e paridas através de observações das terminações traqueloares. A fórmula de sobrevivência diária utilizada por este autor é uma modificação da fórmula da taxa de paridade e é derivada em progressão geométrica de índice  $p < 1$ . Kakitani & Forattini (2000) utilizaram esta técnica para estimar a sobrevivência diária das espécies do complexo *Anopheles albitarsis*, no município de Pariquera-Açu, São Paulo.

A marcação-soltura-recaptura constitui método adaptado para estimar a sobrevivência das populações. Trabalhos utilizam a marcação-soltura-recaptura para estimar o tamanho de populações naturais e a duração do ciclo gonotrófico (Santos & Forattini 1999; Santos *et al.* 2002). Harrington *et al.* (2001) utilizaram este método para calcular a sobrevivência diária de fêmeas de *Aedes aegypti* com diferentes idades. Segundo Reiter (2007) algumas suposições básicas devem ser levadas em consideração por este método: a sobrevivência e comportamento dos mosquitos não devem ser afetados pela marcação; taxa de sobrevivência não muda com a idade; a probabilidade de se capturar o espécime marcado é a mesma que capturar o não marcado; a população deve poder ser considerada fechada, com pequeno movimento entre as populações locais.

Outros modelos biológicos também são utilizados para estimar a sobrevivência diária como propostos por Birley & Rajagopalan (1981) e Lord & Baylis (1999), já que existe uma grande dificuldade em estimar a sobrevivência do adulto em ambiente natural, sendo este um fator chave da análise matemática na transmissão da malária.

#### **1.4 Justificativa da pesquisa**

As populações de *Anopheles cruzii* do litoral do Paraná foram capazes de sobreviver e se restabelecer, apesar das medidas drásticas adotadas no passado, para eliminação do vetor. É necessário um estudo atualizado para avaliar se o risco de transmissão do protozoário pelo *Anopheles cruzii* pode se efetivar novamente, já que ocorreram grandes transformações nos ecossistemas naturais e urbanos no litoral do Estado do Paraná.

## 2. OBJETIVO GERAL

Estimar alguns parâmetros entomológicos que auxiliam na compreensão da capacidade vetorial de *Anopheles (Kerteszia) cruzii* Dyar & Knab, 1908 e avaliar a diversidade da fauna de Culicidae, durante os períodos crepusculares em área de preservação do litoral do Estado do Paraná.

## 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Catalogar a diversidade da fauna de Culicidae nos períodos vespertino e matutino.
2. Associar a variação da abundância de Culicidae com os fatores climáticos.
3. Determinar a paridade das fêmeas de *Anopheles cruzii* de acordo com o método de Detinova.
4. Determinar a idade fisiológica das fêmeas de *Anopheles cruzii* de acordo com a técnica de Polovodova.
5. Indicar os estádios foliculares de *Anopheles cruzii* de acordo com os critérios preconizados por Christophers e Mer.
6. Observar a existência e/ou a condição do sangue no intestino médio das fêmeas de *Anopheles cruzii* capturadas em campo.
7. Estimar a taxa de sobrevivência diária das fêmeas de *Anopheles cruzii* segundo o método de Vercruyssen (1985) e a duração do ciclo gonotrófico das fêmeas de *Anopheles cruzii* através do método de Davidson (1954).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Área de estudo

A área de estudo localizada na Unidade de Conservação de Uso Sustentável com cerca de 530 hectares de vegetação nativa (Floresta Estadual do Palmito - FEP), encontra-se no município de Paranaguá, no Litoral do Estado do Paraná, entre as coordenadas 25° 35' S e 48° 32' W. Localiza-se no Km 4, a margem da PR-407, distando 90 km da cidade de Curitiba.

A área de estudo é climaticamente caracterizada como Cfa - Clima subtropical; temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C (mesotérmico) e temperatura média no mês mais quente acima de 22°C, com verões quentes, geadas pouco freqüentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo sem estação seca definida, de acordo com a classificação de Köeppen (Iapar 2000).

A precipitação média anual é de 1950 mm, sendo que os meses de Janeiro e Fevereiro são os mais chuvosos. Há uma distribuição uniforme de chuvas ao longo do ano, caracterizando ambiente bastante úmido. Em relação à velocidade dos ventos, medições feitas na Estação meteorológica de Morretes, mostram médias anuais de 5 km/h, sendo que no verão a velocidade dos ventos aumenta, no outono diminui e no início do inverno até o verão tende a um pequeno aumento (Carrano 2006).

A média anual da umidade relativa do ar está em torno de 85% (Boeger & Wisniewski 2003). Segundo Maack (1981), nas primeiras horas do dia a umidade é maior, chegando aos índices de 85% a 92%, caindo para 50% a 70% ao meio dia e atingindo mais de 80% à noite. Este ambiente é propício a afloramentos de água, o que favorece o desenvolvimento de inúmeras plantas.

A área possui formações pioneiras com influência marinha (restinga), flúvio-marinha (manguezal) e algumas áreas antropizadas (edificações) (Carrano 2006). A vegetação original desta região é classificada como Floresta Ombrófila Densa de Terras baixas. Esta vegetação caracteriza-se por ser pouco exuberante, com árvores de porte médio (Boeger & Winiewski 2002). Epífitas e lianas são extremamente profusas e diversificadas (Roderjan *et al.* 2002).

A vegetação da reserva tem sido modificada pela ação antrópica por 100 anos (ano base 2003). Práticas agrícolas eram básicas, como o cultivo de abacaxi e mandioca, baseando-se em queimadas (Simões & Marques 2007). Em consequência destas práticas, hoje, a reserva é um mosaico de diferentes estágios sucessionais abandonados 24, 37 e 62 anos (ano base 2007), sendo denominado de estádios inicial, intermediário e avançado de sucessão, respectivamente (Boeger & Winiewski 2002).

Caracterização da vegetação para os três estádios sucessionais, segundo levantamento fitossociológico realizado por Wisniewski (1997):

**Área em estágio inicial:** A floresta é baixa, esparsa e pouco diversificada, com 4m de altura média. As árvores, bem espaçadas entre si, forma touças oriundas dos rebrotamentos e seus troncos têm diâmetros pequenos, em média em torno de 5cm. A fisionomia é homogênea, poucas são as plantas epífitas e as bromélias. O solo é em grande extensão, especialmente em clareiras, coberto por líquens fruticosos e dentre as espécies arbóreas predominantes destaca-se *Ilex theezans*, compreendendo 77,5% dos indivíduos.

**Área em estágio intermediário:** São encontrados dois estratos distintos e um terceiro começando a diferenciar-se. Não há clareiras na vegetação e a Floresta é sombreada e úmida. As árvores mais altas atingem 12,5m de altura, enquanto que o segundo extrato encontra-se em torno de 8m. O sub-bosque encontra-se repleto de bromélias, aparecendo também muitas epífitas da família Orquidaceae e Araceae, além de cactos pendentes (*Rhipsalis* spp.), herbáceas terrestres de Liliaceae e Iridaceae, arbustos de Rubiaceae e Melastomataceae, trepadeiras da família Sapindaceae, entre outras.

**Área em estágio avançado:** São observados três estratos distintos. O inferior é rico em Bromeliaceae, Araceae, Polipodiaceae, entre outras. O estrato médio é bem representado pela *Geonoma* sp. e o estrato superior, que possui entre 11 a 14m de altura, é caracterizado principalmente pela ocorrência da *Tapirira guianensis* (cupiuva), *Calophyllum brasiliense* (guanandi), *Myrcia racemosa* (guapiranga), *Ocotea aciphyla* (canela-ponta-de-lança), *Euterpe edulis* (palmito) e *Ocotea pulchella* (canela lageana).

Na Unidade de Conservação, atualmente, são desenvolvidas atividades de educação ambiental, as quais recebem destaque a importância da preservação do bioma Floresta Atlântica e investigação científica através dos alunos de graduação e pós-graduação.

### 3.2 Procedimentos em campo

As coletas foram bimensais, na estação do verão, de dezembro/2006 a março/2007, durante os períodos vespertino e matutino, totalizando 40 horas de coleta. As capturas foram iniciadas uma hora antes do crepúsculo e finalizadas uma hora após o crepúsculo. Os períodos de captura foram divididos em seis partes: Pré-crepúsculo vespertino (1 hora de captura), horário que antecede o crepúsculo; Crepúsculo vespertino (30 minutos de captura), crepúsculo propriamente dito; Pós-crepúsculo vespertino (1 hora de captura), horário que sucede o crepúsculo; Pré-crepúsculo matutino (1 hora de captura); Crepúsculo matutino (30 minutos de captura); Pós-crepúsculo matutino (1 hora de captura).

A duração do crepúsculo foi calculada através da fórmula proposta pelo Almanaque Náutico: Duração do crepúsculo = Crepúsculo civil – Nascer/Ocaso do Sol. O crepúsculo civil corresponde ao intervalo de tempo com o Sol limitado entre a linha do horizonte e 9° abaixo da linha do horizonte. O ocaso do Sol é o instante do desaparecimento do astro no horizonte do lado oeste. O nascer do Sol é o instante do surgimento do astro no horizonte do lado leste. A duração do crepúsculo variou de 23 a 26 minutos nesta localidade então optou-se por padronizar meia hora para cada crepúsculo vespertino e matutino (TABELA I).

TABELA I - Duração do crepúsculo segundo cálculos do Almanaque Náutico, durante dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Município de Paranaguá, PR.

Período Vespertino				
Datas	Crepúsculo	Crepúsculo civil	Ocaso do Sol	Duração do crepúsculo
21.12.2006	vespertino	19h31min	19h05min	26 min
27.12.2006	vespertino	19h33min	19h07min	26 min
10.01.2007	vespertino	19h36min	19h10min	26 min
24.01.2007	vespertino	19h34min	19h09min	25 min
07.02.2007	vespertino	19h27min	19h02min	25 min
26.02.2007	vespertino	19h11min	18h48min	23 min
05.03.2007	vespertino	19h04min	18h41min	23 min
14.03.2007	vespertino	18h55min	18h32min	23 min
Período Matutino				
Datas	Crepúsculo	Crepúsculo civil	Nascer do Sol	Duração do crepúsculo
22.12.2006	matutino	04h55min	05h21min	26 min
28.12.2006	matutino	04h59min	05h24min	25 min
11.01.2007	matutino	05h09min	05h34min	25 min
25.01.2007	matutino	05h20min	05h45min	25 min
08.02.2007	matutino	05h31min	05h55min	24 min
27.02.2007	matutino	05h44min	06h07min	23 min
06.03.2007	matutino	05h48min	06h11min	23 min
15.03.2007	matutino	05h53min	06h16min	23 min

As capturas dos culicídeos foram levadas a efeito ao nível do solo sob edificação, em íntima associação no seu entorno com a vegetação nativa da área de preservação que antecede os estádios sucessionais. As coletas foram realizadas com dois operadores, mas somente um manejando o aspirador manual movido à bateria. Os dois operadores vestiam roupas especiais, luvas e mosquiteiros acoplados aos bonés, para impedir que as fêmeas realizassem o repasto sanguíneo. O aspirador manual procurava reter todos os mosquitos que se aproximavam dos operadores, antes que as fêmeas realizassem a hematofagia. O aspirador era munido de potes coletores, que eram substituídos a cada instante. Então os mosquitos dos potes eram repassados para as gaiolas específicas de acordo com o período de captura.

As gaiolas do período vespertino ficavam acondicionadas na casa dos pesquisadores, durante a noite, com solução de mel a 10%, toalha umedecida com água ao redor da gaiola, para manter os mosquitos vivos. As gaiolas do período matutino eram trazidas diretamente ao laboratório de Entomologia Médica e Veterinária da Universidade Federal do Paraná.

### 3.3 Procedimentos em laboratório

#### 3.3.1 Diversidade de Culicidae

Os mosquitos que não foram dissecados eram sacrificados, montados e etiquetados. A identificação dos espécimes capturados foi realizada com auxílio de chaves dicotômicas (Lane & Whitman 1951; Lane 1953 a b; Correia & Ramalho 1956; Consoli & Lourenço de Oliveira 1994; Forattini 2002) descrições (Forattini 2002; Barbosa *et al.* 2005) e por comparação com exemplares já identificados depositados na coleção de entomologia Pe. Jesus Santiago Moure pertencente do Departamento de Zoologia. Para identificação dos machos, foram montadas lâminas das genitálias masculinas seguindo o protocolo de montagem do laboratório de Biosistemática de Culicidae, da Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

Após a confirmação das espécies, pela Dra. Maria Anice Sallum, todos os mosquitos foram depositadas na Coleção de Entomologia Padre Jesus Santiago Moure ao Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná (DZUP).

Para o cálculo do ritmo de atividade hematófaga das fêmeas durante os períodos crepusculares, foi calculada a média de Willians ( $X_w$ ) para cada espécie, segundo Forattini (2002). A média de Williams designa à medida correspondente a variação da média geométrica dos resultados obtidos na isca humana:

$$\text{Log}(X_w+1) = \Sigma \log(n+1) / N$$

$n$  é o número de espécimes obtido em cada coleta

$N$  é o número de coletas.

Para comparar a composição específica dos períodos crepusculares vespertino e matutino foi utilizado a análise de similaridade. Foi calculado o índice de similaridade qualitativa de Sorensen (*CCs*), baseado na presença e ausência das espécies (Felfiti *et al.* 1993)

$$CCs = 2c/a+b$$

*a* é o número de espécies no período vespertino

*b* é o número de espécies no período matutino

*c* é o número de espécies comuns aos dois períodos.

Para o cálculo da similaridade quantitativa foi utilizado o Índice de Morisita – Horn (*CMH*), para estabelecer o grau de semelhança entre os dois períodos de coleta, baseando-se na composição da comunidade e abundância das espécies. (Volpato & dos Anjos 2001):

$$CMH = 2 \sum (ani \cdot bni) / (da+db) \cdot (aN \cdot bN)$$

$$da = \sum ani^2 / aN^2$$

$$db = \sum bni^2 / bN^2$$

*ani* é o número de indivíduos de cada espécie no período vespertino

*bni* é o número de indivíduos de cada espécie no período matutino

*aN* é o numero total de indivíduos no período vespertino

*bN* é o numero total de indivíduos no período matutino

O índice de dominância (*D*) de Berger-Parcker (1970) foi usado para comparação entre a prevalência de determinada espécie capturada em relação aos dois períodos crepusculares:

$$D = N \text{ máx.} / N \text{ total} \times 100$$

*N máx*: Número de mosquitos da espécie mais abundante

*N total*: Número de indivíduos encontrados

Para estimar a riqueza dos culicídeos foi utilizado o índice de diversidade de Margalef (*Dm*). Medida utilizada para estimar a biodiversidade de uma comunidade com base na distribuição numérica dos indivíduos das diferentes espécies. (Service 1993):

$$Dm = (S-1) / \ln N$$

*S*: Número de espécies

*N*: Número de indivíduos encontrados

Para as análises dos fatores abióticos, dados de temperatura média (°C), temperatura máxima (°C), temperatura mínima (°C), precipitação pluviométrica (mm), umidade relativa do ar (%), foram obtidas planilhas através do Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), o qual mantém uma base na cidade de Antonina, Paraná, cujo código é 25134848, estação oficial mais próxima da área das capturas. Com estes dados foram calculadas médias retrospectivas para 5, 15 e 20 dias antes da execução das oito coletas realizadas.

Para análise estatística das espécies de Culicidae coletadas foram utilizadas a abundância total das espécies nos períodos vespertino e matutino, e somente as três espécies em elevada densidade foram tratadas separadamente em cada período crepuscular vespertino e matutino.

Para análise de possíveis diferenças entre a abundância das três espécies mais coletadas, dentro e entre os períodos crepusculares. Assim como, para verificar a diferença entre a abundância das espécies capturadas nos dois períodos de captura, foi utilizado o teste de Levene, análise de variância e teste Tukey HSD, com nível de significância 5%. O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para avaliar a relação entre as variáveis ambientais e a atividade das três espécies mais frequentes (StatSoft 1994).

