**Paridade e desenvolvimento ovariano de
Ochlerotatus scapularis (Diptera Culicidae)
em condições de laboratório e de campo
na região do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil**

Juliana Telles de Deus

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Saúde Pública da
Faculdade de Saúde Pública da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Mestre em Saúde Pública.

Área de Concentração: Epidemiologia
Orientadora: Profa. Dra. Iná Kakitani

**São Paulo
2005**

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores.

Assinatura:

Data: São Paulo, 4 de fevereiro de 2005.

45801/2005 doc

Aos Meus Pais

À minha avó Geny

Com Carinho

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Iná Kakitani, pela orientação e dedicação na realização deste trabalho com o qual espero ter contribuído (mesmo de forma singela) a continuidade da sua linha de pesquisa.

Ao membro da banca examinadora da qualificação Professor Catedrático Oswaldo Paulo Forattini, por valiosas sugestões e pela inspiração que incutiu em mim na escolha da espécie estudada, quando se referiu a ela com tanto entusiasmo. Aos membros da banca examinadora, Professor Livre Docente Délsio Natal e Dra. Regiane Maria Tironi de Menezes, pelas correções preciosas. Com os quais tenho muito a aprender.

À equipe de campo do posto de Pariquiera-Açu, Chico, Décio, Jair, Luís, Roberto e Ruy, pelo empenho em dias de sol e chuva.

Aos funcionários do laboratório da Faculdade de Saúde Pública, Aristides Fernandes, Justiniano Cunha e Rosa Sá, pelo auxílio na criação dos mosquitos e, principalmente, pelo apoio em diversas circunstâncias, durante os 3 anos de trabalho. Ao Ari, também, pelas aulas impagáveis de identificação de mosquitos.

À Dra. Rosa Maria Tubaki, pesquisadora que me iniciou no estudo dos culicídeos, com muita paciência e préstimo. Ao Dr. Cláudio Casanova e ao Dr. Ismael Paulino da Costa, por despertar em mim o gosto pelo trabalho de campo. Não poderia deixar de agradecer também a Dra. Edna Clara Tucci que me acolheu e mostrou parte do mundo bonito dos insetos.

À bióloga da FSP e aluna de doutorado Márcia Bicudo de Paula, pelas importantes considerações, sempre encontrando um tempo para ajudar.

Às amigas da época do laboratório da Sucen e de sempre, Andréa Stangarlin, Cidinha, Márcia Gutierrez (Marcinha) e Renata Ramos (BB), pela torcida e afeto demonstrados.

Aos amigos, cada qual com suas singularidades, que muito me ajudaram: André Consone (e sua autenticidade), Camila Talassi (objetividade), Cássia Cândido (alegria contagiante), Cintia Galina (amiga pra toda a vida), Daniel Wainstein (de olhar sempre gentil), Flávia Luna (correta e leal), Igor (carinhoso), Ivan (sempre com algo bom a dizer), Izilda (delicadeza), Kátia Iwata (agitada e disposta), Lígia Serpa (observadora), Lu Crê (espontânea), Maira (com muita paciência), Marcelo Sciarretta (companheiro desta jornada), Márcio Vitiello (amigão pra todas as horas), Míriam Torriço (Miroca, menina estudiosa que me trouxe a FSP), Odete (fé na vida), Rita de Cássia (lutadora), Rogério (amigo dos bons), Rosana (moça pra cima), Thais Brandini (pelo auxílio de muitas horas) e Thaís Cândido (Thá, colorindo a vida de rosa).

Agradeço também à amiga Helene Mariko Ueno (Lê) pela amabilidade e generosas contribuições, incluindo a confecção do Summary deste trabalho. Ao Luís Eduardo Castello Branco, pela correção ortográfica e amizade.

Ao Daniel Flores, pela atenção e também pelas revelações de parte das fotos. À Dora, por suas doces palavras. Ao Rodrigo Sportello, que me socorreu em momentos cruciais. À Maria Lúcia e demais funcionários da biblioteca da FSP, o meu agradecimento.

Aos familiares, em especial aos meus pais, Newton de Deus e Lídice Telles de Deus pelo amor, apoio e acima de tudo compreensão! Ao meu irmão Ricardo, exemplo para mim por várias razões, desde a seriedade ao trabalho até o bom humor com que leva a vida. Agradeço também à Adriana Maria Pachioni por todo o carinho, à tia Cristina Telles pelo zelo de sempre e ao Dênis (o preferido da vó e da prima) pelo incentivo. E, principalmente, à querida vovó Geny, que tanto rezou por esta neta! Aos demais familiares não citados mas não esquecidos desta grande família, o meu muitíssimo obrigada.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pelo apoio financeiro durante parte da execução deste trabalho. Esta dissertação teve apoio financeiro da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) – Projeto Temático nº 99/10517-1

RESUMO

Deus JT de. **Paridade e desenvolvimento ovariano de *Ochlerotatus scapularis* (Diptera Culicidae) em condições de laboratório e de campo na região do Vale do Ribeira. São Paulo, Brasil.** São Paulo; 2004. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

Objetivo. Identificar o estado de paridade em fêmeas de *Ochlerotatus scapularis* em condições de laboratório e campo. Das fêmeas coletadas em campo, determinar o grau de paridade considerando sua importância epidemiológica como possível transmissor de patógenos. **Métodos.** O trabalho foi dividido em duas partes: no campo foram realizadas coletas quinzenais no Vale do Ribeira de abril de 2003 a março de 2004, utilizando-se a técnica da aspiração manual. No laboratório, 100 fêmeas (F1) de *Ochlerotatus scapularis* foram criadas e observadas individualmente anotando-se o número de repastos por elas realizados, duração do ciclo gonotrófico e número de ovos colocados. A observação do estado de paridade e desenvolvimento ovariano foi feita através da dissecação dos ovários de 90 fêmeas, por coleta, e de todas as fêmeas criadas. **Resultados.** Das 100 fêmeas mantidas em laboratório e dissecadas, o diagnóstico de condição de paridade conferiu com os resultados constatados em 55% dos casos, sendo subestimados em 37% e superestimados em 2%. Ainda em laboratório, de 106 ciclos gonotróficos completados, cerca de 55% das fêmeas necessitaram de mais de um repasto sanguíneo antes de ovipor, indicando uma possível discordância gonotrófica para a espécie. Sob condições laboratoriais observou-se uma sobrevivência de até 26 dias para a espécie. Foram dissecadas 1180 fêmeas de *Oc. scapularis* do campo: 418 (35,4%) foram consideradas nulíparas, 655 (55,5%) uníparas, 46 (3,9%) como bíparas e 61 (5,2%) não puderam ser avaliadas. Foi observado que 90 fêmeas apresentavam-se na fase III-V de Christopher e Mer, reforçando a hipótese de discordância gonotrófica. A variável estado de paridade variou ao longo do ano. **Conclusões:** Observando fêmeas de *Oc. scapularis* no campo e laboratório, confirmamos a hipótese de discordância gonotrófica.

Descritores: Paridade, desenvolvimento ovariano, *Ochlerotatus scapularis*.

SUMMARY

Deus JT de. **Paridade e desenvolvimento ovariano de *Ochlerotatus scapularis* (Diptera Culicidae) em condições de laboratório de campo na região do Vale do Ribeira. São Paulo, Brazil.** [Parity and ovarian development of *Ochlerotatus scapularis* (Diptera: Culicidae) in laboratory and field conditions in Vale do Ribeira region. Sao Paulo, Brazil]. Sao Paulo (BR); 2004. [M. Sc. Dissertation – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Brazil].

Objective. Identify the parity status of *Ochlerotatus scapularis* females in laboratory and field conditions. Regarding the field females, to determine the parity degree, considering this species epidemiologic importance as a possible pathogens vector.

Methods. The research has two parts: field collections every 15 days were carried out in Vale do Ribeira from April 2003 to March 2004, using a hand-held aspirator. In laboratory, 100 *Ochlerotatus scapularis* F₁ females were obtained and followed up individually, reporting the number of blood meals, the length of gonotrophic cycle and survival. The parity status and the ovarian development were observed through ovarium dissection of 90 field females for each collection and all females reared in laboratory.

Results. The parity status diagnoses of the 100 females reared in laboratory and dissected were according to 55% of the oviposition data, were underestimated in 37% and overestimated in 2%. Also in the laboratory, 106 gonotrophic cycles were completed, around 55% of females needed more than one blood meal before laying eggs. Under laboratory conditions, the females survived for up to 26 days. 1180 field females of *Ochlerotatus scapularis* were dissected: 418 (35,4%) nulliparous, 655 (55,5%) uniparous, 46 (3,9%) biparous and 61 (5,2%) could not be evaluated. We observed that 90 field females were found in Christopher and Mer phase III-V. **Conclusions.** Based on field and laboratory observations on *Ochlerotatus scapularis* females, we confirm the gonotrophic discordance hypothesis. The qualitative variable of parity status differed significantly throughout the year.

Descriptors. Parity. Ovarian Development. *Ochlerotatus scapularis*.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Determinação da idade de culicídeos	1
1.2 Diagnóstico de paridade segundo Escola Clássica e Escola Nova	3
1.3 <i>Ochlerotatus scapularis</i>	5
2. OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral	10
2.2 Objetivos específicos	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 Laboratório	11
3.1.1 Técnica de dissecação dos ovários	11
3.2 Campo	14
3.2.1 Área de estudo	14
3.2.2 Captura	17
3.3 Análise de dados	19
4. RESULTADOS	20
4.1 Laboratório	20
4.1.1 Frequência de oogênese abortiva e normal em condições de laboratório	20
4.1.2 Frequência de oviposição e média de ovos colocados	24
4.1.3 Verificação do diagnóstico de condição de paridade	26
4.1.4 Relação entre repasto sangüíneo e ciclo gonotrófico	27
4.1.5 Intervalo entre repastos	29
4.1.6 Sobrevivência de fêmeas de <i>Ochlerotatus scapularis</i>	29
4.2 Campo	31
5. DISCUSSÃO	33
5.1 Frequência de oogênese normal e abortiva	34
5.2 Número de oviposições e média de ovos colocados	36
5.3 Diagnóstico e condição de paridade	37
5.4 Relação entre repasto sangüíneo e ciclo gonotrófico	39

5.6 Sobrevivência	40
6. CONCLUSÕES	42
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
8. REFERÊNCIAS	45
ANEXOS	
Anexo 1 – Tabelas com os dados de laboratório	A1
Anexo 2 – Procedimento com o material de campo	A13

1. INTRODUÇÃO

1.1 Determinação da idade de culicídeos

A determinação da idade de fêmeas de insetos não é interesse puramente do estudo ecológico, trata-se de um parâmetro importante para estimar o índice de mortalidade da população. Quando tratamos de insetos vetores de doenças, tal dado alcança maior relevância. A longevidade das fêmeas de mosquito é fator que influencia a sua eficácia epidemiológica, assim quanto maior sua idade fisiológica, maior é a oportunidade do mosquito entrar em contato com o agente infeccioso (FORATTINI 1962; 2002).

O estudo da composição etária é importante para a avaliação da capacidade vetora de culicídeos que está diretamente ligada à densidade, proporção de picadas, antropofilia e sobrevivência da população. Sua sobrevivência pode ser estimada por meio da determinação da paridade e dos ciclos gonotróficos desenvolvidos pelas fêmeas. Essas informações são importantes para se ter uma estimativa da oportunidade de contato com o agente etiológico (KLOWDEN e BRIEGEL 1994). Entende-se por ciclo gonotrófico o período que vai da procura pelo repasto sanguíneo, até a oviposição (FORATTINI 1962).

