

Ana Caroline Dalla Bona

Mário A Navarro-Silva

Paridade de *Anopheles cruzii* em Floresta Ombrófila Densa no Sul do Brasil

Anopheles cruzii parity in dense rain forest in Southern Brazil

RESUMO

OBJETIVO: Conhecer a paridade e desenvolvimento ovariano da espécie *Anopheles cruzii*, durante os períodos estacionais.

MÉTODOS: As capturas foram realizadas quinzenalmente, no período matutino, de abril/2004 a abril/2005, no Parque Estadual do Palmito, município de Paranaguá litoral do Estado do Paraná. Mosquitos adultos foram capturados usando a técnica pouso homem. As disseções foram feitas utilizando-se a técnica de Detinova e de Polovodova e a avaliação do desenvolvimento folicular, segundo os critérios de Christophers e Mer.

RESULTADOS: Foram dissecadas 208 fêmeas de *Anopheles cruzii*. A maioria das fêmeas dissecadas nas estações eram nulíparas. Sendo que 14,4% eram nulíparas com folículo além do estágio II de Christophers & Mer, o que evidencia o exercício da hematofagia previamente à primeira oviposição. Observou-se que as populações de *Anopheles cruzii* são constituídas de indivíduos jovens, talvez em razão da alta mortalidade de fêmeas paridas.

CONCLUSÕES: A provável discordância gonotrófica das fêmeas dissecadas é importante do ponto de vista epidemiológico, considerando que a fêmea pode procurar mais de um hospedeiro para completar a maturação dos seus ovos.

DESCRITORES: *Anopheles cruzii*. Paridade, fisiologia. Ovários, crescimento e desenvolvimento. Insetos vetores.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To determine the parity and ovarian development of *Anopheles cruzii* species during the seasons.

METHODS: Collections were carried out fortnightly in the morning in the Palmito State Park in the municipality of Paranaguá, Southern Brazil, between April 2004 and April 2005. Adult mosquitoes were captured using human landing rate. Dissections were performed using Detinova's and Polovodova's methods and follicular development was assessed following Christophers and Mer's criteria.

RESULTS: A total of 208 specimens of *Anopheles cruzii* were dissected. Most females dissected were nulliparous in the seasons; 14.4% of them were found to be nulliparous above Christophers and Mer's stage II, which shows previous blood meal prior to the first oviposition. It was observed that *Anopheles cruzii* populations comprised young mosquitoes, probably due to high mortality among parous females.

Departamento de Zoologia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR, Brasil

Correspondência | Correspondence:
Ana Caroline Dalla Bona
Caixa postal 19020
81531-980 Curitiba, PR, Brasil
E-mail: ana.dalla@ig.com.br

Recebido: 26/9/2005 Revisado: 14/4/2006
Aprovado: 12/6/2006

CONCLUSIONS: The likely gonotrophic discordance is epidemiologically relevant because female mosquitoes can search for more than one host to complete the maturation of their eggs.

KEYWORDS: *Anopheles cruzii*. Parity, physiology. Ovary, growth & development. Insect vectors.

INTRODUÇÃO

O conhecimento da composição etária das fêmeas transmissoras de agentes que determinam agravos à saúde humana e animal constitui fator essencial na avaliação de sua capacidade vetora. Estudos dessa composição permitem avaliar a importância epidemiológica do vetor, podendo subsidiar o estabelecimento de medidas para programas de monitoramento entomológico.

A capacidade de um vetor transmitir determinado patógeno é uma interação complexa de muitos fatores, incluindo a densidade do vetor e dos hospedeiros, frequência de hematofagia e a competência de transferir o patógeno,² em articulação com as variáveis ambientais.

A sobrevivência do vetor também se torna fator imprescindível na avaliação da capacidade vetora, pois quanto maior a sobrevivência das fêmeas, maior a probabilidade dessas se infectarem por agentes patogênicos.⁶ Estimar a probabilidade de o vetor sobreviver por um dia implica no conhecimento prévio de sua paridade e duração do ciclo gonotrófico.¹⁰

Nas décadas de 40 e 50, no Estado do Paraná, o *Anopheles cruzii* foi incriminado como vetor do protozoário causador da malária.¹⁴ Nesse período foram produzidos trabalhos voltados para a resolução do problema específico da malária que, em 1944 assumiu graves proporções, atingindo 45% da população litorânea.¹²

Luz et al¹² (1979) conduziram estudos para verificar o grau de paridade de fêmeas capturadas no litoral paranaense e observaram predomínio de fêmeas nuparas de *Anopheles cruzii*, representando cerca de 80%

ou mais dos exemplares examinados. Daí a conclusão de que esse anofelino apresentaria vida curta, e o seu papel como vetor estaria na dependência de elevada densidade populacional.

