

Ministério da Saúde

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Instituto Oswaldo Cruz

Curso de Pós-graduação em Biologia Parasitária

DECEM/99
Osw
mendoza

**VARIAÇÕES FENOTÍPICAS E GENOTÍPICAS EM *Anopheles oswaldoi* s.l.
(DIPTERA: CULICIDAE)**

por

Carmen Flores Mendoza

Tese apresentada à Coordenação do Curso de Pós - Graduação em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz para obtenção do grau de Doutor em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Orientador: Dr. Ricardo Lourenço de Oliveira

23, Dezembro 1999

Ministério da Saúde

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Instituto Oswaldo Cruz

Curso de Pós-graduação em Biologia Parasitária

**VARIAÇÕES FENOTÍPICAS E GENOTÍPICAS EM *Anopheles oswaldoi* s.l.
(DIPTERA: CULICIDAE)**

Carmen Flores Mendoza

foi avaliada pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Hooman Momen

Profa. Dra. Elizabeth Ferreira Rangel

Prof. Dr. Rubens Pinto de Mello

Prof. Dr. Delsio Natal

Profa. Dra. Ana Leuch Lozovei

Trabalho realizado entre janeiro de 1995 e 1999, no Laboratório de Transmissores de Hematozoários do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, sob a orientação do Dr. Ricardo Lourenço de Oliveira.

Flores Mendoza, Carmen

Variações fenotípicas e genotípicas em *Anopheles oswaldoi* s.l. (Diptera: Culicidae). Rio de Janeiro, 1999.

ix, 156 p. ilus.

Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) – Instituto Oswaldo Cruz.

1. Culicidae 2. *Anopheles* 3. *Anopheles oswaldoi* 4. Taxonomia. I. Título.

CDD: 595.771

Dedico a meus pais Rosa e Manuel (*in memoriam*),
pelo carinho, confiança, estímulo e ensinamento
que sempre me deram.

AGRADECIMENTOS

À Deus por conceder-me o privilégio de estar e continuar aqui;

Aos amigos que me deram apoio, renovando minhas forças nos momentos mais difíceis de minha caminhada;

Ao Dr. Ricardo Lourenço de Oliveira, orientador e amigo, pelo exemplo e apoio constante;

Ao Instituto Oswaldo Cruz, pelo suporte e concessão da bolsa de Doutorado;

À Professora Sônia Fraga do Museu Nacional do Rio de Janeiro, pelas facilidades oferecida na análise do material tipo de *An. oswaldoi* (Peryassú, 1922).

À Jacenir R. dos Santos Mallet pelas fotografias e Teresa Fernandez pela apoio no processamento dos ovos por Microscopia Eletrônica de Varredura;

À Dra. Maria Goreti Rosa Freitas e ao Dr. Hooman Momen, pela amizade e sugestões na análise de RAPD-PCR;

Aos Dr. Richard Wilkerson, Yasmin Rubio Palis e Dinair Couto Lima pela coleta e doações de materiais procedente de Peixoto de Azevedo, Porto Velho (Brasil), e Ocamo (Venezuela);

À Dra. Ana Carolina Paulo Vicente e Koko Otzuki, do Departamento de Genética, pela orientação e ensino da técnica de RAPD-PCR;

Ao Dr. Pedro Cabello, pela amizade e assistência nas análises estatísticas;

À Dra. Judith Kloetzel, Mauro Marrelli, Oswaldo Marinotti e Nildimar Honório, pela amizade e colaboração nos trabalhos realizados;

A Dra. Elizabeth Rangel, pelo apoio, amizade e revisão da tese;

Ao Dr. Douglas M. Watts e equipe do Instituto de Doenças Tropicais (NAMRID-PERU), pelo apoio e amizade;

A Gloria Gonçalves, pela execução dos trabalhos de nankim;

A Genilton Vieira e equipe pelo tratamento de imagens e slides;

À Fundação Nacional de Saúde – FNS, pelo apoio logístico e auxílio nas coletas: Sr. Flaviano de Souza Almeida e equipe de Entomologia de Coari, Amazonas; Sr. Renán de Souza Santos e equipe do Núcleo de Entomologia do Acre; Sr. Claudiney dos Santos do Núcleo de Entomologia de Vitória, Espírito Santo; Fátima dos Santos e equipe da Coordenação Regional de Rondônia, Sr. Herberto Dantas Filho e equipe do Núcleo de Entomologia de Santarém, Pará;

Aos amigos Roberto Fernández (NAMRID-PERU), Maria Teresa Santa Cruz (Hospital de Yurimaguas), pela amizade, infra-estrutura e colaboração no trabalho de campo em Yurimaguas, Peru;

A Monique Albuquerque Motta, pela fiel amizade e apoio no desenvolvimento da tese;

Aos amigos Márcia Castro, Tereza Fernandez, Nildimar Honório, Dinar Couto Lima Mariangela Ziccardi Barcellos, Maria Goreti Rosa Freitas, Carlos José Pinto, Marcelo Quintela, Ricardo Ferreira, por me fazerem sentir em família e pelo apoio no desenvolvimento da tese;

A Janaina Furtado das Neves, pela amizade e ajuda no desenvolvimento da tese;

Aos amigos do Departamento de Entomologia: Tereza Cristina Gonçalves, Denise Valle, Maurício Vilela, Alfredo Azevedo, Adenildo Vasconcelos e Cláudio Meneses, Dayse Rocha da Silva, Cleber Galvão, Verônica Marchon, Ângela Lúcia pelo apoio e amizade;

Á Dr. Darwin Vizcarra e equipe pelo apoio, força e amizade;

Aos amigos Neyda Quispe, Emperatriz Gómez, Rosario Escarsena, Elizabeth Sanchez, Carmen Taipe, Patricia Garrido, Graciela Escarsena, Doris Alcazar, Lia Gómez, Fernando Chapilliquén, Edgar Montalbán e Guillermo Calderón pelo carinho e apoio;

A meus familiares Consuelo, Carlos, Edgar, Juan, Giovanna, Karen, Vannesa, Alexandra, Lilian, Adriana, Klaudia pelo carinho, apoio e por acreditarem em mi;

As Famílias Motta, Albuquerque e Lima, pelo apoio e por me fazerem sentir parte da família;

Enfim, à todos aqueles que de maneira direta ou indireta contribuíram na realização deste trabalho.

Índice

1. RESUMO.....	1
2. INTRODUÇÃO.....	2
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1 Locais de coleta.....	11
3.1.1 Brasil.....	11
3.1.2 Peru.....	12
3.1.3 Venezuela.....	12
3.2 Coleta de adultos e formas imaturas.....	15
3.2.1 Coleta de adultos.....	15
3.2.2 Pesquisa de formas imaturas.....	15
3.3 Manutenção das fêmeas para obtenção de sua progênie.....	15
3.4 Morfologia.....	18
3.4.1 Preparação de material para estudo morfológico.....	18
3.4.2 Análise morfológica e morfométrica.....	18
3.4.2.1 Morfologia dos adultos.....	18
3.4.2.2 Morfologia das pupas.....	19
3.4.2.3 Morfologia das larvas.....	19
3.4.2.4 Análise morfológica dos ovos por Microscopia.....	20
Eletrônica de Varredura	
3.4.2.5 Análise estatística dos caracteres morfológicos.....	21
3.5 Técnica de Amplificação Randômica de DNA (RAPD-PCR).....	22
3.5.1 Mosquitos analisados.....	23
3.5.2 Extração de DNA.....	23
3.5.3 Purificação de DNA.....	23
3.5.4 Amplificação Randômica de DNA (RAPD-PCR).....	24
3.5.4.1 Iniciadores.....	24

3.5.4.2 Reação.....	24
3.5.4.3 Visualização.....	24
3.5.4.4 Análise.....	24
4. RESULTADOS.....	26
4.1 Tratamento Taxonômico.....	26
4.2 Análise morfológica.....	26
4.3 Redescrições.....	26
4.4 Análise ampliação Randômica de DNA (RAPD-PCR).....	113
5. DISCUSSÃO.....	122
6. CONCLUSÕES.....	133
7. SUMMARY.....	134
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	135
9. PUBLICAÇÃO ANEXA.....	143

1. RESUMO

Uma análise morfológica, morfométrica e molecular foi realizada em indivíduos morfológicamente identificáveis como *Anopheles oswaldoi* s.l. procedentes de 9 localidades do Brasil, Peru e Venezuela. Para a análise molecular apenas a população de Ocamo, Venezuela, não foi estudada. As análises morfológicas e morfométricas foram realizadas através de microscopia óptica, exceto quanto ao ovo, em que se utilizou também microscopia eletrônica de varredura. Analisaram-se 40 caracteres cujos índices morfométricos foram comparados entre os diferentes estágios das populações estudadas: 13 nas fêmeas, 7 nos machos, 5 nas pupas, 7 nas larvas e 8 nos ovos. A análise molecular foi efetuada com a técnica de amplificação aleatória de fragmentos de DNA-RAPD acoplada à reação em cadeia da polimerase-PCR, RAPD-PCR. Constatou-se que *An. oswaldoi* corresponde a um complexo de espécies crípticas, sendo que duas delas – *An. oswaldoi* Peryassú e *An. konderi* Galvão e Damasceno - são distinguíveis a partir do aspecto do edeago, além de cinco caracteres morfométricos na fêmea e um na larva, estatisticamente significativos. Verificou-se que tanto *An. oswaldoi* s.s. quanto *An. konderi* exibem elevado polimorfismo e que são simpátricos em três das localidades nos Estados do Acre e do Espírito Santo. As análises moleculares revelaram a existência de bandas diagnósticas para essas espécies de, respectivamente 400 pb (iniciador 62) e, 600bp e 900bp (iniciador 131). Além disso, sugeriram a existência de outros dois membros no complexo oswaldoi, relacionados à espécimens de Rondônia e Espírito Santo, morfológicamente identificáveis, respectivamente à *An. konderi* e *An. oswaldoi* s.s. , o que precisa ser melhor investigado. *An. konderi* é aqui ressuscitado da sinonímia de *An. oswaldoi* s.s. Elege-se neótipo para *An. konderi*, acompanhada da redescrição detalhada de ambas as espécies, com ilustrações de aspectos morfológicos de ovo, larva, pupa e adulto.

2. INTRODUÇÃO

A demonstração de que a malária humana é transmitida por mosquitos anofelinos havia sido feita há apenas dois anos, quando Oswaldo Cruz publicava o primeiro trabalho do Instituto que acabava de criar, que tratava exatamente da descoberta de uma espécie nova do gênero *Anopheles* - o *Anopheles lutzi* Cruz, 1901¹. O seu interesse pelo conhecimento dos transmissores do paludismo, que atingia desde a capital da república às povoações mais remotas do sertão do Brasil, entusiasmou alguns de seus colaboradores e assistentes do Instituto de Manguinhos. A pesquisa sobre a sistemática e história natural de mosquitos atraiu, para Manguinhos, Antônio Gonçalves Peryassú, que escreveu duas importantes monografias sobre o tema. Na primeira delas - "Os Culicídeos do Brasil", Peryassú (1908) cita seis espécies de anofelinos encontradas na Amazônia consideradas como transmissores da malária (*An. lutzi*, *An. mediopunctatus* e *An. nimbus*, dentre outras). Naquela época, acreditava-se que praticamente todos os anofelinos eram transmissores da malária e, com efeito, essas espécies assinaladas por Peryassú (*loc cit.*) nunca foram comprovadas como vetores naturais da malária. Procurando melhor conhecer os vetores em nosso meio, Peryassú (1921) aprofundou seus estudos sobre sistemática, publicando a sua segunda monografia - "Os Anofelinos do Brasil".

Um ano após, Peryassú (1922) descreve *Cellia oswaldoi* (= *Anopheles*² *oswaldoi*), a partir de fêmeas e machos procedentes do Vale do Rio Doce, Espírito Santo, e da Baixada Fluminense, Rio de Janeiro. Peryassú (*idem*: 179) descreve a espécie como sendo

muito próxima de Cellia tarsimaculata Goeldi, da qual se diferencia:
a) por ser maior e mais clara; b) pelos palpos que são muito brancos, pois, têm, também branco no terço apical do antepenultimo articulo, além de escamas claras espalhadas no resto do referido articulo; c)

¹ Cruz OG 1901. Contribuição para o estudo dos culicídeos do Rio de Janeiro. *Brasil-Med* 15: 423-26.

² Root (1926a) considerou que as espécies americanas de Anophelinae, agrupadas no gênero *Cellia* Theobald, 1902, pertenciam ao subgênero *Nyssorhynchus* Blanchard, 1902, do gênero *Anopheles*.

pelas pernas mais esbranquiçadas e pelo primeiro do tarso posterior que apresenta na base apenas um anel preto, muito estreito, enquanto C. tarsimaculata, o primeiro do tarso é preto em todo o terço basal; d) pelo colorido geral; e) finalmente, pela larva que é distinta da Cellia tarsimaculata" (sic.).

Cellia tarsimaculata Goeldi, 1905, na verdade, não é um nome válido, pois foi aplicado para uma mistura de espécies distintas (Causey et al. 1945). Porém, durante muitos anos, este nome foi amplamente usado para chamar uma série de anofelinos que apresentam anel escuro no último tarsômero posterior. E as variações na proporção da mancha escura do II tarsômero posterior desses mosquitos, que hoje sabemos ser caráter de distinção entre espécies válidas, eram consideradas como variações intra-específicas, raças ou subespécies de *An. tarsimaculatus* (Goeldi) (e.g. Townsend 1933, Galvão & Lane 1938, Rozeboom & Gabaldon 1941).

Em vista da descrição superficial feita por Peryassú (1922) muitos taxonomistas logo duvidaram da validade de *Anopheles oswaldoi*. Root (1926a,b) e Komp (1941), por exemplo, consideraram a espécie como sinônimo de *Anopheles tarsimaculatus*. Outros tratavam *oswaldoi* como variedade ou subespécie de *tarsimaculatus* (e.g. Costa-Lima, 1928 e Galvão & Lane 1938).

