

ANA CAROLINE DALLA BONA

**Desenvolvimento ovariano, paridade e influência sazonal  
em coletas de *Anopheles (Kerteszia) cruzii* Dyar & Knab, 1908  
na Planície Litorânea do Estado do Paraná.**

Monografia apresentada como requisito parcial  
à conclusão da modalidade Bacharelado do  
Curso de Ciências Biológicas da Universidade  
Federal do Paraná Setor de Ciências  
Biológicas Departamento de Zoologia.

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

CURITIBA

2005

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Mário A. Navarro da Silva, pela orientação e constante incentivo.

A Dra. Iná Kakitani – Departamento de Epidemiologia – Faculdade de Saúde Pública- Universidade de São Paulo, pelo auxílio com a técnica de dissecação.

Aos colegas do Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária, pela troca de experiências.

Ao Instituto Ambiental do Paraná – IAP, por permitir as coletas na Floresta Estadual do Palmito.

Aos meus pais pelo apoio sempre presentes.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
RESUMO.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS GERAIS.....	16
2.1 Objetivos Específicos.....	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1 Área de estudo.....	17
3.2 Procedimentos em campo.....	19
3.3 Procedimentos em laboratório.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
5. CONCLUSÃO.....	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela I.</b> Surtos de malária ocorridos na Região Não Amazônica, 1999 a 2004.....	7
<b>Tabela II.</b> Média e desvio padrão da temperatura e umidade por estação do ano, monitoradas entre abril/04 a abril/05, na Floresta Estadual do Palmito, município de Paranaguá.....	23
<b>Tabela III.</b> Média estacional e desvio padrão de Culicidae capturados na Floresta Estadual do Palmito, no período matutino entre abril/04 até abril/05, com auxílio da técnica pouso homem.....	25
<b>Tabela IV.</b> Média percentual sazonal de <i>Anopheles</i> spp capturados Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná), no período matutino entre abril de 2004 e abril de 2005.....	26
<b>Tabela V.</b> Média percentual da paridade das fêmeas de <i>An. cruzii</i> dissecadas reunindo os critérios preconizados por Christophers e Mer, e Polovodova.....	31
<b>Tabela VI.</b> Paridade das fêmeas de <i>An. cruzii</i> dissecadas reunindo os critérios preconizados por Christophers e Mer, e Polovodova.....	32

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ovários da fêmea de <i>An. cruzii</i> .....	21
<b>Figura 2.</b> Observação das terminações traqueolares segundo a técnica de Detinova.....	22
<b>Figura 3.</b> Observação do pedicelo ovarioelar segundo a técnica de Polovodova.....	22
<b>Figura 4.</b> Comparação porcentual entre Anophelinae e Culicinae, capturados com o auxílio da técnica pouso homem na Floresta Estadual do Palmito durante o período matutino (Paranaguá, Paraná), entre os meses de abril 2004 a abril de 2005.....	24
<b>Figura 5.</b> Média porcentual de <i>An. cruzii</i> capturados por estação, na área da Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná), no período matutino entre abril de 2004 e abril de 2005.....	26
<b>Figura 6.</b> Média porcentual <i>An. bellator</i> capturados por estação, na área da Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná) no período matutino entre abril de 2004 e abril de 2005.....	27
<b>Figura 7.</b> Comparação entre o número de <i>An. cruzii</i> capturados e dissecados, por estação, durante o período matutino de abril de 2004 a abril de 2005, na área da Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná).....	28
<b>Figura 8.</b> Média porcentual por estação, da paridade das fêmeas de <i>An. cruzii</i> dissecadas segundo a técnica de Detinova, a partir de exemplares capturados na área da Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná).....	29
<b>Figura 9.</b> Porcentagem da paridade das fêmeas de <i>An. cruzii</i> dissecadas segundo a técnica de Polovodova a partir de exemplares capturados na área da Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná).....	30
<b>Figura 10.</b> Estádio de desenvolvimento folicular segundo Christophers e Mer das fêmeas de <i>An. cruzii</i> capturadas na Floresta Estadual do Palmito, município de Paranaguá.....	30

## RESUMO

As espécies de *Kerteszia* possuem grande interesse em saúde pública, pois desempenharam relevante papel na veiculação do *Plasmodium* causador da malária na região do Sudeste e Sul do Brasil no período de 1940 a 1960. Estes anofelíneos utilizam-se de bromélias como criadouros naturais, representadas em número elevado na Floresta de Mata Atlântica. Estimar a idade fisiológica desses vetores é de fundamental importância, pois revela a frequência de contato do vetor com o hospedeiro e fornece a estimativa para a aquisição e transmissão do parasita. A presente investigação possui como objetivo principal determinar a paridade, o desenvolvimento ovariano e a média estacional das populações de *Anopheles (Kerteszia) cruzii*, buscando fornecer subsídios para estimar a potencialidade vetora, passível de ser utilizada para orientação da vigilância epidemiológica. O estudo foi desenvolvido no Parque Estadual do Palmito localizado na Planície Litorânea do Estado do Paraná, município de Paranaguá, área portuária de importância econômica e também, associada ao risco de entrada de novos agravos a saúde humana. Esta floresta possui como uma de suas características sub-bosque repleto de bromélias. Os mosquitos foram coletados com frequência quinzenal, no período matutino, entre abril de 2004 a abril 2005, utilizando a técnica pouso homem durante noventa minutos por dois capturadores, munidos de aspiradores elétricos manuais com frasco coletor. No laboratório as fêmeas de *An. cruzii* foram dissecadas, utilizando-se da técnica de Polovodova, a avaliação dos estádios foliculares segundo Christophers e Mer, e as observações das traquéolas de acordo com Detinova. Do total de dezessete coletas, foram capturados 1530 culicídeos, destes 32% eram anofelíneos. Em todas as estações a predominância foi de *An. cruzii*, mas a maior média percentual desta espécie foi na primavera e verão representando 81% dos exemplares capturados. Foi possível a análise dos ovários de 208 fêmeas, sendo que destas a maioria eram nulíparas em toda as estações, ou seja, nunca tinham ovipositado, mostrando que pode estar ocorrendo uma produção em escala contínua de mosquitos, ou predominância de fêmeas jovens, no horário estabelecido para captura. Aproximadamente 44% das fêmeas eram nulíparas com folículos nos estádios I e II de Christophers e Mer, indicando esta ser a primeira tentativa hematófaga do mosquito para dar continuidade a maturação dos seus ovos. Foram encontradas 14,4% das fêmeas nulíparas além do estágio II de Christophers e Mer, tentando realizar a hematofagia pela segunda vez dentro de um mesmo ciclo, fato que permite levantar a provável existência da discordância gonotrófica e também evidencia o exercício de hematofagia previamente a primeira oviposição. Esta observação é importante do ponto de vista epidemiológico, considerando que a fêmea pode procurar mais de um hospedeiro para completar o ciclo gonotrófico.

**Palavras-chave:** Paridade, Desenvolvimento ovariano, *Anopheles (Kerteszia) cruzii*.

## 1. INTRODUÇÃO

Os dípteros constituem uma das maiores ordens de insetos e seus representantes abundam em indivíduos e espécies em quase todos os habitats. Possuem metamorfose completa, isto é são holometábolos, passando de ovo para as fases de larva e pupa, e finalmente o inseto adulto.

A maioria dos Diptera distingue-se prontamente dos outros insetos alados por possuir somente um par de asas, correspondente ao par anterior, e o par posterior modificado em pequenas estruturas clavadas denominadas halteres, que funcionam como órgãos de equilíbrio.

A ordem Diptera pode ser dividida em duas subordens: Nematocera e Brachycera. A subordem Nematocera engloba os dípteros que possuem antenas com mais de seis segmentos livremente articulados, como os mosquitos da família Culicidae (FORATTINI, 2002).

Dentre os insetos de importância na área médica, certamente a família Culicidae são os que mais atraem a atenção da saúde pública, pois estão envolvidos na transmissão de múltiplos agentes que determinam agravos a saúde do homem e de animais domésticos.

Atualmente conhece-se cerca de 3,5 milhões de espécies de culicídeos distribuídas por todo o mundo, com exceção de regiões permanentemente congeladas (FORATTINI, 2002).

Os mosquitos estão agrupados em duas subfamílias: Culicinae e Anophelinae (HARBACH & KITCHING, 1998). A última subfamília citada é composta por três gêneros: *Anopheles*, *Chagasia* e *Bironella*, este existente apenas na região australiana (LOURENÇO-DE-OLIVEIRA & CONSOLI, 1994). O gênero *Anopheles* 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.*, 2001). O último subgênero citado, é representado pela espécie *Anopheles gambiae* Giles, 1902, trata-se de um mosquito africano de enorme importância epidemiológica (LOURENÇO-DE-OLIVEIRA & CONSOLI, 1994).

Os mosquitos do gênero *Anopheles* são encontrados em todas as regiões biogeográficas especialmente nas zonas tropicais. No Brasil existem cinco espécies do gênero *Anopheles* consideradas como vetores do agente etiológico da malária, de grande importância médica: *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi* Root, 1926; *Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis* Lynch Arribalzaga, 1878; *Anopheles (Nyssorhynchus) aquasalis* Curry, 1932; *Anopheles (Kerteszia) cruzii* Dyar & Knab, 1908; *Anopheles (Kerteszia) bellator* Dyar & Knab, 1906.

O principal vetor do agente etiológico da malária no Brasil é o *An. darlingi* encontrado em áreas secas do Nordeste e abaixo da foz do rio Iguaçu, no extremo Sul.

A espécie *An. cruzii* destaca-se na região Sul e Sudeste do Brasil, é restrita ao litoral brasileiro, do Rio Grande do Sul até os estados nordestinos, sendo originada da Mata Atlântica e das Matas de Galerias do Sul, com formações ricas em bromeliáceas (LOURENÇO-DE-OLIVEIRA & CONSOLI, 1994). *An. bellator*, é assinalado na região do Continente sul-americano, entre a ilha de Trinidad e Tobago e extremo oriental da Venezuela. Estendendo-se, a partir daí, pela região costeira até o Sul do Brasil. E o *Anopheles (Kerteszia) homunculus* Komp, 1937, tem sido assinalado nos Estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo (FORATTINI, 2002).

Os mosquitos do subgênero *Kerteszia* são caracteristicamente bastante delicados, com pernas listradas de preto e branco em anéis e escudo dotado de quatro faixas longitudinais escuras. O inseto adulto descansa com o corpo formando ângulo reto à superfície de repouso, sendo um comportamento bem característico para este subgênero. A espécie *An. cruzii*, objeto deste trabalho, difere das demais espécies do subgênero, por apresentar tegumento avermelhado e os segmentos tarsais posteriores possuindo a seguinte marcação; o artigo I escuro com área clara longitudinal e as extremidades brancas; o II, III, IV com, pelo menos, a metade basal negra e a distal branca; o V apresentando a porção distal branca (FORATTINI, 1962).