Em função de alterações ambientais determinadas pelas ações antrópicas e de novos cenários epidemiológicos registrados nos últimos anos, com a reemergência de determinados agravos à saúde, torna-se relevante a atualização de dados referentes à paridade de *Anopheles cruzii*, importante vetor em períodos pretéritos. Assim, o presente trabalho teve por objetivo conhecer a paridade e desenvolvimento ovariano da espécie *Anopheles cruzii*, durante os períodos estacionais.

MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Parque Estadual do Palmito (25°35'S, 48°32'W), com uma área aproximada de 1.780 ha. O Parque está localizado na planície litorânea do Estado do Paraná, município de Paranaguá, distando cerca de 4 km da estrada estadual PR-407, próximo a uma área portuária de importância econômica.

A região de Paranaguá é classificada climaticamente como Af (Koppen), com clima tropical superúmido, sem estação seca, isenta de geadas. A vegetação original desta região é classificada como Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas. Segundo Maack¹³ (1981), a média anual da temperatura em Paranaguá alcança 21,1°C, a média da umidade relativa 84,8% e a precipitação média anual é de 1334,3 mm no verão e 642,1 mm no inverno, sendo que os meses de janeiro e fevereiro são os mais chuvosos.

Em períodos anteriores à implementação do Parque,

Tabela 1 - Média percentual e aritmética simples por estação, das fêmeas de *Anopheles cruzii* e outras espécies de culicídeos. Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná), abril/2004 a abril/2005.

Estações	<i>Anopheles cruzii</i>		Outros culicídeos		Total	
	%	Média	%	Média	%	Média
Outono	12,8	10,7	87,2	72,7	100,0	83,4
Inverno	12,7	7,3	87,3	50,3	100,0	57,6
Primavera	34,2	43,2	65,8	83,0	100,0	126,2
Verão	43,8	33,0	56,2	42,3	100,0	75,3

a vegetação sofreu cortes rasos em diferentes locais para cultivo de mandioca, e estas áreas foram abandonadas durante 14, 27 e 52 anos (ano base de 1997), sendo denominadas de estágio sucessional inicial, intermediário e avançado, respectivamente.³

As coletas foram realizadas na área de estágio sucessional avançado, que possui cerca de 50 espécies arbóreas, de altura média de oito metros, distribuídas em vários estratos e um sub-bosque bastante denso, repleto de bromélias.

O Parque até o início de 2005 estava desativado para a visitação. Porém, com a nova administração, foram abertas trilhas para visitação, atendendo pedido de instituições de ensino fundamental e médio, turistas e outros grupos de visitantes.

As capturas foram conduzidas quinzenalmente, de abril/2004 a abril/2005, com duração de 90 min, no período entre 8:30h e 12h, totalizando aproximadamente 25h de captura. Embora não seja característico para exercício da hematofagia da espécie, esse horário foi estabelecido em coletas preliminares realizadas no local, nas quais foi obtido um número razoável de indivíduos, para o desenvolvimento do trabalho.

As capturas foram realizadas por dois operadores com aspiradores manuais movidos à bateria, acoplados a potes para a retenção dos mosquitos que se aproximavam dos capturadores, antes que as fêmeas realizassem a hematofagia. Em seguida, os mosquitos eram transferidos dos potes para a gaiola e transportados vivos ao laboratório de Entomologia Médica e Veterinária da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba.

A temperatura e a umidade no local foram medidas com auxílio de termohigrômetro digital no início e no final do horário de captura, obtendo-se a média diária para ambos fatores analisados. Foi calculada também a média estacional desses parâmetros ambientais, a saber: 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).

No laboratório, os espécimes *Anopheles cruzii* foram identificados de acordo com Zavortink¹⁸ (1973) e Wilkerson & Peyton¹⁷ (1991). Exemplares de *Anopheles cruzii* foram preservados para depósito na Coleção Entomológica Padre Jesus Santiago Moure (DZUP), do Departamento de Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Procurou-se dissecar o maior número possível de fê-

meas vivas, em condições de análise da morfologia do ovário, no intervalo máximo de até 24 horas após o término da captura. Para as análises das condições fisiológicas foram utilizadas fêmeas com caracteres anatômicos que permitiam o diagnóstico específico com segurança.