Curry (1932), no Panamá, descreveu duas variedades de *An. tarsimaculatus*: *An. tarsimaculatus* var. *aquasalis* e *An. tarsimaculatus* var. *aquacaelestis*. Observou que os adultos dessas variedades diferiam em alguns caracteres (tamanho da mancha do segundo tarso posterior, que em *aquasalis* ocupa a metade basal do segmento, enquanto em *aquacaelestis* é 1/6) e na genitália masculina (o sulco mediano do lobo ventral do claspete bem definido em *aquacaelestis* ao contrário de *aquasalis*). As larvas de *aquasalis* apresentam cerdas clipeais anteriores (2,3-C) pouco ramificadas, ao contrário de *aquacaelestis* em que são fortemente ramificadas. As larvas de *aquasalis* criam-se em água salobra ao passo que as de *aquacaelestis* vivem em água fresca e sombreada, procedente principalmente das chuvas, que se acumula em solo pobre em cloreto. Curry (1932) reconhecia também que sua variedade *aquacaelestis* era semelhante a *An. oswaldoi* Peryassú. Essas distinções morfológicas e biológicas entre as variedades ressaltadas por Curry (*loc cit.*), de pronto, levaram alguns autores a reconsiderarem a atitude daqueles que os precederam. Com isso, tomaram *An. oswaldoi* Peryassú como espécie válida (Galvão 1938, Galvão & Lane 1938, Gabaldon & Aguilera 1940, Rozeboom & Gabaldon 1941, Rozeboom 1941, Coutinho 1942, Komp 1942, Galvão 1943, Ramos 1943, Cova Garcia

1946, Causey et al. 1944, Causey et al. 1946, Deane et al. 1946, 1948 e Floch & Abonnenc 1951).

Galvão & Damasceno (1942) descreveram *Anopheles (Nyssorhynchus) konderi*, a partir de um espécime macho, procedente da localidade de Coari, Estado do Amazonas. Este exemplar era muito semelhante a *An.¹ oswaldoi* (Peryassú), tanto na larva e pupa quanto na fêmea, diferenciado-se apenas por um caráter da genitália masculina, mais especificamente o edeago: *An. konderi* apresentaria edeago com ápice arredondado e achatado, com projeções latero-basais formando ângulo ao passo que o edeago de *An. oswaldoi* Peryassú, apresenta ápice ovalado, sem processos laterais. *An. konderi* foi considerado como espécie válida por Causey et al. (1946), Coutinho (1946) e Deane et al. (1946, 1948). Alguns dados sobre a distribuição e biologia, tanto de *An. konderi* quanto de *An. oswaldoi*, foram relatados por esses autores. Mas, dada a dificuldade em se separarem as fêmeas das duas espécies a partir dos caracteres morfológicos conhecidos, a literatura sobre *An. konderi* permaneceu muito pobre e sua história natural sempre confundida com a de *An. oswaldoi*. Lane (1953) decide colocar *An. konderi* em sinonímia com *An. oswaldoi* (Peryassú), sem dar a razão de tal atitude.

A partir de então, *An. konderi* é considerado como sinônimo de *An. oswaldoi* por todos os autores. Na última revisão sobre os *Anopheles (Nyssorhynchus)* Faran (1980: 61), cita que

"I have not had the opportunity to examine any material from the type locality of konderi. However, since the proportions of the edeagus appear to change depending on how the genitalia are mounted, and some variation does occur between different populations, I concur at this time with Lane (1953:262) in synonymizing konderi with oswaldoi"

Aliás, com a crescente diminuição da incidência da malária nos grandes centros econômicos do país e em quase toda a América do Sul, o interesse pela pesquisa sobre a sistemática e biologia dos anofelinos diminui muito. Na restrita literatura sobre os anofelinos brasileiros, nos anos 50 a 70, *An. oswaldoi* é, sem nenhuma discussão, tratado como uma única espécie (interpretação que, doravante, chamaremos *An. oswaldoi s.l.*).

Segundo o conhecimento sobre os anofelinos acumulado até o final dos anos 70, *An. oswaldoi s.l.* se distribuiria, na América do Sul, desde o norte da Argentina, ocorrendo na Colômbia, Venezuela, Guiana, Paraguai, Brasil, Bolívia, Peru, Equador, até o Panamá,

Costa Rica, Trinidad e Antilhas (Faran 1980) (Fig. 1). Sempre foi encarado como um mosquito cujo hábitat principal é a floresta, pois é ali que a espécie encontra melhor condição para se desenvolver, já que prefere as águas protegidas dos raios solares para o desenvolvimento das formas imaturas - suas larvas são encontradas em poças produzidas pelas chuvas ou em braços de rio, sombreados a parcialmente sombreados, cuja água é ligeiramente turva, com abundante detrito vegetal. Assim, as fêmeas são geralmente coletadas do lado de fora das casas, nas áreas florestadas ou na sua vizinhança. Atividade hematofágica é essencialmente ao crepúsculo vespertino, preferindo sugar animais que o homem (Curry 1932, Coutinho 1942, 1947, Ramos 1943, Deane et al. 1948, Lourenço-de-Oliveira et al. 1989, Lourenço-de-Oliveira & Luz 1996, Quintero et al. 1996).

Em vista de tais hábitos essencialmente zoofílicos, exofílicos e crepusculares, quase todos os autores não têm considerado *An. oswaldoi s.l.* como transmissor da malária e, conseqüentemente, pouca atenção tem sido dada ao estudo da espécie.

Porém, a ocupação de áreas da Amazônia brasileira, para a implantação de projetos de extrativismo e agropecuários, a partir do final dos anos 70, fez com que um grande número de imigrantes se assentassem na região, residindo em palhoças incrustadas nas florestas que começavam a ceder espaço para a colonização. Na falta de suas fontes de alimentação sangüíneas tradicionais, algumas espécies de anofelinos passaram a ser vistas sugando o homem, no peridomicílio ou mesmo dentro das habitações, cujos limites entre os ambientes intra e extra-domiciliares são praticamente inexistentes. Alguns desses anofelinos, inclusive *An. oswaldoi s.l.*, passaram a ser encontrados naturalmente infectados com plasmódios humanos e, conseqüentemente, encarados como vetores potenciais, secundários ou mesmo primários da malária. A diferença entre os hábitos e na importância como vetor da malária atribuída a esses mosquitos entre a primeira metade do século e o constatado a partir dos meados dos anos 80, somada a observações quanto a ligeiras variações morfológicas, fez com que muitos autores suspeitassem que algumas espécies de anofelinos, na verdade, corresponderiam a complexos de espécies crípticas. Esta possibilidade tem sido investigada em *An. albitarsis* Lynch Arribalzaga, *An. darlingi* Root, *An. triannulatus* (Neiva & Pinto), *An. aquasalis* Curry e *An. muneztovari* Gabaldon, dentre outras espécies do subgênero *Nyssorhynchus* (Kreutzer et al. 1972, Rosa Freitas et al. 1990, 1992, 1998, Conn et al. 1993a, 1993b, 1997, Fritz et al. 1995, Narang et al. 1993, Mérida et al. 1995, Flores-Mendoza, 1994, Silva-do-Nascimento 1995, Wilkerson 1995a,b,

¹ Os gêneros de mosquitos foram abreviados, conforme Reinert (1975)

Freitas Sibajev et al. 1995, Manguin et al. 1999, Lounibos et al. 1998, Scarpassa et al. 1999 e Marelli 1999b).

Diferenças nos hábitos e no potencial de *An. oswaldoi s.l.* como vetor da malária passaram a ser notadas. E.L. Peyton (*apud* Klein & Lima. 1990) sugeriu que, em Costa Marques, Rondônia, existiriam duas formas de *oswaldoi*: uma ocorreria nas clareiras, nas áreas recém modificadas, que corresponderia ao *An. konderi*, enquanto que *An. oswaldoi sensu stricto* estaria restrito à floresta. Isto teria implicações diretas na importância sanitária de *An. oswaldoi s.l.*, que variaria de acordo com o nível de desflorestamento e, conseqüentemente, com o grau de contato que suas populações teriam com humanos.

Chadee & Beier (1996), em Valência, Trinidad, observaram uma mudança no comportamento de *An. oswaldoi s.l.* numa área onde ocorreu desmatamento e conseqüente declínio da população de animais silvestres. Tais áreas passaram a ser habitadas pelo homem e, nessa situação, *An. oswaldoi s.l.* tornou-se vetor potencial da malária.

Rubio- Palis *et al.* (1994) em Jabillos, Oeste da Venezuela, ao realizarem estudos sobre preferência alimentar de anofelinos, registraram tendência antropofílica na população local de *An. oswaldoi s.l.*, já que 57,1% dos exemplares dessa espécie haviam se alimentado de sangue humano, contra 42,9% que haviam sugado boi. Esse achado contrasta bastante com as observações da maioria dos autores brasileiros (Coutinho 1947, Deane et al. 1948, Lourenço-de-Oliveira et al. 1989, Oliveira-Ferreira et al. 1992)

A susceptibilidade de *An. oswaldoi s.l.* aos parasitos maláricos tem sido avaliada experimentalmente, porém sem considerar a possibilidade de se estar lidando com mais de uma espécie. Assim, infecções experimentais realizadas, no Brasil, por Fonseca & Fonseca (1942) resultaram na infecção de 12% dos *An. oswaldoi s.l.* testados, procedentes de Guarujá, São Paulo, com *Plasmodium vivax*. Freitas (1942) conseguiu infectar 40% dos exemplares de *An. oswaldoi s.l.*, procedentes de Itaipú, Rio de Janeiro com *Plasmodium falciparum*. Na mesma época, porém trabalhando com uma população de Trinidad, Rozeboom (1942) relatou infecções experimentais com *Plasmodium falciparum* em anofelinos, onde 25% das fêmeas de *An. oswaldoi s.l.* tinham sustentado a infecção até o aparecimento de esporozoítos. Mais tarde, Klein et al. (1991), em Costa Marques, Rondônia, comparando a susceptibilidade de 7 espécies de anofelinos ao *P. vivax*, observaram que cerca de 0,5% dos exemplares de *An. oswaldoi s.l.* permitiram o desenvolvimento do parasito até a fase infectante. Esses últimos autores não consideraram a possível existência de mais de uma espécie no que eles chamavam de *An. oswaldoi s.l.*, como havia sido alertado por E.L. Peyton (*apud* Klein & Lima 1990).

Não obstante essas variações quanto à competência vetorial e ao comportamento detectados em diferentes populações, a maioria dos autores permanecia convencida de que *An. oswaldoi s.l.* desempenhava papel secundário na veiculação do paludismo, já que quase sempre a espécie aparecia naturalmente infectada em áreas onde a endemia era mantida pelo *An. darlingi* ou outro vetor primário (Freitas 1942, Arruda et al 1986, Deane 1986, Oliveira-Ferreira et al. 1990, Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Tadei et al. 1998). Além do que, a distribuição de *An. oswaldoi s.l.* não coincide com a da malária, nem sua abundância poderia justificar incriminá-lo como mantenedor da endemia nas áreas pesquisadas.

Porém, Branquinho et al. (1993), trabalhando numa área de assentamentos muito recentes, que acabara de ser desmatada, e onde a frequência de picadas de *An. darlingi* era desprezível, encontraram um quadro completamente diferente. Esses autores verificaram que 78,5% e 96% das fêmeas de anofelinos coletadas em assentamentos em Plácido de Castro e Sena Madureira, no Acre, correspondiam a *An. oswaldoi s.l.*, sendo que *An. darlingi* representava apenas 0,06% e 1,7% do obtido. Aliás, Natal et al. (1992) trabalhando na Bacia do Rio Purus, também no Acre, confirmaram a predominância de *An. oswaldoi s.l.* (68,8%) sobre os demais culicídeos encontrados na área. Em seu trabalho, Branquinho et al. (*loc cit.*) encontraram apenas exemplares de *An. oswaldoi s.l.* naturalmente infectados com plasmódios humanos: detectaram infecções por *P. vivax* (clássico), *P. vivax* VK247, *P. falciparum* e *P. malariae*. Mais tarde, Marelli et al. (1998) encontraram, nos mesmos assentamentos, 1% dos *An. oswaldoi s.l.* naturalmente infectados com *P. vivax* like/*P. simiovale*.

Esses achados reforçaram muito as controvérsias já existentes no que se refere à responsabilidade de *An. oswaldoi s.l.* na transmissão da malária nas diferentes regiões do Brasil e de outros países da América do Sul (Deane 1986, Hayes et al., 1987, Rubio-Palis et al. 1992). Exigia-se, portanto, que se investigasse a possibilidade de *An. oswaldoi s.l.* constituir um complexo de espécies, o que justificaria a variabilidade comportamental e importância sanitária. Tal investigação tem finalidade prática, já que o sucesso do controle seletivo da malária depende de aprofundado conhecimento entomológico, particularmente do reconhecimento dos reais vetores e de pontos frágeis e atingíveis em sua biologia e comportamento (Rosa-Freitas et al. 1998).

Especialistas consideram como espécies crípticas espécies morfologicamente semelhantes ou mesmo indistinguíveis entre si, mas reprodutivamente isoladas. Espécies que são morfologicamente similares geralmente não são separados quando se utilizam

aspectos convencionais da morfologia externa de fêmeas em chaves dicotômicas, por exemplo. As cinco espécies membros do complexo *An. maculipennis* Meigen são distinguíveis somente através da morfologia dos ovos.

O fato de que espécies similares são distinguíveis morfologicamente apenas em uma de suas fases de desenvolvimento é um fator limitante, particularmente para estudos epidemiológicos ou ecológicos. Nesses casos, em geral, esses mosquitos precisam ser coletados vivos e criados até a fase de desenvolvimento que apresenta os caracteres que permitem a identificação; alternativamente necessita-se que espécimens se acasalem em laboratório para se obter uma geração e, a partir de então, conseguir-se o estágio requerido para a identificação.

Uma variedade de métodos complementares à análise morfológica em microscopia óptica têm sido usados com sucessos em taxonomia. Aqui incluem-se os estudo de taxonomia integrada com métodos morfológicos, usando-se as microscopias óptica e eletrônica, citotaxonomia, análises de aloenzimas, de hidrocarbonetos cuticulares, marcadores de DNA e estudo do DNA genômico, por exemplo (Black & Mustermann 1996).