Porém esta diferenciação nem sempre é fácil tendo em vista que o *An. cruzii* assemelha-se muito em termos morfológicos ao *An. homunculus*. Em um trabalho realizado por ROSA - FREITAS *et al.* (1998) levantou-se a hipótese de que estas espécies seriam crípticas e, portanto participariam de um complexo.



Além disso, as formas adultas (fêmeas) de *An. cruzii* também se assemelham muito a espécie *Anopheles laneanus* Corrêa & Cerqueira, 1944 e a distinção entre estas espécies é feita através da genitália masculina (FORATTINI, 1962).

As fases de larva e pupa dos *Kerteszia* apresentam como criadouro, a água acumulada entre as folhas de vegetais conhecidos como bromélias ou gravatás, pertencentes à família *Bromeliaceae*, com exceção de *Anopheles bambusilocus* Komp, 1937 que utiliza internódios de bambus como local de oviposição.

Os imaturos de *An. cruzii* são encontrados em bromeliáceas de diversas capacidades de armazenamento de água, tendo preferência por locais sombreados (VELOSO *et al.*, 1956). O número de formas imaturas por criadouro é pequeno, em média, da ordem de pouco mais de quatro por lote de dez bromélias (FORATTINI *et al.*, 1961).

A densidade populacional dos anofelíneos está intimamente relacionada com a abundância de gravatás, por isso compreende-se que a presença de formas imaturas desses culicídeos tenha de ser estimada de forma relativa ao número de bromélias existentes na área pesquisada.

É fato conhecido, o grande número de materiais descartados pela atividade antrópica, que em condições de reter água pode fornecer condições para abrigar estágios imaturos de diferentes espécies de mosquitos, principalmente espécies com elevada sinantropia. Um achado não comum foi apresentado por LUZ *et al.* (1987), a presença de imaturos de *An. cruzii* em vaso de barro em Paranaguá, município do litoral do Paraná, com histórico pretérito de ocorrência de malária autóctone. FORATTINI *et al.* (2000), também acharam em recipientes artificiais formas imaturas de *An. bellator*. Como estes encontros para estas espécies foram até o momento únicos, podemos considerar como uma situação acidental, para espécies consideradas como possuindo reduzida sinantropia, porém não podemos descartar a possibilidade de utilização de criadouros de origem antrópica.

Os ovos de *Anopheles* medem cerca de 0,5 mm de comprimento e são dotados de flutuadores nas laterais que lhes permitem que permaneçam na superfície da água. Uma fêmea de *An. cruzii* pode por em média 31,15 ovos em cada postura, sob condições de laboratório (KAKITANI, 1992). Já uma fêmea de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), põe em média cerca de 300 ovos por ciclo, em ambiente natural, este número podendo oscilar conforme a idade do mosquito (AZEVEDO, 2004).

Na falta de condições adequadas para oviposição ou mesmo espontaneamente a fêmea pode reter seus ovos por muitos dias. No entanto, em fêmeas de *Aedes aegypti* foi observado que a fertilidade desses ovos retidos por mais de 15 dias pode declinar rapidamente (CHRISTOPHERS, 1960).

A duração do ciclo de desenvolvimento do ovo ao adulto varia dependendo das condições ambientais e da espécie. Em *An. darlingi* sob condições de laboratório tem duração de 12,9 dias entre o primeiro estágio e a emergência do adulto, segundo BERGO *et al.* (1990). Já em *An. cruzii* também em condições de laboratório foi observado que a duração do ovo ao adulto é de aproximadamente 35 dias (WILKERSON & PEYTON, 1991).

A sobrevivência do adulto para as diversas espécies de anofelíneos no ambiente natural pode variar de acordo com as condições de temperatura e umidade. Em fêmeas de *An. cruzii*, o período de sobrevivência observado, em condições naturais foi de 35 a 56 dias (FERREIRA *et al.*, 1969 a, b). Já as fêmeas de *Aedes aegypti*, a duração de vida foi de aproximadamente 200 dias, segundo CHRISTOPHERS (1960).

O tempo de vida de mosquitos transmissores dos parasitas causadores de doenças e sua densidade são fatores importantes do ponto de vista epidemiológico.

A densidade populacional dos anofelíneos *Kerteszia* aumenta, com relação ao período anual, por ocasião de épocas chuvosas e de elevadas temperaturas devido as suas peculiaridades biológicas (FORATTINI, 2002; FORATTINI *et al.*, 1996; GUIMARÃES *et al.*, 2000).

O *An. cruzii* é encontrado picando tanto de dia como a noite, mas com forte aumento de atividade hematofágica no crepúsculo matutino e vespertino, ataca indiscriminadamente o homem, outros mamíferos e aves (LOURENÇO-DE-OLIVEIRA & CONSOLI, 1994).

Em seguida ao crepúsculo matutino, os *Kerteszia* tornam-se mais ativos nas copas das árvores da floresta e ao anoitecer, com a inversão microclimática entre as matas e as zonas abertas, passam a predominar nessas últimas, se aproximando das residências (ARAGÃO, 1974).

É conhecido o comportamento de anofelíneos *Kerteszia* em relação ao ambiente domiciliar. As fêmeas adultas freqüentam as habitações à procura de fontes para a hematofagia. No entanto, tendem a manter o hábito silvestre e voltam ao ambiente natural, em seguida à realização do repasto sangüíneo (FORATTINI *et al.*, 1990; GUIMARÃES *et al.*, 2000). Quando este anofelíneo tem que se deslocar para fora das matas para se alimentar de sangue, o faz principalmente ao crepúsculo (LOURENÇO-DE-OLIVEIRA & CONSOLI, 1994).

A freqüência de *An. cruzii* ao domicílio está diretamente relacionada com a proximidade do mesmo ao ambiente silvestre. Anofelíneos que costumam penetrar nas habitações humanas participam mais ativamente na transmissão do *Plasmodium* Marchiafava & Celli, 1885 causador da malária do que as espécies que permanecem no peridomicílio. Como é o caso do *An. darlingi* que é o vetor mais freqüente dentro do domicílio, sendo o principal vetor da malária no Brasil (KLEIN *et al.*, 1990).

Outro fato relevante é conhecer o alcance de vôo de mosquitos vetores de patógenos, grande capacidade de deslocamento pode resultar em maior potencial de dispersão, alcançando assim um maior território, disseminando mais facilmente o agente determinante do agravo a saúde humana ou de animais.

Em observações realizadas em Cananéia, Estado de São Paulo CORRÊA *et al.* (1961), comprovaram a travessia de pelo menos 1000 metros a partir do ponto de soltura das espécies *An. cruzii* e *An. bellator*. Já o raio de vôo do *An. darlingi* é de aproximadamente 2.000 metros, chegando a 5.000 metros a favor do vento (TADEI *et al.*, 1988).

Como já citamos acima vários são os fatores determinantes para a proliferação de insetos vetores relacionados com doenças tropicais como a malária.

Na atualidade um dos mais graves problemas de saúde pública mundial é a malária humana, uma das doenças tropicais que permanece como a mais prevalente doença endêmica do mundo.

A malária ou maleita é uma doença infecciosa, causada por protozoários do gênero *Plasmodium*. As espécies de plasmódios encontradas no Brasil, que afetam o ser humano são: *Plasmodium malariae* Laveram, 1881, *Plasmodium vivax* Grassi e Feletti, 1890, *Plasmodium falciparum* Wech, 1897. Esta doença é transmitida de uma pessoa para outra, através da picada de um mosquito do gênero *Anopheles* ou por transfusão de sangue infectado com plasmódios.

O *An. cruzii* além de transmitir a malária humana também é o vetor do *Plasmodium simium* Fonseca, 1951 e *Plasmodium brasilianum* Gonder & Berenberg-Gossler, 1908 que atinge outros primatas.

Em um trabalho realizado por BRANQUINHO *et al.* (1997) em área de Mata Atlântica, obteve-se índice de infecção dos anofelíneos aparentemente baixos, porém suficientes para três funcionários da SUCEN contraírem malária durante a execução de três coletas realizadas em Pai Mathias e Engenheiro Ferraz no Estado de São Paulo.

No Brasil, em 1999, foram registrados mais de 600 mil casos de malária, constituindo um sério obstáculo ao desenvolvimento sócio econômico da região Norte dados obtidos do (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

A incidência parasitária anual da malária (IPA) na Amazônia em 2004 foi de 19,9 casos/1.000 habitantes, prejudicando o nível de saúde da população, além de reduzir os esforços das pessoas para melhorarem suas condições de vida (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

O grande fluxo migratório da Região Amazônica para outros estados brasileiros, com potencial malarígeno, tem levado, nos últimos anos, ao surgimento de surtos de malária, como registrados recentemente no Paraná, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Ceará, Minas Gerais e Bahia (**Tabela I**) dados fornecidos pelo MINISTÉRIO DA SAÚDE (2005).

Esse quadro é preocupante uma vez que toda a região não Amazônica é receptiva para a transmissão da malária e os serviços de vigilância em saúde de alguns municípios são carentes de estrutura adequada para enfrentamento do problema.

**Tabela I.** Surtos de malária ocorridos na Região Não Amazônica, 1999 a 2004.

<b>Estados</b>	<b>1999</b>	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004*</b>
Piauí	3	29	13	9	38	89
Ceará	0	2	0	402	4	29
Bahia	0	1	72	14	71	3
<b>Paraná</b>	<b>47</b>	<b>16</b>	<b>27</b>	<b>106</b>	<b>5</b>	<b>42</b>
Mato Grosso do Sul	0	0	133	38	0	12
Minas Gerais	0	0	2	1	31	13
Espírito Santo	13	5	14	0	0	81
Goiás	2	24	0	5	0	13
Rio de Janeiro	1	0	0	1	19	8
São Paulo	0	3	0	4	20	11
Pernambuco	0	0	0	0	0	19
<b>Total</b>	<b>66</b>	<b>80</b>	<b>261</b>	<b>580</b>	<b>188</b>	<b>320</b>

\*Dados sujeito à revisão

Fonte: MINISTÉRIO DA SAÚDE (2005).

Várias áreas estão sujeitas à importação de casos de malária da região Norte, incluem-se nestas áreas de risco o Estado do Paraná, principalmente Foz do Iguaçu, que pode importar casos do Paraguai, onde não ocorre o controle rigoroso contra a malária. A partir da década de 1960, o controle de malária no Paraná foi consolidado, no entanto o potencial malarígeno é mantido pela presença de anofelíneos.

O Estado de Paraná nas décadas de 1940 e 1950 teve ocorrência de malária endêmica, registrada por RACHOU (1958). A partir da década de 1940 foram produzidos trabalhos voltados para resolução do problema específico da malária que afligia principalmente a população do litoral do Estado do Paraná. Em 1944 a incidência de malária no litoral paranaense assumia graves proporções, atingindo 45,4 % da população (LUZ *et al.*, 1979).