Estabeleceu-se a paridade pelas condições dos filamentos traqueolares, utilizando a técnica de Detinova, posteriormente utilizou-se a técnica de Polovodova, para a contagem das dilatações ovariolares. Foram analisados os estádios de desenvolvimento ovariano, de acordo com os critérios preconizados por Christophers & Mer⁵ para indicar se a fêmea realizou o segundo repasto sanguíneo.

Para a interpretação dos resultados segundo a técnica de Polovodova, optou-se pela Escola Clássica, mais consolidada teoricamente, e preconiza que fêmeas oníparas podem ser assim designadas pela observação das dilatações e do saco ovarioles, indistintamente. A Escola Nova propõe que os sacos foliculares não se contraem, não sendo possível correlacionar o número de ciclos gonotróficos com o número de dilatações.⁷

Utilizou-se o teste qui-quadrado para independência com nível de significância 5% para análise da condição parida e não parida.

Para análise de possíveis diferenças entre a condição de paridade em relação às estações do ano, primeiramente realizou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificação de distribuição normal. Confirmada a normalidade, foi realizada análise de variância e Teste de Tukey para diferentes amostras, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Foram capturados 1.530 culicídeos, sendo que 26,2% (401) eram *Anopheles cruzii* e 73,8% (1.129) representam outras espécies, distribuídas entre os gêneros *Runchomyia*, *Wyeomyia*, *Psorophora*, *Aedes* e *Limatus*.

Ocorreu predomínio de *Anopheles cruzii* na primavera seguida do verão, estações que totalizaram 81,0% (325) dos exemplares capturados, enquanto outono e inverno atingiram 19,1% (76). O número de fêmeas dissecadas para análise da paridade atingiu 52% (208) dos exemplares. Foi possível detectar atividade de Anophelinae e Culicini durante todo período de investigação (Tabela 1).

Não foi observada diferença significativa entre as fêmeas paridas e não paridas ($\chi^2=4,86$; graus de liber-

Tabela 2 - Média percentual e aritmética simples por estação, da paridade das fêmeas de *Anopheles cruzii* dissecadas segundo a técnica de Detinova. Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná), abril/2004 a abril/2005.

Estações	Parida		Não parida		Não determinado		%	Total
	%	Média	%	Média	%	Média		
Outono	37,5	3,0	41,7	3,3	20,8	1,6	100,0	8,0
Inverno	21,5	1,0	71,4	3,3	7,1	0,3	100,0	4,7
Primavera	42,3	7,2	45,9	7,8	11,8	2,0	100,0	17,0
Verão	55,8	11,3	42,6	8,6	1,6	0,3	100,0	20,3

dade=3; $p<0,001$). Em relação ao período estacional, ocorreu diferença significativa entre inverno (21,5%) e verão (55,8%) para as fêmeas paridas. Já para as não paridas não ocorreu diferença significativa entre os períodos estacionais (Tabela 2).

De acordo com a técnica de Polovodova, a maioria das fêmeas era nulípara (57,7%), com reduzido número de fêmeas realizando o segundo repasto sanguíneo (1%) (Tabela 3).

Nas estações outono, inverno e primavera houve predomínio de fêmeas nulíparas em estágio I e II de Christophers & Mer. No outono, as nulíparas representaram 41,3%. No inverno, mais da metade das fêmeas coletadas nunca havia ovipostado, e nunca teriam realizado a hematofagia. No verão, apenas 39,4% nunca tiveram contato com o hospedeiro. Do total de fêmeas dissecadas, 14,4% eram nulíparas com folículo além do estágio II de Christophers & Mer, indicando repasto anterior (Tabela 4).

DISCUSSÃO

O presente estudo permitiu conhecer a população de *Anopheles cruzii* com atividade no período matutino. Para esse horário de captura, os anofelinos foram encontrados em número considerável pois segundo

Aragão¹ (1974) o pico de atividade hematofágica dessa espécie ocorre no crepúsculo vespertino.

A elevada quantidade de bromélias no Parque pode estar favorecendo a população de anofelinos, pois eles são associados a formações ricas em bromeliáceas, com diversas capacidades de armazenamento de água.¹⁶

Ocorreu predomínio de *Anopheles cruzii* na primavera e verão. Na planície do litoral do Paraná, o verão se caracteriza por temperaturas elevadas e maior frequência de chuvas, fatores considerados positivos para biologia desta espécie. Guimarães et al⁹ (2001) também observaram maior abundância de *Anopheles cruzii* nessas estações, entre os meses de outubro e fevereiro.