Uma das técnicas que facilitou a resolução de problemas de taxonomia em diversos grupos animais foi a Reação de Polimerização em Cadeia (*Polimerase Chain Reaction-PCR*), por ser de rápida execução e precisa. Um mesmo espécime pode ser compartilhado para diferentes estudos: a cabeça e o tórax podem ser usados para se diagnosticar infecção malárica; o abdome para a identificação do sangue ingerido; tórax e/ou abdome para se avaliar resistência a inseticidas e identificação específica (Paskewitz et al. 1993). O interessante é que os ovos em desenvolvimento e o sangue ingerido não interferem na especificidade do DNA em análise (Collins et al. 1987).

As observações de E.L. Peyton (*apud* Klein & Lima 1990) quanto à existência de mais de uma espécie no que se chamava de *An. oswaldoi* s.l. isto é, *An. konderi* e *An. oswaldoi*, somadas às conflitantes opiniões quanto à importância epidemiológica de *An. oswaldoi* s.l. estimulou uma série de estudos, inclusive o presente, que vimos realizando com o propósito de investigar a possibilidade de *oswaldoi* constituir um complexo de espécies com distintas susceptibilidades quanto aos plasmódios humanos. Uma tentativa de distinguir, *An. konderi* de *An. oswaldoi* s.s., através da morfologia dos ovos, foi feita, porém sem sucesso, por Lounibos et al. (1997). No presente estudo, procura-se aprofundar a discussão sobre o tema.

Objetivos:**Geral:**

Propomo-nos a estudar variações fenotípicas e genotípicas de populações de *Anopheles oswaldoi s.l.*, procedentes de diferentes regiões do Brasil, Peru e Venezuela.

Específicos:

- . Investigar se o que se chama *An. oswaldoi s.l.* corresponde a mais de uma espécie.
- . Caracterizar a morfologia de ovos, larvas, pupas, machos e fêmeas dessas espécies.
- . Determinar o grau de variações intra e interpopulacionais do complexo oswaldoi.
- . Inferir sobre a relação de similaridade genética entre populações.



Figura: 1. Distribuição geográfica de *Anopheles oswaldoi*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Locais de coletas (Fig. 2)

Os exemplares utilizados no presente estudo procederam das localidades citadas a seguir:

3.1.1 Brasil

- Estado do Espírito Santo:

. Município de Linhares, Reserva Florestal de Sooretama, que faz parte do Vale Rio Doce, (19°41'S e 39°59'W, altitude 33m), correspondendo à localidade Tipo de *An. oswaldoi* Peryassú, 1922. As coletas foram realizadas em isca humana e em armadilha Shannon, usando-se cavalo como isca, nos horários das 17:00h às 21:00h e de 04:00 às 06:00h, durante o mês de abril de 1996.

O Estado do Espírito Santo, assim como outros Estados litorâneos, é, em parte, coberto pela vegetação da Mata Atlântica. É o ecossistema brasileiro que mais sofreu os impactos ambientais dos ciclos econômicos do país. Suas matas têm sido derrubadas para plantação de café e para fornecimento de matéria prima para produção de papel. O clima é quente e úmido, com maior pluviometria ocorrendo entre outubro e março.

- Estado do Amazonas:

. Município de Coari (CO), Localidade de Travessia, lado direito do Rio Solimões onde está localizado o Terminal do Gasoduto Urucu – Coari, (3°57'S e 63°12'W, altitude 10m), correspondendo à localidade tipo de *An. konderi* Galvão & Damasceno, 1942. As coletas foram realizadas, simultaneamente, em iscas humana e animal (paredes do curral), nos horários das 17:30h às 21:00h e de 04:00h às 06:00h, durante o mês de agosto de 1998.

Nos últimos 50 anos, a paisagem Amazônica mudou devido ao desmatamento causado pelas atividades humanas: a taxa de desmatamento anual é de 21.000Km² por ano. Em Coari, há ainda boa parte da floresta preservada ao redor da cidade e nas fazendas. O clima é quente e úmido, a temperatura média anual é de 28°C (14°C - 42°C), a umidade

relativa (UR) de 90% (60% - 99%). Nos períodos de março a junho, a pluviosidade pode ser de tal ordem que o escoamento natural não é capaz de impedir o acúmulo de consideráveis volumes de água, provocando enchentes e inundando vastas regiões (INPE, 1991). No Brasil, além de Coari, outras localidades Amazônicas foram pontos de coletas de anofelinos, nos Estados de Rondônia, Acre e Mato Grosso.

- Estado de Rondônia:

. Município de Porto Velho (PV), Localidade de São Miguel, margem esquerda do Rio Madeira (8°55'S e 64°08'W, altitude 85m). As coletas foram realizadas em isca humana das 17:00h às 21:00h, durante o mês de junho de 1996.

. Município de Candeias do Jamari (CM), Usina Hidroelétrica de Samuel (8°10'S e 2°29'W, altitude 82m). As coletas foram realizadas na floresta, em isca humana, no mesmo local descrito por Lourenço-de-Oliveira & Luz (1996), no horário de 17:30h às 21:00h, durante o mês de maio de 1997.

- Estado do Mato Grosso:

. Município de Peixoto de Azevedo (PA) (10°13'S e 54°58'W, altitude 346m). As coletas foram realizadas em isca humana e armadilha Shannon, utilizando-se um bode como isca, durante o mês de abril de 1993. Peixoto de Azevedo fica ao norte do Estado, em áreas de influência da Floresta Amazônica.

- Estado do Acre:

. Município de Senador Guiomar (SG): Ramal Oco do Mundo, Linha 12, Gleba "Q" (10°09'S e 67° 44'W, altitude 201m). As coletas foram realizadas a 70m da mata, em isca humana e armadilha Shannon, utilizando-se um bezerro como isca, no horário das 17:30 às 21:00h, durante o mês de março de 1998.

. Município de Sena Madureira (SM): Localidade Seringal São Pedro de Icó (9°05'S e 68°45'W, altitude 150m). As coletas foram realizadas em armadilha Shannon, usando-se cavalo como isca, durante o mês de agosto de 1998.

3.1.2 Peru

- Departamento de Loreto, Província de Yurimaguas (YU) localidade de Munichis, (05°53'S e 76°12'W, altitude 151m), Amazônia Peruana. As coletas foram realizadas na floresta, em armadilha Shannon, tendo cavalo como isca, nos horários das 17:00h às 21:00h e 04:00 às 06:00h, durante o mês de janeiro de 1996 e 1999.

3.1.3 Venezuela

Estado de Amazonas, Município de Alto Orinoco, Localidade de Ocamo (OCA) ($02^{\circ}50'N$ e $65^{\circ}14'W$, altitude 116m). As coletas foram realizados em isca humana, durante os meses de dezembro de 1987 e dezembro de 1997.



Figura: 2. Localidades onde foram coletadas *Anopheles oswaldoi*.

3.2 Coleta de adultos e formas imaturas:

3.2.1 Coletas de adultos:

As coletas foram realizadas diretamente em isca humana e/ou isca animal, em armadilha Shannon e nas paredes de curral, em áreas adjacentes à floresta ou dentro da floresta, utilizando-se tubo aspirador.

Quando as fêmeas capturadas não estavam ingurgitadas, eram alimentadas no local de coleta, oferecendo-se sangue de ave ou camundongo. Essas fêmeas eram transportadas vivas, em gaiolas de papelão etiquetadas com local, data e nome do coletor, acondicionadas em caixas de isopor contendo toalha umedecida com água, para evitar as variações bruscas de umidade e temperatura. A identificação das fêmeas foi feita usando-se chave dicotômica proposta por Faran (1980), em estereomicroscópio marca Zeiss.

3.2.2 Pesquisa de formas imaturas

A pesquisa de larvas e pupas foi realizada durante o dia em coleções hídricas sombreadas ou parcialmente sombreadas, potenciais criadouros de *An. oswaldoi* s.l.: cacimbas, igarapés, braços de rios e margens das lagoas próximas do ponto de coleta de adultos. O material coletado foi transportado em sacos de plástico etiquetados quanto ao tipo de criadouro, data, local e coletor. No laboratório, as formas imaturas foram identificadas usando-se chave dicotômica proposta por Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994), em microscópio bacteriológico marca Zeiss.

Adultos fêmeas e machos e formas imaturas F-1, procedentes da localidade de Peixoto de Azevedo (PA), foram gentilmente cedidos pelo Dr. Richard Wilkerson - Smithsonian Institution, Washington. Material procedente da localidade de Ocamo (OCA) foi gentilmente emprestado pela Dra. Rubio-Palis - da Escola de Malariologia e Saneamento Ambiental - Maracay, Venezuela.

3.3 Manutenção das fêmeas para obtenção de sua progênie

O processo e etapas da obtenção da progênie se encontram esquematizados na Fig. 3.

Fêmeas procedentes de diferentes tipos de coletas eram colocadas, cada uma, em frasco de vidro cilíndrico contendo, ao fundo, algodão e uma rodela de papel filtro

umedecidos com água. No caso de não desovarem até o terceiro dia, uma das asas era arrancada com pinça e a fêmea era colocada em cuba com água, revestida internamente com papel filtro.

Cada fêmea recebia um código único, o qual era mantido para toda a progênie.

De cada desova, de 10 a 15 ovos foram conservados em solução Bouin (ácido pícrico 0,5g; etanol 80%, 75ml; formalina 40%, 30ml e ácido acético glacial 7,5ml), para serem analisados à microscopia eletrônica de varredura.

As larvas foram criadas em uma mistura de água de criadouro e água sem cloro, na proporção de 1:1, alimentadas com uma pitada de alimento para peixes alevinos ("Tetra Min"), aplicada diretamente na superfície da água. Quando as larvas chegavam ao quarto instar, 3 a 5 delas eram mortas em água aquecida (aproximadamente a 50°C) e conservadas em álcool etílico a 70% para os estudos morfológicos; o restante continuava o seu desenvolvimento.

As exúvias de larvas de quarto instar e de pupas foram mantidas em álcool etílico a 70%. Adultos fêmeas e machos de cada progênie, em número de 3 a 5, foram mortos com acetato de etila, alfinetados, etiquetados para análises morfológicas; o restante das fêmeas e/ou machos eram mortos em congelador e imediatamente transferidos para tubos contendo isopropanol a 99%, para os estudos moleculares.

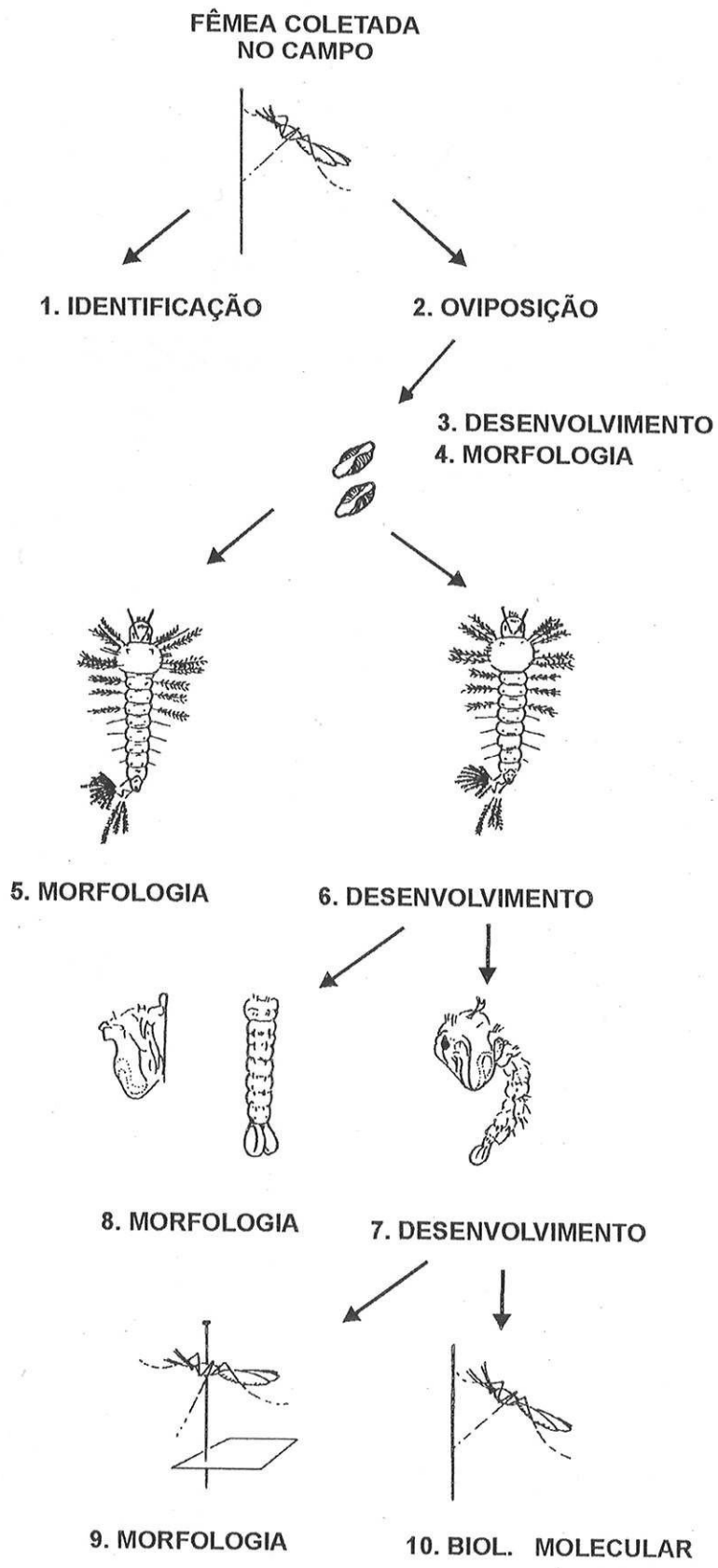


Figura: 3. Esquema de obtenção da progênie para os estudos morfológicos e moleculares

3.4 Morfologia

3.4.1 Preparação de material para estudo morfológico

As larvas, o aparelho bucal das fêmeas e as genitálias (G) de fêmeas e machos foram submetidos ao seguinte processo: clarificação (20 min. em KOH a 10 %), desidratação (sucessivas passagens em álcool etílico entre 70% e 100%), diafanização (12h em creosoto de Faia ou Cellosolve) e montagem em bálsamo do Canadá ou Euparal, respectivamente.