A estimativa da idade dos Culicidae pode seguir critérios como a avaliação do desgaste das asas (PERRY 1912 apud FORATTINI 1962), porém, sabe-se que influências externas atuam na descamação do inseto, o que então prejudica a eficiência

desse método. Outros métodos também podem ser utilizados na determinação da idade fisiológica desses dípteros, conforme coloca CHARLWOOD *et al.* (1980): presença de ovos retidos, presença de ácaros fixados às fêmeas, tamanho da ampola dos ovários, mas o método mais eficiente se refere ao exame do aparelho reprodutor feminino.

O aparelho reprodutor das fêmeas, ao longo da oogênese, sofre modificações irreversíveis que podem indicar a sua idade fisiológica. O ovário possui uma rede de traquéias e traquéolas, estas quando enoveladas, indicam a condição de fêmea nulípara. Com o início da oogênese, os ovários aumentam em tamanho e o enovelado vai se distendendo e se desfazendo de forma irreversível, apresentando-se totalmente desenrolado ao fim da primeira oogênese, constituindo uma rede de finas traquéolas (DETINOVA 1962). Entretanto, há evidências de uma condição intermediária, onde poucos filamentos apresentam-se desenrolados (KARDOS e BELLAMY, 1961). De qualquer maneira, este método permite distinguir a proporção de fêmeas oníparas na população, porém não distingue o grau de paridade (FORATTINI 2002). A observação das traquéolas é muito utilizada quando se pretende dissecar número grande de insetos, porém não pode ser utilizada para observar a estrutura da idade cronológica de uma população (CHARLWOOD *et al.* 1980).

Já o método de Polovodova, descrito por Gillies e Wilkes (CHARLWOOD *et al.* 1980), consiste na observação das dilatações foliculares no pedicelo ovarioles formadas após cada postura e, assim, podemos associar o número de dilatações ao seu grau de paridade.

1.2 Diagnóstico de paridade segundo Escola Clássica e Escola Nova

A relação entre o estado de paridade de culicídeos e seu contato com o hospedeiro gerou o que se chama de taxa para diagnósticos de paridade, que é muito útil na epidemiologia de algumas doenças (FOX e BRUST 1994).

Após a oviposição, o ovariolo apresenta seu tubo folicular distendido com paredes frouxas, sendo então chamado de saco ovariolar. As Escolas Clássica e Nova discordam quanto à interpretação deste saco ovariolar.

Segundo premissa da Escola Clássica, originada por Polovodova (CHARLWOOD *et al.* 1980), o saco ovariolar é, em poucas horas ou dias, contraído formando um vestígio de sua existência, representado por uma dilatação folicular que permanece mesmo com a postura subsequente. Assim, de acordo com a interpretação desta Escola, contando-se o número de dilatações ocorridas num mesmo ovariolo, chega-se ao número de ciclos ovarianos completados por aquela fêmea. Quando apenas uma dilatação é encontrada, considera-se a fêmea como unípara. Havendo duas dilatações, esta será bípara e assim por diante (FORATTINI 2002).

Para a Escola Nova, as dilatações só ocorrem quando a oogênese for abortiva, ou seja, a ovulação resulta somente na formação de um saco terminal. Para ser considerado como “ovariolo diagnóstico”, assim chamado por FOX e BRUST (1994), o ovariolo precisa cumprir oogêneses abortivas em cada ciclo. Portanto, se as oogêneses forem todas normais, o ovariolo apresentará um saco ovariolar ou vestígio deste, e esta fêmea será considerada unípara, mesmo se tiver realizado múltiplas oviposições. Neste

caso, se o pesquisador fosse considerar a interpretação da Escola Clássica, poderia avaliar como ausência de fêmeas multíparas na população, o que não corresponderia à realidade. Quanto mais ciclos normais, a fêmea tiver realizado, menor a proporção de ovários diagnósticos (que poderiam ser indicadores de ciclos gonotróficos) (HOC e CHARLWOOD 1990; FOX e BRUST 1994).

Ambas as Escolas concordam sobre a existência da oogênese abortiva. Ainda para a Escola Nova, o diagnóstico para fêmeas que apresentam saco ovariole é de uniparidade, considerando que ela desenvolveu uma oogênese normal, ou seja, que resultou em oviposição. As dilatações são consideradas de natureza abortiva, representando a degeneração folicular; quando se observa uma dilatação e saco ovariole, a fêmea é considerada bípara (pois duas oogêneses foram realizadas) (FORATTINI 2002).

Apesar das dilatações ovarioles representarem (para a Escola Nova) oogêneses abortivas, este resultado interessa no estudo da capacidade vetora. FOX e BRUST (1994) consideram que, ocorrendo uma oogênese normal ou abortiva, houve pelo menos um repasto sanguíneo, representando um ciclo - é o que denominaram "ovário diagnóstico", referindo-se ao ovário que apresenta alterações que permitam estimar o estado de paridade da fêmea, seja formação do saco ovariole ou dilatação folicular. Num segundo ciclo, a avaliação só valerá para os ovários com oogêneses abortivas, assim, todos os ovários devem ser examinados para o diagnóstico ovariole.

O método de Polovodova exige destreza para a dissecação. HOC e CHARLWOOD (1990) descreveram a técnica da injeção de óleo no oviduto comum, que provoca o intumescimento do ovário e conseqüentemente torna os ovários mais

evidentes. A técnica visa a facilitar a observação das dilatações ovariolares. Neste trabalho, os autores identificaram quatro tipos de ovários. O primeiro com oogênese normal, apresentando saco ovariole; o segundo apresenta dilatação distal e saco ovariole; o terceiro mostrando dilatação basal onde somente dilatações foram encontradas (sem vestígio de saco ovariole), o que consideraram como tendo havido degeneração em todos os ciclos; por último, observaram o chamado ovário anão (“dwarf ovariole”) descrito anteriormente por DETINOVA (1962) e que SOKOLOVA (1994) chamou de ovários diminutos (“diminutive ovarioles”). Os ovários anões possuem folículos não desenvolvidos completamente, podendo ser confundidos com dilatações, porém se distingue dos outros pelo tamanho pequeno e através do comprimento do pedicelo entre estas “dilatações”.

SERVICE (1993) testou sem sucesso a injeção de outros óleos no oviduto ovariole na tentativa de diminuir as dificuldades da prática. Usou para isso a mesma espécie (*Aedes cantans*) que HOC e CHARLWOOD (1990) utilizaram em seu trabalho.

1.3 *Ochlerotatus scapularis*

O subgênero *Ochlerotatus* foi elevado a gênero por REINERT (2000), que se baseou nas características morfológicas da genitália masculina e feminina, entre outras. As abreviações das espécies de culicídeos seguiram critérios revisados por REINERT (2001).

Oc. scapularis possui ampla distribuição no continente americano, com predominância neotropical, e maior frequência na América do Sul (CONSOLI e LOURENÇO-DE-OLIVEIRA 1994; FORATTINI 2002). Cria-se em coleções líquidas no solo, temporárias ou semipermanentes, formadas após chuvas. Além de poças de água doce, também podem servir como criadouros escavações ocorridas em pedras (FORATTINI 2002).

CASANOVA (1994) e CASANOVA e PRADO (2002) mostraram a relação direta entre excedente hídrico e formação de criadouros propícios ao desenvolvimento completo dos *Oc. scapularis* e a ausência de criadouros em períodos de déficit hídrico. As populações desta espécie podem então ser controladas, em parte, naturalmente pela ação conjunta da ação do tempo e a presença de predadores nos criadouros naturais. Ainda sobre o desenvolvimento das formas imaturas, a espécie foi encontrada em recipientes artificiais como latas e plásticos abandonados (SILVA e MENEZES 1996; FORATTINI *et al.* 1997).

A espécie apresenta, segundo KAKITANI *et al.* (2003), considerável densidade com pico de atividade no pós-crepúsculo vespertino até às 20h. Após este horário, ocorre uma diminuição em quantidade, e apresentando ligeiro aumento novamente no pré-crepúsculo matutino (FORATTINI e GOMES 1988, FORATTINI *et al.* 2000).

FORATTINI *et al.* (1986) mencionaram a presença constante de *Oc. scapularis* no Vale do Ribeira, em ambiente antrópico. Esta espécie demonstra a adaptação ao ambiente extraflorestal artificialmente modificado. A hipótese de adaptação secundária dessa espécie ao ambiente antrópico ficou confirmada ao se encontrar criadouros

artificiais dos mesmos nos, Municípios de Ilha Comprida e de Pariqueira-Açu (FORATTINI *et al* 1997). Tal proximidade do mosquito com a população humana pode gerar, segundo FORATTINI *et al.* (1986), “implicações epidemiológicas na transmissão de agentes infecciosos à população humana”. Tal afirmação é recolocada pelo autor e colaboradores que constataram a presença (da população) de *Oc. scapularis* em núcleo habitado, fazendo ressalva sobre o “interesse epidemiológico no caso das arbovirose” (FORATTINI *et al.* 2000).

As fêmeas, vorazes, tendem a se alimentar de mamíferos de grande porte incluindo o homem (FORATTINI 2002), esta tendência foi reforçada por (GOMES *et al.* 2003) que verificaram a predominância de sangue de gado e cachorros em fêmeas ingurgitadas. No entanto, há evidências de repastos mistos em homem animais sendo que para a espécie supracitada, 7 reações mistas foram constatadas. A alimentação eclética pode ser fator importante, na transmissão de agentes infecciosos, sugerindo importância epidemiológica (FORATTINI *et al.* 1987).

Com o surto epidêmico de Encefalite Rocio em 1975 e 1976, a Região do Vale do Ribeira despertou interesse para o estudo da doença, sendo que mais de mil pessoas foram acometidas e houve uma centena de óbitos (IVERSON 1989). FORATTINI (1978b) levantou a hipótese da participação dos mosquitos Culicidae na transmissão domiciliar, sendo que nestes ambientes alterados com registros de casos clínicos, *Oc. scapularis* e *Culex (Melanoconion) sp* foram os representantes mais abundantes.

A competência vetora do *Oc. scapularis* para o vírus Rocio (ROC) foi testada por MITCHELL *et al.* (1986). Os autores verificaram que *Psorophora ferox* e *Oc.*

scapularis de regiões endêmicas do Estado de São Paulo foram suscetíveis para a infecção do vírus e capazes de transmiti-lo, se passarem pelo período apropriado de incubação após picada.

Considerando o comportamento da população de *Oc. scapularis* na região epidêmica, e os resultados obtidos em infecção experimental, FORATTINI *et al.* (1995) concluíram a capacidade epidemiológica vetora para o vírus ROC. Apesar do último caso clínico da doença em humano ter ocorrido em 1976, IVERSON *et al.* (1989) sugerem que o vírus continuou a circular entre a população humana na região, este dado foi confirmado num inquérito soropidemiológico, publicado por ROMANO-LIEBER e IVERSON (2000), quando observaram a presença de anticorpos para este e outros arbovírus em moradores de reserva ecológica no Vale do Ribeira.

Oc. scapularis também já foi incriminado como vetor de *Wuchereria bancrofti* no Estado de Santa Catarina. É considerado vetor primário da *Dirofilaria immitis* no Sudeste do Brasil, já que foi encontrado naturalmente infectado em regiões do Estado do Rio de Janeiro (LOURENÇO-DE-OLIVEIRA e DEANE 1995, LABARHE *et al.* 1998). Este filarídeo acomete populações de cães domésticos e outros mamíferos, sendo a dirofilariose considerada uma zoonose emergente (CONSOLI e LOURENÇO-DE-OLIVEIRA 1994; AHID e LOURENÇO-DE-OLIVEIRA 1999; FORATTINI 2002,).