Um dos primeiros relatos de estudo voltados para aquele problema confirmou a responsabilidade epidemiológica na transmissão da malária a duas espécies de anofelíneos *An. cruzii* e *An. bellator*, encontrando oocistos na dissecação desses anofelíneos (AMARAL, 1942).

Ainda em relação a essas duas espécies, houve a transmissão de malária em cinco municípios do litoral paranaense: Guaratuba, Paranaguá, Morretes, Antonina e Guaraqueçaba (RACHOU & GABERLINI JÚNIOR, 1950).

Pode-se destacar ainda, entre os trabalhos realizados no litoral paranaense envolvendo espécies incriminadas como vetoras do *Plasmodium*, o serviço rotineiro de capturas em trens e ônibus que chegavam ao Município de Paranaguá, concluindo que estes meios de transporte atuam na dispersão passiva de *An. cruzii* e *An. bellator* (RACHOU *et al.*, 1949).

#### BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Em 1948, com o advento do DDT foi possível proteger todas as habitações da região malarígena litorânea, somado com a retirada manual de bromélias em núcleos populosos. Com essas medidas profiláticas ocorreu uma queda espetacular na incidência da parasitose (FERREIRA, 2003).

O DDT foi em determinado ponto a solução do problema, pois era considerada a panacéia para o problema dos vetores e pragas agrícolas, porém ao longo do tempo foram revelados seus efeitos nocivos sobre o ambiente e organismos vivos, além de detecção de resistência ao produto, sendo necessário então a utilização de doses cada vez maiores, até o seu banimento do mercado.

Desta forma, decorridos mais de trinta anos do último registro de malária autóctone no litoral paranaense, e o crescimento de áreas de preservação florestal, torna-se estratégico em decorrência da atividade humana que está ocorrendo na região litorânea do Paraná, levar a efeito nova série de observações, sobre os aspectos bioecológicos do vetor, fortalecendo as estruturas de vigilância epidemiológica e ambiental nos Estados e municípios. Já que o risco de reintrodução da malária em regiões extra amazônica brasileira é permanente e existem vários fatores que contribuem para isso, como por exemplo, as ações antrópicas, o deslocamento populacional de pessoas doentes, mudanças ambientais, migração de vetores infectados em meio de transporte.

A situação atual justifica a introdução de novas estratégias de controle, sendo importante conhecer as espécies do gênero *Anopheles* envolvidas na transmissão da malária na região do litoral do Paraná.

O conhecimento da paridade dos insetos é considerado primordial para sua caracterização biológica. Quando aplicado a insetos vetores de organismos causadores de doenças pode subsidiar a avaliação de programas de controle ou erradicação.

É de grande interesse conhecer a distribuição etária das populações de mosquitos, principalmente no que concerne ao contingente feminino, porque são elas que exercem a hematofagia e conseqüentemente transmissão de patógenos.

As alterações irreversíveis que ocorrem no órgão reprodutor feminino associados ao desenvolvimento do ovo fornecem a base para a determinação da idade fisiológica, tais modificações repetem-se ao longo do desenvolvimento de cada lote de ovos (CHARLWOOD *et al.*, 1980).

O sistema reprodutivo das fêmeas consiste em dois ovários e ductos associados. Cada ovário está envolto por uma membrana externa que termina proximalmente no processo terminal. Os ovidutos laterais dos quais saem os ovariolos radialmente, conectam-se para formar o oviduto comum. No oviduto comum, estão as glândulas acessórias e as espermatecas, onde ficam armazenados os espermatozóides. O número de ovariolos varia de 50 a 100 por ovário. Cada ovariolo consiste em um germário, do qual emanam os folículos e um pedicelo. Após a oviposição, a intima ao redor do ovo, e o pedicelo terminal ficam grandemente estendidos na forma de um saco de parede fina, dentro da qual permanecem os restos de trofócitos e do epitélio folicular. Algum tempo depois da oviposição este saco começa a contrair-se lentamente em 24h ele completa sua contração. Então forma-se uma dilatação no pedicelo e este processo é repetido nos ciclos subseqüentes, sendo que a dilatação mais próxima ao folículo é a mais recente (CHARLWOOD *et al.*, 1980).

CHRISTOPHERS (1911) classificou o desenvolvimento do folículo em cinco estádios, com pequenas modificações elaboradas por MER (1936):

- ◆ Estádio I: Não existe granulos de vitelo o oócito não se distingue do trofócito.
- ◆ Estádio II: Forma oval com granulos de vitelo ao redor do oócito.
- ◆ Estádio III: O vitelo ocupa mais da metade do folículo.
- ◆ Estádio IV: O oócito, cheio de vitelo, está bem desenvolvido e ocupa mais de 9/10 do folículo.
- ◆ Estádio V: Ocorre a formação do flutuador em anofelíneos.

A fêmea recém emergida possui folículo em estágio I de Christophers e Mer, após ocorre o desenvolvimento do folículo, que está associado ao acúmulo de vitelo. Os folículos se desenvolvem até o estágio II de Christophers e Mer (FORATTINI *et al.*, 1996). Sob condições normais, a maturação do folículo não continuará sem que haja o repasto sanguíneo, que funciona como fator estimulante.

Esta interrupção que ocorre no desenvolvimento ovariano pode ser chamada de diapausa ovariana (LOURENÇO-DE-OLIVEIRA & CONSOLI, 1994).

Um repasto sanguíneo que a fêmea obtenha seu próprio peso de sangue é suficiente para a maturação dos ovários segundo CHARLWOOD *et al.* (1980).

Quando a fêmea exerce o repasto sanguíneo, conseqüentemente ocorre uma distensão abdominal que desencadeia um processo, no qual o ovário libera ecdisona que termina a maturação dos ovos e sintetiza vitelo.

Algumas fêmeas desenvolvem seu primeiro lote de ovos sem exercer a hematofagia, estas são chamadas de autógenas, porém para o desenvolvimento dos ovos subseqüentes elas necessitam de sangue (CHARLWOOD *et al.*, 1980).

Considerando-se a população de mosquitos, as fêmeas autógenas o são graças a comando genético e a freqüência com que se inicia o desenvolvimento autógeno do ovário mede a expressão do gene e a produção de ovos, a expressividade na população, o que poderá ser incompleta, caso o oócito deixe de chegar à maturidade. É de se admitir que a autogênia deva ser encarada como estratégia adaptativa em áreas e épocas nas quais ocorre escassez de fontes sanguíneas (FORATTINI, 2002).

A espécie *Runchomyia (Runchomyia) paranensis* (Brethes, 1910) (= *Isostomyia paranensis*) provavelmente é autógena, ou seja, procura um hospedeiro somente depois de completar sua primeira oviposição, isso se deve ao fato de que todas as fêmeas que foram capturadas e dissecadas já haviam colocado ovos (MACIÁ, 1997).

O metabolismo energético da grande maioria dos mosquitos, machos e fêmeas, depende também da ingestão de carboidratos, usualmente provenientes de seivas, flores e frutos. As reservas energéticas provêm da fase larvária, mas na fase adulta devem ser obtidas de néctares vegetais ingeridos, para executar as mais variadas funções, como por exemplo o vôo.



O sangue humano pode prover glicose para as fêmeas sobreviverem, mas não fornece os aminoácidos necessários para sua subsistência. As fêmeas alimentadas com solução açucarada mostraram maior esperança de vida ao nascer, quando comparadas às fêmeas alimentadas com sangue. Nas espécies anautógenas o açúcar é essencial, e em algumas espécies autógenas, pode ser necessário para completar a reprodução (FERNANDEZ *et al.*, 2003).

As fêmeas que possuem concordância gonotrófica, após um repasto sangüíneo ovipositam um lote de ovos completo, mas algumas precisam de mais de um repasto sangüíneo para que conclua a oogênese correspondente, e por isso possuem discordância gonotrófica.

Para as espécies que mostram discordância gonotrófica, a duração do ciclo gonotrófico pode ser estendida por incluir múltiplas alimentações sangüíneas (SANTOS *et al.*, 2002). Como as fêmeas de *Aedes aegypti*, em um trabalho realizado por BARATA *et al.* (2001) que estavam com ovários nas fases III, IV e V de Christophers e Mer, ainda possuíam sangue de coloração vermelha no intestino médio, fato indicativo da não concordância gonotrófica.

Em certas espécies africanas, duas alimentações são necessárias para o desenvolvimento do primeiro lote de ovos (GILLIES, 1954). Em um trabalho realizado por CHARLWOOD *et al.* (2003) com *An. gambiae* no oeste da África, demonstraram em laboratório que fêmeas iniciaram seu desenvolvimento gonotrófico depois de 24h de uma alimentação sangüínea completa, a atividade gonotrófica ocorreu na proporção de fêmeas depois de duas alimentações e aumentou com três alimentações sangüíneas. Técnicas histológicas têm sido utilizadas para detectar múltiplas refeições sangüíneas que ocorrem em populações naturais de campo, como por exemplo, as espécies *Anopheles (Cellia) culicifacies* Giles, 1910 e *Anopheles (Cellia) subpictus* Grassi, 1899 no Sri Lanka, que realizaram várias alimentações sangüíneas durante um ciclo gonotrófico, em diferentes hospedeiros (AMERASINGHE *et al.*, 1999). Se fêmeas que nunca ovipositaram, forem capturadas com folículos além do estágio II, pode ser que estas fêmeas precisem de dois repastos para concluir seu primeiro lote de ovos (CHARLWOOD *et al.*, 1980).

O ciclo gonotrófico dos mosquitos consiste na procura do hospedeiro, repasto sanguíneo, digestão e maturação dos ovos e localização de um ponto para oviposição (CHARLWOOD *et al.*, 1980).

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*.

A duração do ciclo gonotrófico depende de vários fatores como: 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 o fácil acesso ao encontro do hospedeiro, são fatores que podem aumentar ou diminuir o tempo do ciclo a ser realizado. O ciclo gonotrófico dos culicídeos teoricamente se completa em 2 ou 3 dias em condições ambientais favoráveis (BARATA *et al.*, 2001).

Em ambiente natural KAKITANI & FORATTINI (2000), encontraram em duas populações de *An. albitarsis*, diferentes períodos de duração de ciclo gonotrófico, 1,990 dias e 2,046 dias. Já em *An. cruzii* em condições de laboratório o tempo gasto entre a alimentação sanguínea até a oviposição, foi de seis a sete dias (KAKITANI, 1992).

Uma fêmea de *Aedes aegypti* que sobreviva 20 dias pode realizar de 4 a 5 ciclos gonotróficos, com um considerável potencial para transmissão do vírus (HOECK *et al.*, 2003).