3.4.2 Análise morfológica e morfométrica

As medidas e desenhos das asas e tarsos de fêmeas e machos foram realizadas com auxílio de um estereomicroscópio com ocular calibrada, provido de câmara clara (ZEISS Stemi SV6). Os desenhos da larva, pupa, armadura bucal, genitálias feminina e masculina foram realizados, usando-se microscópio bacteriológico, também equipado com câmara clara (DIALUX 20 EB LEITZ). A morfometria foi feita usando-se microscópio bacteriológico com ocular provida de escala, modelo ZEISS AXIOLAB.

Foi analisado um número variável de adultos fêmeas e machos, pupas, larvas e exúvias de larva procedentes de diferentes localidades. Este número acha-se disponível no item "material examinado" para cada espécie. Os caracteres morfométricos foram expressados também na forma de índices ou relações entre caracteres, conforme citado no item a seguir.

3.4.2.1 Morfologia dos adultos

A nomenclatura e a avaliação do tamanho das manchas claras e escuras das veias da costa da asa foram efetuadas segundo Wilkerson & Peyton (1990) e das veias internas da asa, armadura bucal, genitálias feminina e masculina de acordo com Harbach & Knight (1980).

Foi realizada a análise morfométrica dos seguintes caracteres: *Fêmea*. Pernas: anterior, média e posterior; probóscida; palpo e palpômeros; Asa: manchas da veia costa: pré-umeral escura (PUE), umeral branca (UB), pré-apical escura (PE), apical escura (AE), subcosta(SC), setorial escura (SE) e pré-apical branca (PB); VIII esternito. Genitália: IX esternito, cerdas do esternito X; cerca. *Macho*. Asa; mancha basal escura no tarsômero

posterior II. Genitália: edeago; ápice do edeago; claspete; cerda parabasal; gonocoxito; VIII esternito e IX esternito.

3.4.2.2 Morfologia das pupas

As exúvias de pupa (Pe) montadas em bálsamo de Canadá ou Euparal, foram estudadas quanto ao formato das cerdas e ao número de suas ramificações, de acordo com Harbach & Knight (1980). Avaliou-se o limite de variação e a moda para a ramificação de cada cerda. Foi efetuada a morfometria dos seguintes caracteres taxonômicos na pupa: cefalotórax: meato e pina da trompa e traqueóide; abdome: cerda 1 do V esternito, V esternito e paleta.

3.4.2.3 Morfologia das larvas

As larvas (L) e exúvias de larvas de quarto instar (Le), montadas em bálsamo de Canada ou Euparal, procedentes de diferentes proles de cada localidade, tiveram seus 180 pares de pêlos anotados quanto à localização, forma e número de ramificações, adotando-se a mesma metodologia das pupas.

Os espículos do pecten variam quanto ao número e tamanho. Para se determinar o tipo mais freqüente em cada grupo analisado foram estabelecidos valores: "0" para espículos pequenos, "1" para espículos que são duas vezes o tamanho do pequeno ("0") e "2" para espículos equivalentes a três vezes o tipo "0". No caso de haver um tipo de espículo repetido, entre parênteses aparece o número de repetições. Após, os dados eram resumidos em três fórmulas: tipo I: 2-0-2(n)-0-2-(n)-0; II: 0(n)-2(n)-1-2(n)-0 e III: 1(n)2-0-2(n)-0-2(n)-0.

Quantificaram-se os indivíduos por população, de acordo com inserção da cerda 1-X dentro (1) e fora (0) da sela. Foi realizada a morfometria dos seguintes caracteres: *Larva*. Cabeça: distância entre as cerdas 2-C e entre 2-C e 3-C; antena: cerda 1-A; papila anal e cerda 4-X; no aparelho espiracular: amplitude do lobo espiracular anterior (AEP), distância entre os espiráculos abdominais.

3.4.2.4 Análise morfológica dos ovos por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Ovos conservados em solução Bouin (item 3.3), foram lavados com álcool (10 vezes com álcool 70% e 5 vezes com álcool 50%). Após a última lavagem, os ovos eram deixados em glutaraldeído por 24h e em seguida lavados cinco vezes com álcool 50% e cinco vezes a 70%.

Os ovos, na solução alcóolica, eram transferidos para um recipiente fechado de malha metálica (Balser). Neste recipiente, os ovos eram submetidos à desidratação em uma série alcóolica (70%, 80%, 95% e 100%, com intervalos de 15min em cada concentração). Após a última lavagem, o recipiente com as amostras era transferido para uma câmara (marca BALZERS UNION - modelo CPD 020), contendo álcool absoluto, para subsequente secagem pelo método do ponto crítico, utilizando-se CO₂ super seco (Hayat 1970). Após atingida a condição de ponto crítico, a pressão era liberada lentamente, por 1:30h.

Os ovos desidratados e secos foram retirados do recipiente e, em seguida, montados em um suporte de metal (forma de toro), aderindo-os em uma fita adesiva de dupla face (Scotch). O suporte com os ovos já montados foram colocados no metalizador (BALZERS UNION - modelo FL 9496), pulverizados com ouro, em atmosfera de argônio, por 120s, a 70mm de distância e $35 \pm 1 \text{mÅ}$ de espessura.

As amostras foram examinadas ao microscópio eletrônico de varredura (marca JEOL - modelo JSM 5310), a 20KV. Foram obtidas fotografias em diferentes aumentos.

Nos ovos a nomenclatura em relação a polaridade dorsal e ventral foi adotada segundo Clements (1992) e Valle *et al.* (1999). Esses autores resgataram estudos precedentes relacionados a morfologia dos ovos de mosquitos, adotando uma nomenclatura oposta aos estudos clássicos sobre morfologia externa dos ovos.

A polaridade é diferenciada no organismo materno durante o desenvolvimento ovular, o lado achatado do ovo ou convés (CV) é considerado como lado dorsal e o lado inferior convexo que fica submerso é considerado o lado ventral.

As terminologias usadas foram as de Harbach & Knight (1980). Foi realizada morfometria dos seguintes caracteres: comprimento e maior largura do ovo, largura do flutuador; aparelho micropilar: diâmetro da micrúpila, do colar e do disco micropilar.

3.4.2.5 Análises estatística dos caracteres morfológicos

Inicialmente, foram feitos os cálculos das médias e desvios padrão das variáveis em estudo. Através desses valores calculados, podemos observar o tipo de distribuição das variáveis (dispersão ao redor das médias), o que nos permite escolher o tipo de teste estatístico mais apropriado para tais dados.

Uma vez que as distribuições observadas nas 13 variáveis estudadas mostraram-se muito dispersas (não normais) optamos pelo teste de Kruskal-Wallis, para verificar a existência de diferenças significativas entre as sub-populações de cada espécie.

Posteriormente, as variáveis que se mostraram homogêneas entre as sub-populações, foram testadas pelo método de Mann-Whitney, para se verificar a existência de diferenças significativas entre as duas espécies.

Os testes Kruskal-Wallis e Mann-Whitney foram realizados utilizando-se o programa "SPSS – Windows" versão 8.0, ao nível de significância de 5%.

Os caracteres taxonômicos e índices ou relações analisados estatisticamente foram:

Fêmea:

Comprimento da asa, área escura do tarsômero II, relação comprimento palpo/ fêmur anterior, relação entre o comprimento do palpômero III e mancha branca do mesmo, relação entre a proporção ocupada pela área escura basal do II e III tarsos anteriores e no II e III tarsos médios, relação entre o tamanho da mancha umeral branca (UB) e da pré-umeral escura (PUE), relação entre a subcosta (SC) e a setorial escura (SE), relação entre a pré-apical branca (PB) e a pré-apical escura (PE), relação entre a apical escura (AE) e a pré-apical branca (PB), proporção de indivíduos que apresentam a mancha setorial escura dividida.

Macho:

Comprimento da asa, área escura do tarsômero II posterior, relação entre o comprimento da cerda parabasal (CPB) e o do gonocoxito, relação entre o comprimento do edeago e do claspete; relação entre o comprimento e a largura do esternito VIII, relação entre o comprimento e largura do esternito IX, relação entre o comprimento e a largura gonocoxito medida na base, relação entre a maior largura do gonocoxito e a da sua base.

Pupa:

Índice do meato (comprimento do meato/comprimento da trompa), índice da trompa (comprimento/menor largura da pina), relação da traqueóide e comprimento da trompa;

relação da cerda 1-IV e o comprimento do segmento abdominal V e o índice da paleta (comprimento da paleta/menor largura)

Larva:

Índice clipeal (distância entre as cerdas 3-C/distância entre 2-C), relação entre o comprimento da antena e a distância do ponto de inserção da cerda 1-A e base da antena; relação entre o comprimento da papila anal e a cerda 4-X, distância entre os ápices das expansões laterais da placa mediana do aparato espiracular (AEP)/ distância entre os espiráculos abdominais (Eab), proporção de indivíduos com a inserção da cerda 1-X na sela; número de espículos no pecten.

3.5 Técnica de Amplificação Randômica de DNA (RAPD-PCR)

A técnica consiste em amplificar fragmentos randômicos do gene usando-se um único iniciador de seqüência arbitrária de nucleotídeos. Williams *et al.* (1990) modificaram o protocolo de PCR (Reação de Polimerização em Cadeia) e criaram a técnica denominada RAPD-PCR (*Random Amplification of Polimorphic DNA - Polimerase Chain Reaction*), aplicada principalmente para análise genômica de microorganismos, plantas, vertebrados e invertebrados, com utilização de iniciadores com seqüência randômica de 10 nucleotídeos, que vão se ligar ao DNA molde. Os fragmentos amplificados vão refletir a composição e organização do genoma, amplificando regiões transcritas ou não transcritas, repetitivas ou não, variáveis ou conservadas. Ou seja, pode-se detectar polimorfismo. O RAPD-PCR é uma técnica de síntese enzimática *in vitro* que permite a geração exponencial de seqüências gênicas a partir de um pequeno número de fitas do DNA. Para a reação, precisa-se de um DNA molde ou alvo, quatro desoxinucleotídeos-trifosfato (desoxiguanina, desoxicitocina, desoxitimina e desoxiadenina), DNA Polimerase (taq-polimerase) e normalmente um único iniciador ou oligonucleotídeo. A reação se inicia com o DNA molde na sua forma usual, de dupla fita, sendo desnaturado à temperatura em torno de 95°C. O calor quebra as pontes de hidrogênio que unem as fitas simples complementares. A seguir a temperatura é diminuída (32°C a 37°C), até que as novas pontes de hidrogênio sejam formadas entre os iniciadores e o DNA molde. Devido à alta concentração relativa dos iniciadores, estes se associam, aleatória e rapidamente, a sítios dispersos do DNA molde, não permitindo a ligação entre as fitas moldes. Segue-se um novo ajuste na temperatura (cerca de 72°C) permitindo a ação da DNA polimerase,

promovendo-se a cópia da fita molde. Uma grande vantagem desta técnica é que se pode usar material preservado em álcool e se realizar diagnóstico a partir de todos os estádios de vida de um único organismo.

3.5.1 Mosquitos Analisados

Analisaram-se espécimes morfológicamente identificados como pertencentes ao complexo oswaldoi, coletados em sete localidades do Brasil e Peru: Espírito Santo, Linhares (N = 03); Mato Grosso, Peixoto de Azevedo (N = 03); Acre, Senador Guiomar (N = 05) e Sena Madureira (N = 04); Amazonas, Coari (N = 04); Rondônia, Porto Velho (= 03) e Candeias do Jamari (N = 03) e Yurimaguas (N = 04).

3.5.2 Extração de DNA

Os procedimentos seguiram um protocolo de acordo com Collins *et al.* (1987), com algumas modificações. Os mosquitos eram retirados do isopropanol onde estavam estocados e o conservante absorvido com papel toalha. Em seguida eram colocados, separadamente, em tubos Eppendorf, de 1,5µl, macerados em 100µl de tampão de homogeneização (0,08M NaCl; 0,16M sucrose; 0,06M EDTA; 0,1M Tris pH 9,0; 0,5% SDS), acrescido de 100µg de proteinase K e incubado a 65°C, por duas horas. A seguir eram adicionados 13µl de acetato de potássio 8M. Imediatamente, as amostras eram colocadas em banho de gelo por uma hora. Seguiu-se centrifugação a 14.000rpm, por 15min, em microcentrífuga. O sobrenadante era transferido a outro tubo onde era precipitado com 200µl de etanol absoluto gelado e centrifugado a 14.000rpm, por 15min. Removia-se novamente o precipitado, que era lavado com álcool 70% e centrifugado, novamente, a 14.000rpm, por 5min; removia-se o álcool e os tubos eram colocados invertidos para permitir a secagem do precipitado. O sedimento era resuspenso em 40µl de água deionizada estéril e estocado a -25°C.

3.5.3 Purificação de DNA

Para tal, foram usadas Colunas de Resina - Micro Spin S-200 (Pharmacia Biotech). Antes de ser usada, a coluna era homogenizada em vortex; quebrava-se a tampa de segurança do tubo da coluna e a mesma era colocada em tubo Eppendorf de 2,0µl. Os tubos eram centrifugados a 3.000rpm, 1min, para separar o tampão e suspender a resina. A coluna era transferida a outro tubo e adicionada a suspensão de DNA (40µl). A amostra

purificada era obtida após passagem na coluna sob centrifugação a 3,000rpm, por 2min. A dosagem do DNA purificado era feita usando-se um espectofotômetro modelo Gene Quant (Pharmacia Biotech).