MENEZES (2002) encontrou fêmeas de *Oc. scapularis* nas fases III, IV e V do desenvolvimento folicular com o intestino médio totalmente cheio de sangue vermelho representando, segundo a autora, um indício de discordância gonotrófica, indicando que essas populações podem realizar mais de um repasto sangüíneo antes de completar o

ciclo gonotrófico. Um número maior de repastos sangüíneos significa maior oportunidade de contato entre mosquito e o arbovírus.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Identificar o estado de paridade em fêmeas de *Oc. scapularis* em condições de laboratório e campo. Das fêmeas coletadas em campo, determinar o grau de paridade, considerando sua importância epidemiológica.

2.2 Objetivos Específicos

Em laboratório:

- avaliar o diagnóstico da paridade com as observações feitas em laboratório;
- verificar a ocorrência ou não da concordância gonotrófica em *Oc. scapularis*;
- avaliar a sobrevivência de fêmeas de *Oc. scapularis*.

Dados do campo:

- verificar a ocorrência de oogênese abortiva e normal de fêmeas de *Oc. scapularis* segundo a interpretação da Escola Nova.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi dividido em duas etapas, sendo que uma parte foi realizada no laboratório de Culicidologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo e a outra no campo em três localidades escolhidas no Vale do Ribeira.

3.1 Laboratório

3.1.1 Técnica de dissecação dos ovários

Para se conhecer o desenvolvimento dos folículos ovarianos e paridade das fêmeas, foi adotada a técnica de Polovodova (DETINOVA 1962, 1968). Esta consiste na dissecação do abdômen do mosquito e separação dos ovários, que são distendidos a fim de observar os ovariolos individualmente.

As fêmeas já individualizadas por Borrel (tubo de vidro com 9,5 cm de altura x 4 cm de diâmetro) eram anestesiadas com éter, colocadas sob lâmina e, com o auxílio de dois estiletes e lupa seguia-se primeiramente a separação do abdômen do resto do corpo, este era descartado. Sobre uma gota d'água as estruturas eram pinçadas por meio do último esternito. Visualizados os dois ovários, estes eram separados das demais estruturas.

Em seguida os ovários eram distendidos até que todos os ovariolos estivessem separados. Este processo não poderia demorar mais que alguns minutos, pois, do contrário, as estruturas ressecariam na lâmina, prejudicando a observação.

Depois deste procedimento, a lâmina era levada ao microscópio óptico onde era observada com um aumento de 400 vezes. Todos os ovários foram analisados e diagnosticados segundo a Escola Nova, ou seja, encontrando-se um ou mais ovário com saco ovariano, esta fêmea era considerada como unípara. Quando encontrada uma dilatação e um saco ovariano no mesmo ovário, a fêmea era então considerada como bípara (com uma oogênese normal e uma abortiva). Após a anotação do resultado, a lâmina era descartada (ou fotografada e arquivada).

Fêmeas de *Oc. scapularis* capturadas em Cananéia foram mantidas em laboratório para a obtenção de fêmeas F1. Os mosquitos coletados foram levados ao laboratório e mantidos em gaiolas dentro de estufa à temperatura de 26°C a 28°C com umidade relativa (UR) de 80%. As fêmeas eram individualizadas em Borrel preparado com algodão e papel filtro umedecido, sendo depois fechado por uma tela de nylon fina presa com elástico. Foi oferecido a cada fêmea o repasto sanguíneo. Os insetos foram mantidos em estufa com UR de 80% até a oviposição, após a qual aguardava-se 2 ou 3 dias para o “amadurecimento” dos ovos, quando esses eram colocados em uma placa de gesso úmido com o auxílio de um pincel.

Os ovos ficaram armazenados na placa de gesso até o momento de serem colocados em recipiente plástico (40 cm x 27 cm x 5 cm) para a eclosão, onde foi adicionada água destilada com cloreto de sódio e alimento para peixe (Tretamin®). O desenvolvimento dos imaturos era acompanhado diariamente e, a cada dia, separavam-se as pupas que eram levadas às gaiolas (onde foram colocadas anotações sobre a origem dos ovos e idade das pupas).

Nas gaiolas havia oferta de alimento à base de solução de água e açúcar a 10%, através de uma “bolota” feita de algodão envolta por gaze.

Assim que os adultos emergiam, aguardavam-se dois dias para isolar as fêmeas em Borrel. A partir da observação dessas fêmeas é que pudemos seguir com a parte laboratorial da pesquisa, com a segurança de trabalharmos com material de origem e idade conhecida.

Os recipientes com as fêmeas foram etiquetados, enumerados, e a elas foi ofertado fonte de sangue para o repasto. As anotações eram feitas diariamente com as seguintes considerações: quando havia se transformado em pupa, data de cada repasto ou a recusa por ele, data de oviposição, número de ovos e morte. Estes dados constam na tabela 1 e quadro 1 (anexo 1).

Ficou estabelecido que o repasto seria oferecido todo o dia até que a fêmea aceitasse o primeiro. Depois seria oferecido dia sim dia não, até a oviposição. Este intervalo se deve à tentativa de evitar o estresse do mosquito. Quando a fêmea ovipusesse, neste mesmo dia já seria oferecido um novo repasto e nos dias seguintes, consecutivamente, até que ela o aceitasse novamente, e assim era feito a cada oviposição e repasto.

Depois de uma oviposição, a fêmea era transferida para um novo Borrel preparado. Desta forma, pudemos contar o número de ovos colocados em cada ciclo.

Assim foi feito com 100 fêmeas de *Oc. scapularis* até a morte das mesmas. Quando cada uma delas morria, no mesmo dia a fêmea era dissecada para a observação dos folículos ovarianos utilizando-se a técnica descrita anteriormente.

Esses dados foram utilizados para darmos embasamento à técnica escolhida, já que conhecíamos toda a história reprodutiva das 100 fêmeas estudadas.

3.2 Campo

3.2.1 Área de Estudo

O estudo foi realizado no Vale do Ribeira, área com cerca de 17.000 km² que se situa entre 24° e 25°16'S, e 46°50' e 49°20'W. O clima desta região é tropical superúmido com temperaturas médias entre 18 e 25°C e precipitação anual de 1800mm, atingindo 2000mm a 3000mm na zona de escharpa da Serra. Possui formação florestal latifoliada tropical úmida na encosta, e floresta perenifolia latifoliada higrófila costeira (FORATTINI 1978a).

Para este estudo, três municípios foram selecionados: Cananéia, Ilha Comprida (Boqueirão Norte), e Parquera-Açu. A figura 1 mostra a localização dos municípios com suas coordenadas.

Figura 1: Localização dos três municípios onde foram realizadas as coletas: Cananéia, Ilha Comprida e Parquera-Açu.

Fonte: Secretaria do Estado do Meio Ambiente (1992).

De acordo com o SEADE (2004), o perfil municipal de Parquera-Açu em 2004 era de 19.498 habitantes com 70,03% de taxa de urbanização, numa área de 370 km². No município de Ilha Comprida, o registro da população foi de 8.017 habitantes, a taxa de urbanização de 100% e a área com 182 km². Em Cananéia, neste mesmo ano, foi estimada a população de 13.606 habitantes, 84,82% de taxa de urbanização e área de 1.272 km².

As três localidades apresentam, como característica, acentuada alteração do ambiente primitivo com casas situadas em locais abertos e próximos a matas residuais.

No município de Pariquera-Açu, localiza-se o posto da USP onde o material era triado e muitas vezes dissecado.

Em cada localidade as coletas aconteceram no peridomicílio, caracterizado por terrenos propícios à formação de poças, que servem de criadouro para as formas imaturas de *Oc. scapularis* e outras espécies. Esses criadouros, de tamanhos variados e rodeados por gramíneas, formavam-se em depressões no solo após a ocorrência de chuvas, e por isso são chamados de criadouros temporários (FORATTINI 2002). A figura 2 ilustra o criadouro formado após chuva, próximo a um dos pontos de captura dos insetos adultos.

Figura 2: Criadouro temporário de *Oc. scapularis*. Cananéia, abril de 2003.

3.2.2 Captura

As capturas dos culicídeos adultos foram realizadas quinzenalmente no período estipulado das 17:00 às 20:00 horas (fracionado de hora em hora) baseando-se no comportamento da espécie estudada que, apesar de apresentar hábitos diurnos, possui picos durante e logo após o crepúsculo vespertino (FORATTINI *et al.* 1981; KAKITANI *et al.* 2003).

Foi utilizada a técnica da Aspiração Manual ou Aspiração Menor, que consiste na utilização de um aspirador mecânico NM, aparelho movido à pilha de 6 volts pelo qual os mosquitos adultos são capturados no instante em que se aproximam do coletor (SERVICE 1993; KAKITANI 2003). Optou-se por esta técnica porque nos interessava a captura de fêmeas que eram atraídas, ou seja, buscavam fonte sangüínea para realizar o repasto, considerado este um dado importante para observarmos se há ou não a concordância gonotrófica da espécie. Os mosquitos eram capturados vivos antes de exercer a hematofagia. A figura 3 mostra a técnica sendo aplicada no município de Cananéia. No mesmo horário, dois outros coletores realizavam a captura em dois outros pontos, na mesma localidade.

Figura 3: Técnica da aspiração manual ou aspiração menor. Cananéia, abril de 2003

Em cada localidade foram estabelecidos três pontos de coleta, onde as capturas ocorreram simultaneamente, ficando designado para cada ponto, um coletor com um aspirador e três gaiolas, uma para cada hora, nas quais o material coletado era depositado.

Todos os mosquitos, sem distinção de espécie, eram colocados na gaiola onde eram mantidos vivos. Terminada a coleta, o material era levado ao laboratório do posto de Pariquera-Açu, protegidos com panos úmidos, procurando manter a umidade adequada para os mosquitos.

No laboratório de Pariquera-Açu, era feita a triagem dos mosquitos, separando-se dez fêmeas de *Oc. scapularis* por horário (dos três pontos de coleta), que eram colocadas individualmente em Borrel. A separação das fêmeas era feita de forma

aleatória, isto é, não probabilística. Desta forma espera-se que a localidade tenha sido bem explorada na coleta. Este processo acontecia com os culicídeos vivos através de observação das características morfológicas da espécie. Esta triagem é mostrado na figura 4 (Anexo 2).

Assim, trinta fêmeas eram separadas por localidade (dez por horário). A razão desses números se deve à capacidade operacional para dissecar e observar os ovários e ovariolos dos mosquitos, tarefa essa que exige um trabalho minucioso.

Cada Borrel era previamente preparado, com uma camada de algodão e papel filtro embebido em água destilada em seu fundo. Depois que a fêmea era colocada neste recipiente, este era coberto por uma malha fina de nylon presa com elástico. O material era então disposto em caixa de isopor com papel umedecido ao fundo, até o momento da dissecação.

3.3 Análise de dados

Os resultados obtidos em laboratório foram organizados em banco de dados montado com o programa Excel para Windows, observando-se as percentagens e frequências dos dados.

4. RESULTADOS

4.1 Laboratório

Foram dissecadas 100 fêmeas F1 de *Oc. scapularis* obtidas em laboratório. As anotações completas sobre a vida de cada uma, assim como as observações dos estados de paridades estão na tabela 1 (Anexo 1).

4.1.1 Frequência de oogênese abortiva e normal em condições de laboratório

Entre as 100 fêmeas criadas, 39 foram consideradas nulíparas, 54 uníparas, uma bípara e seis sem condições de avaliação. Não foi encontrado nenhum exemplar múltiparo (com mais de duas dilatações no pedicelo ovariolar).

Das 39 fêmeas nas quais não foram encontradas dilatações nem vestígio de saco ovariolar (nulíparas), observou-se que 32 delas estavam na fase III-V do desenvolvimento ovariolar de Christopher e Mer. E dentre as 54 uníparas observadas, 17 estavam na fase III-V de Christopher e Mer.