A capacidade do vetor transmitir o patógeno é uma interação complexa de muitos fatores, incluindo a densidade populacional do vetor e dos hospedeiros, *freqüência de hematofagia, competência de transferir o patógeno, e a probabilidade que este tem de sobreviver tempo suficiente para picar um hospedeiro de novo e transmitir o patógeno* (BLACK & MOORE, 1996). Um desses itens acima pode aumentar ou diminuir a capacidade vetorial, por exemplo, se o mosquito não tem aptidão para transferir o parasita, ele não será um vetor eficiente.

A sobrevivência se torna fator imprescindível na avaliação da capacidade vetora, quanto mais uma população de vetores possui uma taxa de sobrevivência elevada, tanto mais será apta a transmitir vírus.

Um método que pode ser utilizado para estimar a sobrevivência diária é o de VERCRUYSSSE (1985), de acordo com a paridade e o desenvolvimento ovarioelar. KAKITANI & FORATTINI (2000), utilizaram esta técnica para estimar a sobrevivência diária de *Anopheles albitarsis*, sendo que para a população A (espécie do complexo *An. albitarsis*) foi de  $0,5339 \pm 0,047$  e para a população B (espécie do complexo *An. albitarsis*) foi de  $0,5566 \pm 0,015$ .

É recomendável a realização de estudos que levem em consideração a taxa de sobrevivência, para se conhecer a fração dessa população que sobrevive para ultrapassar o ciclo extrínseco do parasita, e também fornecer subsídios para se calcular a capacidade vetorial do mosquito.

Para medir a capacidade vetorial utiliza-se parâmetros entomológicos como a densidade, proporção de picadas em humanos, antropofilia e sobrevivência (GARRET – JONES, 1964).

Foi medida a capacidade vetorial de algumas espécies do subgênero *Kerteszia* no Vale do Ribeira, São Paulo, obteve-se valores baixos, que foram atribuídos principalmente à baixa taxa de sobrevivência da espécie (SANTOS, 2001). Em estudos feitos com *An. albitarsis*, também no Vale do Ribeira, observou-se alta densidade de mosquito permitindo inferir, mesmo que a sobrevivência dessa espécie seja baixa, um número substancial de fêmeas pode sobreviver o tempo suficiente para ultrapassar o período extrínseco de desenvolvimento do parasita (SANTOS & FORATTINI, 1999).

Quando existe concordância gonotrófica e um intervalo de tempo constante entre os repastos sangüíneos e as posturas, pode-se calcular a idade cronológica aproximada a partir da idade fisiológica (BIRLEY & BOORMAN, 1982).

São utilizados para determinação da idade fisiológica de Culicidae: presença de ovos retidos no ovário, presença de ácaros fixados a superfície corporal das fêmeas, tamanho da ampola ovariana, coloração verde e condições dos tubos de Malpighi e observação das traquéolas (CHARLWOOD *et al.*, 1980). Alguns desses aspectos e outros mais, são reunidos em três critérios genéricos: configuração externa dos espécimes, modificações somáticas e do aparelho reprodutor feminino (FORATTINI, 2002).

No que concerne às mudanças do aparelho reprodutor feminino, a idade fisiológica é determinada pelo número de ciclos gonotróficos em fêmeas que apresentam concordância gonotrófica. Tem sido utilizado os métodos desenvolvidos por DETINOVA (1962) e POLOVODOVA (1949) no estudo de paridade de *Anopheles* e outros mosquitos, assim como as fases de SELLA (1920).

Os ovários das fêmeas são altamente providos de oxigênio, que vem através das traquéolas que envolvem estes ovários. Observando estas terminações traqueolares podemos diagnosticar a nuliparidade das fêmeas. Quando as terminações se apresentam enoveladas a fêmea não completou o desenvolvimento do folículo além do estágio II de Christophers e Mer e, portanto, não ovipositou, sendo chamadas de não paridas.

Após o repasto sangüíneo, paralelamente ocorre o aumento dos ovários, e as traquéolas se desenrolam do enovelamento, formando uma rede dispersa, essa mudança é irreversível, e então as fêmeas são chamadas de paridas, mas não necessariamente já ovipositaram. Esta técnica descrita por DETINOVA (1962) não pode indicar os diversos graus de oniparidade.

O decurso da digestão de sangue ingerido pode ser acompanhado pela observação da aparência externa do abdome e, paralelamente, corresponderá às etapas do ciclo de desenvolvimento folicular de Christophers e Mer. Até o momento são reconhecidas as fases de Sella descritas para esta finalidade (SELLA, 1920; CHARLWOOD *et al.*, 1980).

Para um aspecto mais pormenorizado na condição de paridade das fêmeas utiliza-se a técnica de Polovodova para obter os graus de oniparidade. Com esta técnica se observa as pequenas dilatações alveolares deixadas no tubo folicular como consequência da oviposição. Assim, 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. Se a fêmea possuir uma dilatação no pedicelo ela será chamada de unípara, quando tiver duas dilatações chama-se bípara e assim sucessivamente.

A Escola Clássica preconiza que nos dias que seguem a oviposição dá-se a contração do saco ovarioilar 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 ovarioilar indistintamente (FORATTINI, 2002).

As observações dos ovários de *Anopheles marajoara* Galvão & Damasceno 1942, capturados no município de Ilha Comprida, São Paulo revelaram que metade das fêmeas eram oníparas, ou seja, já teriam realizado o repasto sanguíneo pelo menos uma vez (KAKITANI *et al.*, 2003).

Em estudos feitos na cidade de São José do Rio Preto, São Paulo com *Aedes aegypti* foram encontradas a maioria das fêmeas oníparas e nulíparas com sangue, isto significa as fêmeas já teriam realizado o exercício de hematofagia (BARATA *et al.*, 2001).

Passando a anatomia ovarioilar tem-se procurado levar em conta o aparecimento de alterações que pudessem servir de testemunha de algumas etapas do ciclo ovariano, objetivando tornar mais preciso o exame. Tem-se recomendado artifício técnico que consiste na injeção de óleo ou parafina no oviduto mediano (HOC & CHARLWOOD, 1990; HOC, 1996; HOC & SCHAUB, 1995; HOC & SCHAUB, 1996). Argumenta-se que assim procedendo provoca-se um intumescimento do ovário o qual, a ser rasgado pelos estiletos de dissecação, dá lugar ao espargimento dos ovaríolos, tomando-os mais evidentes e facilitando, pois, o reconhecimento de suas dilatações (SERVICE, 1993). A principal dificuldade dos métodos de dissecação, reside na fragilidade das estruturas, o que ocasiona perdas e dificuldades diagnósticas.

O estudo da epidemiologia de malária tem como finalidade encontrar explicações para as mudanças que ocorrem nas populações de vetores, não apenas no que concerne ao espaço, mas também ao tempo, exercendo total influência na transmissão de *Plasmodium*. Em função de alterações ambientais antrópicas e de novos quadros epidemiológicos registrados nos últimos anos, com a reemergência de determinados agravos a saúde, torna-se relevante a atualização de dados referentes à idade fisiológica das fêmeas de *An. cruzii*, considerada vetor potencial do *Plasmodium* no litoral do Estado do Paraná.

## 2. OBJETIVOS GERAIS

A presente investigação possui como objetivo principal determinar a idade fisiológica de *An. cruzii*, buscando fornecer subsídios para estimar a potencialidade vetora, passível de ser utilizada para orientação da vigilância epidemiológica.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os estádios de desenvolvimento ovariano das fêmeas de *An. cruzii*.
- Determinar a idade fisiológica através da paridade das fêmeas de *An. cruzii*.
- Determinar a média estacional das população de *An. cruzii*, durante o período matutino.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Área de Estudo

Este estudo foi desenvolvido no Parque Estadual do Palmito (25° 35' S e 48° 32' W), com uma área aproximada de 1780 ha pertencente ao Banestado S. A. Reflorestadora (BOEGER & WISNIEWSKI, 2003). Este Parque localiza-se na planície litorânea do Estado do Paraná, município de Paranaguá, distando cerca de 4km da estrada Estadual PR 407, perto de uma área portuária de importância econômica e também, associada ao risco de entrada de novos agravos a saúde humana e animal.

A região de Paranaguá é classificada climaticamente como Af (Koppen), com clima tropical superúmido, sem estação seca, isenta de geadas. A temperatura média do mês mais quente está acima de 22°C e a do mês mais frio é de 18°C (IAPAR, 1994). A média anual é de 21,9°C e a precipitação média anual 1950mm, sendo que os meses de Janeiro e Fevereiro são os mais chuvosos (SILVA, 1990). Há uma distribuição uniforme de chuvas ao longo do ano, caracterizando um ambiente bastante úmido, com 85% de umidade relativa média anual (IAPAR, 1994). Este ambiente é propício à freqüentes afloramentos de água, o que favorece o desenvolvimento de inúmeras epífitas, líquens e lianas.

A Floresta Estadual do Palmito compreende principalmente áreas de Floresta de Restinga com diferentes graus de interferência e pequenas porções de manguezais. Uma das principais características do parque é o sub bosque repleto de bromélias. Existem três áreas em estádios sucessionais diferentes que sofreram corte para cultivo de banana e abacaxi e foram abandonadas cerca de 20,33 e 58 anos (em 2002), sendo aqui denominados de estádios inicial, intermediário e avançado de sucessão, respectivamente.

Caracterização da vegetação para cada fase sucessional, segundo levantamento fitossociológico de WISNIEWSKI (1997) é:

- Área em Estádio Inicial (com 20 anos em 2002): 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, cobertas por líquens fruticosos e dentre as espécies arbóreas predominantes destaca-se *Ilex theezans* Mart, compreendendo 77,5% dos indivíduos.

- Área de Estádio Intermediário (33 anos em 2002): 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, herbáceas terrestres de *Liliaceae* e *Iridaceae*, arbustos de *Rubiaceae* e *Melastomataceae*, trepadeiras da família *Sapindaceae*, entre outras.

- Área de estágio avançado (58 anos em 2002): pode ser observado 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* Aubl. (cupiúva), *Calophyllum brasiliense* Camb. (guanandi), *Myrcia racemosa* (Berg.) Kiaerzk (guapiranga), *Ocotea aciphyla* (Ness) Mez (canela-ponta-de-lança), *Euterpe edulis* Martius (palmito) e *Ocotea pulchella* Mart. (canela lageana).

O Parque Estadual do Palmito até o início de 2005 estava desativado para a visitação, porém com a nova administração, as trilhas para visitação foram abertas, atendendo a colégios, turistas, e outros grupos de visitantes.



### 3.2 Procedimentos em campo

As capturas foram conduzidas quinzenalmente em sub-bosque repleto de bromélias, de abril/2004 a abril/2005, no período matutino com duração de noventa minutos, totalizando 1530 minutos de captura.

A temperatura e umidade eram tomadas através de termohigrômetro digital no início e no final de período de coleta, fazendo após uma média das temperaturas e umidade registradas.