3.5.4 Amplificação Randômica de DNA (RAPD-PCR)

3.5.4.1 Iniciadores: Os iniciadores usados foram arbitrários, de 10 bases:

- a) 62: (5'-3') GGGTAACGCC
- b) 131: (5'-3') CCTTGACGCA
- c) 0PA 8: (5'-3') GTGACGTAGG
- d) 139: (5'-3') AGAGGGCACA

3.5.4.2 Reação:

Cerca de 250ng de DNA foram adicionados a uma solução contendo: tampão 10X [Gibco-BRL: tris HCL 10mM (pH 8,4); 50mM de KCl], 4mM de Cl₂Mg (Gibco - BRL); 10 mM de cada dNTP (dATP, dTTP, dCTP e dGTP. Gibco - BRL.); 10 picomoles de oligonucleotídeo, 1,5µl de Taq Polimerase (Gibco-BRL) e água deionizada para um volume final de 25µl. A reação foi realizada no termociclador Perkin-Elmer Cetus mod. Gene Amp 2400 PCR, nas seguintes condições: 2 ciclos iniciais de 94°C por 5min, 32°C por 5min e 72°C por 5min, e 43 ciclos de 94°C por 1min (desnaturação), 32°C por 1min (anelamento) e 72°C por 2min (polimerização). Em cada reação foi utilizado um controle negativo (todos os reagentes exceto o DNA).

3.5.4.3 Visualização:

Cerca de 5µl do produto de PCR foram aplicados em gel de agarose 1,5% em tampão TAE 1X (Tris Acetato EDTA) (Sambrook et al. 1989) e os fragmentos foram gerados por eletroforese. Em cada gel foi incluído DNA de 1Kb (Gibco-BRL), como padrão de peso molecular. Após a corrida, os géis eram corados com brometo de etídio, visualizados em transiluminador de luz ultravioleta e fotografados (Câmara Pharmacia Biotech mod. Imagem Master VDS)

3.5.4.4 Análise:

As análises foram feitas através do Programa NTSYS 2.0 (Exeter Software). A partir da matriz de dados, uma matriz de similaridade foi calculada usando-se o coeficiente

de Jaccard (Jaccard 1908). Esta matriz de similaridade foi transformada em fenograma usando-se o algoritmo de UPGMA (Unweighted Pair-Group Method, Arithmetic Average) (Sneath & Sokal 1973).

4. RESULTADOS

4.1 Tratamento Taxonômico

4.2 Análise morfológica

Depois de um estudo detalhado dos adultos, larvas, pupas e ovos (Tabelas 1 a 46 e Figuras 4 a 13) de exemplares identificáveis como do complexo oswaldoi, verificou-se, essencialmente, a presença de apenas dois tipos morfológicos claramente distinguíveis pelo aspecto do edeago: um corresponde ao material tipo descrito por Peryassú (1922) como *Anopheles oswaldoi* e outro semelhante ao descrito por Galvão & Damasceno (1942) como *Anopheles konderi*.

Por conta disto, para uma melhor caracterização taxonômica, segue-se uma redescrição dessas duas espécies, a partir do material por nós examinado. Os caracteres morfométricos para cada espécie estão incluídos nas respectivas descrições e nas tabelas 1 a 46. O confronto dos resultados das análises morfométricas e morfológicas e sua discussão quanto à importância na definição dessas espécies serão apresentados logo após a descrição dos dois *taxa*.

4.3 Redescrições

Anopheles konderi Galvão & Damasceno, 1942

Anopheles (Nyssorhynchus) konderi Galvão & Damasceno, 1942: 115-118, 132-133.

Holótipo macho, margem direita do Rio Solimões, Coari, Estado do Amazonas, Brasil. Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina de São Paulo (FMSP): 651, material considerado perdido (Belkin, Schick & Heinemann, 1971). Galvão 1943:156.

Causey et al. 1944: 2-5. Causey et al. 1946:27. Coutinho, 1946:72. Deane et al. 1946:12. Deane et al. 1948:876. Lounibos et al. 1997:148.

An. oswaldoi Lane (1953) (Sinonímia).

NEÓTIPO macho (pela presente designação): margem direita do Rio Solimões, Coari (Travessia). Estado do Amazonas, Brasil, 16.08.1998, det. C. Flores-Mendoza, col. C. Flores-Mendoza, F.A.Souza.

Fêmea: (Tabelas 1 a 6; Figuras 4 a 9 e 11):

Cabeça: tegumento marrom escuro. Probóscide com comprimento de 1,5 – 2,7mm (média 2,1mm), terço proximal com escamas eretas, eriçadas, escuras; o restante coberto por escamas marrons escuras decumbentes; labela de tegumento mais claro que a probóscide, pilosa; probóscide 1,0 (0,8 - 1,0) do comprimento do palpo. Palpo maxilar de comprimento 1,7 – 2,7 mm (média 2,1mm), tegumento escuro com escamas escuras, estreitas, espatuladas; 1,4 (1,1 – 1,8) \pm 0,14 o comprimento do fêmur anterior; comprimento do palpômero I 0,14 – 0,21mm (média 0,17mm), coberto de escamas espatuladas marrons; palpômero II 0,27 – 0,4mm (média 0,43mm), com escamas escuras; dorso salpicado com raras escamas esbranquiçadas dorsalmente; um anel estreito incompleto de escamas esbranquiçadas no ápice; palpômero III 0,64 – 0,94mm (0,81mm.), quase todo escuro (escamas escuras cobrindo 4,8 [2,8 – 8,7 \pm 1,64] vezes o correspondente à área clara); palpômero IV 0,43 – 0,65mm (média 0,5mm), coberto de escamas esbranquiçadas dorsalmente e com um anel estreito de escamas escuras basal e outro apical; face ventral dos palpômeros I a IV com escamas escuras; palpômero V 0,22 – 0,31mm (0,26mm) totalmente coberto de escamas esbranquiçadas. Espaço interocular com um tufo frontal com cerca de 20 escamas longas e semi decumbentes; escamas oculares falciformes, esbranquiçadas, decumbentes. Vertex com escamas esbranquiçadas e eretas, espatuladas, com ápice truncado. Occipício e pós-gena com escamas marrons, eretas, espatuladas. Pós-gena com cerdas longas e algumas escamas esbranquiçadas espatuladas na junção dos olhos 12 cerdas oculares marrons longas de cada lado da cabeça. Clípeo de tegumento marrom, nu. Antena: flagelo de tegumento escuro, comprimento 1,14mm, com 13 flagelômeros cobertos de pilosidade esbranquiçada, verticilos delicados, pálidos; primeiro flagelômero com escamas decumbentes esbranquiçadas e um grupo distal de escamas falciformes esbranquiçadas dorsalmente; toro de tegumento marrom, com grupo de

escamas esbranquiçadas decumbentes no dorso, cerca de 6 cerdas labiais marrons. *Tórax*: Escudo: tegumento marrom; comprimento do escudo 1,0mm; escamas e pilosidade claras e cinzentas, cerdas bronzeadas; três manchas escuras no tegumento: duas próximo à fossa mediana; uma na área pré-escutelar, estreita. Promontório anterior mediano com escamas lineares, eretas, esbranquiçadas. Escamas antealares espatuladas, longas, esbranquiçadas. Escutelo coberto de pequenas escamas falciformes cinzentas; cerdas escutelares marrons distribuídas uniformemente na margem. Antepronoto com escamas marrons eretas, espatuladas, cerdas marrons, curtas; poucas escamas claras basalmente. Pleura: Mesocatepisterno superior com cerca de 7 (3-7) escamas esbranquiçadas e 4 cerdas bronzeadas. Mesocatepisterno inferior com uma cerda amarelada e 2,3 escamas esbranquiçadas; cerdas e escamas pré-alares esbranquiçadas; 3 cerdas mesanepimerais superiores amareladas. Proepisterno superior com cerdas douradas, pequenas, finas e 2 cerdas proepisternais inferiores marrons. *Pernas*: tegumento escuro. Coxa da perna anterior com tufo de escamas esbranquiçadas; metade ventral com escamas amarronzadas, 2-4 cerdas marrons; superfície anterior das coxas média e posterior com escamas pálidas em posição transversal; superfície póstero-ventral de trocânteres com tufo de escamas pálidas e cerdas douradas longas; fêmures cobertos por escamas escuras; escamas pálidas, amareladas e esbranquiçadas dispersas na superfície ventral; tíbias escuras. Pernas anteriores: fêmur 1,28 – 1,62mm (média 1,45mm); tibia 1,68 – 2,05mm (média 1,86mm); tarsômeros: I comprimento 1,0 – 1,34mm (média 1,18mm); escuro, com anel estreito distal de escamas esbranquiçadas cerca de 0,04 do comprimento do tarsômero I; II comprimento 0,4 – 0,6mm (média 0,5mm), com banda basal de escamas escuras correspondendo 0,7 (0,5 – 0,9) \pm 0,09 do segmento; III claro, comprimento 0,2 – 0,5mm (média 0,3mm), mancha basal de escamas escuras ocupando apenas 0,3 (0,1 – 0,6) \pm 0,14 do tarsômero; IV todo escuro, com raras escamas claras apicais, comprimento 0,17 – 0,26mm (média 0,21mm); V comprimento 0,14 – 0,2mm (média 0,17mm), com anel basal de escamas escuras (0,41 do segmento). Pernas medianas: fêmur escuro, 1,54–2,08mm (média 1,74mm), com fino anel proximal de escamas esbranquiçadas; tibia escura, 1,8 – 2,37mm (média 1,9mm), com finos espinhos na extremidade distal; tarsômeros: I escuro, 1,2 – 1,7mm (média 1,43mm), ápice com escamas claras (0,04); II comprimento 0,5 – 0,8mm (média 0,6mm), escuro em 0,9 (0,7 - 1) \pm 0,06 do tarsômero; III comprimento 0,3 – 0,7mm (média 0,5mm), quase todo escuro (0,9 [0,7 – 1] \pm 0,04 com raras escamas esbranquiçadas distais); IV escuro,

comprimento 0,29 – 0,34mm (média 0,29mm), apicalmente com raras escamas esbranquiçadas; V claro, comprimento 0,17 – 0,21 mm (média 0,18mm), com banda basal de escamas escuras (0,4). Pernas posteriores: fêmur escuro, 1,5 – 2,1mm (média 1,7mm), com dois espinhos distais; tíbia escura 1,7 – 2,5mm (média 2,0mm), com fino anel apical de escamas claras; tarsômeros: I escuro, comprimento 2,34 – 2,66mm (média 2,63mm), com estreito anel distal de escamas esbranquiçadas; II branco, comprimento 0,63 – 0,89mm (média 0,76mm), anel basal de escamas escuras 0,14 do comprimento do tarsômero (0,08 – 0,20) $\pm 0,036$; III e IV completamente brancos; III comprimento 0,4 – 0,69mm (média 0,58mm); IV comprimento 0,31 – 0,48mm (média 0,41mm); V branco, com um anel (0,5) basal de escamas escuras, comprimento 0,26 – 0,34mm (média 0,26mm). *Asa* (Fig. 12): Comprimento da asa 3,0 – 4,0mm (média 3,4mm) $\pm 0,207$; escamas claras da costa e das veias internas de cor branca, superfície ventral da veia M_{1+2} coberta de escamas escuras. As veias CuA, M_{3+4} , M_{1+2} , M_1, M_2 e 1A cobertas de escamas finas e esparsas; escamas lineares cobrindo densamente as veias R_{2+3} , R_2 , R_3 e R_{4+5} . Veia costa: Mancha umeral branca 3,6 (1,2 – 9,0) $\pm 1,41$ vezes a pré umeral escura; 82,4% ($\pm 0,921$) dos indivíduos apresentam a mancha setorial escura dividida; subcosta 0,2 (0–0,4) $\pm 0,09$ da sectorial escura; pré apical clara 0,3 (0 – 0,5) $\pm 0,09$ da pré apical escura; apical escura 0,4 (0,1 – 1) $\pm 0,69$ da pré apical clara. Veia R_1 : 4 ou 5 (5) manchas de escamas escuras intercaladas com manchas brancas; $R_s + R_{2+3}$ com 1-3 (2) manchas escuras; quando com uma só mancha escura, esta ocupa mais de 70,0% da veia; quando com duas manchas, a branca basal é menor que a distal; R_2 com 1-3 (2) manchas escuras; quando com duas manchas, uma delas é pequena e apical; R_3 com 1-3 (2) manchas; mais freqüentemente há duas manchas; a proximal é pequena; R_{4+5} com duas manchas escuras pequenas, uma basal e outra distal; M_{1+2} 1-3 manchas escuras, uma mancha escura pequena na base da bifurcação; mais freqüentemente há duas manchas escuras; quando há uma só mancha escura, ela ocupa mais que 70,0% da veia; M_1 com 1 ou 2 (2) manchas escuras de tamanho médio; às vezes as manchas escuras são salpicadas com escamas brancas; M_2 com 1,2 (1) manchas escuras; M_{3+4} com três manchas pequenas, Cu A com uma mancha escura distal pequena; 1A com duas manchas escuras, CuP com uma mancha distal pequena. Veia R_{2+3} se origina na direção de onde nasce a veia subcosta. A origem da veia R_{4+5} está ao nível do 1/3 distal da mancha SE. Veia CuA se origina no mesmo ponto da veia 1-A. M_{3+4} 1/3 mais longa que CuP. Veia subcosta tem origem ao nível da porção distal da mancha PSE e

termina na porção distal da mancha SE; as manchas da veia subcosta acompanham o padrão das manchas da costa. Célula R_2 0,7 da célula M_1 . Célula M_1 0,5 da M_{1+2} . Remígio com tegumento branco. *Halter* medindo 0,35mm; escabelo e pedicelo de tegumento branco, capitulo de tegumento branco, exceto no ápice, onde é marrom (0,3) e piloso. Observaram-se quatro tipos básicos de asa, de acordo com tamanho das manchas da costa, que variaram dentro de uma mesma progênie e entre indivíduos de diferentes populações (Fig. 12) *Abdome*: tegumento marrom escuro, coberto de pilosidade cinzenta e escamas falciformes. Tergitos: tergito I com abundantes cerdas marrons longas; II até VII com um tufo de escamas póstero-laterais espatuladas marrons; com cerdas postero-laterais longas eretas, escamas acinzentadas formando um desenho triangular; tergito VIII com abundantes escamas amareladas. Esternitos com poucas cerdas marrons; I sem escamas brancas; do II até o VII com escamas esbranquiçadas espatuladas na área lateral; na região póstero-mediana uma mancha de escamas marrons espatuladas. Cerca com escamas espatuladas marrons dorsalmente, cerdas e escamas escuras ventralmente. Esternito VIII mais curto que largo 1,0 (0,5- 1,5). Esternito IX com relação comprimento/largura de 0,6 (0,2 - 1,0). *Genitalia*: cerdas do lobo pós-genital fortes e com comprimento correspondente a 6,2 (4,6 - 10) do espaço entre elas; estas cerdas, na maioria das vezes, ligeiramente menores que o comprimento da cerca; a relação cerca do lobo pós-genital/cerca é 0,7 (0,5 - 1,0); insula de aspecto nu. *Cibário*: 14 - 21 (17) dentes com forma e tamanho irregulares (Fig. 4, Tabela 6).