### 3.3.2 Idade fisiológica, sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico de *Anopheles (Kerteszia) cruzii*

No laboratório as gaiolas com as fêmeas eram mantidas em local com temperatura e umidade controladas, para viabilizar o processo de dissecação no laboratório por no máximo 24 horas após a coleta. Os mosquitos do gênero *Anopheles* eram retirados da gaiola com auxílio do capturador de Castro e individualizados em tubos de vidro. Cada fêmea era analisada individualmente para aumentar o grau de precisão na execução da técnica. Foram utilizados para cada período de captura 15 exemplares recolhidos de forma aleatória para dissecação, quando o número de fêmeas capturadas era inferior a 15, todos os exemplares vivos identificados como *Anopheles cruzii* foram dissecados.

A identificação dos exemplares de *Anopheles cruzii* era feita mediante a observação direta dos caracteres morfológicos ao microscópio estereoscópio, com base nas chaves dicotômicas para Anophelinae (Consoli & Lourenço de Oliveira 1994; Forattini 2002). Se o exemplar estivesse com algum caráter morfológico danificado, que comprometesse sua identificação específica este não era dissecado.

Para a dissecação foi utilizada a técnica de Polovodova, separando as fêmeas em nulíparas, uníparas ou bíparas, de acordo com o número de dilatações encontradas no pedicelo ovarioles. A avaliação dos estádios foliculares segundo Christophers e Mer, classificando os folículos em cinco estádios. As observações das terminações traqueolares de acordo com Detinova, separando as fêmeas em paridas (fêmeas que já realizaram o repasto sanguíneo) e não paridas (fêmeas anautógenas que nunca realizaram o repasto sanguíneo, e nunca ovipositaram) (Charlwood *et al.* 1980). E a observação do intestino médio, separando as fêmeas em três categorias: sem sangue, sangue de coloração vermelha ou marrom de acordo com Barata *et al.* (2001).

Foram examinados os dois ovários de cada fêmea, um deles era deixado para secar para verificação do estado das traquéias, e o outro ovário a membrana externa era rompida para examinar o pedicelo de cada ovariolo. O maior número de dilatações observadas em um só ovariolo era tomado como base para indicar o número de ciclos gonotróficos da fêmea, levando em conta os preceitos da “Escola Clássica”, já que esta possui conceituações teóricas mais consolidadas. No entanto, em todas as fêmeas oníparas foram anotados se havia no pedicelo dilatações ou sacos ovariolares.

O método escolhido para estimar a sobrevivência diária ( $p$ ) foi o de Vercruyse (1985) que separa a população de fêmeas em três grupos distintos:

(a)  $NP1$ : Fêmeas nulíparas com folículo em estágio I e II de Christophers e Mer.

(b)  $NP2$ : Fêmeas nulíparas com folículo além do estágio II de Christophers e Mer.

(c)  $P$ : Fêmeas oníparas

Em seguida foi feita a proporção de cada grupo examinado:

(d)  $n_1 = NP1/NP1+NP2+P$ : Proporção de fêmeas nulíparas com folículo em estágio I e II de Christophers e Mer.

(e)  $n_2 = NP2/NP1+NP2+P$ : Proporção de fêmeas nulíparas com folículo além do estágio II de Christophers e Mer.

(f)  $n_3 = P/NP1+NP2+P$ : Proporção de fêmeas oníparas.

Então:  $n_1 + n_2 + n_3 = 1$

Foi estimada a sobrevivência diária para cada grupo:

$$(g) E(n_1) = 1 - p^2 / 1 - p^2 + p \Rightarrow (1 - n_1) p^2 + n_1 p - (1 - n_1) = 0$$

$$(h) E(n_2) = p(1 - p^2) / 1 - p^2 + p \Rightarrow p^3 - n_2 p^2 + p(n_2 - 1) + n_2 = 0$$

$$(i) E(n_3) = p^3 / 1 - p^2 + p \Rightarrow p^3 + n_3 p^2 - n_3 p - n_3 = 0$$

A melhor estimativa de  $p$  para a população é o valor que minimiza a soma dos quadrados:

$$(j) \sum_{i=1}^3 [n_i - E(n_i)]^2 = 0$$

Para achar a raiz real da equação utilizou-se o programa matemático Maple V release 4. O cálculo do erro padrão foi feito através da equação:

$$(k) \text{ S.E.p.}^2 = \sum_{i=1}^3 [ni - E_{(ni)}]^2 / \text{Total de mosquitos capturados}$$

A duração do ciclo gonotrófico foi estimada segundo a equação de Davidson (1954); Kakitani & Forattini (2000):

$$(l) \quad \ln s = \frac{1}{\frac{g \cdot \ln \text{fêmeas oníparas}}{\text{total}}}$$

*s*: sobrevivência diária

*g*: duração do ciclo gonotrófico

Para análise de possíveis diferenças entre a condição de paridade e nuliparidade, em relação aos períodos de captura foi utilizado o teste de Levene, para testar a homogeneidade das variâncias. Confirmada a homogeneidade, foi realizada análise de variância e Teste Tukey HSD para N diferente, com nível de significância 5% (StatSoft 1994).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Diversidade de Culicidae

Durante 40 horas de captura na Floresta Estadual do Palmito, foram coletados 3479 culicídeos, destes 74,48% pertenciam à subfamília Anophelinae e 25,52% a subfamília Culicinae. Dentre os representantes de Culicinae, 12,91% pertenciam à tribo Culicini, 5,51% Aedini, 4,86% Sabethini e 2,24% Mansoniini. As espécies mais abundantes foram *Anopheles cruzii* (65,19%), *Culex (Melanoconion) sacchettae* Sirivanakarn & Jacob, 1982 (11,15%) e *Anopheles (Kerteszia) bellator* Dyar & Knab, 1906 (8,51%). Embora com percentual reduzido, mas número superior a cem exemplares, foi encontrado *Aedes (Ochlerotatus) scapularis* (Rondani, 1848) e *Wyeomyia (Phoniomyia) incaudata* Root, 1928 (TABELA II).

TABELA II. Culicidae capturados com a técnica de “aspiração menor”, no período de dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

Espécies	N	%
<b>Anophelinae</b>		
<i>Anopheles (Kerteszia) cruzii</i>	2268	65,19
<i>Anopheles (Kerteszia) bellator</i>	296	8,51
<i>Anopheles (Anopheles) costai / mediopunctatus</i>	27	0,78
<b>Culicinae- Aedini</b>		
<i>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</i>	142	4,08
<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus / nubilus</i>	22	0,63
<i>Psorophora (Janthinosoma) ferox</i>	14	0,40
<i>Aedes (Ochlerotatus) hortator</i>	8	0,23
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i>	4	0,11
<i>Aedes (Ochlerotatus) fluviatilis</i>	1	0,03
<i>Psorophora (Janthinosoma) albipes</i>	1	0,03
<b>Culicinae- Culicini</b>		
<i>Culex (Melanoconion) sacchettae</i>	388	11,15
<i>Culex (Microculex) imitator</i>	51	1,46
<i>Culex (Culex) nigripalpus</i>	3	0,09
<i>Culex (Culex) grupo Coronator</i>	3	0,09
<i>Culex (Melanoconion) ribeirensis</i>	3	0,09
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i>	1	0,03
<b>Culicinae- Mansoniini</b>		
<i>Mansonia (Mansonia) fonsecai</i>	61	1,75
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) chrysonotum</i>	17	0,49
<b>Culicinae- Sabethini</b>		
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) incaudata</i>	132	3,79
<i>Runchomyia (Runchomyia) theobaldi</i>	20	0,57
<i>Runchomyia (Runchomyia) reversa</i>	10	0,29
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) lopesi</i>	3	0,09
<i>Wyeomyia (Wyeomyia) abebela / melanopus</i>	2	0,06
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) davisii</i>	1	0,03
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) galvaoi</i>	1	0,03
Total	3479	100,00

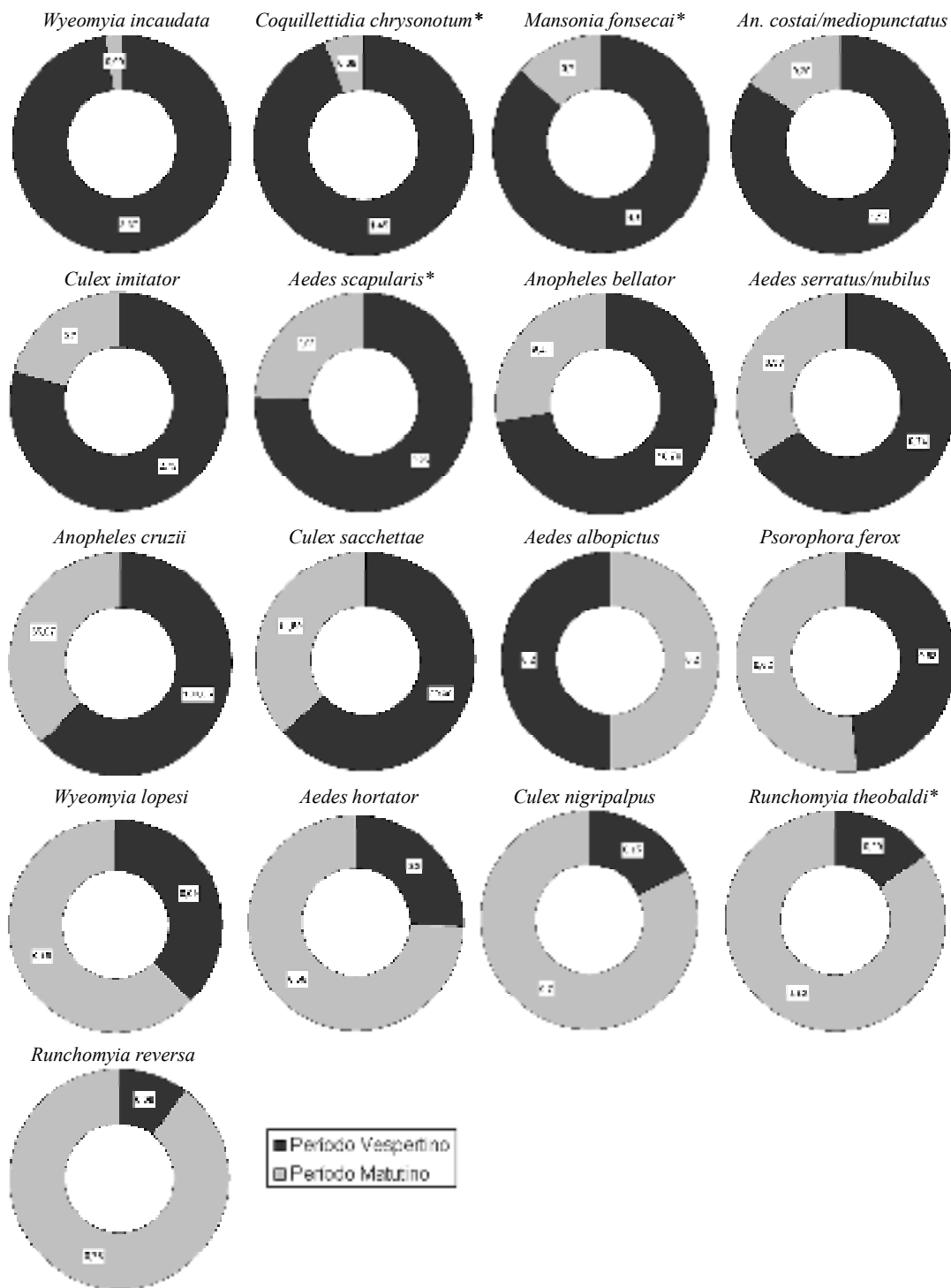
No período vespertino o número de mosquitos atingiu aproximadamente 100 indivíduos por hora, sendo capturadas 20 espécies, destas *Psorophora (Janthinosoma) ferox* (Theobald, 1907), *Culex (Culex) quinquefasciatus* (Say, 1823) e *Culex* grupo Coronator ocorreram exclusivamente neste período. No período matutino, o número de mosquito por hora chegou a 75 indivíduos, porém com número superior de espécies, 22 e cinco com ocorrência exclusiva para este crepúsculo *Culex (Melanoconion) ribeirensis* Forattini & Sallum, 1985, *Wyeomyia (Wyeomyia) abebela, /melanopus*, *Wyeomyia (Phoniomyia) davisii* (Lane and Cerqueira, 1942), *Aedes (Ochlerotatus) fluviatilis* (Lutz, 1904) e *Wyeomyia (Phoniomyia) galvaoi* (Correa & Ramalho, 1956).

De forma geral, para ambos os períodos de captura, o número de espécies ocorreram em abundância reduzida, com percentual relativo inferior a 5%. Sendo *Anopheles cruzii* a espécie capturada em elevada frequência e abundância em ambos os períodos crepusculares (TABELA III).

TABELA III. Culicídeos capturados no período crepuscular vespertino e matutino, com a "técnica de aspiração menor", entre dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, Paraná, com os respectivos percentuais de incidência, médias horárias (mH) e de Williams (Xw).

Espécies	Período Crepuscular							
	Vespertino				Matutino			
	N	%	mH	Xw	N	%	mH	Xw
<b>Anophelinae</b>								
<i>Anopheles (Kerteszia) cruzii</i>	1193	60,04	59,65	108,65	1075	72,05	53,75	65,07
<i>Anopheles (Kerteszia) bellator</i>	209	10,52	10,45	16,78	87	5,83	4,35	6,41
<i>Anopheles (Anopheles) costai / mediopunctatus</i>	24	1,21	1,20	1,57	3	0,20	0,15	0,29
<b>Culicinae - Aedini</b>								
<i>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</i>	110	5,55	5,50	9,23	32	2,14	1,60	2,98
<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus / nubilus</i>	10	0,50	0,50	0,74	12	0,80	0,60	0,38
<i>Psorophora (Janthinosoma) ferox</i>	7	0,35	0,35	0,58	7	0,47	0,35	0,62
<i>Aedes (Ochlerotatus) hortator</i>	2	0,10	0,10	0,20	6	0,40	0,30	0,58
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i>	2	0,10	0,10	0,20	2	0,13	0,10	0,20
<i>Psorophora (Janthinosoma) albipes</i>	1	0,05	0,05	0,09	—	—	—	—
<i>Aedes (Ochlerotatus) fluviatilis</i>	—	—	—	—	1	0,07	0,05	0,09
<b>Culicinae - Culicini</b>								
<i>Culex (Melanoconion) sacchettae</i>	241	12,13	12,05	20,38	147	9,86	7,35	11,59
<i>Culex (Microculex) imitator</i>	43	2,16	2,15	2,72	8	0,54	0,40	0,70
<i>Culex (Culex) grupo Coronator</i>	3	0,15	0,15	0,20	—	—	—	—
<i>Culex (Melanoconion) ribeirensis</i>	—	—	—	—	3	0,20	0,15	0,26
<i>Culex (Culex) nigripalpus</i>	2	0,10	0,10	0,15	1	0,07	0,05	0,09
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i>	1	0,05	0,05	0,09	—	—	—	—
<b>Culicinae - Mansoniini</b>								
<i>Mansonia (Mansonia) fonsecai</i>	52	2,62	2,60	4,50	9	0,60	0,45	0,70
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) chrysonotum</i>	16	0,80	0,80	1,45	1	0,07	0,05	0,09
<b>Culicinae - Sabethini</b>								
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) incaudata</i>	65	3,27	3,25	3,37	67	4,50	3,35	1,95
<i>Runchomyia (Runchomyia) theobaldi</i>	4	0,20	0,20	0,29	16	1,07	0,80	1,63
<i>Runchomyia (Runchomyia) reversa</i>	1	0,05	0,05	0,09	9	0,60	0,45	0,78
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) lopesi</i>	1	0,05	0,05	0,09	2	0,13	0,10	0,15
<i>Wyeomyia (Wyeomyia) abebela / melanopus</i>	—	—	—	—	2	0,13	0,10	0,20
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) davisii</i>	—	—	—	—	1	0,07	0,05	0,09
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) galvaoui</i>	—	—	—	—	1	0,07	0,05	0,09
Total	1987	100,00	99,35	217,78	1492	100,00	74,60	124,89
Esforço de coleta				20 h				20h

Diferença significativa de frequência foi detectada entre os períodos crepusculares vespertino e matutino para as seguintes espécies: *Aedes scapularis* ( $p= 0,03651$ ), *Coquillettidia (Rhynchotaenia) chrysonotum* (Peryassu, 1922) ( $p= 0,00795$ ), *Mansonia (Mansonia) fonsecai* (Pinto, 1932) ( $p= 0,00804$ ), e *Runchomyia (Runchomyia) theobaldi* Lane & Cerqueira, 1934 ( $p= 0,01996$ ) (FIGURA 1).