A captura dos culicídeos foi realizada através da técnica pouso homem, com dois operadores manejando aspiradores manuais movidos à bateria que procuravam reter todos os mosquitos que se aproximavam para sugar os operadores. Os aspiradores eram munidos de potes coletores que eram trocados quando já havia um número substancial de fêmeas no pote. Então os mosquitos dos potes eram repassados para uma gaiola onde ficavam acondicionados com um pano úmido ao redor da gaiola para serem transportados vivos ao Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária da UFPR.

### 3.3 Procedimentos em laboratório

No laboratório, era colocado em cada gaiola o alimento açucarado (mel dissolvido a 10% em água) para manter o maior período de tempo possível os culicídeos vivos, com objetivo de viabilizar as análises das condições dos ovários das fêmeas.

Com auxílio do capturador de Castro cada anofelíneo era retirado da gaiola e colocado em potes de vidro individuais. O restante dos mosquitos que não anofelíneos eram sacrificados, montados e etiquetados, para no futuro serem analisados sob o aspecto ecológico, identificados e depositados na Coleção Entomológica “Pe. Jesus Santiago Moure” do Departamento de Zoologia da UFPR. Cada pote com um anofelíneo era colocado em uma câmara com acetato para sacrificar o mosquito e retirado para identificação. Somente as fêmeas *An. cruzii* foram dissecadas. As chaves utilizadas para a identificação dos anofelíneos foram: ZAVORTINK (1973); FORATTINI (2002), e a redescrição de WILKERSON & PEYTON (1991).

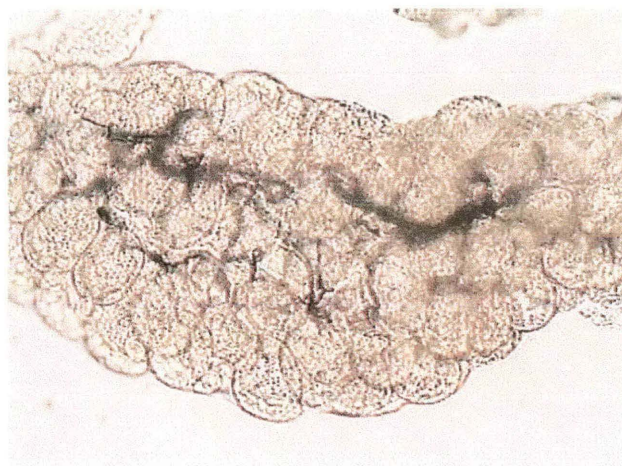
Após a identificação, ocorria a dissecção do mosquito, cada espécimen foi analisado individualmente para aumentar o grau de precisão na execução da técnica. A fêmea de *An. cruzii* era colocada em uma lâmina e adicionava-se uma gota de água destilada. Na lupa (Stemi SV6, Zeiss) no aumento de 5X, com um estilete retirava-se o último segmento abdominal do mosquito e seu ovário formado por vários ovariolos, **(Figura 1)** nesse momento era feita a observação das traquéolas de acordo com DETINOVA (1962), para separar as fêmeas não paridas (terminações traqueolares enoveladas) das paridas (terminações traqueolares desenroladas) **(Figura 2)**.

No processo de dissecção cada ovariolo era separado dos outros e a lâmina era colocada no microscópio (Leica DME) sob o aumento de 5X ou 10X, para a avaliação dos estádios foliculares, classificando-os de I a V, segundo critérios de CHRISTOPHERS (1911) & MER (1936).

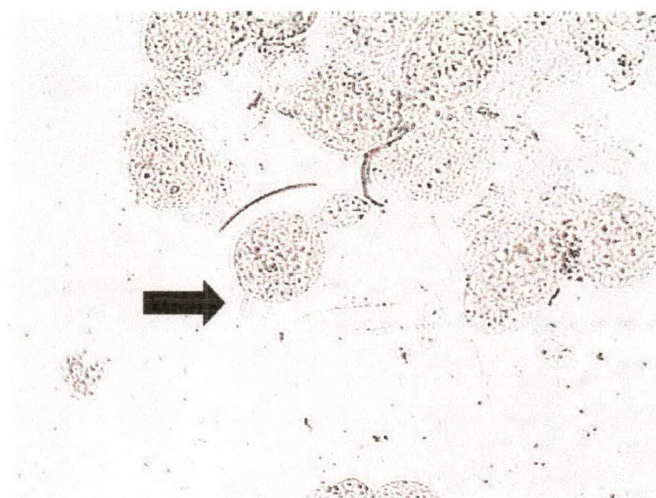
E finalizando com a técnica de POLOVODOVA (1949), no microscópio sob aumento de 10X com a contagem das dilatações ovariolares, separando as fêmeas em nulíparas e oníparas (**Figura 3**). Examinou-se de 15 a 20 ovariolos por fêmea. O número de fêmeas a serem dissecadas para o estudo de paridade, variou em função do total capturado.



**Figura 1.** Ovários da fêmea de *An. cruzii*.



**Figura 2.** Observação das terminações traqueolares segundo a técnica de Detinova.



**Figura 3.** Observação do pedicelo ovariolar segundo a técnica de Polovodova.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

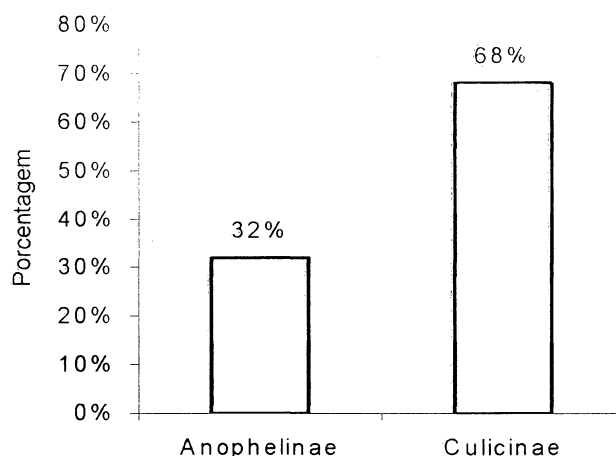
A temperatura e a umidade obtidas durante a execução das coletas, permitiu calcular a média estacional da temperatura e umidade para o período das capturas. O que resultou em valores em ordem decrescente para a temperatura: 27,2 °C (Verão), 23,1 °C (Primavera), 21,9 °C (Outono), 18,9 °C (inverno), e para a umidade: 91,8% (Inverno), 82% (Outono), 78,3% (Verão) e 76,7 % (Primavera) (**Tabela II**).

**Tabela II.** Média e desvio padrão da temperatura e umidade, por estação anual monitoradas entre abril/04 a abril/05, na Floresta Estadual do Palmito, município de Paranaguá.

Estações	Temperatura	Umidade
Outono	21,9 ( ±4,0)	82,0 ( ±6,8)
Inverno	18,9 ( ±1,8)	91,8 ( ±6,0)
Primavera	23,1 ( ±4,9)	76,7 ( ±5,9)
Verão	27,2 ( ±2,8)	78,3 ( ±5,8)

O período de investigação na área do Parque Estadual do Palmito, permitiu conhecer a frequência das populações de *Culicidae*, nos diferentes períodos sazonais. Por outro lado o horário de atividade foi limitado ao período da manhã e a somente um hospedeiro. Desta forma ao escolhermos estes dois últimos elementos, limitamos as espécies àqueles que exercem a hematofagia durante o período matutino e em hospedeiro humano, ou consideradas oportunistas quanto a escolha da fonte de alimentação sangüínea e ao horário de atividade.

Foram capturados de 1530 culicídeos no total, onde mais da metade pertenciam ao táxon *Culicinae*, e 32% eram *Anophelinae*, deve-se ressaltar que pelo horário de captura realizado, os anofelíneos foram encontrados em número elevado, pois o pico de atividade para exercício da hematofagia destes mosquitos é no crepúsculo matutino ou vespertino. O crepúsculo atua sobre vários aspectos do comportamento dos mosquitos, determinado a busca por hospedeiro, repouso e oviposição (**Figura 4**).



**Figura 4.** Comparação porcentual entre Anophelinae e Culicinae, capturados com o auxílio da técnica pouso homem na Floresta Estadual do Palmito durante o período matutino (Paranaguá, Paraná), entre os meses de abril 2004 a abril de 2005.

Em quase todas as estações houve um predomínio de Culicinae, exceto no verão onde a média de Anophelinae foi superior. A primavera e o verão destacam-se pelas médias elevadas de Anophelinae, pois a densidade populacional desses anofelíneos aumenta, por ocasião da época chuvosa e de elevadas temperaturas (**Tabela III**).

De forma geral na planície litorânea encontramos temperaturas superiores as registradas no planalto, o que favorece o desenvolvimento dos Culicidae, daí decorre a constatação de ocorrência em praticamente todos os períodos de coleta. Em locais com inverno mais rigoroso, a captura de formas aladas de Culicidae chega a ser nula.

No caso dos Culicidae, as chuvas exercem um papel fundamental, em consequência da necessidade biológica de locais com água para o desenvolvimento das formas imaturas de Culicidae. No caso específico do *An. cruzii*, os imaturos desenvolvem-se preferencialmente em pequenas coleções de água representada por bromélias, em diferentes extratos da vegetação. Segundo VELOSO *et al.* (1956) as

larvas de *An. cruzii* são encontradas nas bromeliáceas com diversas capacidades de armazenamento de água desde 5 ml até mais de 2 litros, e nas diversas situações dentro da comunidade, desde o nível mais baixo do solo até as altas árvores. Existindo portanto uma associação direta entre a oferta de criadouros viáveis e a frequência de chuvas.

**Tabela III.** Média estacional e desvio padrão de Culicidae capturados na Floresta Estadual do Palmito, no período matutino entre abril/04 até abril/05, com auxílio da técnica pouso homem.

Estações	Culicinae	Anophelinae
Outono	69,8 ( $\pm 14,7$ )	13,5 ( $\pm 7,5$ )
Inverno	50,0 ( $\pm 19,5$ )	7,7 ( $\pm 9,3$ )
Primavera	75,2 ( $\pm 22,0$ )	51,0 ( $\pm 36,4$ )
Verão	31,7 ( $\pm 8,5$ )	43,7 ( $\pm 37,6$ )

Podemos considerar a área do Parque Estadual do Palmito, com sendo favorável a *An. cruzii*, devido a ocorrência em todas as estações do ano e com marcada superioridade porcentual em relação as demais espécies deste gênero, principalmente durante o inverno. Também foram capturados exemplares de *An. bellator*, em todos os períodos sazonais, porém em porcentual inferior a 6% (**Tabela IV**).

O *An. cruzii* mostra-se uma espécie mais eclética, freqüentando tanto as restingas e as florestas das planícies, como as matas que cobrem as encostas montanhosas (FORATTINI *et al.*, 1986a, b; VELOSO *et al.*, 1956). Diferentemente do *An. bellator* que predomina em áreas de restinga, de menor cobertura vegetal, com maior iluminação natural e abundância de bromélias terrestres e rupestres (FORATTINI, 2002).