Macho: (Tabelas 2,3 e 7 e Fig. 4 e 13): semelhante à fêmea, exceto por diferenças sexuais. *Cabeça*: Espaço interocular com tufo frontal de 20-26 cerdas. Antena: Flagelômeros de tegumento cinzento, verticílios abundantes, longos e pálidos; comprimento 1,7mm (1,5 - 1,9mm). Probóscida de 2,2mm (1,9 - 2,4); palpo maxilar 1,0 (0,9 - 1,0) o comprimento da probóscida; cerdas labiais e palpômero I semelhantes à fêmea; palpômeros II e III apresentam uma banda apical muito fina de escamas brancas, cuja largura é semelhante nos dois palpômeros; palpômero IV coberto de escamas brancas dorsalmente, com banda basal e apical de escamas escuras; cerdas dispersas, que variam em comprimento, algumas cerdas que se originam na porção basal chegam a cobrir o palpômero V; palpômero V coberto de escamas brancas dorsalmente, com cerdas pálidas e escuras; palpômeros IV e V dilatados, apresentando escamas ventrais escuras. *Tórax*: mesocatespisterno inferior com

maior número de escamas esbranqueçadas (8-10) e apenas uma cerda. *Pernas*: Tarsômero posterior II com anel basal de escamas escuras medindo $0,10 - 0,20 (0,15) \pm 0,208$ do segmento. *Asa*: medindo $2,9 - 3,7 (3,3m) \pm 0,208$; mancha SC 0,4 da SE. As manchas escuras das veias internas da face dorsal da asa são menores que nas fêmeas, emprestando um aspecto geral mais claro à asa do macho. *Halter*: $0,24\text{mm} (0,16 - 0,27\text{mm})$ de comprimento. *Abdome*: Esternito VIII subtrapezoidal e moderadamente longo; relação comprimento/largura de $0,1 - 1,3 (0,8) \pm 0,14$. *Genitalia* (Fig. 4): Lobo do esternito IX, tão largo quanto longo, comprimento $0,65\text{mm} (0,4-0,8\text{mm})$. Cerda parabasal $0,8 (0,5 - 1,6) \pm 0,14$ da largura do gonocoxito. Gonocoxito alongado, comprimento $3,3 (1,7 - 4,7) \pm 0,66$ da largura medida ao nível da base; a maior largura do gonocoxito $1,5 (1,0 - 2,1) \pm 0,26$ da largura da base. Gonostilo moderadamente menor ($0,85$) que o gonocoxito, fortemente quitinizado, curvado, com espículos no terço apical; Claspete ventral: lobo apical moderadamente esclerotizado e estreito; sulco mediano definido; cerdas curtas e grossas; abaixo da placa pré-apical apresenta-se uma estrutura refringente de tamanho moderado; comprimento do lobo apical três vezes maior que o lobo basal; lobo basal com abundantes cerdas longas e fortes, base expandida lateralmente. Claspete dorsal: pedicelo com ápice arredondado mais estreito que a base; ápice apresentando de 3 a 4 folíolos. *Edeago* $1,3 (1,0-1,6) \pm 0,21$ do comprimento do claspete; ápice arredondado, quitinizado e achatado, com projeções laterais quitinizadas assemelhando-se a cotovelos; comprimento do ápice do edeago $0,4 (0,3 - 0,6)$ da sua largura (Tabela 7).

Pupa: O aspecto geral da pupa e número de ramificações das cerdas são apresentados nas Tabelas 8 a 16 e na Fig. 4. Na tabela 15 acham-se reunidos os dados referentes à variação do número de ramos das cerdas de todas as populações examinadas (Tab. 8 a 14). Tegumento marrom de aspecto fortemente quitinizado. *Cefalotórax*: tegumento mais escuro e quitinizado que o abdome. Trompa de comprimento $0,52 - 0,9\text{mm} (0,63\text{mm})$, pigmentada e com espículos; índice da trompa $2,3 (1,6 - 5,7) \pm 0,06$, meato $0,2 (0,1 - 0,4) \pm 0,12$ do comprimento da trompa; pina de comprimento $0,12 - 0,28\text{mm} (0,21\text{mm})$, traqueóide $0,4 (0,2 - 0,7) \pm 0,40$ do comprimento da trompa. *Abdome*: tergitos, e esternitos com tegumento nu; cerda 1-IV fortemente quitinizada de comprimento $0,35 - 0,55\text{mm}$ (média $0,46\text{mm}$) $\pm 0,06$; o comprimento da cerda 1-IV é moderadamente maior [$1,1 - 2,2 (1,6)$] que o comprimento do tergito V. Comprimento do tergito V $0,23 - 0,39\text{mm}$ (média

(média 0,46mm) $\pm 0,06$; o comprimento da cerda 1-IV é moderadamente maior [1,1 – 2,2 (1,6)] que o comprimento do tergito V. Comprimento do tergito V 0,23 – 0,39mm (média 0,29mm). *Paleta* mais clara que o abdome; forma ovalada, ligeiramente mais comprida que larga, índice 1,0 – 1,7 (1,4) $\pm 0,24$; metade distal da margem externa apresentando finos espículos; nervura média com estrias de aspecto delicado.

Larva: O aspecto geral da larva e número de ramificações são apresentados nas Tabelas 8 a 16 e na Fig. 5. Na tabela 24 acham-se reunidos os dados referentes as variações do número de ramos das cerdas de todas as populações examinados (Tabela 8 – 14) *Cabeça:* tegumento claro, exceto no colar. que é fortemente pigmentado. Antena: superfície dorsal com espículos que vão diminuindo a medida que se afastam da base; comprimento 0,93 – 1,17mm (média 1,0mm), compreendendo de 2,8 a 8,5 (4,9) $\pm 1,19$ vezes o espaço entre o ponto de inserção de 1-A e a base da antena; cerda 1-A localizada a 0,1 – 0,4mm (média 0,2mm) da base da antena; apresenta 3 – 10 (5) ramos e é 0,7 – 1,5 (1,0) vezes a largura da antena (ao nível da inserção de 1-A); cerda 4-A bifurcada; 2, 3, 5, 6-A de ápice pontudo, 2-A e 3-A quase do mesmo tamanho, 5-A duas vezes menor que as anteriores e 6-A ligeiramente menor que 5-A. Índice clipeal 0,8 – 1,9 (1,4) $\pm 0,26$; espaço entre as cerdas 2-C [0,08 – 0,22mm (média 0,19mm)] ligeiramente menor que entre as 3-C [0,14 – 0,22mm (média 0,19mm)]; cerdas 2-C e 3-C de comprimento quase igual com ramificações dicotômicas longas. Ventromento claro, com três dentes a cada lado e dois centrais. Dorsomento de tegumento escuro, fortemente quitinizado, com quatro dentes laterais e um central, todos bem desenvolvidos. *Tórax:* cerda 1-P de aspecto palmado, 1,2,3-P implantadas separadamente. *Abdome:* tegumento claro 1-I com cerdas palmadas bem desenvolvidas de 9 – 24 (14) ramos pouco pigmentados, 1-II–VII desenvolvidas e

fortemente pigmentadas, 1-X geralmente implantada fora da sela (86,3%). Papila anal transparente, comprimento 0,28 – 0,63mm (média 0,43mm), 0,6 – 1,4 (0,9) do comprimento da cerda 4-X. *Aparato espiracular*: a distância entre os ápices das expansões laterais da placa mediana do aparato espiracular (AEP) com braços longos, que encostam no processo espiracular ou chegam até a abertura do espiráculo; relação de AEP 0,8 – 1,8 (1,3) \pm 1,17 vezes o espaço entre os espiráculos. Pécten, apresenta espículos de tamanho pequeno (0), médio (1) e grande (2), pelo que foram classificados em três tipos (\pm 0,76), tendo a fórmula mais comum o tipo I [2-0-2(n)-0-2(n)-0], totalizando de 12 – 20 (16) \pm 4,76 espículos.

Ovos : (Tabela 51 e Figuras 6 a 9). Aspecto geral na forma de um bote; vista ventral quase plana. Comprimento 379-520 μ m (média 421 μ m), largura 114-170 μ m (média 130 μ m); comprimento 3,4(2,4-3,8) da largura. *Superfície lateral e dorsal* flutuadores localizados a cada lado do ovo, curvos ocupando 1/3 da superfície dorsal; unem-se por gomos estreitos na porção posterior; número de gomos entre 35 e 38 (36); comprimento do flutuador 0,87 (0,74-0,9) do comprimento do ovo, não chegando a ocupar a porção anterior, onde está localizada a franja; convés pouco visível, bem estreito na maioria dos ovos, coberto por tubérculos de distintos tamanhos, de aspecto esbranquiçado; na porção anterior, esses tubérculos são duas vezes maiores que do convés. *Superfície ventral*: exocório com aspecto de rede, formado por agrupamentos globulares porosos (Fig. 7); essas “células” coriônicas têm ligação com o endocório. *Endocório*: de tegumento escuro e de aspecto liso (Fig. 7) *Aparelho micropilar*: diâmetro de 12,5 – 16,0 μ m (14,3 μ m); colar em forma de anel saliente em relação às outras estruturas, largura do anel 2,8 – 4,5 μ m (3,8 μ m), borda interna irregular, unidas ao disco da micrúpila por estruturas filiformes que variam em

número de 7 ou 8, observaram-se dois tipos de colar (Fig. 9), um tipo com bordas internas lembrando contorno de pétalas e o outro de borda lisa, sem saliências. *Disco da micrópila*: diâmetro 3,9 – 5,3 μ m (4,7 μ m); tegumento de aspecto rugoso.

Tabela 1. Variação da relação entre as medidas de alguns caracteres da fêmea de *An. konderi* de seis populações brasileiras e uma peruana.

Populações	Número de fêmeas	Comp. da próboscide/ comp. palpo	Com. Palpo/ Comp. Fêmur I	Comp. Palpo III/ comp. banda branca	Perna anterior			Perna média	
					Comprimento total/ mancha escura			Comprimento total/ Mancha escura	
					Tarso II	Tarso III	Tarso III	Tarso II	Tarso III
Brasil									
Coari (AM)	11	1,0 (1,0)	1,2-1,8 (1,6)	3,0-5,6 (4,2)	0,7-0,9 (0,8)	0,3-0,6 (0,5)	0,7-1,0 (0,9)	0,9-1,0 (0,9)	
Porto Velho (RO)	11	1,0 (1,0)	1,2-1,6 (1,4)	3,1-8,0 (5,7)	0,6-0,8 (0,7)	0,1-0,2 (0,2)	0,8-1,0 (0,9)	0,8-0,9 (0,9)	
Candeias do Jamari(RO)	11	1,0 (1,0)	1,2-1,4 (1,3)	2,8-8,7 (5,8)	0,7-0,8 (0,8)	0,1-0,5 (0,2)	0,8-0,9 (0,9)	0,8-0,9 (0,9)	
Senador Guiomar (AC)	03	1,0 (1,0)	1,4-1,6 (1,5)	5,0-5,8 (5,3)	0,5-0,9 (0,7)	0,2-0,3 (0,2)	0,9 (0,9)	0,9-1,0 (0,9)	
Sena Madureira (AC)	02	1,0 (1,0)	1,1-1,3 (1,2)	3,5-5,0 (4,3)	0,7 (0,7)	0,1-0,2 (0,2)	0,9 (0,9)	0,9 (0,9)	
Linhares (ES)	02	0,8-1,0 (0,9)	1,2-1,5 (1,4)	2,8-3,4 (3,1)	0,6-0,7 (0,7)	0,1-0,2 (0,2)	0,8-0,9 (0,9)	0,7-0,9 (0,8)	
Peru									
Yurimaguas	11	1,0 (1,0)	1,3-1,6 (1,4)	2,8-8,0 (5,4)	0,5-0,9 (0,7)	0,1-0,5 (0,3)	0,8-0,9 (0,9)	0,8-0,9 (0,9)	
Total	51	0,8-1,0(1,0)	1,1-1,8 (1,4)	2,8-8,7 (4,8)	0,5-0,9 (0,7)	0,1-0,6 (0,3)	0,7-1,0 (0,9)	0,7-1,0 (0,9)	
Desvio Padrão	51		0,14	1,64	0,09	0,14	0,06	0,04	

Tabela 2. Variação da porção negra do segundo tarso posterior das fêmeas e machos de *An. konderi*, em seis populações brasileiras e uma peruana.

Populações	Variação de negro do segundo tarso posterior									
	Número		Média		Valores mínimo e máximo		Desvio padrão			
	F	M	F	M	F	M	F	M		
Brasil										
Coari (AM)	11	11	0,14	0,17	0,08 - 0,20	0,13 - 0,19	± 0,041	± 0,017		
Porto Velho (RO)	11	11	0,16	0,16	0,08 - 0,20	0,12 - 0,20	± 0,042	± 0,031		
Candeias do Jamari (RO)	11	11	0,18	0,15	0,14 - 0,20	0,11 - 0,20	± 0,020	± 0,033		
Senador Guiomar (AC)	03	03	0,14	0,15	0,12 - 0,15	0,13 - 0,17	± 0,015	± 0,02		
Sena Madureira (AC)	02	02	0,12	0,17	0,11 - 0,12	0,16 - 0,17	± 0,007	± 0,007		
Linhares (ES)	02	02	0,10	0,12	0,08 - 0,11	0,1 - 0,13	± 0,021	± 0,02		
Peru										
Yurimaguas	11	11	0,15	0,13	0,12 - 0,20	0,12 - 0,16	± 0,028	± 0,018		
Total		51	0,14	0,15	0,08 - 0,20	0,10 - 0,20	± 0,036	± 0,028		

F= fêmea

M= macho

Tabela 3. Variações do tamanho das asas das fêmeas e machos de *An. konderi*, em seis populações brasileiras e uma população peruana.