Observou-se maior frequência de oogênese normal, sendo que a oogênese abortiva foi constatada em uma bípara e em duas uníparas (que não ovipuseram) conforme mostra a tabela 2.

Tabela 2: Nº de oviposições realizadas por fêmeas de *Oc. scapularis* criadas em laboratório e o diagnóstico de idade fisiológica segundo a interpretação da Escola Nova e o desenvolvimento folicular segundo Christophers e Mer.

Diagnóstico	Acompanhamento em laboratório											
	Sem oviposição		1 oviposição		2 oviposições		3 oviposições		4 oviposições		5 oviposições	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Nulípara	7	26,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Nu FIII-V	12	46,2	18	34,0	2	14,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Unípara	2	7,7	27	50,9	4	28,6	2	50,0	1	50,0	1	100,0
Uní FIII-V	0	0,0	8	15,1	6	42,9	2	50,0	1	50,0	0	0,0
Bípara	0	0,0	0	0,0	1	7,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0
s/cond	5	19,2	0	0,0	1	7,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0

* dissecação do ovário

Na figura 5A pode-se observar o ovariolo com o óvulo na fase V do desenvolvimento de Christopher e Mer, pronto para ser fecundado. Ao redor deste óvulo há uma membrana transparente que, após a oviposição, se apresenta disforme e é chamada de saco ovariolar. A presença do saco ovariolar indica a ocorrência de oogênese normal (Figura 5B).

O saco ovariolar pode, no momento da dissecação, ser rompido e assim, apenas um vestígio de sua existência é observada, como mostra a Figura 5C.

A oogênese abortiva está ilustrada na Figura 6 onde, a fêmea apresentou duas dilatações no pedicelo ovariolar decorrentes de duas degenerações foliculares; assim, foi considerada bípara.

A

B

C

Figura 5. Morfologia de ovariolos de fêmeas de *Oc. scapularis* dissecadas em laboratório (aumento de 400X).

(A) ovariolo com óvulo fase V de Christpher e Mer dentro do saco ovariolar;

(B) saco ovariolar (após oviposição);

(C) mais acima – ovariolo com vestígio de saco ovariolar; abaixo mostrando o saco ovariolar com membrana hialina.

Figura 6. Ovariolo de fêmea de *Oc. scapularis* considerada bípara apresentando duas dilatações decorrentes de oogêneses abortivas (aumento de 400X).

4.1.2 Frequência de oviposição e média de ovos colocados.

Das 100 fêmeas, 24 não colocaram ovos, 76 fizeram uma oviposição e um pouco mais de 20 fizeram mais de uma oviposição, como pode ser observado no gráfico abaixo (Figura 7).

Figura 7: Número de fêmeas de *Oc. scapularis* criadas em laboratório que realizaram de 0 a 5 oviposições.

A figura 8 mostra a soma dos ovos colocados por todas as fêmeas de acordo com a oviposição.

Figura 8: Número total de ovos de *Oc. scapularis* por oviposição em condições de laboratório.

Nota-se que o número de ovos decresce de uma oviposição para outra (figura 8) mas também o número de fêmeas paridas diminui (figura 7).

A média aritmética de ovos colocados (Figura 8) pelas fêmeas de *Oc. scapularis* (Figura 7) na primeira oviposição foi de 73 ovos por fêmea, na 2ª oviposição a média de ovos foi de 64 ovos, 64 para a 3ª oviposição e 61 ovos para a 4ª oviposição. Uma fêmea chegou a colocar 101 ovos em sua 5ª oviposição. Os dados completos referentes ao número de ovos a cada oviposição de cada uma das 100 fêmeas estão na tabela 3 (Anexo 1).

A tabela 4 mostra a média de ovos colocados por repasto sangüíneo. Com um repasto sangüíneo, as fêmeas de *Oc. scapularis* conseguiram colocar mais de 59 ovos, chegando a ovipor até 101. A fêmea que necessitou realizar 4 repastos para uma

oviposição, mostrou baixa produção colocando 3 ovos. A fêmea que se alimentou por 6 vezes produziu, em média, o mesmo número de ovos das que se alimentaram 3 vezes.

Tabela 4: Média de ovos por oviposição e quantidade de repastos sanguíneos realizados pelas fêmeas de *Oc .scapularis* criadas em laboratório.

	1 ^a o v ip	2 ^a o v ip	3 ^a o v ip	4 ^a o v ip	5 ^a o v ip
1 Rep	82,6	64,7	83,5	59	101
2 Rep	76,6	57,8	38,3	62	--
3 Rep	42,4	47,3	--	--	--
4 Rep	3	--	--	--	--
5 Rep	--	--	--	--	--
6 Rep	40	--	--	--	--

4.1.3 Verificação do diagnóstico da condição de paridade

Entre as 26 fêmeas que não colocaram ovos, 19 (73,07%) foram consideradas nulíparas, 2 (7,69%) foram consideradas como uníparas e 5 (19,23%) não puderam ser avaliadas.

Em relação às 53 fêmeas de *Oc. scapularis* que ovipuseram uma vez, 18 (33,96%) foram consideradas nulíparas na fase III-V do desenvolvimento ovariano segundo Christopher e Mer, 27 (50,94%) foram avaliadas como uníparas e 8 (15,09%) como uníparas na fase III-V de Christopher e Mer.

Foi diagnosticada como bípara, apenas uma fêmea (7,14%) de 14 que haviam colocado dois lotes de ovos. Sendo que a maior parte delas (42,86%) foi diagnosticada como unípara na fase III-V do desenvolvimento ovariano.

Pode-se observar também, que entre as 7 fêmeas que realizaram mais de 3 oviposições, o diagnóstico foi de uniparidade para 4 delas e uniparidade na fase III-V do desenvolvimento ovariano para 3 delas.

Dos casos considerados como “sem condições” de diagnóstico, 5 não haviam colocado ovos, e uma havia feito duas oviposições.

Estes dados são observados na tabela 2 onde, na primeira coluna à esquerda, encontra-se o estado de paridade observado. Esta informação foi cruzada com as anotações feitas em laboratório. Assim, pudemos comparar os resultados obtidos por meio da técnica de dissecação com os resultados já anotados.

4.1.4 Relação entre repasto sangüíneo e ciclo gonotrófico

Entre as 100 fêmeas de *Oc. scapularis* criadas em laboratório, 74 fizeram pelo menos uma oviposição. Destas, 35 (47,3%) realizaram apenas um repasto sangüíneo para ovipor, e 39 (52,7%) necessitaram realizar mais de um repasto para conseguir ovipor.

Das 21 fêmeas que ovipuseram pela segunda vez, 15 (71,4%) necessitaram de mais de um repasto. Entre as que colocaram 3 lotes de ovos 57,1% fizeram um único repasto para cada ciclo gonotrófico e 42,9 % chegaram a fazer um segundo repasto sangüíneo.

A percentagem de fêmeas que ovipuseram 4 vezes e realizaram um repasto de sangue para cada ciclo foi de 33,3% e 66,7% precisaram buscar a fonte sangüínea pela segunda vez.

Uma fêmea chegou a realizar 5 oviposições, necessitando de um repasto para realizar a quinta postura. Observou-se também uma fêmea que se alimentou 6 vezes antes da primeira oviposição.

A tabela 5 mostra o número e percentagem de repastos feitos pelas fêmeas para a realização da primeira à quinta oviposição. A tabela foi reagrupada abaixo para melhor visualização da necessidade de mais de um repasto sanguíneo para a oviposição.

Tabela 5: Quantidade de repastos realizados por fêmeas de *Ochlerotatus scapularis* criadas em laboratório para ovipor.

	1 ^a o		2 ^a o		3 ^a o		4 ^a o		5 ^a o	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
1 Rep.	35	47,3	6	28,6	4	57,1	1	33,3	1	100,0
2 Rep.	30	40,5	11	52,4	3	42,9	2	66,7	0	0,0
3 Rep.	7	9,5	4	19,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
4 Rep.	1	1,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
5 Rep.	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
6 Rep.	1	1,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Total de fêmeas	74	100	21	100	7	100	3	100	1	100

	1 ^a o		2 ^a o		3 ^a o		4 ^a o		5 ^a o	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
1 Rep	35	47,3	6	28,6	4	57,1	1	33,3	1	100,0
mais de 1 Rep	39	52,7	15	71,4	3	42,9	2	66,7	0	0,0
Total de fêmeas	74	100	21	100	7	100	3	100	1	100

Foi observado que duas fêmeas chegaram a realizar 8 repastos sanguíneos, conforme mostra tabela 6.

4.1.5 Intervalo entre repastos

Na mesma tabela (tabela 6) é observado o intervalo em dias entre um repasto sangüíneo e outro de fêmeas de *Oc .scapularis* criadas em laboratório. Pode-se apontar que a maior parte dos intervalos entre um repasto e outro, em mais de 50% das fêmeas, foi de 2 dias. Apenas duas fêmeas (3,4%) demoraram 6 dias entre o primeiro repasto e o segundo.

Tabela 6: Intervalo em dias entre um repasto e outro de fêmeas de *Oc. scapularis* criadas em laboratório.

	1º Int		2º Int		3º Int		4º Int		5º Int		6º Int		7º Int	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
1 dia	0	0,0	3	9,4	1	5,0	0	0,0	1	16,7	0	0,0	0	0,0
2 dias	41	70,7	19	59,4	12	60,0	5	50,0	3	50,0	2	100,0	1	50,0
3 dias	6	10,3	4	12,5	4	20,0	2	20,0	2	33,3	0	0,0	1	50,0
4 dias	7	12,1	5	15,6	3	15,0	1	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
5 dias	2	3,4	1	3,1	0	0,0	1	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
6 dias	2	3,4	0	0,0	0	0,0	1	10,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Total	58	100	32	100	20	100	10	100	6	100	2	100	2	100

1º Intervalo= período em dias entre o 1º e o 2º repasto.
2º Intervalo= período em dias entre o 2º e o 3º repasto
3º Intervalo= período entre o 3º e o 4º repasto
4º intervalo= período entre o 4º e 5º repasto

5º Intervalo= período ente o 5º e 6º repasto
6º Intervalo= período entre o 6º e 7º repasto
7º Intervalo= período entre o 7º e 8º repasto

4.1.6 Sobrevivência de fêmeas de *Ochlerotatus scapularis*

Sob condições laboratoriais, pudemos observar a sobrevivência de *Oc. scapularis* até 26 dias. A figura 9 coloca através de um gráfico em barras, a quantidade de fêmeas e o respectivo número de dias de sobrevida.

Figura 9: Sobrevivência de *Oc. scapularis* em condições de laboratório.

O comprimento do ciclo gonotrófico foi de 4 dias para 37, 7 % das fêmeas e 3 dias para 23,6%. Uma pequena parte (2,7%) necessitou de mais de 10 dias para que o ciclo se completasse, chegando até o 15º dia. A duração do ciclo gonotrófico observado em laboratório pode ser observado na figura 10.

Figura 10.: Duração do ciclo gonotrófico de fêmeas de *Ochlerotatus scapularis* em condições de laboratório.

4.2 Campo

Foram dissecadas 1180 fêmeas de *Oc. scapularis* ao longo do ano. Em todos os meses foram encontradas fêmeas nulíparas e paridas. Quanto à ocorrência de oogêneses abortivas, estas também foram observadas na maior parte das coletas com exceção dos meses de abril e fevereiro (tabela 7).