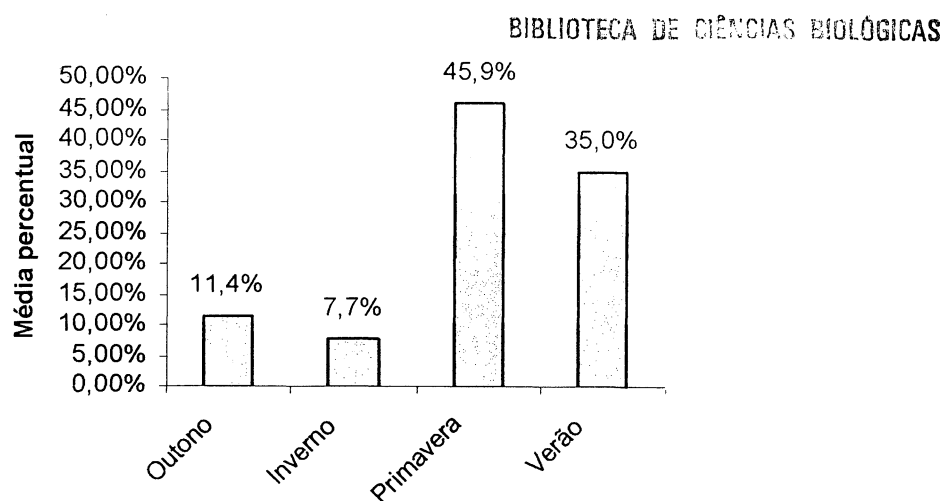
Durante o processo de coleta e manipulação dos exemplares, apesar dos cuidados, muitos espécimens apresentavam os caracteres anatômicos como diagnóstico específico danificados, inviabilizando a identificação. Isto ocorreu com maior intensidade durante a primavera e verão, com elevado número de exemplares não identificados até espécie. Observamos que neste procedimento de captura, trabalhamos basicamente com fêmeas, não podendo ser utilizado como recurso

adicional a preparação da genitália, caráter auxiliar utilizado no processo de identificação de exemplares machos. Mas mesmo assim, *An.cruzii* sempre obteve média percentual superior a 50%, em relação as demais espécies capturadas.

**Tabela IV.** Média percentual sazonal de *Anopheles* spp capturados Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná), no período matutino entre abril de 2004 e abril de 2005.

Espécies	Outono	Inverno	Primavera	Verão
<i>Anopheles cruzii</i>	75,4%	96,1%	84,4%	75,5%
<i>Anopheles bellator</i>	5,6%	3,9%	5,5%	2,3%
<i>Anopheles</i> sp	19,0%	0%	10,1%	22,2%

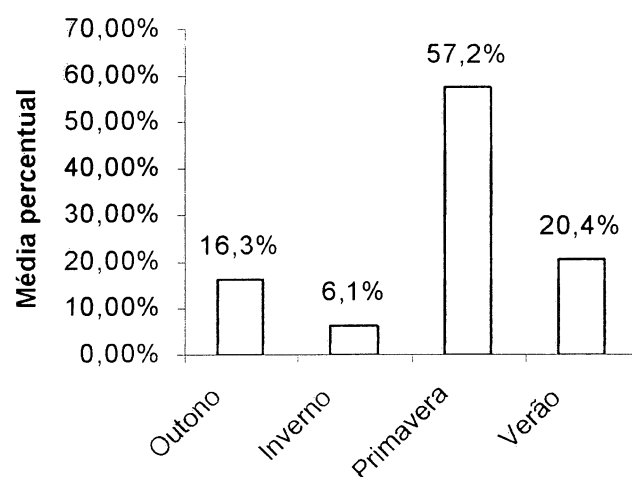
Comparando-se o percentual de *An. cruzii*, capturados nas estações, observamos predomínio para primavera seguida do verão, com ambas estações representando 81% dos exemplares capturados. Podemos indicar como fatores positivos para este fato, a temperatura e o período de chuvas que é característico do verão, isto determina o aumento de criadouros potenciais disponíveis a esta espécie (Figura 5).



**Figura 5.** Média percentual de *An. cruzii* capturados por estação, na área da Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná), no período matutino entre abril de 2004 e abril de 2005.



Já *An. bellator*, também foi capturado em maior intensidade na primavera e verão com predomínio para primavera, porém a porcentagem de captura do outono aproximou-se do verão. Embora esta espécie tenha sido capturada em menor número, a ocorrência foi mais uniforme ao longo do período analisado (**Figura 6**).



**Figura 6.** Média percentual *An. bellator* capturados por estação, na área da Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná), no período matutino entre abril de 2004 e abril de 2005.

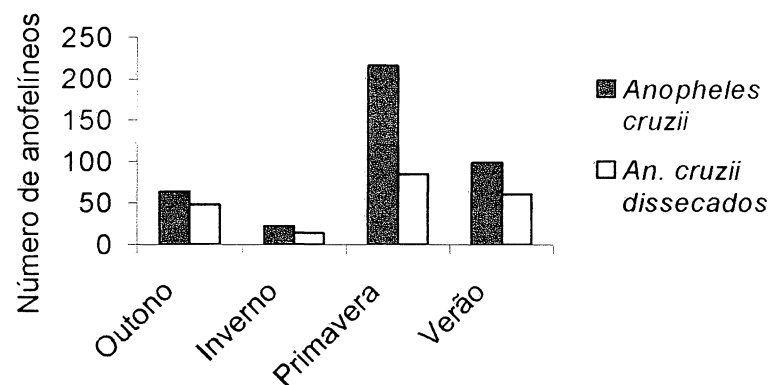
As dissecções dos ovários auxiliam, na determinação da idade fisiológica, gerando informação estratégica quando pretendemos avaliar a intensidade do contato do inseto com hospedeiro, em consequência da necessidade de obtenção de componentes bioquímicos do sangue de vertebrados, para o desenvolvimento de ovos viáveis.

A intensidade do contato inseto-hospedeiro é um dos elementos utilizados para avaliarmos a capacidade vetorial de uma determinada espécie. 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.*

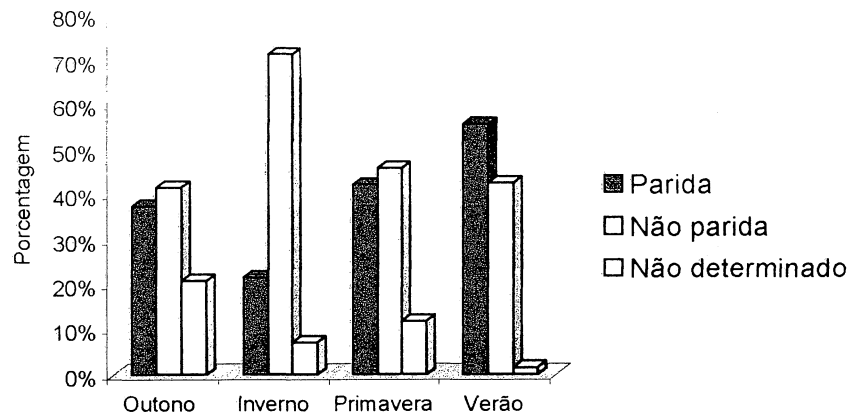
Ao analisarmos a idade fisiológica estamos adicionando informação de caráter entomológico para análise da capacidade vetorial de uma determinada espécie. Observando necessidade de inclusão de outras informações para o delineamento completo do cenário epidemiológico.

Dentre os 401 *An. cruzii* capturados foram dissecados aproximadamente 52% das fêmeas, sendo que o maior número de dissecções foi na primavera. Durante o período do inverno, tivemos coleta negativa para presença de *An. cruzii*, o que impediu a dissecação. **(Figura 7).**



**Figura 7.** Comparação entre o número de *An. cruzii* capturados e dissecados, por estação, durante o período matutino de abril de 2004 a abril de 2005, na área da Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná).

Nas estações de outono, inverno e primavera as fêmeas não paridas, ou seja, que nunca ovipositaram e nunca exerceram a hematofagia tiveram médias percentuais maiores que as fêmeas paridas, que pelo menos já realizaram um repasto sanguíneo. No verão as fêmeas paridas obtiveram maior média percentual talvez pelo maior número de fontes sanguíneas disponíveis, ou mudança da idade da população **(Figura 8).**



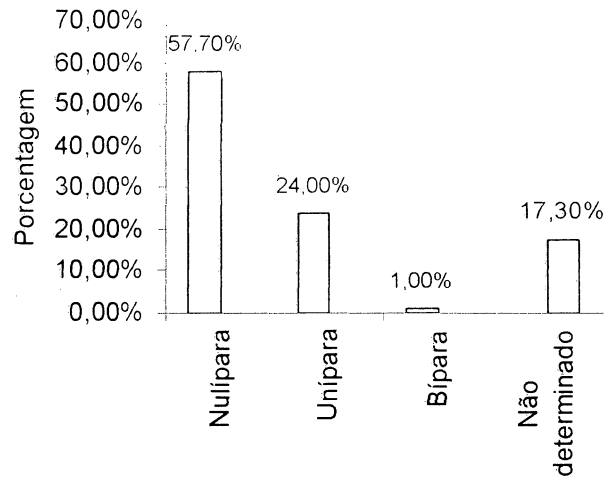
**Figura 8.** Média percentual por estação, da paridade das fêmeas de *An. cruzii* dissecadas segundo a técnica de Detinova, a partir de exemplares capturados na área da Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná).

A maioria das fêmeas eram nulíparas, ou seja, nunca tinham ovipositado, mostrando que pode estar ocorrendo uma produção em escala contínua de mosquitos. Outra interpretação poderia ser a alta mortalidade de fêmeas emergentes (VERCRUYSSSE, 1985) (**Figura 9**).

Em um trabalho realizado no litoral paranaense por LUZ *et al.* (1979), com *An. cruzii*, também obtiveram predominância de fêmeas nulíparas, representando cerca de 80% ou mais dos exemplares examinados, concluindo que esse anofelíneo apresenta vida curta, e seu papel como vetor estaria na dependência de elevada densidade populacional.

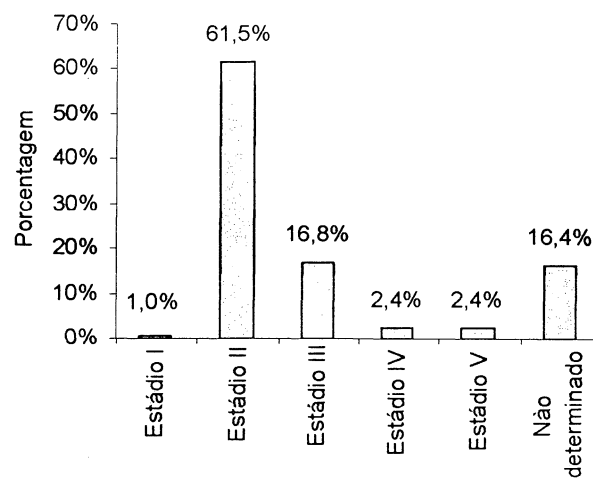
Muito diferente das populações de *An. darlingi* do Norte do Mato Grosso no Brasil, onde foi possível encontrar fêmeas com até seis oviposições (CHARLWOOD e WILKES, 1979).