Populações	Número		Média		Valores mínimos e máximos		Desvio padrão	
	F	M	F	M	F	M	F	M
Brasil								
Coari (AM)	11	11	3,4	3,4	3,2 - 3,8	2,9 - 3,7	± 0,187	± 0,303
Porto Velho (RO)	11	11	3,4	3,2	3,2 - 4,0	2,9 - 3,5	± 0,253	± 0,198
Candeias do Jamari (RO)	11	11	3,4	3,3	3,2 - 3,7	3,06 - 3,4	± 0,158	± 0,112
Senador Guiomar (AC)	03	03	3,4	3,3	3,4 - 3,5	3,2 - 3,4	± 0,035	± 0,079
Sena Madureira (AC)	02	02	3,3	3,3	3,2 - 3,4	3,2 - 3,3	± 0,148	± 0,113
Linhares (ES)	02	02	3,1	3,3	3,0 - 3,2	3,06 - 3,5	± 0,141	± 0,311
Peru								
Yurimaguas	11	11	3,4	3,2	3,1 - 3,9	2,9 - 3,4	± 0,237	± 0,155
Total	51	51	3,4	3,3	3,0 - 4,0	2,9 - 3,7	± 0,207	± 0,208

F= fêmea

M= macho

Tabela 4. Valores da relação das manchas da veia costa de exemplares fêmeas de *An. konderi*, de seis populações brasileiras e uma população peruana.

Populações	Número de exemplares	UB/PUE	SC/SE	PB/PE	AE/PB	% SE dividida (Número)
Brasil						
Coari (AM)	11	2,0 - 5,0 (3,3)	0,04 - 0,3 (0,3)	0,2 - 0,4 (0,3)	0,2 - 0,7 (0,4)	81,8 (10)
Porto Velho (RO)	11	1,5 - 9,0 (3,6)	0,08 - 0,4 (0,2)	0,2 - 0,4 (0,3)	0,1 - 0,6 (0,4)	63,6 (07)
Candeias do Jamarí (RO)	11	2,1 - 4,0 (2,9)	0,1 - 0,4 (0,2)	0,2 - 0,5 (0,4)	0,2 - 1,0 (0,4)	81,8 (10)
Senador Guiomar (AC)	03	3,6 - 5,0 (4,1)	0,1 - 0,2 (0,2)	0,3 - 0,4 (0,3)	0,2 - 0,4 (0,3)	66,0 (02)
Sena Madureira (AC)	02	4,7 - 4,9 (4,8)	0,12 - 0,14 (0,13)	0,31 - 0,32 (0,32)	0,3 (0,3)	50,0 (01)
Linhares (ES)	02	2,0 - 3,3 (2,7)	0,3 (0,3)	0,3 (0,3)	0,2 - 0,6 (0,4)	100 (02)
Peru						
Yurimaguas	11	1,2 - 7,0 (3,8)	0,0 - 0,4 (0,2)	0,0 - 0,5 (0,4)	0,20 - 0,5 (0,4)	90 (10)
Total	51	1,2 - 9,0 (3,6)	0,0 - 0,4 (0,2)	0,0 - 0,5 (0,3)	0,1 - 1,0 (0,4)	82,4 (42)
Desvio Padrão	51	1,41	0,09	0,09	0,6917	0,9208

UB = umeral branca PUE= pré-umeral escura SB= Subcosta PB = pré-apical branca
 PE = pré-apical escura AE = apical escura SE = setorial escura

Tabela 6. Variação e relação entre as medidas de alguns caracteres da genitália feminina e cibário da fêmea de *An. konderi*, de seis populações brasileiras uma peruana.

Populações	Número De Fêmeas	VIII esternito Comp./larg.	IX esternito Comp./larg.	Comp.cerda/ Espaço entre cerdas	Comp.cerda/ Comp. cerca	Número dentes do cibário
Brasil						
Coari (AM)	04	0,8 - 1,4 (1,1)	0,4 - 0,7 (0,6)	5,9 - 7,5 (6,6)	0,6 - 0,7 (0,6)	18 - 19 (18)
Porto Velho (RO)	06	0,71 - 1,2 (0,9)	0,4 - 0,8 (0,6)	4,9 - 10 (7,0)	0,5 - 0,8 (0,6)	15 - 17 (16)
Candeias do Jamari (RO)	04	0,8 - 1,0 (0,9)	0,5 - 0,7 (0,6)	4,6 - 5,7 (5,4)	0,6 - 0,6 (0,6)	14 - 19 (16)
Senador Guiomar (AC)	02	0,5 - 0,6 (0,6)	0,7 - 0,8 (0,8)	6,1 - 6,3 (6,2)	0,6 - 0,9 (0,8)	16 - 19 (18)
Sena Madureira (AC)	02	1,0 - 1,1 (1,1)	0,5 - 0,6 (0,6)	4,7 - 5,7 (5,2)	0,5 - 0,6 (0,6)	16 (16)
Linhares	01	1,1 (1,1)	0,2 (0,2)	5,0 (5,0)	1,0 (1,0)	20 (20)
Peru						
Yurimaguas	06	1,1 - 1,5 (1,3)	0,6 - 1,0 (0,8)	6,0 - 10 (7,9)	0,5 - 0,9 (0,8)	14 - 21 (17)
Total	25	0,5 - 1,5 (1,0)	0,2 - 1,0 (0,6)	4,6 - 10 (6,2)	0,5 - 1,0 (0,7)	14 - 21 (17)

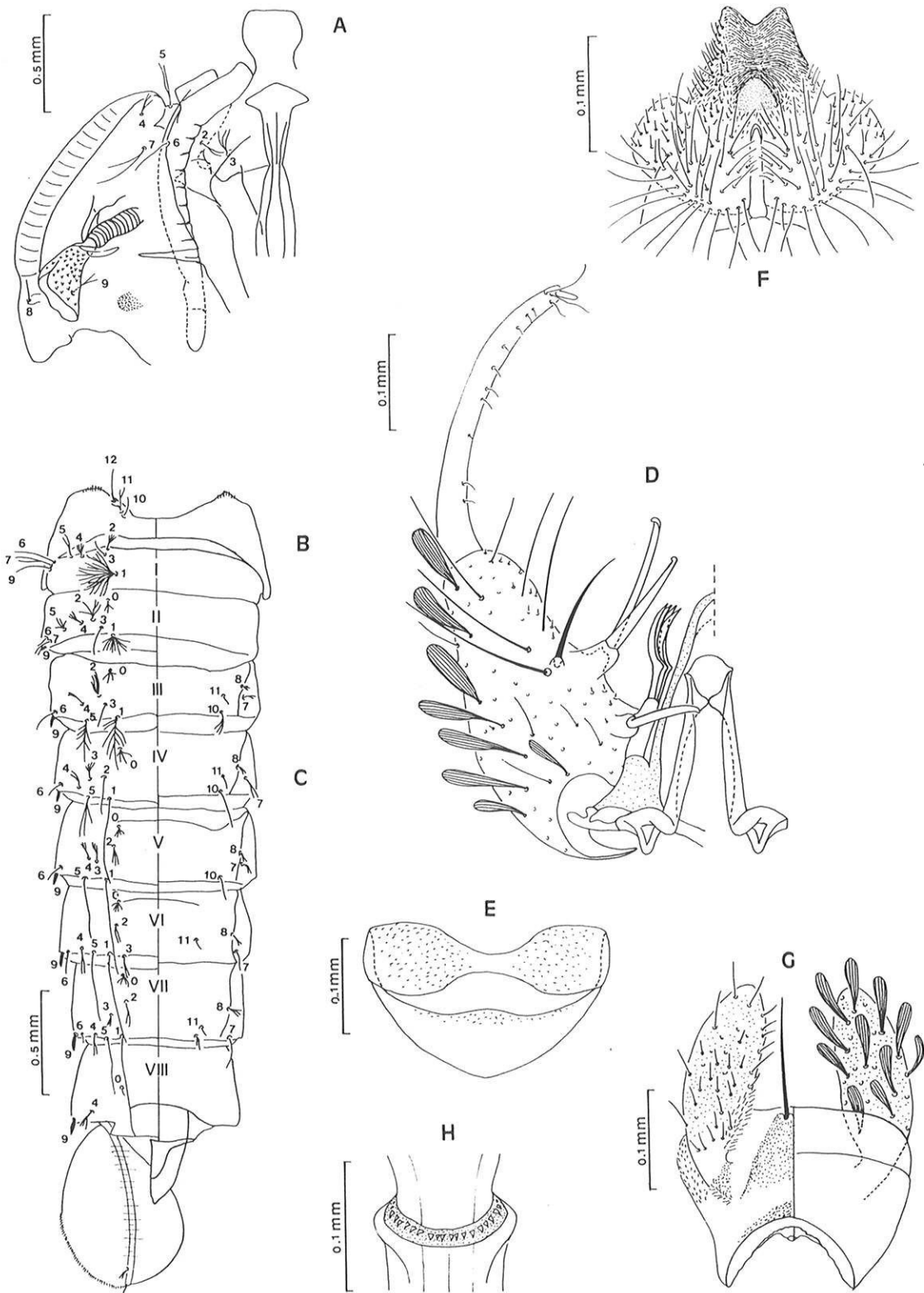


Figura: 4. *Anopheles konderi*. Pupa: A – cefalotórax, B – metatórax, C – segmentos abdominais, D – genitália masculina, E – X segmento abdominal, F – lobo ventral do claspete, G – genitália feminina, H – cibário.

Tabela 7. Variação da relação entre as medidas de alguns escleritos da genitália masculina de *An. konderi*, de seis populações brasileiras e uma peruana.

Populações	Número de Machos	Comp. edeago/comp claspete	Comp.CPB/Larg. base Gonocoxito.	Apice edeago		VIII estermite		Gonocoxito	
				Comp./larg.	Comp./Larg.	Comp./Larg. Base	Larg. maior/Larg. Base		
Brasil									
Coari (AM)	12	1,2-1,6 (1,3)	0,6-0,8 (0,7)	0,4-0,5 (0,5)	0,1-0,9 (0,7)	2,0-3,3 (2,7)	1,0-1,6 (1,2)		
Porto Velho (RO)	11	1,0-1,4 (1,2)	0,5-0,8 (0,7)	0,4-0,6 (0,4)	0,7-1,0 (0,8)	1,7-4,2 (3,2)	1,1-1,7 (1,4)		
Candeias do Jamari (RO)	11	1,1-1,4 (1,2)	0,5-1,0 (0,8)	0,3-0,5 (0,4)	0,6-1,3 (0,8)	2,7-4,7 (3,5)	1,1-1,9 (1,5)		
Senador Guiomar (AC)	03	1,1-1,5 (1,3)	0,9 (0,9)	0,3-0,4 (0,3)	0,7-0,8 (0,8)	2,9-3,5 (3,3)	1,3-1,5 (1,4)		
Sena Madureira (AC)	02	1,3-1,5 (1,4)	1,1 (1,1)	0,4-0,5 (0,5)	0,9 (0,9)	4,0 (4,0)	1,7 (1,7)		
Linhares (ES)	01	1,3 (1,3)	0,7 (0,7)	0,4 (0,4)	0,9 (0,9)	3,0 (3,0)	1,4 (1,4)		
Peru									
Yurimaguas	11	1,1-1,5 (1,4)	0,6-1,6 (1,0)	0,3-0,6 (0,5)	0,6-0,9 (0,8)	3,1-4,1 (3,6)	1,4-2,1 (1,7)		
Total	51	1,0-1,6(1,3)	0,5-1,6 (0,8)	0,3-0,6 (0,4)	0,1-1,3(0,8)	1,7-4,7 (3,3)	1,0-2,1 (1,5)		
Desvio Padrão		0,21	0,14		0,14	0,66	0,26		

CPB= cerda parabasal

Tabela 8. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas das pupas de *An. konderi*, da população de Coari, Amazonas.

Cerdeira	Cefalotórax	Metanoto	Abdome										
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Paleta		
0	-	-	-	4,5	4-6 (4)	4-6 (5)	3-5 (4)	3-6 (4,5)	3-5 (4)	3-6 (4,5)	3-5 (4)	1,2 (1)	-
1	1-3 (2)	-	d	6-10 (8)	4,6,8,10(8)	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1-3 (2)	-	3-7 (5)	5-7 (7)	3-6 (5)	1-3 (1)	1-3 (1)	1-3 (1,2)	1,2 (1)	1-3 (1,2)	1,2 (1)	-	1
3	1-3 (3)	-	1	1	1	1-5 (4)	2,3 (3)	1-3 (1)	1-4 (3)	1-3 (1)	1-4 (3)	-	-
4	1-3 (3)	-	3-6 (4)	3,4 (3)	1-4 (2)	1-5 (1)	2-4 (2)	1,2 (2)	1-3 (2)	1-2 (2)	1-3 (2)	2-4 (3)	-
5	1-3 (2)	-	1-3 (1,2)	3-7 (4-6)	4-7 (7)	2-5 (3)	1,2 (1)	1	1	1	1	-	-
6	1	-	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	-	-
7	1-3 (2)	-	1-3 (3)	2,3 (2)	1-4 (2)	1-3 (2)	1,2 (2)	1,2 (1)	1	1,2 (1)	1	-	-
8	1	-	-	-	2-4 (3)	1-4 (2)	2,3 (2)	2,3 (3)	2-5 (3)	2,3 (3)	2-5 (3)	-	-
9	1-3 (1,3)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-
10	-	1	-	-	1-3 (3)	1,3 (1)	1	-	1-3 (2)	-	1-3 (2)	-	-
11	-	2-4 (3)	-	-	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1	1,2 (1)	1	1,2 (1)	-	-
12	-	1-3 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1

d = dendrítica

Tabela 9. Limites da variação e moda (entre parênteses) de ramos das cerdas da pupa de *An. konderti*, da população de Porto Velho, Rondônia.