Tabela 7: Número de *Oc. scapularis* dissecados para a avaliação de estado de paridade, capturados com a técnica de aspiração manual. Abril de 2003 a março de 2004. Vale do Ribeira, SP.

	abr	mai	jun	jul	ago	set	out	nov	dez	jan	fev	mar	total	%
Nulípara	46	35	38	68	35	29	21	26	25	10	22	45	400	33,9
Nulíp. Fase III-V	8	1	1	2	0	1	1	1	1	2	0	0	18	1,5
Unípara	30	36	24	53	51	74	62	48	18	40	52	95	583	49,4
Uníp. Fase III-V	6	9	4	3	6	11	3	6	2	5	4	13	72	6,1
Bípara	0	2	3	6	5	7	2	7	1	7	0	6	46	3,9
Sem Condições	16	3	10	6	7	3	2	5	1	2	4	2	61	5,2
Total	106	86	80	138	104	125	91	93	48	66	82	161	1180	100

Das 1180 fêmeas dissecadas, 655 (55,5%) foram consideradas uníparas e 418 (35,4%) como nulíparas e 46 (3,9%) foram avaliadas como bíparas. Do total de disseções realizadas, 61 (5,2%) não puderam ser avaliadas.

Figura 11: Número e percentagem de *Oc. scapularis* dissecados e a avaliação de estado de paridade, capturados com a técnica da aspiração manual de abril de 2003 a março de 2004. Vale do Ribeira, SP.

5. DISCUSSÃO

O estudo da idade fisiológica está ligado à capacidade vetora, que depende de vários fatores como a densidade do inseto, antropofilia, frequência de picadas ao homem, sobrevivência e a competência (FORATTINI 1962; 1992).

Com os dados obtidos em laboratório, observando-se fêmeas com idade cronológica conhecida, verificando o seu comportamento durante toda a vida, pudemos acompanhar o desenvolvimento do ciclo gonotrófico, a ocorrência da oogênese normal ou abortiva e relacioná-las com os repastos sanguíneos.

Inicialmente, foi pensado em se trabalhar com fêmeas copuladas em laboratório utilizando-se, para isto, a técnica da cópula induzida (CONSOLI e LOURENÇO-DE-OLIVEIRA 1994). A técnica chegou a ser aplicada num piloto do trabalho em laboratório, porém, devido às dificuldades encontradas na metodologia, o pouco sucesso na obtenção de ovos fecundados e a constatação de que as fêmeas tinham sua sobrevida diminuída, chegamos à conclusão de que seria mais interessante para o trabalho a utilização de fêmeas de *Oc. scapularis* (de primeira geração) não fecundadas, uma vez que observamos que a inseminação não pareceu ser pré-requisito para a produção de ovos. KAKITANI (1997) observou o mesmo em *Anopheles albitarsis* em condições laboratoriais.

A manipulação dos insetos durante a cópula induzida poderia causar estresse, interferindo na sua sobrevida. Considerando que o objetivo do estudo não tinha relação com a fecundidade do ovo e sim com a atividade hematófaga, comprimento do ciclo

gonotrófico e sobrevivência, assim, optou-se por mudar a metodologia. Possivelmente resultados diferentes poderiam ter sido observados, o que chama a atenção para novos estudos comparativos entre fêmeas copuladas e não copuladas, por exemplo. FORATTINI (2002) levanta a hipótese da cópula ser um fator estimulante para a hematofagia e desenvolvimento dos ovos o que é denominado estímulo espermatogênico. Para algumas espécies a inseminação é pré-requisito para o desenvolvimento dos ovos como é o caso do *An. subpictus* (ROY 1940 apud KAKITANI 1992).

Ficou constatado que seis fêmeas criadas em laboratório e 61 capturadas no campo, não puderam ser avaliadas por condições ruins de observação de seus ovários. Estas condições se caracterizaram pela impossibilidade de analisar os ovariolos, que se apresentavam em estado de degeneração. O aspecto era de um conteúdo celular escuro, sem distinção das estruturas. Não encontramos explicação para essa condição, já que as fêmeas criadas no laboratório eram dissecadas diariamente logo após a morte. E as fêmeas coletadas no campo, foram anestesiadas rapidamente com éter e, mesmo assim, a situação se repetiu.

5.1 Frequência de oogênese normal e abortiva

O estudo da oogênese contribui para determinar o estado de paridade. O diagnóstico ovariolar se dá por meio da observação de dilatações encontradas no ovariolo e do saco terminal (FOX e BRUST 1994).

LEA *et al.* (1978) colocam que uma grande proporção de ovaríolos completa oogênese normal ao se alimentar totalmente.

Com a manutenção de fêmeas de *Oc. scapularis* em laboratório, tivemos a oportunidade de acompanhar todo o desenvolvimento de 100 fêmeas, dentre as quais observamos que 74% chegaram a ovipor pelo menos uma vez (tabela 2). Ao dissecarmos estas fêmeas, pudemos observar, baseados nos preceitos da Escola Nova, que apenas 55% delas haviam sido diagnosticadas como tendo parido (entre elas as uníparas e a bipara). Os dados se explicam quando observamos que das 100 fêmeas, 32 se apresentavam no estágio III-V do desenvolvimento ovariano. Nesta fase, os ovaríolos se apresentaram de tal forma que a identificação de dilatação ou saco ovaríolar ficou dificultada ou impedida. Portanto, entre essas fêmeas que se apresentavam na fase III-V havia nulíparas e uníparas, mas, na ausência de vestígios de oviposição, optou-se por diagnosticá-las como nulíparas.

Das fêmeas coletadas e dissecadas observou-se que 59,4% delas eram oníparas. O fato das fêmeas terem sido aspiradas permite inferir que elas tenham se aproximado do coletor para realizar o segundo repasto. Este dado também foi verificado por KAKITANI *et al.* (2003) em *Anopheles marajoara* que mencionam a importância deste dado associado à longevidade, parâmetro importante na estimativa da capacidade do vetor.

No campo, observou-se que 55,5% das 1180 fêmeas dissecadas, foram uníparas representando percentagem maior em relação às nulíparas (35,4%). Em relação aos resultados de dissecções ao longo do ano, nota-se que em todos os meses foram encontradas fêmeas nulíparas e paridas. Quanto à ocorrência de oogêneses abortivas,

estas também foram observadas na maior parte das coletas com exceção dos meses de abril e fevereiro (tabela 7).

Foram observadas, em laboratório, oogêneses abortivas em três fêmeas, sendo que uma foi bípara, onde se notou uma dilatação e vestígio de saco ovarioleto, e nas demais somente a dilatação foi encontrada. SOKOLOVA (1994) diz que oogêneses abortivas podem ser explicadas por vários fatores, dentre eles a abstinência de alimentação sangüínea. Neste experimento, as duas fêmeas uníparas, numeradas como 46 e 51 na tabela 1 (anexo 1) fizeram um e dois repastos sangüíneos consecutivamente, sendo que a primeira chegou a ficar 6 dias sem se alimentar, e a segunda ficou 5 dias. No entanto, outras fêmeas como as de número 24, 29, 43, 75 e 100 da mesma tabela, chegaram a demorar iguais 5 a 6 dias para voltar a se ingurgitar e não apresentaram oogêneses abortivas, pelo contrário, todas ovipuseram ao menos duas vezes.

Ainda segundo SOKOLOVA (1994), a degeneração folicular se caracteriza de granulações no epitélio folicular, sendo que, ao final do processo de degeneração, forma-se a dilatação e, gradualmente, esses grânulos vão desaparecendo.

5.2 Número de oviposições e média de ovos colocados

Observando a quantidade de repastos realizados para cada oviposição, notamos que a necessidade de se alimentar várias vezes com sangue para ovipor, não significa que a fêmea produzirá número maior de ovos; pelo contrário, a produção média de ovos foi maior com um repasto sangüíneo para cada oviposição. Parece haver relação entre quantidade de sangue ingerido ou a qualidade de nutrientes para o desenvolvimento dos

ovos. Sobre o número de ovos, a presença de açúcar na alimentação das fêmeas pode, segundo FOSTER (1995), influenciar sua fecundidade.

De acordo com HIEN (1976), a quantidade dos ovos colocados está associada a condições como: idade fisiológica, peso após emergência da fêmea e também do volume ingerido de sangue.

5.3 Diagnóstico e condição de paridade

Com os dados de oviposição obtidos em laboratório, verificamos que 55% dos casos, quando comparados ao diagnóstico de paridade por meio da dissecação dos ovários, foram concordantes. Isto porque 19 fêmeas que não ovipuseram foram consideradas nulíparas, 35 que haviam colocado ovos uma vez foram diagnosticadas uníparas e uma fêmea que ovipôs duas vezes foi considerada bípara (tabela 2).

Os dados foram subestimados em 37%, pois de 53 fêmeas que haviam feito uma oviposição, 18 foram consideradas como nulíparas e de 21 que fizeram mais de uma oviposição, 19 foram diagnosticadas como uníparas. Para a primeira situação, a explicação reside no fato destas fêmeas se encontrarem na fase III-V de Christopher e Mer, o que dificulta a visualização de saco ovariolar. Para o segundo caso, os dados podem ser explicados pela interpretação da Escola Nova, que diz que, quando há subseqüentes oviposições, só o vestígio da última será encontrado e a fêmea será dita unípara.

Por último, encontramos 2% de casos superestimados, onde as duas fêmeas encontradas tinham uma dilatação no pedicelo ovariolar indicando oogênese abortiva.

Assim, estas fêmeas não chegaram a ovipor, mas realizaram o repasto. NAYAR e KNIGHT (1981) realizaram um estudo sobre a ocorrência de dilatações em fêmeas nulíparas de *Culex nigripalpus*, às quais foi oferecida apenas alimentação açucarada. Os autores observaram que de 16 a 50% das fêmeas apresentavam uma dilatação com uma semana após a emergência e, durante as próximas duas semanas, a maior parte delas tinha de 1 a 3 dilatações. Num trabalho anterior, NAYAR e KNIGHT (1981b) verificaram autogenia para os *Culex nigripalpus*, quando fêmeas desta espécie desenvolveram ovos autógenos depois de 4 a 7 dias da emergência. Assim, os autores sugerem uma possível associação entre o aparecimento de dilatações em nulíparas e o desenvolvimento de ovos autógenos.

MENEZES (2002), observou uma possível autogenia para *Oc. scapularis* quando constatou a presença de fêmeas da espécie na fase IV de Christopher e Mer, sem indício de que haviam se alimentado anteriormente de sangue, porém, ainda neste trabalho, a autora coloca que a grande maioria das fêmeas apresentava indício de terem se alimentado para o desenvolvimento ovariano indicando a anautogenia. No presente trabalho, não foi constatado o desenvolvimento ovariano além da fase I e II de Christopher e Mer, sem prévia alimentação sangüínea, sugerindo a anautogenia.

Apesar de ser um número representativo de dados subestimados, a eficácia do método não foi diminuída, já que a nós importava estimar a procura e conclusão do repasto e não efetivamente a oviposição. Portanto, encontrando dilatações e estágios avançados na oogênese, poderia haver indicação de que a fêmea se alimentou anteriormente e teve o contato com o hospedeiro.

Da mesma forma, os dados superestimados não surpreenderam por se tratar de fêmeas que haviam tido oogêneses abortivas, isto é, não chegaram a ovipor, porém se alimentaram.

5.4 Relação entre repasto sangüíneo e ciclo gonotrófico

Um número expressivo de fêmeas observadas em laboratório realizou mais de um repasto para completar o ciclo gonotrófico. De 106 ciclos completados, cerca de 55% das fêmeas se alimentaram mais de uma vez antes de ovipor, chegando a fazer até 6 repastos sangüíneos. O contrário não foi observado, ou seja, a ocorrência de mais de uma oviposição para um repasto sangüíneo.

O intervalo de tempo curto entre a realização dos repastos sangüíneos aumenta a oportunidade de contato com o hospedeiro, e este é um parâmetro importante discutido na capacidade vetora da espécie.