Sendo a maior parte da população nulípara, pode-se inferir que as fêmeas de *An. cruzii* são anautógenas, ou seja, necessitam de sangue para realizar o desenvolvimento de seu primeiro lote de ovos segundo CHARLWOOD *et al.* (1980).



**Figura 9.** Porcentagem da paridade das fêmeas de *An. cruzii* dissecadas segundo a técnica de Polovodova a partir de exemplares capturados na área da Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná).

Das 208 fêmeas dissecadas 61,5% encontravam-se no estágio II de Christophers e Mer, sendo que estas fêmeas em condições normais de desenvolvimento, não ultrapassam a segunda fase de Christophers e Mer, sem obter um repasto sanguíneo (**Figura 10**).



**Figura 10:** Estádio de desenvolvimento folicular segundo Christophers e Mer das fêmeas de *An. cruzii* capturadas na Floresta Estadual do Palmito, município de Paranaguá.

Em todas as estações do ano houve predomínio de fêmeas nulíparas em estágio I e II de Christophers e Mer. No outono 41,3% das fêmeas nunca haviam realizado repasto sangüíneo, e 33,7% já tinham realizado pelo menos uma vez. No inverno mais da metade das fêmeas nunca ovipositaram e nunca exerceram a hematofagia. Na primavera foram encontradas 1,2% de fêmeas bíparas no estágio III a V de Christophers e Mer, ou seja, em condições normais já teriam realizado três repastos sangüíneos, o que aumentaria a chance de aquisição e transmissão do protozoário *Plasmodium* causador da malária. No verão 50,7% das fêmeas em condições normais já teriam realizado o repasto sangüíneo pelo menos uma vez, e apenas 39% nunca tiveram contato com o hospedeiro (**Tabela V**).

**Tabela V.** Média percentual da paridade das fêmeas de *An. cruzii* dissecadas reunindo os critérios preconizados por Christophers e Mer, e Polovodova.

Estação	Estádio I e II			Estádio IIIa V			Não determinado
	Nulípara	Unípara	Bípara	Nulípara	Unípara	Bípara	
Outono	41,3%	6,2%	0%	16,3%	8,7%	2,5%	25,0%
Inverno	57,4%	21,3%	0%	6,0%	0%	0%	14,9%
Primavera	44,7%	16,5%	0%	9,4%	7,0%	1,2%	21,2%
Verão	39,0%	26,1%	0%	21,2%	3,4%	0%	9,9%

A elevada porcentagem de fêmeas de *An. cruzii* (43,3%) que apresentaram os seus folículos nos estádios I e II de Christophers e Mer indica estarem na primeira tentativa hematófaga para dar continuidade à maturação dos seus ovos. Foram encontradas 14,4% das fêmeas nulíparas além do estágio II de Christophers e Mer, tentando realizar a hematofagia pela segunda vez dentro de um mesmo ciclo, fato que permite levantar a provável existência da discordância gonotrófica, ou seja a fêmea pode realizar dois ou três repastos sangüíneos para iniciar a postura de seus ovos. Esta observação é importante do ponto de vista epidemiológico, considerando que a fêmea pode procurar mais de um hospedeiro para completar a maturação dos seus ovos (**Tabela VI**).

FORATTINI *et al.* (1993) também encontraram um predomínio de nuliparidade (74,6%) entre os espécimes examinados de *Anopheles cruzii* e *Anopheles bellator*, boa parte das fêmeas nulíparas apresentava ovários no estágio III de Christophers e Mer ou

além dele. Diante disso, conclui-se que o exercício de hematofagia foi realizado ao menos uma vez anteriormente a oviposição, evidenciando que a discordância gonotrófica parece ser fenômeno habitual nesses anofelíneos.

FORATTINI *et al.* (1996) com o uso da técnica pouso homem, também relatam a procura das fêmeas de *An. cruzii*, ao menos, pelo segundo repasto sanguíneo.

O restante das fêmeas de *An. cruzii* dissecadas que não foram determinadas, quanto ao grau de paridade e o desenvolvimento do folículo, foi devido ao erro na hora da dissecação. Com esse método crescem as dificuldades operacionais, o que lhe compromete a praticidade. Então acreditamos que ainda exista espaço para aprimoramento, já que em 18,3% dos espécimes dissecados não foi possível determinar a idade fisiológica.

**Tabela VI.** Paridade das fêmeas de *An. cruzii* dissecadas reunindo os critérios preconizados por Christophers e Mer, e Polovodova.

Paridade	Estádio I e II	Estádio III a V
	%	%
Nulípara	43,3	14,4
Unípara	17,3	5,7
Bípara	0	1,0

\*Não foram determinadas 18,3% das fêmeas dissecadas

## 5. CONCLUSÃO

Em todas as estações houve um predomínio de *An. cruzii* em relação às demais espécies do subgênero *Kerteszia*. Este fato indica que a área do Parque Estadual do Palmito, oferece condições adequadas para o desenvolvimento desta espécie.

A maior média percentual de *An. cruzii* ocorreu na primavera e verão representando 81% dos exemplares capturados. Deve-se levar em consideração que esta espécie foi capturada em maiores números no horário considerado não característico para o exercício da hematofagia.

Em todas as estações obteve-se fêmeas com predomínio de nuliparidade, ou seja, fêmeas que nunca ovipositaram, indicando assim a produção em escala contínua de mosquitos e a alta mortalidade de fêmeas paridas.

Das fêmeas dissecadas 43,3% eram nulíparas com estágio folicular I e II de Christophers e Mer, indicando estarem na primeira tentativa hematófaga para dar início a um ciclo gonotrófico. Por outro lado o valor de aproximadamente 38,4% das fêmeas que já realizaram alguma vez um repasto sanguíneo, pode indicar que parte da população esteja com longevidade mais adiantada. Seria necessário, portanto análise de intervalo horário mais abrangente, para melhor delimitação da população, assim como amostragem maior, em decorrência da proximidade dos percentuais apresentados.

Foram encontradas 14,4% das fêmeas nulíparas com folículo além do estágio II de Christophers e Mer, tentando realizar a hematofagia pela segunda vez dentro de um mesmo ciclo, fato que permite levantar a provável existência da discordância gonotrófica. E também evidencia o exercício de hematofagia previamente a primeira oviposição.

Para uma melhor compreensão da importância epidemiológica do *Anopheles cruzii* na área do Parque Estadual do Palmito, é necessário a análise de outros componentes entomológicos envolvidos na avaliação da capacidade vetorial.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, J.C. 1942. Infecção natural de *Nyssorhynchus (Kerteszia) cruzii* e *bellator* (Diptera, Culicidae). **Fol. Med.** **28** (15): 171-175.
- AMERASINGHE, P.H. & AMERASINGHE, F.P. 1999. Multiple host feeding in field populations of *Anopheles culicifacies* and *An. Subpictus* in Sri Lanka. **Medical and Veterinary Entomology** **13**: 124-131.
- ARAGÃO, M.B. 1974. O comportamento dos anofelinos do subgênero *Kerteszia*, no Sul do Brasil e o efeito do inseticida DDT. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** **72**: 147-172.
- AZEVEDO, M. 2004. **Insetos e humanos: uma relação histórica de convivência, evolução e doenças**. Disponível em:  
><http://www.eca.usp.br/nucleos/njr/voxsscientiae/margarete18.htm>< Acesso em: 20 jun. 2005.
- BARATA, E.A.M.F.; COSTA, A.I.P.; CHIARAVALLI, N.; GLASSER, C.M.; BARATA, J.M.S.; NATAL, D. 2001. População de *Aedes aegypti* (L.) em área endêmica de dengue, Sudeste do Brasil. **Rev. Saúde Pública** **35** (3): 237-242.
- BERGO, E.S.; BURALLI, G.M.; SANTOS, J.L.F.; GURGEL, S.M. 1990. Avaliação do desenvolvimento larval de *Anopheles darlingi* criado em laboratório sob diferentes dietas. **Rev. Saúde Pública** **24**: 95-100.
- BIRLEY, M.H.; BOORMAN, J.P.T. 1982. Estimating the survival and biting rates of haematophagous insects, with particular reference to *Culicoides obsoletus* group (Diptera: Ceratopogonidae) in Southern England. **J. Anim. Ecol.** **51**: 135-148.
- BLACK, W.C. & MOORE C.G. 1996. Population biology as a tool for studying vector-borne diseases. **The biology of disease vectors**. In B. J. Beaty and W. C. Marquardt [Eds.]. University Press of Colorado, Niwot, CO, 393-416.
- BOEGER, M.R.T.; WINIEWISKI, C. 2003. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. **Revista Bras. Bot.** **1**: 61-72.
- BRANQUINHO, M.S.; MARELLI, M.T.; CURADO, I.; NATAL, D.; BARATA, J.M.S.; TUBAKI, R.; CARRÉRI-BRUNO, G.C.; MENEZES, R.T.; KLOETZEL, J.K. 1997. Infecção de *Anopheles (Kerteszia) cruzii* por *Plasmodium vivax* e *Plasmodium vivax* variante VK247 nos municípios de São Vicente e Juquitiba, São Paulo. **Rev. Panam. Salud Publica** **2** (3): 189-193.
- CHARLWOOD, J.D. ; WILKES, T.T. 1979. Studie on the age-comparison of samples of *Anopheles darlingi* Root (Diptera:Culicidae) in Brazil. **Bull ent. Research** **69**: 337-42.



- CHARLWOOD, J.D.; RAFAEL, J.A.; WILKES, T.J. 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** (2): 311-333.
- CHARLWOOD, J.D.; PINTO, J.; SOUZA, C.A.; FERREIRA, C.; PETRARCA, V.; ROSARIO, V.E. 2003. A mate or a meal – Pre-gravid behaviour of female *Anopheles gambiae* from the islands of São Tomé and Príncipe, West Africa. **Malaria Journal** **2** (9): 1-11.
- CHRISTOPHERS, S.R. 1911. The development of the egg follicle in anophelines. **Paludism** **2**: 73-89.
- 1960. *Aedes aegypti* (L.). **The yellow fever mosquito – its life history, bionomics and structure**. Cambridge University Press, London, 739 p.
- CORRÊA, R.R.; FORATTINI, O.P.; GUARITA, O.F.; RABELO, E.X. 1961. Observações sobre o vôo do *Anopheles (Kerteszia) cruzii* e do *Anopheles (Kerteszia) bellator*, vetores da malária (Diptera, Culicidae). **Arq. Hig. Saúde Públ.** **26**: 333-42
- DETINOVA, T.S. 1962. **Age-grading methods in Diptera of medical importance**. Geneva, WHO – Monographies Series, 47, 216p.
- FERNANDEZ, Z.; FORATTINI, O.P. 2003. Sobrevivência de populações de *Aedes albopictus*; idade fisiológica e história reprodutiva! **Rev. Saúde Pública** **37** (3): 285-91.
- FERREIRA, E.; CASTRO FILHO, J.; TOMICH, A.; SÁ, F.T. 1969a. Estudo da longevidade do *Anopheles (Kerteszia) cruzii* e do *Anopheles (Kerteszia) bellator* em condições naturais. **Rev. Bras. Malariol. Doenças Trop.** **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. **Rev. Bras. Malariol. Doenças Trop.** **21**: 819-822.
- FERREIRA, E.M.C. 2003. Doenças tropicais: o clima e a saúde coletiva. Alterações climáticas e a ocorrência de malária na área de influência do reservatório de Itaipu, PR. **Terra livre** **1**(20): 179-191.
- 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**. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo, Vol. 2, 860p.