Ambas condições fisiológicas foram presentes ao longo de toda investigação, indicando reposição com intensidade variável de fêmeas recém emergidas na população. Entre as fêmeas paridas, ou seja, que já exerceram hematofagia, houve número significativamente maior no verão em relação ao inverno. Este resultado pode indicar mudança na composição da idade fisiológica da população ou maior disponibilidade de hospedeiro para o exercício de hematofagia durante o verão.

Tabela 3 - Distribuição do número absoluto e percentagem da paridade de *Anopheles cruzii* por estação e ao longo do ano, segundo a técnica de Polovodova. Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná), abril/2004 a abril/2005.

Estações	Nulípara		Unípara		Bípara		Não determinado	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Outono	28	23,5	9	18	1	50	10	28
Inverno	9	7,5	3	6	0	0	2	5,5
Primavera	46	38	20	40	1	50	18	50
Verão	37	31	18	36	0	0	6	16,5
Total do ano	120	57,7	50	24	2	1	36	17,3

Tabela 4 - Distribuição da média percentual e aritmética simples de fêmeas de *Anopheles cruzii*, por estação anual, distribuição de média percentual e número absoluto no total do ano, pelos critérios de Christophers, Mer e Polovodova. Floresta Estadual do Palmito (Paranaguá, Paraná), abril/2004 a abril/2005.

Estações	Nulípara		Estádio I e II				Estádio III a V				Não determinado		Total			
	%	Média	%	Média	%	Média	%	Média	%	Média	%	Média				
Outono	41,3	3,3	6,2	0,5	0	0	16,3	1,3	8,7	0,7	2,5	0,2	25,0	2,0	100,0	8,0
Inverno	57,4	2,7	21,3	1,0	0	0	6,4	0,3	0	0	0	0	14,9	0,7	100,0	4,7
Primavera	44,7	7,6	16,5	2,8	0	0	9,4	1,6	7,0	1,2	1,2	0,2	21,2	3,6	100,0	17,0
Verão	39,4	8,0	26,1	5,3	0	0	21,2	4,3	3,4	0,7	0	0	9,9	2,0	100,0	20,3
Total do ano	43,3	90,0	17,3	36,0	0	0	14,4	30,0	5,7	12,0	1,0	2,0	18,3	38,0	100,0	208,0

Segundo a técnica de Polovodova, a maior frequência de fêmeas nulípara pode indicar produção em escala contínua de mosquitos, ou ainda, alta mortalidade de fêmeas paridas.

Kakitani et al¹¹ (2003) trabalhando com *Anopheles marajoara* no Estado de São Paulo, encontraram que aproximadamente 50% das fêmeas dissecadas eram oníparas, resultado associado à longevidade deste anofelino. Já em fêmeas de *Anopheles darlingi* do Norte do Mato Grosso no Brasil, foram detectadas até seis oviposições.⁴ Esses trabalhos seguiram a interpretação da Escola Clássica, mostrando que algumas espécies de *Anopheles* podem ter longevidade suficiente para ovipor várias vezes durante o ciclo de vida.

A elevada percentagem de fêmeas de *Anopheles cruzii* com folículos nos estádios I e II de Christophers & Mer indica que elas estavam na primeira tentativa hematófaga para dar continuidade à maturação dos seus ovos.

Kakitani & Forattini¹⁰ (2000) também encontraram elevada percentagem de fêmeas com folículos no estágio I e II de Christophers & Mer para as espécies do complexo *Anopheles albitarsis*, indicando ser esta a primeira tentativa hematófaga para dar início a um ciclo gonotrófico.

Foram encontradas 14,4% das fêmeas nulíparas além do estágio II de Christophers & Mer, indicando a ten-

tativa de realizar hematofagia pela segunda vez dentro de um mesmo ciclo. Esse fato permite levantar a provável existência da discordância gonotrófica, ou seja, a fêmea pode realizar dois ou mais repastos sanguíneos para iniciar a postura de seus ovos.

Dados obtidos por Forattini et al⁸ (1996) com o uso de isca humana, em Cananéia, também relatam que mais de 30% dos espécimes de *Anopheles cruzii* e *Anopheles bellator* dissecados devem ter realizado previamente pelo menos um repasto sanguíneo. Isto é, os autores já haviam sugerido discordância gonotrófica.