\* p<0,05

FIGURA 1. Frequência das espécies de Culicidae, de acordo com a Média de Willians (Xw), capturados no período crepuscular vespertino e matutino, com a "técnica de aspiração menor" entre dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

O índice de similaridade de Sorensen foi de 0,81 e o índice de Morisita-Horn atingiu 0,98 entre os períodos vespertino e matutino. Como regra geral para os dois índices, uma similaridade de 0,5 é considerada alta. E, quanto mais próximo de 1, maior a similaridade (Felfili *et al.* 1993). Os índices de dominância de Berger-Packer foram 0,60 e 0,72 para o período vespertino e matutino respectivamente. Para o período vespertino o índice de diversidade de Margalef foi de 2,50 e para o período matutino foi de 2,87.

As variáveis abióticas analisadas durante o período de captura estão representadas na TABELA IV.

TABELA IV. Média e desvio padrão da temperatura média (T méd), temperatura máxima (T máx), temperatura mínima (T mín), umidade relativa do ar (U rel) e precipitação acumulada (Prec acum); 5, 15 e 20 dias anteriores às coletas realizadas, durante dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

Datas das coletas	T méd (°C)	T máx (°C)	T mín (°C)	U rel (%)	Prec acum (mm)
5 dias					
21 e 22.12.2006	27,43 ± 0,79	35,32 ± 0,19	22,08 ± 1,02	79,64 ± 5,21	1,60
27 e 28.12.2006	24,4 ± 1,59	31,12 ± 4,51	21,64 ± 0,84	91,92 ± 6,89	65,60
10 e 11.01.2007	23,16 ± 1,30	27,16 ± 1,86	20,78 ± 2,32	95,86 ± 5,70	85,60
24 e 25.01.2007	23,98 ± 2,03	29,06 ± 3,59	20,92 ± 1,27	92,44 ± 5,54	50,80
07 e 08.02.2007	25,19 ± 0,62	32,86 ± 2,26	19,46 ± 1,69	81,51 ± 5,53	50,20
26 e 27.02.2007	25,6 ± 1,26	32,86 ± 2,84	22,1 ± 0,82	88,34 ± 6,08	35,80
05 e 06.03.2007	25,93 ± 0,64	34,42 ± 1,04	21,02 ± 0,71	85,7 ± 1,33	5,40
14 e 15.03.2007	24,98 ± 1,14	32,26 ± 4,72	21,18 ± 0,67	88,08 ± 10,07	78,40
15 dias					
21 e 22.12.2006	24,48 ± 2,58	30,79 ± 3,81	20,22 ± 1,77	87,72 ± 7,25	70,20
27 e 28.12.2006	25,31 ± 2,12	31,89 ± 3,82	21,38 ± 1,47	87,03 ± 7,82	162,60
10 e 11.01.2007	24,05 ± 1,21	28,85 ± 2,40	21,35 ± 1,52	93,15 ± 5,67	188,20
24 e 25.01.2007	24,46 ± 1,72	30,73 ± 3,51	20,38 ± 1,57	88,88 ± 5,75	110,20
07 e 08.02.2007	25,16 ± 0,97	32,37 ± 2,18	20,39 ± 1,96	85,25 ± 5,84	189,60
26 e 27.02.2007	24,09 ± 1,93	30,59 ± 3,47	20,53 ± 1,76	90,31 ± 6,01	205,80
05 e 06.03.2007	25,08 ± 1,40	32,27 ± 3,33	21,46 ± 0,87	89,25 ± 5,27	244,60
14 e 15.03.2007	25,81 ± 1,19	33,55 ± 2,81	21,19 ± 0,83	85,73 ± 6,08	120,80
20 dias					
21 e 22.12.2006	24,04 ± 2,53	29,87 ± 3,86	20,04 ± 2,00	89,34 ± 7,55	125,80
27 e 28.12.2006	24,54 ± 2,35	30,79 ± 3,84	20,79 ± 1,71	88,29 ± 7,35	188,80
10 e 11.01.2007	24,12 ± 1,25	29,34 ± 3,01	21,54 ± 1,39	92,75 ± 6,00	342,60
24 e 25.01.2007	24,23 ± 1,68	29,87 ± 3,50	20,78 ± 1,64	91,1 ± 6,37	195,80
07 e 08.02.2007	24,98 ± 1,30	31,78 ± 2,91	20,66 ± 1,80	87,44 ± 6,63	264,00
26 e 27.02.2007	24,27 ± 1,77	30,45 ± 3,59	20,97 ± 1,73	90,76 ± 6,91	283,40
05 e 06.03.2007	24,77 ± 1,66	32,04 ± 3,10	20,76 ± 1,53	88,73 ± 5,15	268,00
14 e 15.03.2007	25,72 ± 1,22	33,48 ± 2,63	21,35 ± 0,87	86,17 ± 5,71	205,20

\* Dados obtidos do Sistema de Meteorológico do Paraná (SIMEPAR).

Para análise das correlações entre as variáveis ambientais e a frequência de Culicidae, foram utilizadas as três espécies mais abundantes. Nenhuma apresentou valor de correlação de Pearson significativo. No entanto, os valores mais elevados obtidos de correlação positiva foram para *Culex sacchetti* e a média da temperatura média para 20 dias ( $r=0,69$ ) e *Culex sacchetti* e a média da temperatura máxima para 20 dias ( $r=0,72$ ) (TABELA V).

TABELA V. Coeficiente de correlação de Pearson entre as médias das variáveis meteorológicas e as espécies mais abundantes, entre dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

<i>Anopheles (Kerteszia) cruzii</i>					
	T <sub>méd</sub> (°C)	T <sub>máx</sub> (°C)	T <sub>mín</sub> (°C)	U <sub>rel</sub> (%)	Prec <sub>acum</sub> (mm)
5 dias	-0,34	-0,43	-0,66	0,04	0,25
15 dias	-0,39	-0,51	-0,16	0,30	0,10
20 dias	-0,28	-0,40	0,14	0,41	0,48
<i>Anopheles (Kerteszia) bellator</i>					
	T <sub>méd</sub> (°C)	T <sub>máx</sub> (°C)	T <sub>mín</sub> (°C)	U <sub>rel</sub> (%)	Prec <sub>acum</sub> (mm)
5 dias	-0,40	-0,53	-0,47	0,25	0,22
15 dias	-0,48	-0,63	0,10	0,59	0,15
20 dias	-0,34	-0,45	0,30	0,58	0,56
<i>Culex (Melanoconion) sacchetti</i>					
	T <sub>méd</sub> (°C)	T <sub>máx</sub> (°C)	T <sub>mín</sub> (°C)	U <sub>rel</sub> (%)	Prec <sub>acum</sub> (mm)
5 dias	0,01	0,20	0,28	0,13	0,26
15 dias	0,63	0,61	0,62	-0,27	0,24
20 dias	0,69	0,72	0,43	-0,57	0,02

\* Temperatura média (T méd), Temperatura máxima (T máx), Temperatura mínima (T mín), Umidade relativa do ar (U rel) e Precipitação pluviométrica acumulada (Prec acum), retrospectiva para 5, 15 e 20 dias antes das coletas.

Analisando os períodos que antecedem e sucedem os crepúsculos, e as três espécies encontradas em elevada densidade, foi observado o mesmo padrão, ou seja, um aumento gradativo na abundância de *Anopheles cruzii*, *Anopheles bellator* e *Culex sacchetti* do crepúsculo vespertino para o pós-crepúsculo vespertino e um decréscimo do pré-crepúsculo matutino para o crepúsculo matutino (FIGURA 2).

Para *Anopheles cruzii* foi detectada diferença estatística significativa na densidade entre o pré-crepúsculo vespertino e matutino ( $p=0,03513$ ); pós-crepúsculo vespertino e matutino ( $p=0,01233$ ); pré e pós-crepúsculo vespertino ( $p=0,02757$ ); pré e pós-crepúsculo matutino ( $p=0,01592$ ). *Anopheles bellator* a diferença significativa foi detectada entre o pré e pós-crepúsculo vespertino ( $p=0,01126$ ); pós-crepúsculo vespertino e matutino ( $p=0,00600$ ). *Culex sacchettae* teve diferença significativa entre o pré-crepúsculo vespertino e matutino ( $p=0,00235$ ); pós-crepúsculo vespertino e matutino ( $p=0,00066$ ); pré e pós-crepúsculo vespertino ( $p=0,00017$ ) (FIGURA 2).

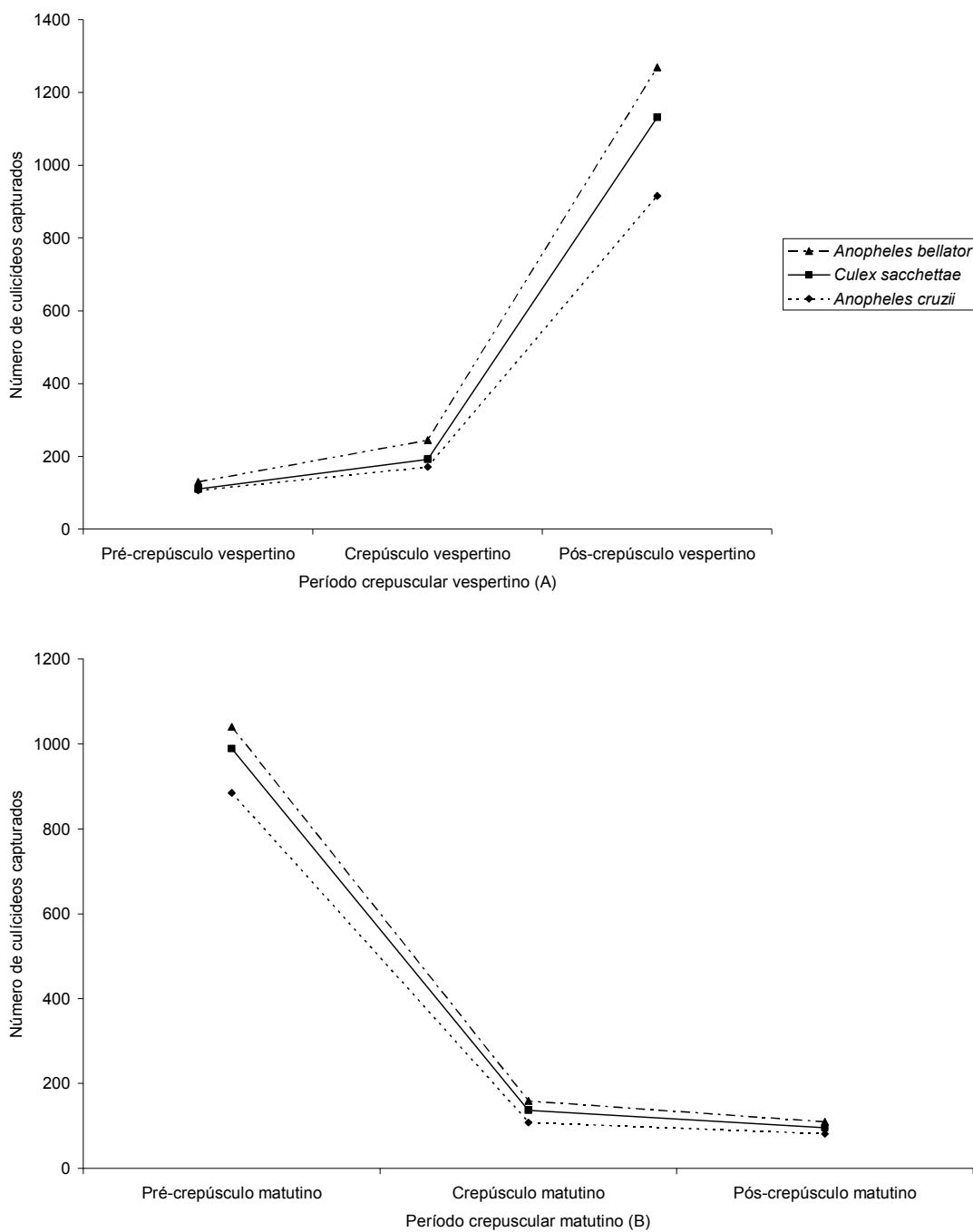


FIGURA 2. Freqüência de *Anopheles cruzii*, *Culex sacchetti* e *Anopheles bellator* capturados durante o período crepuscular vespertino (A) e matutino (B), com a “técnica de aspiração menor” entre dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

## 4.2 Idade fisiológica, sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico de *Anopheles (Kerteszia) cruzii*

Foram capturados 2268 *Anopheles (Kerteszia) cruzii*, 52,6% (1193) no período vespertino e 47,4% (1075) no período matutino. Apenas 454 fêmeas foram dissecadas, 59% (270) no período vespertino e 41% (184) no período matutino (FIGURA 3).