Observamos na tabela 6 que em todos os repastos realizados, mais de 50% das fêmeas voltaram a se alimentar em 2 dias, e que o comprimento do ciclo gonotrófico (Figura 9) foi de 4 dias para a maior parte das fêmeas (37,7%) indicando assim uma possível discordância gonotrófica.

MENEZES (2002) levantou a hipótese de discordância gonotrófica para *Oc. scapularis* quando encontrou estágios avançados de oogênese em fêmeas desta espécie repletas de sangue.

A constatação deste comportamento indica que pode haver maior oportunidade de contato do mosquito com hospedeiros diferentes e, conseqüentemente, maiores serão as chances da fêmea se infectar e transmitir o agente infeccioso.

KLOWDEN (1981) (apud KLOWDEN e BRIEGEL 1994) observou que privar a fêmea de *Aedes aegypti* de carboidrato aumenta significativamente sua procura pelo hospedeiro durante a oogênese, sugerindo assim que uma deficiência na alimentação pode levar a fêmea de culicídeo a fazer mais de um repasto para ovipor.

Com os dados obtidos das atividades no campo, observamos que 90 fêmeas (7,6%) do total dissecado estavam na fase III-V do desenvolvimento ovariano de Christopher e Mer, o que indica que estavam em busca de mais um repasto sangüíneo para a oviposição, reforçando a hipótese de discordância gonotrófica.

5.6 Sobrevivência

A sobrevivência de *Oc. scapularis* chegou a 26 dias sob condições laboratoriais.

Conhecer a duração do ciclo gonotrófico é uma das maneiras de estimar a sobrevivência do mosquito. No laboratório, cerca de 62% das fêmeas completaram o ciclo em até 4 dias e quase 38% precisaram de 5 até 15 dias para realizar a oviposição após o repasto. SANTOS (2001) observou em laboratório a duração do ciclo gonotrófico de *Anopheles (Kerteszia)* para os quais só um repasto sangüíneo foi oferecido. A autora verificou que a duração média foi de 3,5 dias e, quando vários repastos foram

oferecidos, houve um acréscimo na duração do ciclo para 4,84 dias devido, provavelmente, à diminuição da mortalidade.

CHADEE (1999) observou, em laboratório, o comprimento do ciclo gonotrófico, em *Anopheles bellator*. Seus dados indicaram que a segunda oviposição levou mais horas para acontecer do que a primeira. Para o primeiro ciclo gonotrófico, a espécie somente ovipôs após 57 horas do repasto sangüíneo e após 61 horas para o segundo ciclo gonotrófico.

No presente trabalho, foram contabilizadas até 5 oviposições, considerando que a média observada para a conclusão de cada ciclo foi de 4 dias, a estimativa da idade seria de 20 dias aproximando-se da idade real observada.

Num trabalho experimental, MITCHELL e FORATTINI (1984), observaram que o período de incubação extrínseca para o vírus da Encefalite Rocio em *Oc. scapularis* é de 20 a 21 dias, assim a sobrevivência observada nesta população seria suficiente para o desenvolvimento do agente etiológico.

FERNÁNDEZ e FORATTINI (2003) observaram que as fêmeas de *Aedes albopictus* alimentadas com solução açucarada, quando comparadas com as alimentadas somente com sangue, mostraram maior esperança de vida ao nascer, isso porque o sangue humano não forneceria os aminoácidos necessários para a subsistência.

A longevidade é fator importante para determinar a capacidade vetora de culicídeos, no entanto concordo com KAKITANI (1997) quando a autora coloca que este aspecto não deve ser analisado isoladamente e sim somado a densidade e antropofilia.

6. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos com o material de campo e o de laboratório, observamos que:

- A ocorrência da oogênese abortiva foi bastante reduzida tanto no material de campo como no de laboratório, indicando o sucesso de oviposição daquela população.
- Com os dados obtidos em laboratório, observou-se que o diagnóstico do grau de paridade, segundo os conceitos da Escola Nova, foi, na maior parte das vezes subestimado, indicando que o método não é eficiente para medir o número de oviposições realizadas pelas fêmeas sendo assim, poderia haver um número maior de fêmeas multíparas na população.
- A duração do ciclo gonotrófico em condições de laboratório foi de 4 dias, aproximadamente, e o intervalo entre os repastos sangüíneos de 2 dias. Isto sugere a necessidade de, pelo menos, dois repastos sangüíneos para cada ciclo gonotrófico, caracterizando a existência de discordância gonotrófica.
- Em condições de laboratório, foi possível verificar uma sobrevida de até 26 dias, tempo suficiente para o desenvolvimento do vírus da Encefalite Rocio, que é de 20 a 21 dias (incubação extrínseca).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao estudar fêmeas de idade conhecida e compararmos com o diagnóstico seguindo os preceitos da Escola Nova, pudemos observar a veracidade dos fundamentos desta Escola, pois nos ovários de fêmeas com oviposições bem-sucedidas havia sempre o saco ovariole ou vestígio do mesmo. Para a Escola Clássica, a cada oviposição uma dilatação seria formada no pedicelo ovariole, o que não ocorreu em nossas observações. Houve uma fêmea que ovipôs por cinco vezes e nenhuma dilatação foi encontrada em seu pedicelo.

Pudemos observar uma provável anautogenia para a espécie, já que não foram encontrados ovários em fase de desenvolvimento avançado de Christopher e Mer, sem alimentação prévia com sangue.

Devido à capacidade operacional, apenas parte do material é dissecado, considerando a alta densidade da espécie em períodos pós-chuvas, a amostra pode não ser tão representativa, não servindo para análises estatísticas em relação à sazonalidade.

É importante colocar que em laboratório, era oferecido às fêmeas, alimento sanguíneo em abundância, ou seja, estas não necessitaram sair em busca do hospedeiro sofrendo as intempéries. Assim, na maior parte das vezes as fêmeas se ingurgitaram completamente. Por outro lado o confinamento parecia causar estresse aos insetos, principalmente quando dentro de Borrel. Os mosquitos que estavam nas gaiolas sobreviviam por mais dias (até 60 dias aproximadamente), mesmo sem a oferta de repastos sanguíneos.

Tais observações indicam que o método não é um bom indicador para o estudo da produção de ovos de culicídeos, já que os dados se apresentaram subestimados, na sua maioria.

O estudo da paridade pode ser importante para a estimativa do contato vetor/hospedeiro. Os dados obtidos com a técnica da dissecação e interpretados pela Escola Nova são confiáveis, porém, ainda pensando nos casos subestimados, informações importantes, como o tempo de sobrevivência, poderiam também ser subestimados. A eficácia do método pode ser plena quando associada a outros estudos.

8. REFERÊNCIAS

1. Ahid, SMM, Lourenço-de-Oliveira R. Mosquitos vetores potenciais de dirofilariose canina na Região Nordeste do Brasil. **Rev Saúde Pública** 1999; 33(6):560-65.
2. Casanova, C. **Ecologia populacional das fases imaturas de *Ochlerotatus scapularis* Rondani, 1848 (Diptera: Culicidae)** Campinas; [Dissertação de mestrado, Instituto de Biologia da Unicamp] 1994.
3. Casanova, C, Prado, AP. Key-factor analysis of immature stages of *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) populations in southeastern Brazil. **Bull Ent Res** 2002; 92:271-277.
4. Chadee, DD. Laboratory studies of diel oviposition, fecundity, survival, and gonotrophic cycles of *Anopheles bellator* Dyar and Knab in Trinidad, West Indies. **J Vect Ecol** 1999; 24(1):83-90.
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 Amazônica** 1980; 10 (2):311-333.

6. Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 1994.
7. Detinova, TS. Age-grading methods in Diptera of medical importance. Geneva, 1962 (**WHO – Monographies Series**, 47).
8. Detinova, TS. Age grouping methods in Diptera of medical importance. Geneva, **WHO**, 1968: 13: 427-50.
9. Fernández Z, Forattini OP. Sobrevivência de populações de *Aedes albopictus*: idade fisiológica e história reprodutiva. São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública** 2003; 37 (3):
10. Forattini, OP. **Entomologia Médica v.1**. São Paulo: Ed. USP; 1962.
11. Forattini OP, Gomes AC, Galati EAB, Rabello EX, Iverson LB. Estudos ecológicos sobre mosquitos Culicidae no Sistema Serra do Mar, Brasil. 1 – Observações no ambiente extradomiciliar. **Rev Saúde Pública** 1978a; 12:297-325.

12. Forattini OP, Gomes AC, Galati EAB, Rabello EX, Iverson LB. Estudos ecológicos sobre mosquitos Culicidae no Sistema Serra do Mar, Brasil. 2 – Observações no ambiente domiciliar. **Rev Saúde Pública** 1978b; 12:476-96.
13. Forattini OP, Gomes AC, Santos JLF, Galati EAB, Rabello EX, Natal D. Observações sobre atividade de mosquitos culicidae, em mata residual no Vale do Ribeira, São Paulo Brasil. **Rev Saúde Pública** 1981;15: 557-86.
14. Forattini OP, Gomes AC, Natal D, Santos JLF. 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** 1986; 20(3):178-203.
15. Forattini OP, Gomes AC, Natal D, Kakitani I, Marucci D. Preferências alimentares de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública** 1987; 21(3):171-87.
16. Forattini OP, Gomes AC. Biting activity of *Aedes scapularis* (Rondani) and *Haemagogus* mosquitoes in Southern Brazil. **Rev Saúde Pública** 1988.22:84-93.
17. Forattini OP. **Ecologia, Epidemiologia e Sociedade**. São Paulo: Ed. USP; 1992.

18. Forattini OP, Kakitani I, Massad E, Marucci D. Studies on mosquitoes (Diptera Culicidae) and anthropic environment. 9 – Synanthropy and epidemiological vector role of *Aedes scapularis* in South-Eastern Brazil. **Rev Saúde Pública**, 1995; 29:199-207.
19. Forattini OP, Kakitani I, Sallum MAM. Encontro de criadouros de *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) em recipientes artificiais. **Rev Saúde Pública** 1997;31(5):519-22.
20. Forattini OP, Kakitani I, Santos RLC, Kobayashi KM, Ueno HM e Fernandez Z. Comportamento de *Aedes albopictus* e de *Aedes scapularis* adultos (Diptera: Culicidae) no Sudeste do Brasil. **Rev Saúde Pública** 2000; 34(5):461:7.
21. Forattini, OP. **Culicidologia Médica v.2**. São Paulo: Ed. USP; 2002.
22. Foster WA. Mosquito sugar feeding and reproductive energetics. **Ann Rev Entomol** 1995; 40:443-74.
23. Fox AS, Brust RA. How do dilatations form in mosquito ovarioles. **Parasitol Today** 1994; 10(1):19-23.