No entanto, o presente trabalho se restringe ao período matutino, podendo haver possibilidade de variação horária na paridade do *Anopheles cruzii*. Tal variação foi observada em *Anopheles arabiensis*, na Etiópia, onde a maior taxa de paridade foi detectada durante a madrugada, após as duas horas até as seis horas da manhã.¹⁵

Diante dos resultados, a área da Floresta Estadual do Palmito oferece condições adequadas para o desenvolvimento da espécie *Anopheles cruzii*, durante todo o ano e com elevada densidade, principalmente em períodos com fatores climáticos mais favoráveis para o seu desenvolvimento. A provável discordância gonotrófica das fêmeas dissecadas é importante do ponto de vista epidemiológico, considerando que a fêmea provavelmente utiliza mais de um hospedeiro para completar a maturação dos seus ovos.

REFERÊNCIAS

1. Aragão MB. O comportamento dos anofelinos do subgênero *Kerteszia*, no sul do Brasil e o efeito do inseticida DDT. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1974;72:147-72.
2. Black WC, Moore CG. Population biology as a tool for studying vector-borne diseases. In: Beaty BJ, Marquardt MC, editors. *The biology of disease vectors*. Niwot (CO): University of Colorado; 1996. p. 393-416.
3. Boeger MR, Wisniewski C. Estrutura e teores de nutrientes foliares de seis espécies arbóreas ao longo de um gradiente sucessional da planície litorânea do estado do Paraná, Brasil. *Iheringia*. 2002;57:243-62.
4. Charlwood JD, Wilkes TT. Studies on the age-comparison of samples of *Anopheles darlingi* Root (Diptera: Culicidae) in Brazil. *Bull Entomol Res*. 1979;69:337-42.
5. Charlwood JD, Rafael JA, Wilkes TJ. 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 Amaz*. 1980;10:311-33.
6. Fernandez Z, Forattini OP. Sobrevivência de populações de *Aedes albopictus*; idade fisiológica e história reprodutiva. *Rev Saúde Pública*. 2003;37:285-91.
7. Forattini OP. *Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia*. São Paulo: Edusp; 2002. v. 2.
8. Forattini OP, Kakitani I, Massad E, Marucci D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment: biting activity and blood-seeking parity of *Anopheles* (*Kerteszia*) in South-Eastern Brazil. *Rev Saúde Pública*. 1996;30:107-14.

9. Guimarães AE, Gentile C, Lopes CM, Sant'Anna A. Ecologia de mosquitos em áreas do Parque Nacional da Serra da Bocaina: frequência mensal e fatores climáticos. *Rev Saúde Pública*. 2001;35:392-9.
10. Kakitani I, Forattini OP. Paridade e desenvolvimento ovariano de *Anopheles albitarsis* l.s. em área de agroecossistema irrigado. *Rev Saúde Pública*. 2000;34:33-8.
11. Kakitani I, Ueno HM, Forattini OP. Paridade e influência do vento sobre a frequência de *Anopheles marajoara*, São Paulo. *Rev Saúde Pública*. 2003;37:280-4.
12. Luz E, Consolim J, Vieira AM, Borba AM. Alguns aspectos epidemiológicos da persistência de transmissão de malária no litoral paranaense: idade fisiológica de *Anopheles cruzii* (Diptera: Culicidae). *Arq Biol Tecnol*. 1979;22:63-88.
13. Maack R. Geografia física do estado do Paraná. Curitiba: J Olympio; 1981.
14. Rachou RG. Anofelíneos do Brasil: comportamento das espécies vetoras de malária. *Rev Bras Malariol Doenças Trop*. 1958;10:145-81.
15. Taye A, Hadis M, Adugna N, Tilahun D, Wirtz RA. Biting behavior and plasmodium infection rates of *Anopheles arabiensis* from Sille, Ethiopia. *Acta Trop*. 2006;97:50-4.
16. Veloso HP, Moura JV, Klein RM. Delimitação ecológica dos anofelíneos do subgênero *Kerteszia* na região costeira do sul do Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1956;54:517-49.
17. Wilkerson RC, Peyton EL. The Brazilian malaria vector *Anopheles (Kerteszia) cruzii*: life stages and biology (Diptera: Culicidae). *Mosq Syst*. 1991;23:110-22.
18. Zavortink TJ. Mosquito studies (Diptera, Culicidae): a review of the subgenus *Kerteszia* of *Anopheles*. *Contrib Am Entomol Inst*. 1973;9:1-54.