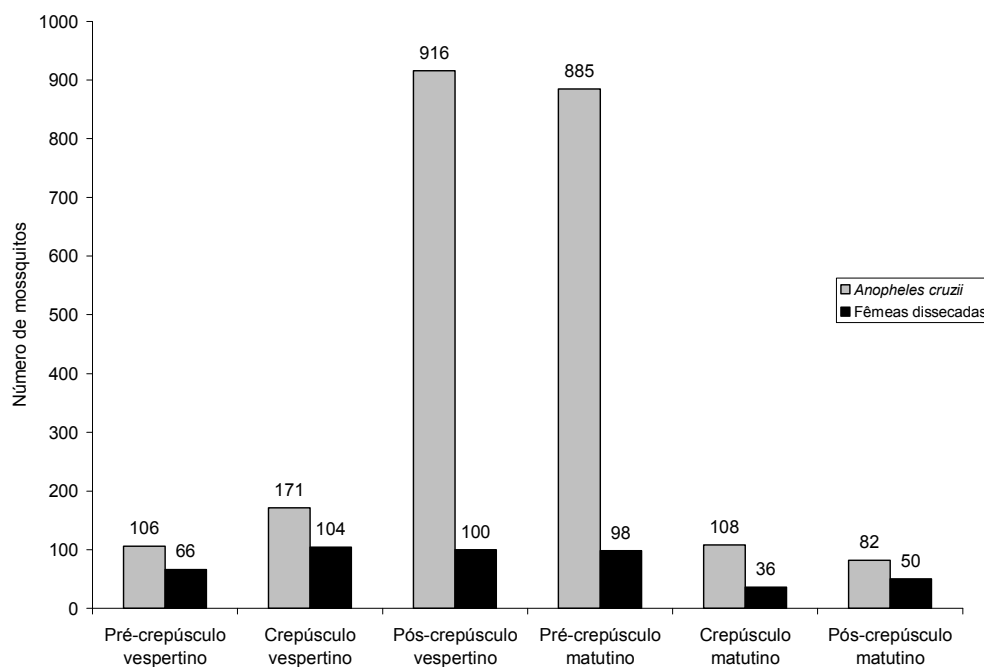
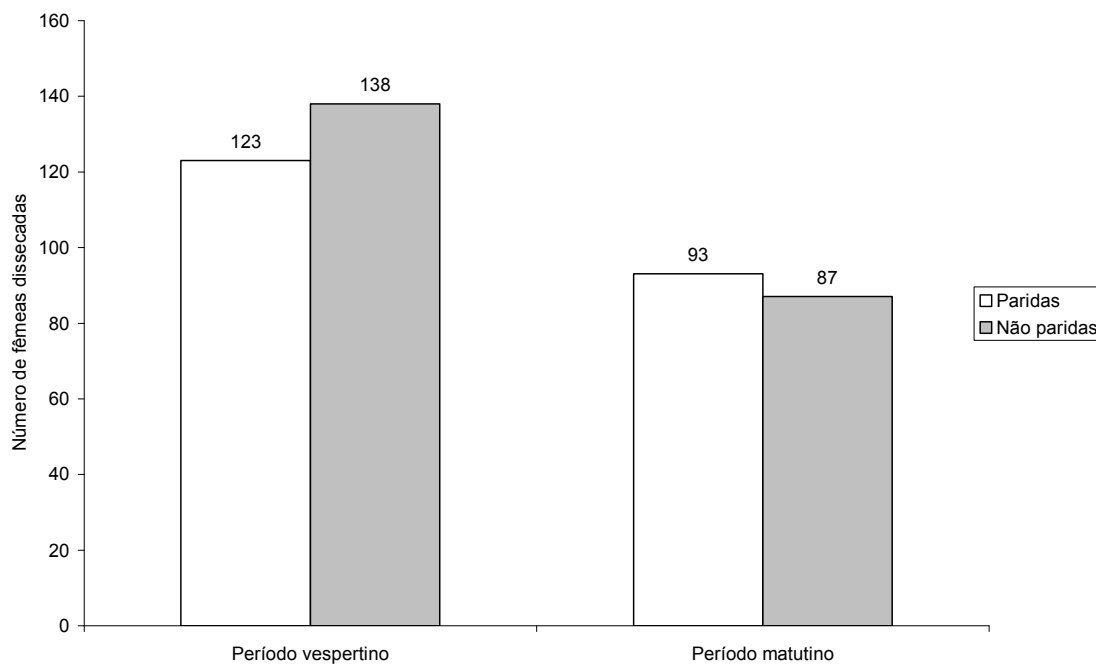


FIGURA 3. Número de fêmeas de *Anopheles cruzii* capturadas e dissecadas por horário de captura, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

Através da técnica de Detinova, detectou-se diferença significativa entre o número de fêmeas não paridas no período matutino e vespertino ( $p=0,0274$ ) (FIGURA 4). Existe diferença significativa entre o número de fêmeas não paridas no pós-crepúsculo vespertino e matutino ( $p=0,0148$ ), no pré e pós-crepúsculo matutino ( $p=0,0489$ ) e no crepúsculo vespertino e matutino ( $p=0,0019$ ) (TABELA VI). 47,6% das fêmeas eram paridas e 49,6% eram não paridas (FIGURA 5). A taxa de paridade variou de 0,42 (pré-crepúsculo matutino) a 0,65 (pós-crepúsculo matutino), e não foi encontrada diferença significativa entre a taxa de paridade nos períodos crepusculares analisados ( $p=0,8703$ ) (FIGURA 6 e FIGURA 7).

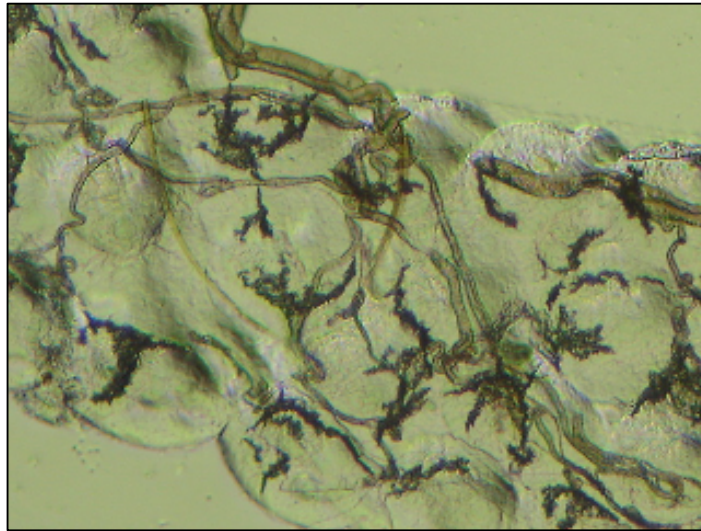


\* Não foram determinadas 13 fêmeas.

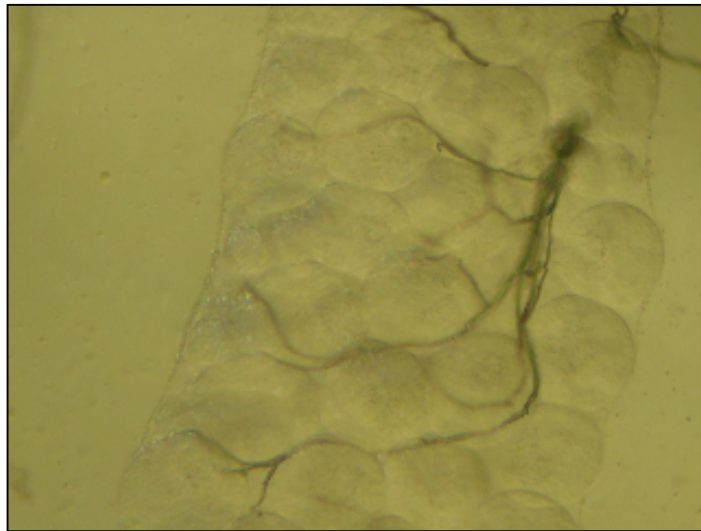
FIGURA 4. Distribuição do número de fêmeas paridas e não paridas de *Anopheles cruzii* por período vespertino e matutino, segundo a técnica de Detinova, a partir dos exemplares capturados com a "técnica de aspiração menor" de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

TABELA VI. Distribuição do número de fêmeas de *Anopheles cruzii* por paridade e por horário de captura, dissecadas segundo a técnica de Detinova, a partir dos exemplares capturados com a "técnica de aspiração menor" de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

Períodos	Parida		Não parida		Não determinado	
	N	%	N	%	N	%
Vespertino						
Pré-Crepúsculo	28	22,76	35	25,36	3	33,33
Crepúsculo	46	37,40	54	39,13	4	44,45
Pós-Crepúsculo	49	39,84	49	35,51	2	22,22
N	123		138		9	
% Vespertino	45,56		51,11		3,33	
Matutino						
Pré-Crepúsculo	40	43,01	55	63,22	3	75,00
Crepúsculo	21	22,58	15	17,24	0	0,00
Pós-Crepúsculo	32	34,41	17	19,54	1	25,00
N	93		87		4	
% Matutino	50,55		47,28		2,17	
N Total	216		225		13	
% Total	47,58		49,56		2,86	



(A) Fêmea não parida



(B) Fêmea parida

FIGURA 5. Ovário da fêmea de *Anopheles cruzii* não parida (A) e parida (B) de acordo com a técnica de Detinova.

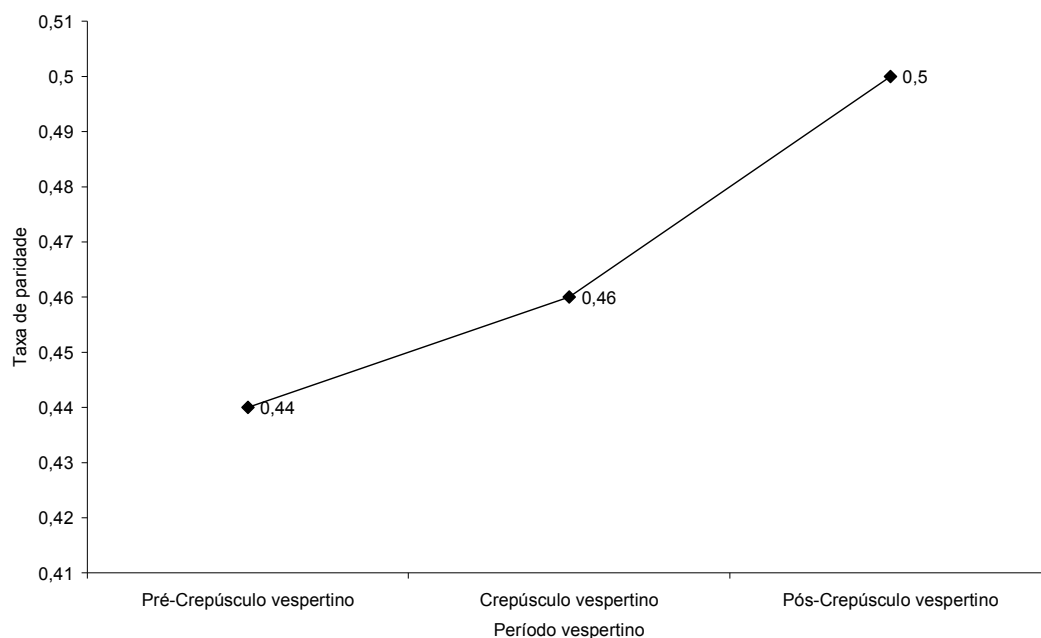


FIGURA 6. Taxa de paridade de *Anopheles cruzii*, segundo a técnica de Detinova, por horário de captura durante o período vespertino, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

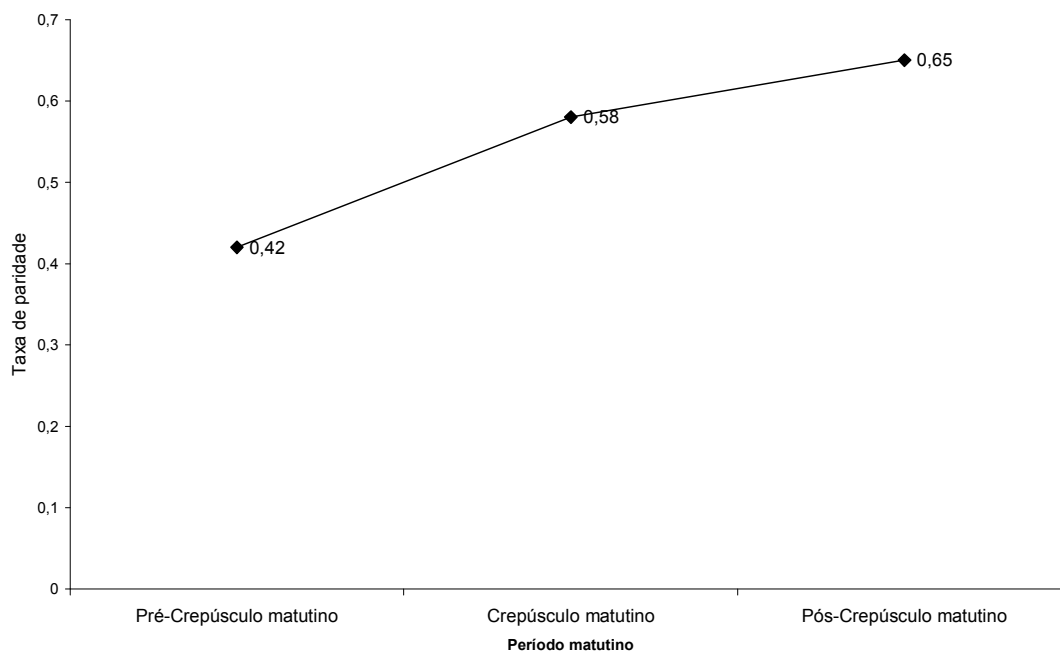


FIGURA 7. Taxa de paridade de *Anopheles cruzii*, segundo a técnica de Detinova, por horário de captura durante o período matutino, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

Foi detectada diferença significativa entre o número de fêmeas em estágio I e II nos períodos vespertino e matutino ( $p=0,0075$ ) (FIGURA 8). 20,93% das fêmeas estavam com folículos nos estádios III e IV de Christophers e Mer (FIGURA 9). Igualmente foi detectada diferença significativa no número de fêmeas em estágio I e II entre os seguintes períodos pré e pós-crepúsculo matutino ( $p=0,0465$ ), pós-crepúsculo vespertino e matutino ( $p=0,0095$ ) e crepúsculo matutino e vespertino ( $p=0,0039$ ) (FIGURA 10). Foram encontradas 72,69% com folículos no estágio I e II e 22,91% com folículos além do estágio II (TABELA VII).

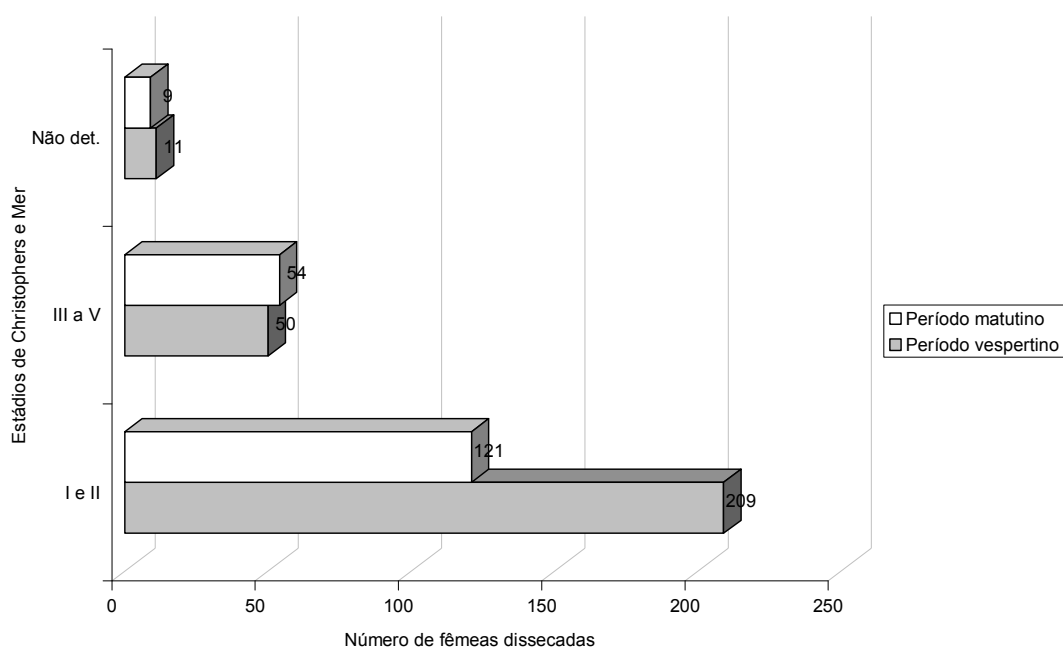


FIGURA 8. Distribuição dos estádios de desenvolvimento ovariano, segundo Christophers e Mer, durante o período vespertino e matutino, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

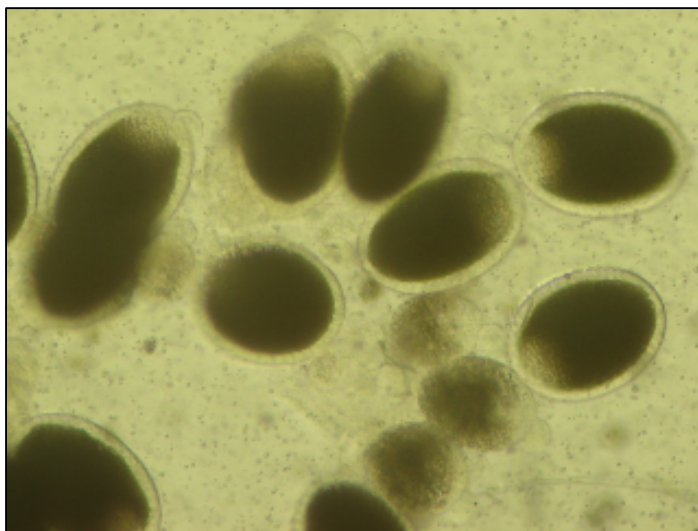


FIGURA 9. Fêmea de *Anopheles cruzii* com folículo em estágio III e IV de Christophers e Mer.