24. Gomes AC, Silva NN, Marques GRAM e Brito M. Host-feeding patterns of potential human disease vectors in the Paraíba Valley Region, State of São Paulo, Brazil. **J Vector Ecol** 2003; 28(1)74-78.
25. Hien DS. Biology of *Aedes aegypti* (L., 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera, Culicidae). V. The gonotrophic cycle and oviposition. **Acta Parasit Pol**, 1976; 24:37-55.
26. Hoc TQ, Charlwood JD Age determination of *Aedes cantans* using the ovarian oil injection technique. **Med Vet Entomol** 1990 4:227-33, 1990.
27. Iversson LB. Rocio encephalitis. In: Monath TP, editor. **The arboviruses: epidemiology and ecology**. Boca Raton: CRC Press, 1989.v4.p77-92.
28. Iversson LB, Rosa APAT da, Rosa MDB. Ocorrência recente de infecção humana por arbovirus Rocio na região do Vale do Ribeira. **Rev Inst Me Trop S Paulo**, 1989; 31:28-31.
29. Kakitani I. **Observações preliminares sobre a paridade de *Anopheles (Kerteszia) cruzii***. São Paulo; 1992. [Dissertação de mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

30. Kakitani I. **Paridade e desenvolvimento ovariano de *Anopheles albätarsis* I.s. Em área de agro-ecossistema irrigado.** São Paulo; 1997. [Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da USP].
31. Kakitani I, Ueno, HM, Forattini OP. Paridade e a influência do vento sobre a hematofagia de *Anopheles marajoara* e frequência de *Aedes scapularis* no Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil (Diptera: Culicidae) **Rev de Saúde Pública** 2003; 37:280-4.
32. Kardos EH, Bellamy RE. Distinguishing nulliparos from parous female *Culex tarsalis* by examination of the ovarium tracheation. **Ann Ent Soc Am**, 1961 54:448-51.
33. Klowden MJ, Briegel H. Mosquito gonotrophic cycle and multiple feeding potential: Contrasts between *Anopheles* and *Aedes* (Diptera: Culicidae). **J Med Entomol**, 1994; 31:618-22.
34. Labarthe N, Serrão, ML, Melo YF, Oliveira, SJ de, Lourenço-de-Oliveira, R. Potential vectors of *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) in Itacoatiara, Oceanic Region of Niterói municipality, State of Rio de Janeiro, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 1998; 93(4):425-32.

35. Lea AO, Briegel H, Lea HM. Arrest, resorption, or maturation of oocytes in *Aedes aegypti*: dependence on the quantity of blood and the interval between blood meals. **Physiol Entomol**, 1978; 3:309-316.
36. Lourenço-de-Oliveira R, Deane LM. Presumed *Dirofilaria immitis* Infections in Wild-Caught *Aedes taeniorhynchus* and *Aedes scapularis* in Rio de Janeiro, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 1995; 90(3):387-388.
37. Menezes RMT. Aspectos bioecológicos de *Culex quinquefasciatus* e *Ochlerotatus scapularis*, abrigados em habitats do Parque Ecológico do Tietê na cidade de São Paulo, SP. São Paulo; 2002 [Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da USP].
38. Mitchell CJ, Forattini OP. Experimental transmission of Rocio Encephalitis Virus by *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) from the epidemic zone in Brazil. **J Med Entomol** 1984; 21(1):34-37.
39. Mitchell CJ, Forattini OP, Miller BR. Vector competence experiments with Rocio Virus and three mosquito species from the epidemic zone in Brazil. **Rev Saúde Pública** 1986;20(3):171-7.
40. Nayar JK, Knight JW. Occurrence of ovariolar dilatations in nulliparous mosquitoes: *Culex nigripalpus* **Mosq News** 1981; 41(2):281-87.

41. Nayar JK, Knight JW. Ovarian development in *Culex nigripalpus* Theobald (Diptera: Culicidae) and its implication to disease transmission. **Entomologia exp. appl.** 1981b; 29:49-59.
42. Reinert JF. New classification for the composite genus *Aedes* (Diptera: Culicidae: Aedini), elevation of subgenus *Ochlerotatus* to generic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. **J Am Mosq Control Assoc** 2000; 16(3):175-88.
43. Reinert JF. Revised list of abbreviations for genera and subgenera of Culicidae (Diptera) and notes on generic and subgeneric changes. **J Am Mosq Control Assoc** 2001; 17(1):51-5.
44. Romano-Lieber NS, Iversson LB. Inquérito soroeidemiológico para pesquisa de infecções por arbovírus em moradores de reserva ecológica. **Rev Saúde Pública** 2000; 34(3):236-42.
45. Santos RLC. **Medida da capacidade vetorial de *Anopheles albitarsis* e de *Anopheles (Kerteszia)* da região sudeste do Brasil.** São Paulo; 2001. [Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo].
46. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. Programa de educação ambiental do Vale do Ribeira. São Paulo; 1992 (Série Educação Ambiental).

47. SEADE - Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados - Informações municipais - perfil municipal. Disponível em: URL: <<http://www.seade.gov.br/perfil/index.html>>. [2004 Ago 20].
48. Service M. W. **Mosquito ecology: field sampling methods**. 2. ed. London: Elsevier Applied Science; 1993.
49. Silva, AM, Menezes RMT. Encontro de *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) em criadouro artificial em localidade da região Sul do Brasil. **Rev Saúde Pública** 1996; 30:103-4.
50. Sokolova MI. A redescription of the morphology of mosquito (Diptera: Culicidae) ovariolo during vitellogenesis. **Bull Soc Vector Ecol** 1994; 19(1):53-68.

ANEXOS

ANEXO 1 - Tabela geral com dados de laboratório

Tabela 1: Anotações sobre todo o ciclo e diagnóstico de condição de paridade segundo a Escola Nova de 100 Oc. *scapularis* mantidos em laboratório (F1), partir de fêmeas capturadas em Cananéia de janeiro à março de 2004.

Nº	Pup	1º R	Post	2º R	Post	3º R	Post	4º R	Post	5º R	Post	6º R	Post	7º R	Post	8º R	Post	Morte	Nulip.	Nu.FIII-V	Unip.	Un.FIII-V	Bipara	Bi.FIII-V	s/cond
1	12/4	15/4	18/4	18/4	22/4	22/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	27/4				*			
2	12/4	15/4	18/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	20/4		*					
3	12/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	17/4							*
4	12/4	16/4	19/4	19/4	---	21/4	25/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	28/4				*			
5	12/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	17/4							*
6	13/4	18/4	---	20/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	23/4		*					
7	13/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	18/4	*						
8	13/4	17/4	---	19/4	24/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	24/4		*					
9	15/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	19/4							*
10	15/4	18/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	22/4		*					
11	15/4	18/4	21/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	21/4		*					
12	15/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	19/4	*						
13	15/4	18/4	---	20/4	---	22/4	24/4	24/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	28/4		*					
14	15/4	18/4	---	20/4	---	22/4	25/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	25/4		*					
15	15/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	19/4							*
16	15/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	19/4	*						
17	15/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	19/4	*						
18	15/4	18/4	---	22/4	25/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	26/4			*				
19	15/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	19/4	*						
20	15/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	19/4	*						
21	17/4	20/4	---	22/4	24/4	24/4	---	28/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/5			*				
22	17/4	20/4	---	22/4	24/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	24/4				*			
23	17/4	20/4	---	22/4	24/4	24/4	---	28/4	---	30/4	2/5	---	---	---	---	---	---	3/5			*				
24	17/4	20/4	---	22/4	24/4	24/4	---	26/4	30/4	2/5	---	---	---	---	---	---	---	5/5		*					
25	17/4	20/4	---	22/4	25/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	25/4			*				
26	17/4	20/4	---	---	22/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	22/4		*					
27	17/4	20/4	---	22/4	26/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	26/4		*					
28	17/4	20/4	---	22/4	24/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	24/4			*				
29	17/4	20/4	---	22/4	24/4	24/4	---	26/4	30/4	1/5	4/5	4/5	---	6/5	9/5	9/5	13/5	14/5			*				
30	17/4	20/4	---	22/4	24/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	24/4				*			

Pupa - data da muda de larva para pupa e montagem da gaiola para o controle da idade das fêmeas

R = data do repasto sangüíneo

P= data de postura

(cont.) Tabela 1																									
Nº	Pup	1º R	Post	2º R	Post	3º R	Post	4ºR	Post	5º R	Post	6ºR	Post	7ºR	Post	8ºR	Post	Morte	Nulip.	Nu.FIII-V	Unip.	Un.FIII-V	Bipara	Bi.FIII-V	s/cond
31	17/4	20/4	---	22/4	24/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	24/4			*				
32	17/4	21/4	---	23/4	26/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	26/4		*					
33	18/4	21/4	---	23/4	---	25/4	29/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	29/4				*			
34	18/4	21/4	24/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	24/4		*					
35	18/4	21/4	24/4	24/4	---	26/4	---	28/4	30/4	---	---	---	---	---	---	---	---	30/4					*		
36	18/4	21/4	24/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	24/4				*			
37	18/4	21/4	---	23/4	25/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	26/4			*				
38	18/4	21/4	24/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	24/4		*					
39	18/4	21/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	23/4	*						
40	18/4	21/4	25/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	25/4		*					
41	18/4	21/4	24/4	24/4	---	26/4	30/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	30/4			*				
42	18/4	21/4	---	23/4	---	25/4	29/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	29/4			*				
43	18/4	21/4	24/4	26/4	---	30/4	4/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5/5			*				
44	18/4	21/4	---	23/4	24/4	24/4	---	26/4	30/4	---	---	---	---	---	---	---	---	30/4				*			
45	18/4	23/4	27/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	27/4			*				
46	18/4	24/4	---	30/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	6/5			*				
47	18/4	23/4	26/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	26/4			*				
48	18/4	25/4	---	29/4	---	1/5	---	3/5	8/5	---	---	---	---	---	---	---	---	10/5		*					
49	19/4	22/4	25/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	25/4		*					
50	19/4	22/4	25/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	25/4				*			
51	20/4	24/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	29/4			*				
52	20/4	24/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	28/4		*					
53	21/4	25/4	29/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	29/4			*				
54	21/4	28/4	2/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/5			*				
55	24/4	27/4	---	29/4	---	1/5	4/5	4/5	---	6/5	9/5	9/5	13/5	---	---	---	---	13/5				*			
56	24/4	27/4	---	29/4	---	1/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/5		*					
57	24/4	27/4	---	29/4	3/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/5			*				
58	24/4	27/4	---	29/4	1/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/5				*			
59	24/4	27/4	30/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	30/4			*				

Pupa - data da muda de larva para pupa e montagem da gaiola para o controle da idade das fêmeas

R = data do repasto sangüíneo

P= data de postura

(cont.) Tabela 1																											
Nº	Pup	1º R	Post	2º R	Post	3º R	Post	4ºR	Post	5º R	Post	6ºR	Post	7ºR	Post	8ºR	Post	Morte	Nulip.	Nu.FIII-V	Unip.	Un.FIII-V	Bipara	Bi.FIII-V	s/cond		
60	24/4	28/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	29/4							*		
61	24/4	28/4	2/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/5			*						
62	24/4	30/4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/5		*							
63	25/4	29/4	---	1/5	---	5/5	6/5	6/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10/5		*							
64	25/4	29/4	3/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/5			*						
65	25/4	29/4	---	1/5	---	5/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	8/5		*							
66	25/4	29/4	---	3/5	4/5	4/5	7/5	7/5	10/5	10/5	---	12/5	14/5	---	---	---	---	14/5			*						
67	25/4	29/4	2/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/5			*						
68	25/4	29/4	---	1/5	3/5	3/5	---	6/5	---	8/5	10/5	10/5	---	12/5	14/5	14/5	---	18/5				*					
69	25/4	29/4	2/5	2/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/5			*						
70	25/4	29/4	3/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/5			*						
71	25/4	29/4	---	1/5	3/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/5			*						
72	25/4	29/4	3/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/5			*						
73	25/4	29/4	4/5	4/5	---	6/5	9/5	9/5	---	11/5	---	---	---	---	---	---	---	13/5		*							
74	25/4	29/4	---	1/5	---	3/5	---	5/5	---	7/5	---	9/5	14/5	---	---	---	---	14/5		*							
75	25/4	29/4	---	5/5	10/5	10/5	---	13/5	---	15/5	18/5	---	---	---	---	---	---	18/5							*		
76	25/4	29/4	---	1/5	3/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/5			*						
77	25/4	29/4	---	1/5	3/5	4/5	7/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	7/5				*					
78	25/4	29/4	---	1/5	4/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/5			*						
79	26/4	2/5	6/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	6/5			*						
80	26/4	2/5	5/5	5/5	9/5	9/5	---	11/5	13/5	14/5	17/5	---	---	---	---	---	---	17/5				*					
81	26/4	5/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	12/5		*							
82	26/4	4/5	---	6/5	8/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9/5			*						
83	26/4	4/5	8/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	8/5				*					
84	26/4	5/5	---	7/5	---	9/5	11/5	11/5	15/5	15/5	---	16/5	19/5	---	---	---	---	20/5			*						
85	26/4	5/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	6/5	*								
86	27/4	2/5	6/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	6/5		*							
87	27/4	3/5	---	5/5	9/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9/5			*						
88	27/4	3/5	---	5/5	9/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9/5			*						
89	27/4	2/5	6/5	6/5	---	8/5	12/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	12/5									