- FORATTINI, O.P.; CORRÊA, R.R.; RABELLO, E.X.; GUARITA, O. 1961. Algumas observações sobre a densidade de anofelíneos *Kerteszia* no Estado de São Paulo, Brasil. **Arquiv. Hig. Saúde Públ.** **26**: 246-56.
- FORATTINI, O.P.; GOMES, A.C.; NATAL, D.; SANTOS, J.L.F. 1986a. Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae em mata primitiva da encosta no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública** **20** (1): 1-20.
- 1986b. Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae em matas primitivas da planície e perfis epidemiológicos de vários ambientes no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública** **20** (3): 178-203.
- FORATTINI, O.P.; GOMES, A.C.; SANTOS, J.L.F.; KAKITANI, I.; MARUCCI, D. 1990. Freqüência ao ambiente humano e dispersão de mosquitos Culicidae em área adjacente à Mata Atlântica primitiva da planície. **Rev. Saúde Pública** **24** (2): 101-107.
- FORATTINI, O.P.; KAKITANI, I.; MASSAD, E. 1993. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment: 1- Parity of blood seeking *Anopheles* (*Kerteszia*) in South-Eastern Brazil. **Rev. Saúde Pública** **27** (1):1-8.
- FORATTINI, O.P.; KAKITANI, I.; MASSAD, E.; MARUCCI, D. 1996. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 11- Biting activity and blood-seeking parity of *Anopheles* (*Kerteszia*) in South-Eastern Brazil. **Rev. Saúde Pública** **30** (2): 107-114.
- FORATTINI, O.P.; KAKITANI, I.; SANTOS, R.C.; KOBAYASHI, K.M.; UENO, H.M.; FERNANDEZ, Z. 2000. Potencial sinatrópico de mosquitos *Kerteszia* e *Culex* (Diptera: Culicidae) no Sudeste do Brasil. **Rev. Saúde Pública** **34** (6): 565-9.
- GARRET-JONES, C. 1964. The human blood index of malaria vectors in relation to epidemiological assessment. **Bull World organ** **30**: 241-61.
- GILLIES, M.T. 1954. The recognition of age-groups within populations of *Anopheles* by the pre-gravid rate and sporozoite rate. **Ann. Trop. Med. Parasitol.** **48**: 58-74.
- GUIMARÃES, A.E.; GENTILE, C.; LOPES, C.M.; MELLO, R.P. 2000. Ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. II- Habitat distribution. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** **95** (1): 17-28.
- HARBACH, R. & KITCHING, I.J. 1998. Phylogeny and classification of the Culicidae (Diptera) **Syst. Entomol** **23**: 327-370.
- HOC, T.Q. 1996. Application of the ovarian oil injection and ovariolar separation techniques for age grading hematophagous Diptera. **Med. Vet. Entomol.** **4**:227-33.
- HOC, T.Q. & CHARLWOOD, J.D. 1990. Age determination of *Aedes cantans* using the ovarian oil injection technique. **Med. Vet. Entomol.** **33**:290-6.

- HOC, T.Q.; SCHAUB, G.A. 1995. Ovariolar basal body development and physiological age of the mosquito *Aedes aegypti*. **Med. Vet. Entomol.** **9**:9-15.
- 1996. Improvement of techniques for age grading hematophagous insects: ovarian oil-injection and ovariolar separation techniques. **Med. Vet. Entomol.** **33**:286-9.
- HOECK, P.A.E.; RAMBERG, F.B.; MERRILL, S.A.; MOLL, C.; HAGEDORN, H.H. 2003. Population and parity levels of *Aedes aegypti* collect in Tucson. **Journal of vector Ecology** **28** (1): 1-9.
- KAKITANI, I. 1992. **Observações preliminares sobre a paridade de *Anopheles (Kerteszia) cruzii***. Tese de mestrado. Faculdade de Saúde Pública. São Paulo.
- KAKITANI, I.; FORATTINI, O.P. 2000. Paridade e desenvolvimento ovariano de *Anopheles albitarsis* l. s. em área de agroecossistema irrigado. **Rev. Saúde Pública** **34** (1):33-38.
- KAKITANI, I.; UENO, H.M.; FORATTINI, O.P. 2003. Parity and wind impact on the frequency of *Anopheles marajoara* in Brazil. **Rev. Saúde Pública** **37** (3): 280-4.
- KLEIN, T.A.; LIMA, J.B.P. & TODA -TANG, A. 1990. Colonization and maintenance of *Anopheles deaneorum* in Brazil. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** **6**: 510-513.
- LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. & CONSOLI, R.A. 1994. **Principais espécies de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro, FIOCRUZ, 225p.
- LUZ, E.; CONSOLIM, J.; VIEIRA, A.M.; BORBA, A.M. 1979. Alguns aspectos epidemiológicos da persistência de transmissão de malária no litoral paranaense. Idade fisiológica de *Anopheles cruzii* (Diptera: Culicidae). **Arq. Biol. Tecnol.** **22** :63-88.
- LUZ, E.; CONSOLIM, J.; BARBOSA, O.C. TORRES, P.B. 1987. Larvas de *Anopheles (kerteszia)* Theobald 1905 encontradas em criadouros artificiais, no Estado do Paraná, Brasil. **Rev. da Saúde Pública** **21**: 466-8.
- MACIÁ, A. 1997. Age structure of adult mosquito (Diptera: Culicidae) populations from Buenos Aires Province, Argentina. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** **92** (2): 143-149.
- MER, G.G. 1936. Experimental study on the development of the ovary in *Anopheles elutus* Edw. (Diptera: Culicidae). **Bull. Ent. Research** **27**:351-359.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE 2005. Disponível em:  
><http://www.saude.gov.br/svs/epi/malaria/malaria0.htm><. Acesso em: 13 jun. 2005.
- POLOVODOVA, V.P. 1949. The determination of the physiological age of female *Anopheles* by the number of gonotrophic cycle completed. **Med. Parazit.** **18**: 352-355.
- RACHOU, R.G. 1958. Anofelinos do Brasil: comportamento das espécies vetoras de malária. **Rev. Bras. Malariol. Doenças Trop.** **10**:145-181.

- RACHOU, R.G.; RICCIARDI, I. & LUZ, E. 1949. Dispersão ativa e passiva dos anofelinos do sub-gênero *Kerteszia* no Litoral Paranaense. **Rev. Brasil. Malar.** **1** (3): 65-72.
- RACHOU, R.G. & GABERLINI JÚNIOR, J. 1950. Comprovação do *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi* Root, 1926 como vetor de malária no Norte do Paraná. **Rev. Brasil. Malar.** **2** (3): 272-277.
- ROSA – FREITAS, M.G.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; CARVALHO-PINTO, C.J.; FLORES-MENDOZA, C.; SILVA-DO-NASCIMENTO, T.F. 1998. Anopheline species complexes in Brazil. Current knowledge of those related to malaria transmission. **Mem Inst Oswaldo Cruz** **95**: 651-655.
- SALLUM, M.A.M.; SCHULTZ, T.R.; FOSTER, P.G.; ARONSTEIN, K.; WIRTZ, R.A.; WILKERSON, R.C. 2002. Phylogeny of Anophelinae (Diptera: Culicidae) based on nuclear ribosomal and mitochondrial DNA sequence. **Systematics Entomology** **27**: 361-382.
- SANTOS, R.L.C.; FORATTINI, O.P. 1999. Marcação-Soltura-Recaptura para determinar o tamanho da população natural de *Anopheles albitarsis* l. s. (Diptera: Culicidae) in Southeastern Brazil. **J. Med. Entomol.** **39** (6): 926-930.
- SANTOS, R.L.C. 2001. **Medida da capacidade vetorial de *Anopheles albitarsis* e de *Anopheles (Kerteszia)* no Vale do Ribeira, São Paulo.** Tese de doutorado – São Paulo.
- SANTOS, R.L.C.; FORATTINI, O.P.; BURATTINI, M.N. 2002. Laboratory and field observations on duration of gonotrophic cycle of *Anopheles albitarsis* l. s. (Diptera: Culicidae). **Rev. Saúde Pública** **33** (3): 309-13.
- SELLA, M. 1920. Relazione della campagna anti-anofelica di Fiumicino (1919) com speciale riguardo alla biologia degli Anofelied agli Anofeli infetti. **Ann. Igiene** **30**, Suppl.85.
- SERVICE, M.W. 1993. **Mosquito ecology: field sampling methods.** 2º. ed., London, elsevier Applied Science.
- SILVA, S.M. 1990. **Composição florística e fiossociológica de um trecho de floresta de restinga, na Ilha do mel, município de Paranaguá, Pr.** Tese de mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas. São Paulo.
- TADEI, W.P.; SANTOS, J.M.M.; COSTA, W.S.L.; SCARPASSA, V.M. 1988. Biologia de anofelíneos amazônicos. XII. Ocorrência de espécies de *Anopheles*, dinâmica da transmissão e controle da malária na zona urbana de Ariquemes (Rondônia). **Rev. Inst. Med. Trop. de São Paulo** **30** (3): 221-251.

- VELOSO, H.P.; MOURA, J.V.; KLEIN, R.M. 1956. Delimitação ecológica dos anofelíneos do subgênero *Kerteszia* na região costeira do sul do Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** **54**: 517-549.
- VERCRUYSSSE, J. 1985. Estimation of the survival rate of *Anopheles arabiensis* in an urban area (Pikine-Senegal). **J. Anim. Ecol.** **54**: 343-350.
- WILKERSON, R.C.; PEYTON, E.L. 1991. The Brazilian malaria vector *Anopheles (Kerteszia) cruzii*: Life stages and biology (Diptera: Culicidae). **Mosquitoes Systematics** **23** (2): 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
- ZAVORTINK, T.J. 1973. Mosquito studies (Diptera, Culicidae). XXIX. A review of the subgenus *Kerteszia* of *Anopheles*. **Contrib. Am. Entomol. Inst.**, **9** (3): 1-59.