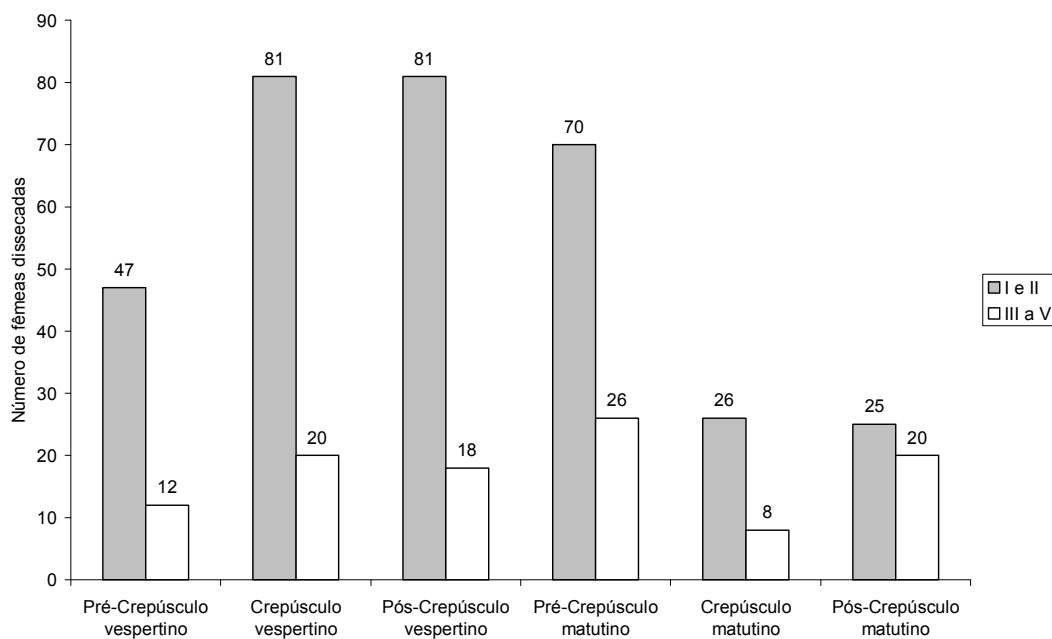


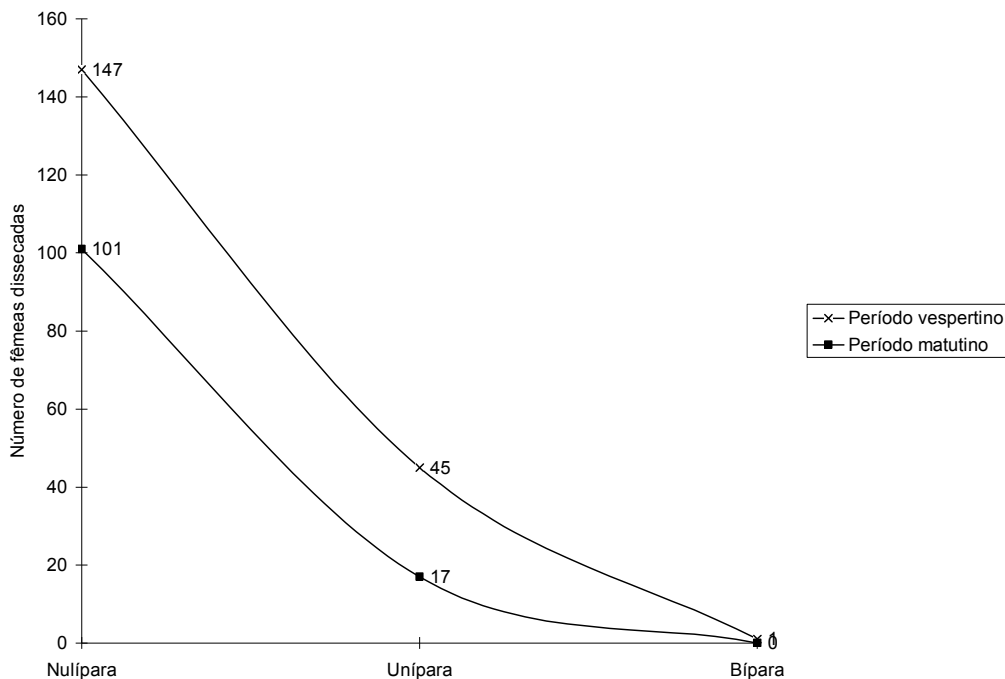
FIGURA 10. Distribuição dos estádios de desenvolvimento ovariano por horário de captura, segundo Christophers e Mer, a partir dos exemplares capturados com a “técnica de aspiração menor” de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

TABELA VII. Distribuição dos estádios de desenvolvimento ovarioelar por horário de captura, segundo Christophers e Mer, a partir dos exemplares capturados com a "técnica de aspiração menor" de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

Períodos	Estádios de desenvolvimento ovarioelar									
	I e II		III		IV		V		Não determinado	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Vespertino										
Pré-Crepúsculo	47	22,49	10	25,00	0	0,00	2	28,57	7	63,63
Crepúsculo	81	38,75	16	40,00	0	0,00	4	57,14	3	27,27
Pós-Crepúsculo	81	38,75	14	35,00	3	100,00	1	14,29	1	9,10
N	209		40		3		7		11	
% Vespertino	77,41		14,81		1,11		2,60		4,07	
Matutino										
Pré-Crepúsculo	70	57,85	19	59,38	5	25,00	2	100,00	2	22,22
Crepúsculo	26	21,49	8	25,00	0	0,00	0	0,00	2	22,22
Pós-Crepúsculo	25	20,66	5	15,62	15	75,00	0	0,00	5	55,56
N	121		32		20		2		9	
% Matutino	65,76		17,39		10,87		1,09		4,89	
N Total	330		72		23		9		20	
% Total	72,69		15,86		5,07		1,98		4,40	

Foi detectada diferença significativa no número de fêmeas nulíparas capturadas entre o período vespertino e matutino ( $p=0,0020$ ) (FIGURA 11), assim como, no pós-crepúsculo vespertino e matutino ( $p= 0,0265$ ), no pré e pós-crepúsculo matutino ( $p=0,0186$ ) e no crepúsculo vespertino e matutino ( $p=0,0292$ ) (TABELA VIII).

Existe diferença significativa no número de fêmeas uníparas capturadas entre o crepúsculo vespertino e matutino ( $p=0,0065$ ) (TABELA VIII).



\* Não foram determinadas 143 fêmeas.

FIGURA 11. Fêmeas de *Anopheles cruzii* dissecadas e classificadas segundo a técnica de Polovodova, a partir dos exemplares capturados com a "técnica de aspiração menor" durante os períodos vespertino e matutino de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

TABELA VIII. Fêmeas de *Anopheles cruzii* dissecadas segundo a técnica de Polovodova por horário de captura, a partir dos exemplares capturados com a "técnica de aspiração menor" de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

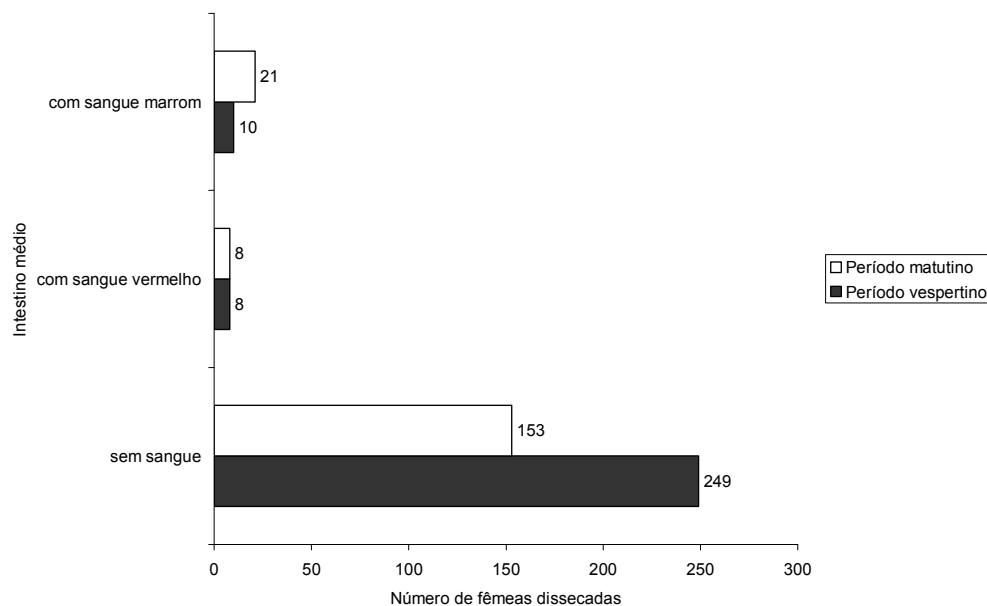
Períodos	Nulípara		Unípara		Bípara		Não determinado	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Pré-Crepúsculo	35	23,81	11	24,44	0	0,00	20	25,97
Crepúsculo	54	36,73	17	37,78	1	100,00	32	41,56
Pós-Crepúsculo	58	39,46	17	37,78	0	0,00	25	32,47
<b>N</b>	<b>147</b>		<b>45</b>		<b>1</b>		<b>77</b>	
<b>% Vespertino</b>	<b>54,44</b>		<b>16,67</b>		<b>0,37</b>		<b>28,52</b>	
<b>Matutino</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Pré-Crepúsculo	60	59,41	9	52,94	0	0,00	29	43,94
Crepúsculo	23	22,77	3	17,65	0	0,00	10	15,15
Pós-Crepúsculo	18	17,82	5	29,41	0	0,00	27	40,91
<b>N</b>	<b>101</b>		<b>17</b>		<b>0</b>		<b>66</b>	
<b>% Matutino</b>	<b>54,89</b>		<b>9,24</b>		<b>0,00</b>		<b>35,87</b>	
<b>N Total</b>	<b>248</b>		<b>62</b>		<b>1</b>		<b>143</b>	
<b>% Total</b>	<b>54,62</b>		<b>13,66</b>		<b>0,22</b>		<b>31,5</b>	

Foram dissecadas 62 fêmeas de *Anopheles cruzii* com uma dilatação no pedicelo ovariolar ou presença de saco ovariolar, de acordo com a Escola Clássica, estas fêmeas já teriam realizaram um ciclo gonotrófico. Levando em consideração os preceitos da Escola Nova foram detectadas 26%(16) das fêmeas com a presença de saco ovariolar e apenas estas fêmeas teriam realizado oôgenese normal (TABELA IX).

TABELA IX. Fêmeas oníparas de *Anopheles cruzii* dissecadas segundo a técnica de Polovodova, com presença de saco ovariolar ou dilatação no pedicelo do folículo

Período	Fêmeas Oníparas			
	Saco ovariolar		Dilatação	
	N	%	N	%
Período Vespertino				
Pré-Crepúsculo	5	38,46	6	18,75
Crepúsculo	6	46,16	12	37,50
Pós-Crepúsculo	2	15,38	14	43,75
N	13		32	
% do total	20,97		51,61	
Período Matutino	N	%	N	%
Pré-Crepúsculo	2	66,67	7	50,00
Crepúsculo	0	0,00	3	21,43
Pós-Crepúsculo	1	33,33	4	28,57
N	3		14	
% do total	4,84		22,58	
N Total	16		46	
%	25,81		74,19	

Fêmeas alimentadas com sangue foram encontradas em ambos os períodos, vespertino e matutino (FIGURA 12) e na maioria dos horários de captura com exceção ao crepúsculo matutino (TABELA X).



\* Não foram determinadas 5 fêmeas.

FIGURA 12. Condição ou ausência de sangue no intestino médio das fêmeas de *Anopheles cruzii*, a partir dos exemplares capturados com a "técnica de aspiração menor" durante os períodos crepusculares de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

TABELA X. Condição ou ausência de sangue no intestino médio das fêmeas de *Anopheles cruzii*, por horário de captura, a partir dos exemplares capturados com a "técnica de aspiração menor" de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

Períodos	Sangue no intestino médio							
	sem sangue		Com sangue vermelho		Com sangue marrom		Não determinado	
Vespertino	N	%	N	%	N	%	N	%
Pré-Crepúsculo	61	24,50	2	25,00	3	30,00	0	0,00
Crepúsculo	96	38,55	3	37,50	2	20,00	3	100,00
Pós-Crepúsculo	92	36,95	3	37,50	5	50,00	0	0,00
<b>N</b>	<b>249</b>		<b>8</b>		<b>10</b>		<b>3</b>	
<b>% Vespertino</b>	<b>92,22</b>		<b>2,97</b>		<b>3,70</b>		<b>1,11</b>	
Matutino	N	%	N	%	N	%	N	%
Pré-Crepúsculo	90	58,82	4	50,00	4	19,00	0	0,00
Crepúsculo	34	22,22	0	0,00	0	0,00	2	100,00
Pós-Crepúsculo	29	18,96	4	50,00	17	81,00	0	0,00
<b>N</b>	<b>153</b>		<b>8</b>		<b>21</b>		<b>2</b>	
<b>% Matutino</b>	<b>83,15</b>		<b>4,35</b>		<b>11,41</b>		<b>1,09</b>	
<b>N Total</b>	<b>402</b>		<b>16</b>		<b>31</b>		<b>5</b>	
<b>%</b>	<b>88,55</b>		<b>3,52</b>		<b>6,83</b>		<b>1,10</b>	

Foram encontradas aproximadamente 7,27% (33) das fêmeas que já estavam amadurecendo seus ovos, e foram coletadas na segunda tentativa hematófaga dentro do mesmo ciclo gonotrófico (TABELA XI)

TABELA XI. Fêmeas de *Anopheles cruzii* dissecadas e classificadas segundo a técnica Polovodova, e fases de desenvolvimento ovariano de acordo com os critérios de Christophers e Mer, por horário de captura, a partir dos exemplares capturados com a "técnica de aspiração menor" de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

Períodos	Estádio I e II						Estádio III a V					
	Nulípara		Unípara		Bípara		Nulípara		Unípara		Não determinado	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Vespertino												
Pré-Crepúsculo	27	21,60	9	23,08	0	0,00	7	35,00	2	33,33	21	26,58
Crepúsculo	48	38,40	13	33,33	1	100,00	5	25,00	4	66,67	33	41,77
Pós-Crepúsculo	50	40,00	17	43,59	0	0,00	8	40,00	0	0,00	25	31,65
N	125		39		1		20		6		79	
% Vespertino	46,30		14,44		0,37		7,41		2,22		29,26	
Matutino												
Pré-Crepúsculo	55	62,50	7	50,00	0	0,00	5	38,46	2	66,67	29	43,94
Crepúsculo	18	20,45	2	14,29	0	0,00	5	38,46	1	33,33	10	15,15
Pós-Crepúsculo	15	17,05	5	35,71	0	0,00	3	23,08	0	0,00	27	40,91
N	88		14		0		13		3		66	
% Matutino	47,83		7,61		0,00		7,06		1,63		35,87	
N Total	213		53		1		33		9		145	
% Total	46,92		11,67		0,22		7,27		1,98		31,94	

Foram encontradas 10 fêmeas com estádios III a V de Christophers e Mer, e estavam com sangue de coloração vermelha no intestino médio, mais um fato que corrobora a tentativa de mais de um repasto sanguíneo no mesmo ciclo gonotrófico (TABELA XII).