Pupa - data da muda de larva para pupa e montagem da gaiola para o controle da idade das fêmeas

R = data do repasto sangüíneo

P= data de postura

(cont.) Tabela 1																									
N°	Pup	1° R	Post	2° R	Post	3° R	Post	4°R	Post	5° R	Post	6°R	Post	7°R	Post	8°R	Post	Morte	Nulip.	Nu.FIII-V	Unip.	Un.FIII-V	Bipara	Bi.FIII-V	s/cond
90	27/4	2/5	---	4/5	7/5	7/5	---	9/5	14/5	---	---	---	---	---	---	---	---	14/5				*			
91	27/4	5/5	---	9/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	13/5		*					
92	27/4	5/5	9/5	9/5	---	10/5	---	14/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	18/5		*					
93	27/4	5/5	---	7/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10/5		*					
94	27/4	2/5	---	4/5	7/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9/5			*				
95	27/4	4/5	---	6/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10/5		*					
96	27/4	2/5	---	4/5	7/5	7/5	10/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	11/5				*			
97	27/4	2/5	6/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	6/5				*			
98	29/4	6/5	10/5	10/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	15/5		*					
99	29/4	6/5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	12/5		*					
100	29/4	6/5	11/5	11/5	---	13/5	15/5	15/5	18/5	---	---	---	---	---	---	---	---	18/5			*				

Pupa - data da muda de larva para pupa e montagem da gaiola para o controle da idade das fêmeas
R = data do repasto sanguíneo
P= data de postura

Tabela 3: Data de oviposição e número de ovos colocados por fêmeas de *Oc. scapularis* mantidas em laboratório (F1).

Nº ♀	1ª Ovip	Quant.	2ª Ovip	Quant.	3ª Ovip	Quant.	4ª Ovip	Quant.	5ª Ovip	Quant.	6ª Ovip	Quant.	Total
1	18/4	165	22/4	53	--	--	--	--	--	--	--	--	218
2	18/4	103	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	103
3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
4	19/4	118	25/4	2	--	--	--	--	--	--	--	--	120
5	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
6	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
7	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
8	24/4	2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	2
9	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
10	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
11	21/4	39	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	39
12	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
13	24/4	78	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	78
14	25/4	3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	3
15	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
16	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
17	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
18	25/4	145	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	145
19	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
20	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
21	24/4	66	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	66
22	24/4	61	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	61
23	24/4	50	2/5	45	--	--	--	--	--	--	--	--	95
24	24/4	75	30/4	25	--	--	--	--	--	--	--	--	100
25	25/4	76	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	76
26	22/4	3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	3
27	26/4	10	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	10
28	24/4	76	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	76
29	24/4	38	30/4	93	4/5	84	9/5	66	13/5	101	--	--	382
30	24/4	53	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	53

(cont.) Tabela 3													
Nº ♀	1ª Ovip	Quant.	2ª Ovip	Quant.	3ª Ovip	Quant.	4ª Ovip	Quant.	5ª Ovip	Quant.	6ª Ovip	Quant.	Total
31	24/4	72	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	72
32	26/4	1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	1
33	29/4	8	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	8
34	24/4	102	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	102
35	24/4	106	30/4	16	--	--	--	--	--	--	--	--	122
36	24/4	40	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	40
37	25/4	106	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	106
38	24/4	85	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	85
39	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
40	25/4	7	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	7
41	24/4	72	30/4	73	--	--	--	--	--	--	--	--	145
42	29/4	149	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	149
43	24/4	127	4/5	83	--	--	--	--	--	--	--	--	210
44	24/4	103	30/4	2	--	--	--	--	--	--	--	--	105
45	27/4	49	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	49
46	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
47	26/4	121	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	121
48	8/5	3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	3
49	25/4	34	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	34
50	25/4	36	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	36
51	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
52	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
53	29/4	155	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	155
54	2/5	75	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	75
55	4/5	40	9/5	39	13/5	66	--	--	--	--	--	--	145
56	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
57	3/5	77	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	77
58	1/5	61	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	61
59	30/4	101	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	101
60	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0

(cont.) Tabela 3

Nº	1ª Ovip	Quant	2ª Ovip	Quant	3ª Ovip	Quant	4ª Ovip	Quant	5ª Ovip	Quant	6ª Ovip	Quant	Total
61	2/5	102	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	102
62	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
63	6/5	6	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	6
64	3/5	66	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	66
65	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
66	4/5	83	7/5	102	10/5	94	14/5	58	--	--	--	--	337
67	2/5	112	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	112
68	3/5	126	10/5	56	14/5	19	--	--	--	--	--	--	201
69	2/5	79	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	79
70	3/5	124	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	124
71	3/5	87	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	87
72	3/5	89	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	89
73	4/5	74	9/5	81	--	--	--	--	--	--	--	--	155
74	14/5	39	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	39
75	10/5	65	18/5	72	--	--	--	--	--	--	--	--	137
76	3/5	91	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	91
77	3/5	87	7/5	67	--	--	--	--	--	--	--	--	154
78	4/5	121	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	121
79	6/5	110	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	110
80	5/5	45	9/5	19	13/5	22	17/5	59	--	--	--	--	145
81	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
82	8/5	71	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	71
83	8/5	81	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	81
84	11/5	13	15/5	88	19/5	74	--	--	--	--	--	--	175
85	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
86	6/5	39	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	39
87	9/5	85	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	85
88	9/5	121	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	121
89	6/5	98	12/5	92	--	--	--	--	--	--	--	--	190
90	7/5	113	14/5	161	--	--	--	--	--	--	--	--	274

(cont.) Tabela 3													
N°	1ª Ovip	Quant.	2ª Ovip	Quant.	3ª Ovip	Quant.	4ª Ovip	Quant.	5ª Ovip	Quant.	6ª Ovip	Quant.	Total
91	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
92	9/5	109	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	109
93	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
94	7/5	68	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	68
95	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
96	7/5	107	10/5	59	--	--	--	--	--	--	--	--	166
97	6/5	79	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	79
98	10/5	62	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	62
99	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
100	11/5	84	15/5	42	18/5	90	--	--	--	--	--	--	216

Quadro 1: Data de oviposição e número de ovos colocados por fêmeas de *Oc. scapularis* mantidas em laboratório (F1).

Nº ♀	1ª Ovip	Quant.	2ª Ovip	Quant.	3ª Ovip	Quant.	4ª Ovip	Quant.	5ª Ovip	Quant.	6ª Ovip	Quant.	Total
1	18/4	165	22/4	53	--	--	--	--	--	--	--	--	218
2	18/4	103	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	103
3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
4	19/4	118	25/4	2	--	--	--	--	--	--	--	--	120
5	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
6	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
7	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
8	24/4	2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	2
9	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
10	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
11	21/4	39	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	39
12	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
13	24/4	78	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	78
14	25/4	3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	3
15	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
16	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
17	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
18	25/4	145	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	145
19	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
20	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
21	24/4	66	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	66
22	24/4	61	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	61
23	24/4	50	2/5	45	--	--	--	--	--	--	--	--	95
24	24/4	75	30/4	25	--	--	--	--	--	--	--	--	100
25	25/4	76	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	76
26	22/4	3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	3
27	26/4	10	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	10
28	24/4	76	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	76
29	24/4	38	30/4	93	4/5	84	9/5	66	13/5	101	--	--	382
30	24/4	53	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	53

(cont.) Quadro 1													
Nº ♀	1ª Ovip	Quant.	2ª Ovip	Quant.	3ª Ovip	Quant.	4ª Ovip	Quant.	5ª Ovip	Quant.	6ª Ovip	Quant.	Total
31	24/4	72	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	72
32	26/4	1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	1
33	29/4	8	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	8
34	24/4	102	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	102
35	24/4	106	30/4	16	--	--	--	--	--	--	--	--	122
36	24/4	40	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	40
37	25/4	106	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	106
38	24/4	85	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	85
39	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
40	25/4	7	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	7
41	24/4	72	30/4	73	--	--	--	--	--	--	--	--	145
42	29/4	149	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	149
43	24/4	127	4/5	83	--	--	--	--	--	--	--	--	210
44	24/4	103	30/4	2	--	--	--	--	--	--	--	--	105
45	27/4	49	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	49
46	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
47	26/4	121	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	121
48	8/5	3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	3
49	25/4	34	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	34
50	25/4	36	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	36
51	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
52	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
53	29/4	155	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	155
54	2/5	75	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	75
55	4/5	40	9/5	39	13/5	66	--	--	--	--	--	--	145
56	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
57	3/5	77	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	77
58	1/5	61	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	61
59	30/4	101	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	101
60	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0

(cont.) Quadro 1													
N° ♀	1ª Ovip	Quant.	2ª Ovip	Quant.	3ª Ovip	Quant.	4ª Ovip	Quant.	5ª Ovip	Quant.	6ª Ovip	Quant.	Total
61	2/5	102	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	102
62	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
63	6/5	6	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	6
64	3/5	66	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	66
65	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
66	4/5	83	7/5	102	10/5	94	14/5	58	--	--	--	--	337
67	2/5	112	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	112
68	3/5	126	10/5	56	14/5	19	--	--	--	--	--	--	201
69	2/5	79	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	79
70	3/5	124	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	124
71	3/5	87	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	87
72	3/5	89	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	89
73	4/5	74	9/5	81	--	--	--	--	--	--	--	--	155
74	14/5	39	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	39
75	10/5	65	18/5	72	--	--	--	--	--	--	--	--	137
76	3/5	91	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	91
77	3/5	87	7/5	67	--	--	--	--	--	--	--	--	154
78	4/5	121	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	121
79	6/5	110	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	110
80	5/5	45	9/5	19	13/5	22	17/5	59	--	--	--	--	145
81	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
82	8/5	71	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	71
83	8/5	81	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	81
84	11/5	13	15/5	88	19/5	74	--	--	--	--	--	--	175
85	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
86	6/5	39	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	39
87	9/5	85	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	85
88	9/5	121	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	121
89	6/5	98	12/5	92	--	--	--	--	--	--	--	--	190
90	7/5	113	14/5	161	--	--	--	--	--	--	--	--	274

(cont.) Quadro 1

N° ♀	1ª Ovip	Quant.	2ª Ovip	Quant.	3ª Ovip	Quant.	4ª Ovip	Quant.	5ª Ovip	Quant.	6ª Ovip	Quant.	Total
91	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
92	9/5	109	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	109
93	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
94	7/5	68	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	68
95	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
96	7/5	107	10/5	59	--	--	--	--	--	--	--	--	166
97	6/5	79	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	79
98	10/5	62	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	62
99	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0
100	11/5	84	15/5	42	18/5	90	--	--	--	--	--	--	216

ANEXO 2 – Procedimento com o material de campo.

Figura 4: Triagem das fêmeas de *Oc. scapularis* coletadas em campo e individualizadas em Borrel. Posto da USP em Pariquera-Açu, agosto de 2003.