TABELA XII. Fêmeas de *Anopheles cruzii* dissecadas por horário crepuscular, segundo os estádios de desenvolvimento ovariano de Christophers e Mer e o conteúdo de sangue no intestino médio, a partir dos exemplares capturados com a "técnica de aspiração menor" de dezembro/06 a março/07, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

Períodos	Sangue no intestino médio															
	Sem sangue						Com sangue vermelho						Com sangue marrom			
	I ou II		III a V		Não det		I ou II		III a V		Não det		I ou II		III a V	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Vespertino																
Pré-Crepúsculo	44	22,11	10	25,00	7	53,85	0	0,00	1	25,00	0	0,00	3	60,00	1	25,00
Crepúsculo	77	38,70	16	40,00	6	46,15	1	25,00	2	50,00	0	0,00	2	40,00	0	0,00
Pós-Crepúsculo	78	39,19	14	35,00	0	0,00	3	75,00	1	25,00	1	100,00	0	0,00	3	75,00
N	199		40		13		4		4		1		5		4	
% Vespertino	73,71		14,82		4,81		1,48		1,48		0,37		1,85		1,48	
Matutino																
Pré-Crepúsculo	70	58,82	18	69,23	2	20,00	0	0,00	4	66,67	0	0,00	0	0,00	4	20,00
Crepúsculo	25	21,01	7	26,92	4	40,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Pós-Crepúsculo	24	20,17	1	3,85	4	40,00	0	0,00	2	33,33	1	100,00	2	100,00	16	80,00
N	119		26		10		0		6		1		2		20	
% Matutino	64,67		14,13		5,43		0,00		3,27		0,54		1,09		10,87	
N Total	318		66		23		4		10		2		7		24	
% Total	70,04		14,54		5,07		0,88		2,20		0,44		1,54		5,29	

A aplicação da fórmula de Vercruyssen (1985) e Davidson (1954) na população do litoral do Paraná originou os seguintes resultados (TABELA XIII):

**A) População total (Vespertina e Matutina)**

[(a) NP<sub>1</sub>: 213; (b) NP<sub>2</sub>: 33; (c) P: 63; (d) n<sub>1</sub>= 0,69; (e) n<sub>2</sub>= 0,11; (f) n<sub>3</sub>= 0,20].

(g) E (n<sub>1</sub>) melhor estimativa para p=0,3832

(h) E (n<sub>2</sub>) melhor estimativa para p=0,1238

(i) E (n<sub>3</sub>) melhor estimativa para p=0,6272

(j)  $f(p) = \sum_{i=1}^3 [n_i - E_{(ni)}]^2$  melhor estimativa para p= 0,2365

(k)  $S.E.p.^2 = \sum_{i=1}^3 [n_i - E_{(ni)}]^2 / \text{Total de mosquitos capturados} = 0,0277$

(l)  $ln s = \frac{1}{\frac{g. \text{ ln fêmeas oníparas}}{\text{total}}} = 0,89$

**B) População do período vespertino**

[(a) NP<sub>1</sub>: 125; (b) NP<sub>2</sub>: 20; (c) P: 46; (d) n<sub>1</sub>= 0,654; (e) n<sub>2</sub>= 0,105; (f) n<sub>3</sub>= 0,241].

(g) E (n<sub>1</sub>) melhor estimativa para p=0,4308

(h) E (n<sub>2</sub>) melhor estimativa para p=0,1175

(i) E (n<sub>3</sub>) melhor estimativa para p=0,6654

(j)  $f(p) = \sum_{i=1}^3 [n_i - E_{(ni)}]^2$  melhor estimativa para p= 0,505

(k)  $S.E.p.^2 = \sum_{i=1}^3 [n_i - E_{(ni)}]^2 / \text{Total de mosquitos capturados} = 0,0404$

$$(l) \ln s = \frac{1}{\frac{g. \ln \text{fêmeas oníparas}}{\text{total}}} = 0,48$$

**C) População do período matutino:**

[(a) NP<sub>1</sub>: 88; (b) NP<sub>2</sub>: 13; (c) P: 17; (d) n<sub>1</sub>= 0,75; (e) n<sub>2</sub>= 0,11; (f) n<sub>3</sub>= 0,14].

(g) E (n<sub>1</sub>) melhor estimativa para p=0,3027

(h) E (n<sub>2</sub>) melhor estimativa para p=0,1238

(i) E (n<sub>3</sub>) melhor estimativa para p=0,5588

$$(j) f(p) = \sum_{i=1}^3 [n_i - E_{(ni)}]^2 \text{ melhor estimativa para } p = 0,245$$

$$(k) S.E.p.^2 = \sum_{i=1}^3 [n_i - E_{(ni)}]^2 / \text{Total de mosquitos capturados} = 0,0282$$

$$(l) \ln s = \frac{1}{\frac{g. \ln \text{fêmeas oníparas}}{\text{total}}} = 1,38$$

TABELA XIII. Aplicação da fórmula de Vercruysse (1985) e Davidson (1954) na população das fêmeas de *Anopheles cruzii* capturadas com a "técnica de aspiração menor" de dezembro/2006 a março/2007, na Floresta Estadual do Palmito, Paranaguá, PR.

Parâmetros	População de <i>Anopheles cruzii</i>		
	Total	Vespertina	Matutina
Sobrevivência diária	0,2365±0,0277	0,505±0,0404	0,2450±0,0282
Duração do ciclo gonotrófico	0,89 dias	0,48 dias	1,38 dias

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Diversidade de Culicidae

Os dois períodos crepusculares apresentaram semelhança qualitativa e quantitativa na composição específica. A porcentagem de similaridade foi de 85% e o índice de Morisita-Horn atingiu 0,98, ou seja os dois períodos não diferem quanto a abundância das espécies. Para os culicídeos a queda e ascensão da luminosidade durante os crepúsculos vespertino e matutino respectivamente parecem ser fatores de desencadeamento das atividades (Lourenço-de-Oliveira & Silva 1985), para a maioria das espécies.

Os índices de dominância para o período crepuscular vespertino e matutino foram considerados elevados pela dominância de *Anopheles cruzii* em relação demais espécies nestes períodos. Quanto ao índice de diversidade de Margalef, os valores encontrados foram inferiores a 5, denotando baixa diversidade de espécies nos dois períodos crepusculares, em consequência da reduzida densidade da maioria das espécies.

As duas espécies de *Kerteszia* capturadas em elevada densidade, *Anopheles cruzii* e *Anopheles bellator*, possuem em comum o desenvolvimento em criadouros naturais, preferencialmente na água acumulada nas imbricações das folhas das bromélias (Veloso *et al.* 1956). O sub-bosque da Floresta Estadual do Palmito possui elevada densidade de representantes da família Bromeliaceae (Rotta *et al.* 1997), existindo associação direta destas espécies com a oferta de criadouros.

*Anopheles cruzii*, *Anopheles bellator*, representantes dos Anophelinae, tiveram um aumento gradativo de densidade com a redução ou aumento da intensidade da luz, sendo este um estímulo exógeno e a isca humana um estímulo endógeno. A variação bimodal crepuscular, ou seja, a alternância dos picos de atividade no amanhecer e no anoitecer (San't Ana & Lozovei 2001) parece ter ocorrido com estas espécies, já que foram encontradas em elevada abundância no pós-crepúsculo vespertino e pré-crepúsculo matutino.

Forattini *et al.* (1986), observaram picos de atividade, tanto nos crepúsculos vespertino como no matutino na área de Planície do Vale do Ribeira. Segundo Aragão (1974) a atividade dos *Kerteszia* é intensificada no pôr do sol.

Outra espécie de Anophelinae capturada foi *Anopheles costai/mediopunctatus*, não sendo identificada a nível específico, pois *Anopheles (Anopheles) costai* Fonseca & Ramos, 1939 e *Anopheles (Anopheles) mediopunctatus* (Theobald, 1903) são morfologicamente similares. A distribuição geográfica de *Anopheles costai* é pouco conhecida, o táxon tem sido registrado no Brasil nas localidades de São Paulo, Rondônia, Bahia, Minas Gerais e Pará (Sallum *et al.* 1999).

Dentre os Aedini, ocorreu a presença de *Aedes scapularis* espécie adaptável a ambientes modificados (Forattini *et al.* 1986), possibilitando a interpretação de que a preservação da área ainda não atingiu o clímax além de sofrer influência de atividade antrópica principalmente no seu entorno.

A atividade dos Aedini no período crepuscular vespertino foi mais elevada em comparação ao matutino, com destaque para *Aedes scapularis*. Lourenço-de-Oliveira & Silva (1985), Forattini *et al.* (2000) e Sant'Ana & Lozovei (2001) consideram esta espécie eclética, com aumento da densidade no final do crepúsculo vespertino. Forattini *et al.* (1986) consideram *Aedes serratus* e *Psorophora ferox* (Von Humboldt, 1819) essencialmente diurnas. No entanto foi observado que estas espécies em baixa frequência e com a mesma densidade nos períodos vespertino e matutino, sugerindo o término e início de suas atividades.

Na tribo Culicini, *Culex sacchettae* foi capturada em elevada densidade, no entanto, sua biologia ainda não é bem conhecida pouco se sabe sobre o criadouro desta espécie, sendo indicada coleção líquida com vegetação submersa, com distribuição indicada para regiões Sul e Sudeste. Alguns estudos em ambiente antrópico intensamente modificado indicaram elevado grau de sinantropia por parte desta espécie, sendo encontrada em apreciável frequência em coletas que utilizam isca humana (Forattini *et al.* 1991; Forattini 2002).

A influência crepuscular no desencadeamento da atividade de Culicidae foi reforçada nestas observações, com *Culex sacchettae* mostrando de maneira evidente o caráter eocrepuscular do seu ciclo nictimeral.

Os Mansonini foram encontrados em maior densidade no período crepuscular vespertino. Forattini (2002) relata que a tribo tem picos de atividades crepusculares, principalmente no período vespertino. *Coquillettidia chrysonotum* têm preferência crepuscular vespertina como observado por Guimarães *et al.* (2000a). As fêmeas desta tribo são exófilas, agressivas e vorazes e têm elevada capacidade de dispersão Navarro *et al.* (2004). Suas formas imaturas se fixam em plantas aquáticas conhecidas como “aguapés”, em coleções líquidas de porte médio ou grande com água parada ou pouco movimentada (Forattini 2002).

Os Sabethini tiveram predominância no período crepuscular matutino, principalmente *Runchomyia theobaldi* que tem hábito predominantemente diurno como relatado em Paterno & Marcondes (2004). As espécies de *Wyemyia* (*Phoniomyia*) encontradas em elevada densidade, são de atividade diurna, mas estendem sua atividade até o início da noite (Forattini *et al.* 1968).

As fêmeas de *Wyeomyia incaudata* foram encontradas em densidade elevada durante os períodos crepusculares, apontando para comportamento diurno, como já relatado em (Marcondes & Paterno 2005), iniciando suas atividades no crepúsculo matutino e encerrando no crepúsculo vespertino. Diferentemente dos *Kerteszia* e *Culex sacchettae*, que parecem iniciar suas atividades com a chegada do anoitecer e diminuem suas atividades no amanhecer.

As variáveis ambientais influenciam a atividade de culicídeos. Na estação do verão nas regiões tropicais as variáveis abióticas geralmente são favoráveis aos Culicidae, pois com a ocorrência de chuvas, a oferta de criadouros é aumentada, e as temperaturas elevadas facilitam o ciclo de desenvolvimento dos insetos. Guimarães *et al.* (2000 a) relatam que as variações da temperatura e umidade relativa do ar influenciam diretamente os mosquitos e estes podem chegar a desaparecer totalmente durante os meses mais secos do ano.

Não foram encontradas correlações significativas entre a abundância das espécies e a média dos fatores abióticos, durante o período de investigação. Os fatores climáticos apresentaram-se praticamente homogêneo, por isso a ausência de correlações. Apesar de não ter encontrado nenhuma correlação significativa, os fatores abióticos podem ter sido favoráveis principalmente para as três espécies capturadas em elevada densidade, já que mantiveram-se elevadas e com pouca variação durante o período de estudo. Ueno *et al.* (2007) encontraram correlação positiva entre a densidade de *Anopheles cruzii* e *Anopheles bellator* com a temperatura máxima de aproximadamente 32,5° C. A correlação entre chuva e densidade de mosquito deve ser mais bem investigada, já que as formas imaturas dependem diretamente da água.

As condições da área estudada estão permitindo a manutenção da abundância de culicídeos, por possuírem variado elenco de locais para o desenvolvimento de imaturos e exercício de hematofagia. Entre as principais espécies capturadas *Anopheles cruzii*, *Anopheles bellator* e *Culex sacchettae*, a primeira e a segunda apresentaram no passado grande importância para saúde pública na área de estudo. Para a última espécie ainda necessitam de estudos sobre sua real potencialidade na transmissão de agentes determinantes de agravos a saúde do homem ou animais.

## 5.2 Idade fisiológica, sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico de *Anopheles cruzii*

O período de investigação na Floresta Estadual do Palmito permitiu conhecer a paridade das populações de *Anopheles cruzii*, nos períodos vespertino e matutino. As fêmeas não paridas estão em alta atividade para procura do hospedeiro no período vespertino, com finalidade de realizar seu primeiro repasto sangüíneo. No pré-crepúsculo matutino muitas fêmeas ainda estão na tentativa da hematofagia, depois sua atividade decresce significativamente.

A taxa de paridade foi em média de 50%. Forattini *et al.* (1996) em floresta pertencente ao bioma Mata Atlântica, realizando coletas com isca humana, durante o período vespertino não acharam diferença estatística para *Anopheles cruzii* em relação a taxa de paridade que variou de 32,7% no peridomicílio e 27,9% no intradomicílio. Jensen *et al.* (1998) consideram que elevada taxa de paridade sugere maior longevidade à população. Diéguez *et al.* (2002) observaram que em períodos desfavoráveis, as fêmeas tendem a adaptar-se, incrementando a paridade. A taxa de picada aumenta nas fêmeas paridas com maior longevidade (Almeida *et al.* 2005), ou nos anofelíneos infectados por plasmódios da malária humana (Koella & Packer 1996).

As fêmeas em estágio I e II de Christophers e Mer foram encontradas em maior abundância no crepúsculo vespertino, tentando realizar a hematofagia, diminuindo significativamente no pós-crepúsculo matutino. Apenas 2% das fêmeas estavam com os folículos desenvolvidos, e foram coletadas quando estavam à procura de local para oviposição.

Durante o período de estudo a maior parte da população era constituída por fêmeas jovens, 13,75% ultrapassaram o período crítico de oviposição e apenas uma realizou no mínimo dois ciclos gonotróficos. Pode estar ocorrendo uma alta mortalidade de fêmeas paridas, ou uma contínua emergência de imaturos. Forattini *et al.* (1993 a) encontraram apenas uma fêmea de *Anopheles cruzii* bípara durante o verão, no período vespertino, na

região do Vale do Ribeira. Luz *et al.* (1979), em pesquisa realizada no litoral do Paraná, encontraram 80% das fêmeas nulíparas.

Segundo os preceitos da Escola Nova pode-se considerar que apenas 25,81% das fêmeas uníparas apresentavam saco ovarioilar e realizaram oogênese normal. Segundo Telles de Deus & Kakitani (2006) os dados interpretados pela Escola nova são confiáveis, porém em alguns casos podem subestimar o tempo de sobrevivência.

O *Anopheles cruzii* é um mosquito anautógeno, e sua maturação ovarioilar completa ocorre após um ou mais repastos sanguíneos. É de se admitir que a autogenia seja uma estratégia adaptativa em áreas e épocas nas quais ocorre escassez de fontes sanguíneas (Forattini 2002). No entanto esta escassez não ocorre no litoral paranaense visto que, 10,35% foram encontradas ingurgitadas. A autogenia pode dificultar a estimativa da idade e reduz a eficiência de uma população vetora por atrasar o primeiro repasto sanguíneo potencialmente infectivo (Russel 1987a).

Foram encontradas 7,27% das fêmeas nulíparas além do estágio II de Christophers e Mer, evidenciando que o mosquito realiza mais de um repasto sanguíneo em um mesmo ciclo gonotrófico, em todos os períodos estudados. Das fêmeas dissecadas, 2,20% estavam com os ovários nas fases III, IV ou V e possuíam sangue de coloração vermelha no intestino médio, mais um fato indicativo da discordância gonotrófica das fêmeas de *Anopheles cruzii*. Isto já tinha sido evidenciado por Forattini *et al.* (1993a); Forattini *et al.* (1996); Dalla Bona & Navarro (2006). Este comportamento é importante porque incrementa a probabilidade da fêmea se infectar e transmitir agentes infecciosos de um hospedeiro para o outro (Fernandez & Forattini 2003).

A sobrevivência das fêmeas mais velhas de *Anopheles cruzii* foi maior que das fêmeas mais jovens, isso já havia sido descrito por Harrington *et al.* (2001) em estudos realizados em Porto Rico e Tailândia com *Aedes aegypti*. A probabilidade usualmente esperada para sobrevivência diária excede 60%, preferencialmente entre 80 a 90%, para que o mosquito possa ser incluído na categoria de vetor potencial. Considerando o período extrínseco do parasita para o *Plasmodium vivax* de oito dias segundo (Russel 1987 b), para uma população de 100.000 fêmeas no litoral do Estado do Paraná,

aproximadamente 5 fêmeas da população total (vespertina e matutina), 897 fêmeas da população vespertina e 6 fêmeas da população matutina sobrevivem o tempo necessário para se tornarem infectiva. O período vespertino possui um risco maior de transmissão que o matutino, de acordo com a população analisada.

Kakitani & Forattini (2000) utilizando a sobrevivência diária de acordo com o método de Vercruysse indicaram para as populações do complexo *Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis* Lynch-Arribáizaga, 1878 sobrevivência de aproximadamente 50%, sendo que menos de 1% da população sobrevive o período extrínseco do parasita.

A sobrevivência diária das fêmeas é parâmetro que deve ser analisado em conjunto com a densidade, antropofilia, período de incubação extrínseca, competência vetora em articulações com as variáveis ambientais. Pois, mesmo em populações dotadas de baixo nível de competência e densidade elevada, pode-se observar transmissão de agentes infecciosos (Miller *et al.* 1989).

A duração do ciclo gonotrófico em ambiente natural para a população total das fêmeas de *Anopheles cruzii* é de 0,89 dias, para o período crepuscular vespertino 0,48 dias e para o período crepuscular matutino 1,38 dias, de acordo com a equação proposta por Davidson (1954). Esta equação também foi utilizada por Kakitani & Forattini (2000), que encontraram em duas populações de *Anopheles albitarsis*, diferentes períodos de duração de ciclo gonotrófico, 1,99 dias e 2,04 dias.

Segundo observado por Chahad-Ehlers *et al.* (2007) em *Anopheles cruzii* a duração do ciclo gonotrófico é de 4.01 dias, menor que a duração observada por kakitani (1992) que foi de 6 a 7 dias. Comparando os resultados de duração do ciclo gonotrófico obtidos neste trabalho com os trabalhos de Chahad-Ehlers *et al.* (2007) e kakitani (1992), a duração do ciclo estimada pela equação de Davidson, subestima o tempo entre a alimentação sanguínea e oviposição de *Anopheles cruzii*, visto que o mosquito possui discordância gonotrófica.

No entanto, deve-se levar em consideração as diferenças entre observações de campo e laboratório na duração do ciclo gonotrófico depende de vários fatores. A temperatura, período não obrigatório de descanso antes de voltar a alimentar-se, distância do local de oviposição, facilidade de encontrar um local para oviposição, e também a facilidade no encontro do hospedeiro (Charlwood *et al.* 1980) são fatores que podem aumentar ou diminuir o tempo do ciclo a ser realizado.

## 6. CONCLUSÕES

### 6.1 Diversidade de Culicidae

As condições da área estão permitindo a manutenção de número elevado de culicídeos, pela oferta de criadouros e hospedeiros. Isso pode ser observado durante o período crepuscular que exerce influência determinante no comportamento apetente de muitas espécies de Culicidae, indicando o início ou final das suas atividades. Não foi encontrado correlações significativas entre a abundância das espécies e a média dos fatores abióticos, durante o período de investigação, provavelmente pela reduzida oscilação dos fatores climáticos analisados. A comparação de similaridade entre os crepúsculos apontou para elevada semelhança da composição específica, e na abundância, visto que o crepúsculo funciona como um estímulo para a atividade dos mosquitos. *Anopheles cruzii* atingiu dominância nos períodos crepusculares, sendo a diversidade de forma geral reduzida nestes períodos, segundo o índice utilizado.

### 6.2 Idade fisiológica, sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico de *Anopheles (Kerteszia) cruzii*

A atividade ininterrupta aliada à densidade e dominância de *Anopheles cruzii* permite inferir que a Floresta Estadual do Palmito oferece condições adequadas para ao desenvolvimento desta espécie. A duração do ciclo gonotrófico pode ter sido subestimada através da equação de Davidson, comparando com a literatura já descrita para *Anopheles cruzii*. A discordância gonotrófica e anautogenia são fatores que potencializam a transmissão do plasmódio, no entanto, a maioria da população de *Anopheles cruzii* é constituída de fêmeas jovens, sendo poucas as fêmeas que ultrapassam o período extrínseco de desenvolvimento do parasita tornando-se infectivas. No entanto a população vespertina possui um risco de transmissão maior que a matutina. Conclui-se então, que a transmissão do protozoário pelo *Anopheles cruzii*, nestas circunstâncias, só exerce papel epidemiológico se o vetor incidir em elevada densidade.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, A.P.G., S.S.S.G. Baptista, C.A.G.C.C. Sousa, M.T.L.M. Novo, H.C. Ramos, N.A. Panella, M. Godsey, M.J. Simões, M.L. Anselmo, N. Komar, C.J. Mitchell & H. Ribeiro. 2005. Bioecology and vectorial capacity of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Macao, China, in relation to dengue virus transmission. **Journal of Medical Entomology** **42**: 419-428.

Aragão, M.B. 1956 Aspectos climáticos do problema bromélia-malária. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais** **8**: 621-631.

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.

Barata, E.A.M.F., A.I.P. Costa, N. Chiaravalloti, C.M. Glasser, J.M.S. Barata & D. Natal. 2001. *Aedes aegypti* (L.) population in an endemic area of dengue in Southeast Brazil. **Revista de Saúde Pública** **35**: 237-242.

Barbosa, A.A., M.A.N. Silva, M.A.N. Navarro-Silva & M.A.M. Sallum. 2005. Description and revalidation of *Mansonia (Mansonia) fonsecai* (Pinto) (Diptera: Culicidae). **Zootaxa** **905**: 1-11.

Berger W.H. & F.L. Parker. 1970. Diversity of planktonic Foraminifera in deep sea sediments. **Science** **168**:1345-7.

Bertoli, M.& M.L.R. Moitinho. 2001. Malaria in the State of Paraná, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **34**: 43-47.

Birley, M.H. & P.K. Rajagopalan. 1981. Estimation of the survival and biting rates of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology** **18**: 181-186.

Bocato-Chamelet, E.L., T.L.M. Coimbra, E.S. Nassar, L.E. Pereira, I.B. Ferreira, L.T.M. Souza & A. Suzuki. 2001 Isolamento do flavivírus Iguape a partir de mosquitos *Anopheles(Kerteszia) cruzii* em Juquitiba – Estado de São Paulo – Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz** **60**:65-69.

Boeger, M.R.T. & C. Winiewiski. 2002. Estrutura e teores de nutrientes foliares de seis espécies arbóreas ao longo de um gradiente sucessional da planície litorânea do Estado do Paraná. **Ilheringia** **57**: 243-262.

Boeger, M.R.T. & C. Winiewiski. 2003. Comparison of leaf morphology of tree species from three distinct sucessional stages of tropical rain forest (Atlantic Forest) in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** **1**: 61-72.

Branquinho, M.S., M.T. Marelli, I. Curado, D. Natal, J.M.S. Barata, R. Tubaki, G.C. Carréri-Bruno, R.T. Menezes & J.K. Kloetzel. 1997. Infection of *Anopheles (Kerteszia) cruzii* with *Plasmodium vivax* and *Plasmodium vivax* variant VK247 in the municipalities of São Vicente and Juquitiba, São Paulo. **Revista Panamericana de Salud Pública 2**: 189-193

Carrano, E. 2006. **Composição e conservação da avifauna na Floresta Estadual do Palmito, município de Paranaguá, Paraná.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Paraná, 138p.

Carvalho-Pinto, C.J. & R. Lourenço de Oliveira. 2004. Isoenzimatic Analysis of four *Anopheles (Kerteszia) cruzii* populations of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 99**: 471-475.

Chahad-Ehler S., S., A.L. Lozovei & M.D. Marques. 2007. Reproductive and post-embryonic daily rhythm patterns of the malaria vector *Anopheles (Kerteszia) cruzii*: Aspects of the life cycle. **Chronobiology International 24**: 289-304.

Charlwood, J.D., J.A. Rafael & T.J. Wilkes. 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.

Consoli, R.A. & R. Lourenço-de-Oliveira. 1994. **Principais espécies de importância sanitária no Brasil.** Rio de Janeiro, FIOCRUZ, 225pp.

Correa, R.R. & G.R. Ramalho. 1956. Revisão de *Phoniomyia Theobaldi*, 1903 (Diptera, Culicidae, Sabethini). **Folia Clinica et Biologica 25**: 1-176.

Dalla Bona, A.C. & M.A. Navarro-Silva. 2006. *Anopheles cruzii* parity in dense rain Forest in Southern Brazil. **Revista de Saúde Pública 40**: 1118-1123.

Davidson, G. 1954. Estimation of the survival-rate of Anophelinae mosquitos in nature. **Nature 174**: 792-793.

Deane, L.M, J.A. Ferreira Neto & M.N. Lima. 1984. The vertical dispersion of *Anopheles (Kerteszia) cruzi* in a forest in southern Brazil suggests that human cases of malaria of simian origin might be expected **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 79**: 461-463.

Detinova, T.S. 1962. **Age-grading methods in Diptera of medical importance, with special reference to some vectors of malaria.** WHO Monographies Series. Geneva, 216 pp.

Diéguez, L., R. Rodríguez, E. Atienzar, O. Manso, P. Basalto & N. Góngora. 2002. Observaciones entomológicas en un brote de paludismo durante la etapa de vigilancia intensiva en Albaina, Camagüey. **Revista Cubana Medicina Tropical 54**: 118-126.

Felfili, J.M., M.C. Silva-Júnior, A.V. Rezende, J.W.B. Machado, B.M.T. Walter, P.E.N. Silva & J.D. Hay. 1993. Análise comparativa da florística e fitossociologia da vegetação arbórea do cerrado *sensu stricto* na Chapada Pratinha, DF-Brasil. **Acta Botânica Brasileira 6**: 27-47.

Fernandez, Z. & O.P. Forattini. 2003. Survival of *Aedes albopictus* in Brazil: physiological age and reproductive history. **Revista de Saúde Pública 37**: 285-91.

Ferreira, E., J. Castro Filho, A. Tomich & F.T. Sá. 1969a. Estudo da longevidade do *Anopheles (Kerteszia) cruzii* e do *Anopheles (Kerteszia) bellator* em condições naturais. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais 21**: 823-828.

----- 1969b. Estudo sobre o raio de vôo do *Anopheles (Kerteszia) cruzii* e do *Anopheles (Kerteszia) bellator* em Guaratuba, litoral do Estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais 21**: 819-822.

Forattini, O.P. 1962. **Entomologia Médica**. São Paulo, Faculdade de Higiene e Saúde Pública, Vol. 1, 662p.

Forattini, O.P. 1992. **Ecologia, Epidemia e Sociedade**. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo, 529p.

Forattini, O.P. 2002. **Culicidologia Médica**, vol.2. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 864p.

Forattini, O.P., O.S. Lopes & E.X. Rabello. 1968. Investigações sobre o comportamento de formas adultas de mosquitos silvestres no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública 2**: 111-173.

Forattini, O.P., A.C. Gomes, E.A.B. Galati, E.X.Rabello & L.B. Iversson. 1978. Ecological studies on Culicidae mosquitoes in the Serra do Mar Sistem, Brazil: 2 - Observations at the domiciliary environment. **Revista de Saúde Pública 12**: 476-496

Forattini, O.P., A.C. Alves, D. Natal & J.L.F. Santos. 1986. Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae em mata primitiva da encosta no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública 20**: 1-20.

Forattini, O.P., A.C. Gomes, J.L.F. Santos, I. Kakitani & D. Marucci. 1990. Freqüência ao ambiente humano e dispersão de mosquitos Culicidae em área adjacente à Mata Atlântica primitiva da planície. **Revista de Saúde Pública 24**: 101-107

Forattini, O.P., A.C. Gomes, I. Kakitani & D. Marucci. 1991. Observações sobre a domiciliação de mosquitos *Culex (Melanonoconion)*, em ambiente com acentuadas modificações antrópicas. **Revista de Saúde Pública 25**: 257-266.

Forattini, O.P., I. Kakitani, E. Massad & A.C. Gomes. 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**: 1-8.

Forattini, O. P., I. Kakitani, E. Massad, D. Marucci. 1993b Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment: 4 - Survey of resting adults and synanthropic behaviour in South-Eastern, Brazil. **Revista de Saúde Pública 27**: 398-411.

Forattini, O.P., I. Kakitani, E. Massad & D. Marucci. 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**: 107-114.

Forattini O.P., I. Kakitani, R.L.C. Santos, H.M. Ueno & K.M. Kobayashi. 1999. Role of *Anopheles (Kerteszia) bellator* as malaria vector in South-Eastern Brazil (Diptera: Culicidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 94**:715-718

Forattini, O.P., I. Kakitani, R.L.C. Santos, K.M. Kobayashi, H.M. Ueno & Z. Fernandez. 2000. Comportamento de *Aedes albopictus* e de *Aedes scapularis* adultos (Diptera: Culicidae) no Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública 34**: 461-467.

Forattini, O.P. 2002. **Culicidologia Médica**, vol.2. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 864p.

Fox, A.S. & R.A. Brust. 1994. How do dilatations form in mosquito ovarioles? **Parasitology Today 10**: 19-23.

Gomes, A.C. 2002. Vigilância da dengue: um enfoque vetorial. **Biológico 64**: 209-212.

Guimarães, A.E., C. Gentile, C.M. Lopes & R.P. Mello. 2000a. Ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. II- Habitat distribution. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 95**: 17-28.

Guimarães, A.E.; C. Gentile; C.M. Lopes & R. P. Mello. 2000b. Ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. III - daily biting rhythms and lunar cycle influence. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **95**: 753-760.

Harrington, L.C., J.P. Buonaccorsi, J.D. Edman, A. Costero, P. Kittayapong, G.G. Clark & T.W. Scott. 2001. Analysis of survival of young and old *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Puerto Rico and Thailand. **Journal of Medical Entomology** **38**:537-547.

Hoc, T.Q. 1995. Morpho-histological changes in the ovarioles and determination of physiological age haematophagous insects of medical importance. **Zoologica Poloniae** **40**: 5-65.

Hoc, T.Q. & J.D. Charlwood. 1990. Age determination of *Aedes cantans* using the ovarian oil injection technique. **Medical and Veterinary Entomology** **33**:290-296.

Hoeck, P.A.E., F.B. Ramberg, S.A. Merrill; C. Moll & H.H. Hagedorn. 2003. Population and parity levels of *Aedes aegypti* collect in Tucson. **Journal Vector Ecology** **28**: 1-9.

IAPAR – Instituto Agrônômico do Paraná. **Cartas climáticas do Paraná**. 2000. Disponível em: [http://200.201.27.14/Site/Sma/Cartas\\_Climaticas/Classificacao\\_Climatica.htm](http://200.201.27.14/Site/Sma/Cartas_Climaticas/Classificacao_Climatica.htm) [2008 março 17].

Jensen, T., D.A. Dritz, G.N. Fritz, R.K. Washino & W.C. Reeves. 1998. Lake Vera revisited: Parity and survival rates of *Anopheles punctipennis* at the site of a malaria outbreak in the Sierra Nevada foothills of California. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** **59**: 591-594.

Kakitani, I. 1992. **Observações preliminares sobre a paridade de *Anopheles (Kerteszia) cruzii***. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Kakitani, I. & O.P. Forattini. 2000. Parity and ovarian development of *Anopheles albitarsis* l.s. in irrigated agroecosystem field. **Revista de Saúde Pública** **34**:33-38.

Klowden, M.J. & R.C. Russell. 2004. Mating affects egg maturation in *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae). **Journal of Ecology** **29**: 135-139.

Koella, J.C. & M.C. Packer. 1996. Malaria parasites enhance blood-feeding of their naturally infected vector *Anopheles punctulatus*. **Parasitology** **113**: 105-109.

Lane, J. & L. Whitman. 1951. The subgenus “*Microculex*” in Brazil (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Biologia** **11**: 341-366.

Lane, J. 1953 a. **Neotropical Culicidae**. Editora da Universidade de São Paulo. Volume 1. 548p.

----- 1953 b. **Neotropical Culicidae**. Editora da Universidade de São Paulo. Volume 2. 564p.

Lord, C.C. & M. Baylis. 1999. Estimation of survival rates in haematophagous insects. **Medical and Veterinary Entomology** **13**: 225–233.

Lourenço-de-Oliveira, R. & T.F. Silva. 1985. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma área de planície (Granjas Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. Preferência horária das fêmeas para o hematofagismo. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **80**: 195-201.

Luz, E., J. Consolim, A.M. Vieira & A.M. Borba. 1979. Alguns aspectos epidemiológicos da persistência de transmissão de malária no litoral paranaense. Idade fisiológica de *Anopheles cruzii* (Diptera: Culicidae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia** **22** :63-88.

Maack, R. 1981. **Geografia física do estado do Paraná**. 2ª ed. Ed. José Olympio, Rio de Janeiro.442p.

Maple V release 4. **Algebraic computation program**. University of Waterloo, Waterloo, Canadá.

Marcondes, C.B. & U. Paterno. 2005. Preliminary evidence of association between species of mosquitos in Atlantic Forest of Santa Catarina State, (Diptera: Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **38**: 75-76.

Miller, B.R., T.P. Monath, W.J. Tabachnick & V.I. Ezike. 1989. Epidemic yellow fever caused by an incompetent mosquito vector. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology** **40**: 396-399.

Navarro, M.A., A.A. Barbosa & D. Calado. 2004. Atividade de *Mansonia* spp. (Mansoniini, Culicidae) em fragmento florestal. **Revista Brasileira de Zoologia** **21**: 243-247.

O'Meara, G.F. & D.G. Evans. 1977. Autogeny in saltmarsh mosquitoes induced by a substance from the male accessory gland. **Nature** **267**: 342-344.

Paterno, U. & C.B. Marcondes. 2004. Mosquitoes with morning biting activity in the Atlantic forest, Brazil (Diptera, Culicidae). **Revista de Saúde Pública** **38**: 133-135.

Ramazamy, M.S., K.A. Srikrishnaraj, N. Hadjirin, S. Perera & R. Ramasamy. 2000. Physiological aspects of multiple blood feeding in the malaria vector *Anopheles tessellatus*. **Journal of Insect Physiology** **46**: 151-1059.

Rebollar-Télez, E.A., M.A. Loroño-Pino, E.M. Rodríguez-Ângulo & J.A. Farfán-Ale. 1995. Blood-feeding frequency and life expectancy of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in an urban area of merida city, State of Yucatan, Mexico. **Revista Biomédica** **6**: 135-141.

Ree, H. & U. Hwang. 2000. Comparative study on longevity of *Anopheles sinensis* in malarious and non-malarious areas in Korea. **The Korean Journal of Parasitology** **38**: 263-266.

Reiter, P. 2007. Oviposition, dispersal and survival in *Aedes aegypti*: Implications for the efficacy of control strategies. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases** **7**: 261-273.

Roderjan, C.V., F. Galvão, Y.S. Kuniyoshi & G.G. Hatcshbach. 2002. As unidades fitogeográficas do estado do Paraná. **Ciência e Ambiente** **24**: 75-92.

Rotta, E., M.R.T. Boeger & L. Grodzki 1997. Levantamento florístico de um trecho de Floresta Ombrófila Densa das Baixas no Parque Estadual do Palmito, Paranaguá, Paraná. **Arquivos de Biologia e Tecnologia** **40**: 849-861.

Russel, R.C. 1987a. Age composition and overwintering of *Culex annulirostris* Skuse (Diptera: Culicidae) near Deniliquin, in the Murray Valley of new South Wales. **Journal of the Australian Entomological Society** **26**: 93-96.

-----1987b. Seasonal abundance, longevity and population age composition of potential malaria vectors in Northern and Southern Australia. **Australian Journal of Zoology**: 289-306.

Sallum, M.A.M., R.C. Wilkerson & O.P. Forattini. 1999. Taxonomic Study of Species Formerly Identified as *Anopheles mediopunctatus* and Resurrection of *An. costui* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology** **36**: 282-300.

Sallum, M.A.M., T.R. Schultz, P.G. Foster, K. Aronstein, R.A. Wirtz & R.C. Wilkerson. 2002. Phylogeny of Anophelinae (Diptera; Culicidae) based on nuclear ribosomal and mitochondrial DNA sequences. **Systematic Entomology** **27**: 361-382.

Sant'ana, A.L. & A.L. Lozovei. 2001. Influência do ciclo lunar na captura de *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) na Mata Atlântica do Paraná. **Ilheringia** **90**: 175-182.

- Santos, R.L.C. & O.P. Forattini. 1999. Marcação-soltura-recaptura para determinar o tamanho da população natural de *Anopheles albitarsis* l.s. (Díptera: Culicidae). **Revista de Saúde Pública** **33**: 309-313.
- Santos, R.L.C., O.P. Forattini & M.N. Burattini. 2002. Laboratory and field observations on duration of gonotrophic cycle of *Anopheles albitarsis* l. s. (Diptera: Culicidae). **Revista de Saúde Pública** **33**: 309-13.
- Service, M.W. 1993. **Mosquito Ecology: Field Sampling Methods**. London: Chapman Hall. 988p.
- Simões, C.G. & M.C.M. Marques. 2007. The role sprouts in the restoration of Atlantic Rainforest in Southern Brazil. **Restoration Ecology** **15**: 53-59.
- StaSoft. 1994 **Statistica [computer program], version 4.5**. Statsoft, Tulsa, OK.
- Suwabe, K. & A. Moribayashi. 2000. Lipid utilization for ovarian development in an autogenous mosquito, *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology** **37**: 726-730.
- Tabarelli, M., L.P. Pinto, J.M.C. Silva, M.M. Hirota & L.C. Bedê. 2005. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na mata Atlântica. **Megadiversidade** **1**: 132-138.
- Telles de Deus, J., I. Kakitani. 2006. Parity of *Ochlerotatus scapularis* in laboratory and field conditions. **Revista de Saúde Pública** **40**: 505-512.
- Tyndale-Biscoe, M.1984. Age-grading methods in adult insects; a review. **Bulletin of Entomological Research** **74**: 341-377.
- Ueno, H.M., O.P. Forattini, I. Kakitani. 2007. Vertical and seasonal distribution of *Anopheles (Kerteszia)* in Ilha Comprida, Southeastern Brazil. **Revista de Saúde Pública** **41**: 269-275.
- Ulloa, A., L.González-Cerón & M.H. Rodríguez. 2006. Host selection and gonotrophic cycle length of *Anopheles punctimacula* in Southern Mexico. **Journal of the American Mosquito Control Association** **22**: 648-653.
- Veloso, H.P., J.V. Moura & R.M. Klein. 1956. Delimitação ecológica dos anofelíneos do subgênero *Kerteszia* na região costeira do sul do Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **54**: 517-549.
- Vercruyssen, J. 1985. Estimation of the survival rate of *Anopheles arabiensis* in an urban area (Pikine-Senegal). **Journal of Animal Ecology** **54**: 343-350.

Volpato, G.H. & L. dos Anjos. 2001. Análises das estratégias de forrageamento das aves que se alimentam no solo na universidade estadual de Londrina, Estado do Paraná. **Ararajuba 9**: 95-99.

Wilkerson, R.C. & E.L. Peyton. 1991. The brazilian malaria vector *Anopheles (Kerteszia) cruzii*: Life stages and biology (Diptera: Culicidae). **Mosquitoes Systematics 23**: 110-122.

Wisniewski, C. 1997. **Caracterização do ecossistema e estudo das relações solo-cobertura vegetal em planície pleistocênica do litoral paranaense**. Curitiba. 47p. Relatório final. Não Publicado

Zhou, G., E.P. James & M.A. Wells. 2004. Utilization of pre-existing energy stores of female *Aedes aegypti* mosquitoes during the first gonotrophic cycle. **Insect Biochemistry Molecular and Biology 34**: 919-925.

## 8. ANEXOS

### 8.1 Cálculos da sobrevivência diária e duração do ciclo gonotrófico para população total

Sobrevivência diária ( $p$ ) foi o de Vercruysse (1985) que separa a população de fêmeas em três grupos distintos:

$$(a) NP1: 213$$

$$(b) NP2: 33$$

$$(c) P: 63$$

Em seguida foi feita a proporção de cada grupo examinado:

$$(d) n_1 = NP1/NP1+NP2+P:$$

$$213/ 213+33+63= 213/309= 0,69$$

$$(e) n_2 = NP2/NP1+NP2+P:$$

$$33/ 213+33+63= 33/309= 0,11$$

$$(f) n_3 = P/NP1+NP2+P:$$

$$63/ 213+33+63= 63/309=0,20$$

$$\text{Então: } n_1 + n_2 + n_3 = 1$$

$$0,69+0,11+0,20=1$$

Foi estimada a sobrevivência diária para cada grupo:

$$(g) E (n_1) = 1-p^2/1-p^2+p \Rightarrow (1-n_1) p^2+n_1p - (1-n_1) = 0$$

$$\Rightarrow (1- 0,69) p^2+0,69p - (1-0,69) = 0$$

$$\Rightarrow 0,31 p^2+0,69p - 0,31 = 0$$

Raízes da equação foram obtidas através do site:

<http://pessoal.sercomtel.com.br/matematica/medio/polinom/raizes2g.htm>

$$p' = 0,3832$$

$$p'' = -26090$$

$$\begin{aligned}
 \text{(h) } E(n_2) &= p(1-p^2)/1-p^2+p \Rightarrow p^3 - n_2 p^2 + p(n_2-1) + n_2 = 0 \\
 &\Rightarrow p^3 - 0,11p^2 + p(0,11-1) + 0,11 = 0 \\
 &\Rightarrow p^3 - 0,11p^2 - 0,89p + 0,11 = 0
 \end{aligned}$$

Raízes da equação foram obtidas através do site:

<http://pessoal.sercomtel.com.br/matematica/medio/polinom/raizes3g.htm>

$$p' = 0,9355$$

$$p'' = -0,9494$$

$$p''' = 0,1238$$

$$\begin{aligned}
 \text{(i) } E(n_3) &= p^3/1-p^2+p \Rightarrow p^3 + n_3 p^2 - n_3 p - n_3 = 0 \\
 &\Rightarrow p^3 + 0,20p^2 - 0,20p - 0,20 = 0
 \end{aligned}$$

Raízes da equação foram obtidas através do site:

<http://pessoal.sercomtel.com.br/matematica/medio/polinom/raizes3g.htm>

$$p' = 0,6272$$

$$p'' = -0,4113$$

$$p''' = 0,4113$$

Os valores escolhidos da sobrevivência diária para cada grupo foram aqueles positivos que minimizam a função:

$$NP1: p' = 0,3832$$

$$NP2: p''' = 0,1238$$

$$P: p' = 0,6272$$

A melhor estimativa de  $p$  para a população é o valor que minimiza a soma dos quadrados:

$$(j) \sum_{i=1} [n_i - E_{(n_i)}]^2 = 0$$

$$\left[ \frac{n_1 - (1-p^2)}{1+p-p^2} \right]^2 + \left[ \frac{n_2 - p(1-p^2)}{1+p-p^2} \right]^2 + \left[ \frac{n_3 - p^3}{1+p-p^2} \right]^2 = 0$$

$$\left[ \frac{0,69 - (1-p^2)}{1+p-p^2} \right]^2 + \left[ \frac{0,11 - p(1-p^2)}{1+p-p^2} \right]^2 + \left[ \frac{0,20 - p^3}{1+p-p^2} \right]^2 = 0$$

Foi calculado o mínimo múltiplo comum (mmc) para cada uma das soma dos quadrados.

$$\left( \frac{0,31p^2 + 0,69p - 0,31}{1+p-p^2} \right) \left( \frac{0,31p^2 + 0,69p - 0,31}{1+p-p^2} \right) + \left( \frac{p^3 - 0,11p^2 - 0,89p + 0,11}{1+p-p^2} \right) \left( \frac{p^3 - 0,11p^2 - 0,89p + 0,11}{1+p-p^2} \right) + \left( \frac{p^3 + 0,20p^2 - 0,20p - 0,20}{1+p-p^2} \right) \left( \frac{p^3 + 0,20p^2 - 0,20p - 0,20}{1+p-p^2} \right) = 0$$

$$\frac{0,0961p^4 + 0,4278p^3 + 0,4761p^2 - 0,4278p + 0,961}{p^4 - 2p^3 - p^2 + 2p + 1} + \frac{p^6 - 0,22p^5 - 1,7679p^4 + 0,4158p^3 + 0,7679p^2 - 0,1958p + 0,0121}{p^4 - 2p^3 - p^2 + 2p + 1} + \frac{p^6 + 0,4p^5 - 0,36p^4 - 0,48p^3 - 0,04p^2 + 0,08p + 0,04}{p^4 - 2p^3 - p^2 + 2p + 1} = 0$$

$$\frac{2p^6 + 0,18p^5 - 2,0318p^4 - 0,3636p^3 - 1,204p^2 + 0,5436p + 1,0131}{p^4 - 2p^3 - p^2 + 2p + 1} = 0$$

Para achar a raiz real da equação utilizou-se o programa matemático Maple V release 4. A raiz real encontrada foi de 0,2365.

O cálculo do erro padrão foi feito através da equação:

$$(k) S.E.p.^2 = \sum_{i=1}^3 [n_i - E_{(n_i)}]^2 / \text{Total de mosquitos capturados}$$

$$S.E.p.^2 = 0,2365 / 309 = 0,0007653$$

$$S.E.p = 0,027664$$

A duração do ciclo gonotrófico foi estimada segundo a equação de Davidson (1954); Kakitani & Forattini (2000):

$$(I) \quad \ln s = \frac{1}{\frac{g. \ln \text{fêmeas oníparas}}{\text{total}}}$$

$$\ln 0,2365 = \frac{1}{\frac{g. \ln 63}{309}} \qquad -1,44 = \frac{1}{g. -1,61}$$