Cerdá	Cefalotórax	Metanoto	Abdome										Paleta
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII			
0	-	-	-	3-5 (4)	4-6 (4,5)	4-6(4)	4-6 (4)	3-6 (4)	3-6 (3)	1	-	-	
1	1,2 (1)	-	d	4-11 (10,11)	1,5,8 (8)	1	1	1	1	1	1	1	
2	1-3 (1)	-	2-6 (4)	4-8 (6)	3-5 (5)	1,2 (1)	1,2 (1)	1-3 (1)	1-3 (2)	1-3 (2)	1-3 (2)	1,2 (2)	
3	1-3 (3)	-	1	1	1,3 (1)	3-6 (3)	1-4 (2)	1-3 (2)	2-5 (3)	2-5 (3)	-	-	
4	1-4 (2)	-	3-5 (4)	1-5 (2)	1-4 (2)	1-4 (2)	2-4 (3,4)	1,2 (2)	1-3 (2)	1-3 (2)	3,4 (3)	-	
5	1,2 (2)	-	1,2 (2)	2-6 (4)	5-8 (5)	1-4 (3,4)	1-4 (3)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	-	-	
6	1-3 (1)	-	1	1,2 (1)	1,2 (1)	1	1	1,2 (1)	1	1,2 (1)	-	-	
7	2,3 (2)	-	1-3 (2)	1-3 (2)	1-3 (3)	1-4 (2)	1-3 (3)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	-	-	
8	1	-	-	-	1-3 (3)	1-3 (2)	1-3 (2)	1,2 (2)	1-3 (3)	1-3 (3)	-	-	
9	1-3 (1)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	
10	-	1	-	-	1-3 (3)	1-3 (1)	1-3 (1)	-	1-3 (2)	1-3 (2)	-	-	
11	-	2-5 (3)	-	-	1,2 (1)	1,2 (1)	1	1,2 (1)	1	1,2 (1)	-	-	
12	-	1,2 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	

d = dendrítica

Tabela 10. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas das pupas de *An. konderi*, da população de Candeias de Jamari, Rondônia.

Cerdeira	Cefalotórax	Metanoto	Abdome								Paleta
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
0	-	-	-	3-7 (4)	5-7 (5)	3-6 (4)	4-6 (4)	3-5 (4)	3-6 (4)	1,2 (1)	-
1	1,2 (2)	-	d	7-12 (9,10)	4-12 (6)	1	1	1	1	1	1
2	1,2	-	4-7 (5)	1,4-8 (5)	3-6 (5)	1-3 (2)	1-3 (2)	1-3 (3)	1-3 (2)	1-3 (2)	1,2 (1)
3	2,3 (3)	-	1	1,6 (1)	1	1-6 (4)	2,3 (3)	1-3 (2)	3,4	-	-
4	1,2 (2)	-	4-6 (4)	2-5 (4,5)	1-4 (3)	1-3 (2)	2-4 (2,3)	1-3 (1)	1-3 (1,2)	2-5 (4)	-
5	1,2	-	1-3 (1)	3-5 (3)	4-10 (6,8)	3-6 (3)	1-3 (1)	1	1	-	-
6	1,2 (1)	-	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	-	-
7	2	-	2	2,3 (2)	2-4 (2)	1-3 (2)	1-3 (2)	1-3 (1)	1,2 (1)	-	-
8	1	-	-	-	2-4 (3)	2,3 (2)	1-3 (2)	1-3 (2)	2-4 (3)	-	-
9	1-3 (2)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-
10	-	1,2 (1)	-	-	1-4 (3)	1,2 (1)	1	-	1-3 (2)	-	-
11	-	2-5 (4)	-	-	1-3 (1)	1	1,2 (1)	1	1,2 (2)	-	-
12	-	1,2 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-

d = dendrítica

Tabela 11. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da pupa de *An. konderi*, da população de Senador Guiomar, Acre.

Cerdeira	Cefalotórax	Metanoto	Abdome										Paleta	
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX			
0	-	-	-	3-5 (3)	4,5 (5)	5,6 (5)	5,6 (5)	5,6 (5)	5,6 (5)	5,6 (5)	5,6 (5)	3,4 (3)	1	-
1	2	-	d	7,8,11	5,7,8	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	1,2 (2)	-	3,4,6	5,6 (6)	6	3	3	3	2,3 (3)	2,3 (3)	2,3	2,3	-	2
3	2,3 (3)	-	1	1	1	4-6 (4)	1-3 (3)	1-3 (3)	1-3	1-3	3,4 (3)	3,4 (3)	-	-
4	1-3	-	4,5 (5)	4,5 (4)	2-4	2-4 (2,4)	2,4 (4)	2,4 (4)	1,2 (2)	1,2 (2)	2	2	3,4 (3)	-
5	1,2	-	1-3 (1)	4,6 (4)	4,7 (7)	4,5 (4)	1,2 (1)	1,2 (1)	1	1	1	1	-	-
6	1,3 (1)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1,2 (2)	1,2 (2)	-	-
7	2,3 (2)	-	2	2-4 (2)	2	2,3 (3)	2,3 (3)	2,3 (3)	1,2 (1)	1,2 (1)	2	2	-	-
8	1	-	-	-	2,3 (3)	3	2,3 (2)	2,3 (2)	2,3 (2)	2,3 (2)	3,4 (4)	3,4 (4)	-	-
9	2	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-
10	-	1	-	-	3	1	1	1	1	-	2,3 (2)	2,3 (2)	-	-
11	-	2,5 (5)	-	-	1,2 (1)	1	1	1	1	1	1,2 (2)	1,2 (2)	-	-
12	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-

d = dendrítica

Tabela 12. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da pupa de *An. konderi*, da população de Sena Madureira, Acre.

Cerdeira	Cefalotórax	Metanoto	Abdome								Paleta
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
0	-	-	-	4	3,6	4,5	4,6	4,5	4	1,2	-
1	1	-	d	4,8	4,5	1	1	1	1	1	1
2	1	-	3,4	5,9	4,5	2	1,3	1,3	2,3	2,3	2
3	3	-	1	1	1	3,4	1,2	1,2	3,4	-	-
4	2	-	4	3,4	3,4	2,3	3	1,2	2	3	-
5	1	-	1,2	3,5	4,5	3,4	1,4	1	1	1,2	-
6	1,2 (2)	-	1	1,2	1,2	1	1,2	1	1,2	-	-
7	2	-	1,2	2,3	2	2,3	2	1,3	1	-	-
8	1	-	-	-	3	2,3	1,2	2,3	2,3	-	-
9	1,2 (1)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-
10	-	1	-	-	1	1	1	-	3	-	-
11	-	3,4	-	-	1,2	1	1	1	2,3	-	-
12	-	1,2 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-

d = dendrítica

Tabela 13. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da pupa de *An. kondevi*, da população de Linhares Espírito Santo

Cerdeira	Cefalotórax	Metanoto	Abdome											Paleta
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII				
0	-	-	-	4,5	5	4	4	4	4	1,2	-	-		
1	1,2	-	4,5	8,10	6,7	1	1	1	1	1	1	1		
2	1,2	-	4,6	5,6	4,5	2	2	1,2	2,3	2	2	2		
3	2,3	-	1	1	1	3,4	3,4	2,3	1	2,3	-	-		
4	1	-	3,5	3,5	2	1,3	1,3	2,3	1,2	1	3,4	-		
5	1,2	-	2	1,4	3,6	2	2	1	1,2	1,2	-	-		
6	1,2	-	1	1	1,2	1,2	1,2	1	1,2	1	-	-		
7	2,3	-	1,2	2	3,4	2,3	2,3	1,2	1,2	2	-	-		
8	1	-	-	-	4	2,3	2,3	1,2	1,3	3,4	-	-		
9	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-		
10	-	1	1,4	1	1	1	1	1	3	3	-	-		
11	-	3,4	2	-	2	1,2	1,2	1	1	1	-	-		
12	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
14	-	-	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1		

d = dendrítica

Tabela 14. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da pupa de *An. konderi*, da população de Yurimaguas, Peru.

Cerdeira	Cefalotórax	Metanoto	Abdome										Paleta
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII			
0	-	-	-	2-4 (4)	4,5 (5)	3-6 (5)	2-5 (4)	3-5 (4)	3-5 (4)	3-5 (4)	1,2 (2)	-	
1	1-4 (3)	-	d	7-14 (10)	6-11 (8,9)	1,5-9 (7)	1	1	1	1	1	1	
2	1-3 (2)	-	4-6 (6)	4-10 (8,9)	5-7 (5)	1-5 (1,3,4)	1-5 (3)	2-4 (4)	1-4 (2,3)	1-4 (2,3)	1,2 (2)	1	
3	2-4 (2)	-	1,2 (1)	1	1,2 (1)	3-6 (5)	1-6 (1)	1-4 (2)	1-4 (4)	1-4 (4)	-	-	
4	2-4 (2)	-	3-7 (4)	1-7 (2)	1,4 (2)	2-4 (3)	3-5 (3)	2-4 (2)	1-3 (3)	1-3 (3)	3,4 (4)	-	
5	1-3 (2,3)	-	1,2 (1)	3-6 (3,6)	3-9 (8)	3-8 (6)	1-3 (1)	1-3 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	-	-	
6	1-4 (2)	-	1,2 (1)	1,2	1-3 (2)	1-3 (2)	1,2 (1)	1-3 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	-	-	
7	2,3 (3)	-	2-5	2-8 (2)	2,3 (2)	1-4 (2)	1-4 (2)	1,2 (1)	1,2 (2)	1,2 (2)	-	-	
8	1	-	-	-	2,3 (2)	1-4 (2,3)	1-4 (2,3)	1-3 (2)	2-4 (2,4)	2-4 (2,4)	-	-	
9	1-3 (2)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	
10	-	1,2 (1)	-	-	1-3 (3)	1,2 (1)	1,2 (1)	-	1-3 (2)	1-3 (2)	-	-	
11	-	3-5 (3,4)	-	-	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	-	-	
12	-	1-3 (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	-	

d = dendrítica

Tabela 15. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da pupa de *An. konderi*, das populações de Coari (AM), Porto Velho e Candeias do Jamari (RO), Senador Guiomar e Sena Madureira (AC), Linhares (ES) e Yurimaguas (PER).

Cerdeira	Cefalotórax	Metanoto	Abdome									
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Paleta	
0	-	-	-	2-7 (4)	3-7 (4,5)	3-6 (4,5)	2-6 (4)	3-6 (4)	3-6 (4)	3-6 (4)	1,2 (1)	-
1	1-4 (1,2)	-	d	4-14 (8,10)	1-12 (8)	1-9 (1)	1	1	1	1	1	1
2	1-3 (2)	-	2-7 (4,5)	1-10 (5,6)	3-7 (5)	1-5 (1,2)	1-5 (1,3)	1-4 (2,3)	1-4 (2,3)	1-4 (2,3)	-	1,2 (2)
3	1-4 (2,3)	-	1,2 (1)	1	1-3 (1)	1-6 (3,4)	1-6 (3)	1-4 (2)	1-4 (2)	1-5 (3,4)	-	-
4	1-4 (3)	-	3-7 (4)	1 7 (3,4)	1-4 (2)	1-5 (2)	2-5 (2,3)	1-4 (2)	1-3 (2)	1-3 (2)	2-5 (3,4)	-
5	1-3 (2)	-	1-3 (1,2)	1-7 (3,4)	3-10 (7,8)	1-8 (3)	1-4 (1)	1-3 (1)	1-3 (1)	1,2 (1)	-	-
6	1-4 (1)	-	1,2 (1)	1,2 (1)	1-3 (1)	1-3 (1)	1,2 (1)	1-3 (1)	1-3 (1)	1,2 (1)	-	-
7	1-3 (2,3)	-	1-5 (2)	1-8 (2)	1-4 (2)	1-4 (2)	1-4 (2,3)	1-3 (1)	1-3 (1)	1,2	-	-
8	1	-	-	-	1-4 (3)	1-4 (2)	1-4 (2)	1-3 (2)	1-5 (3)	1-5 (3)	-	-
9	1-3 (1,2)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-
10	-	1,2 (1)	-	-	1-4 (3)	1-3 (1)	1-3 (1)	-	1-3 (2)	1-3 (2)	-	-
11	-	2-5 (3,4)	-	-	1-3 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1-3 (1)	-	-
12	-	1-3 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-

d = dendrítica

Tabela 16. Variação da relação entre as medidas de alguns caracteres da pupa de *An. konderi*, de seis populações brasileiras e uma população peruana.

Populações	Número	Pupa				
		Cefalotórax		Abdome cerda I/IV tergito	Índice paleta	
		Índice meato	Índice. trompa comp. trompa			
Brasil						
Coari (AM)	11	0,1 - 0,4 (0,3)	2,0 - 5,7 (2,8)	0,2 - 0,6 (0,4)	1,3 - 2,1 (1,6)	1,1 - 1,7 (1,5)
Porto Velho (RO)	11	0,2 - 0,3 (0,3)	1,6 - 3,5 (2,4)	0,3 - 0,6 (0,5)	1,3 - 2,1 (1,7)	1,3 - 1,6 (1,5)
Candeias de Jamari (RO)	11	0,1 - 0,3 (0,3)	2,6 - 4,0 (2,5)	0,4 - 0,7 (0,5)	1,2 - 1,8 (1,4)	1,2 - 1,5 (1,4)
Senador Guiomar (AC)	03	0,2 - 0,3 (0,3)	2,5 - 4,3 (3,4)	0,4 - 0,5 (0,4)	1,4 - 1,7 (1,6)	1,4 - 1,5 (1,4)
Sena Madureira (AC)	02	0,2 - 0,3 (0,2)	2,0 - 2,1 (2,1)	0,4 - 0,5 (0,5)	1,3 - 1,7 (1,5)	1,4 - 1,5 (1,5)
Linhares (ES)	02	0,2 (0,2)	2,6 (2,6)	0,4 (0,4)	1,8 (1,8)	1,4 (1,4)
Peru						
Yurimaguas	11	0,2 - 0,4 (0,3)	1,6 - 5,7 (2,6)	0,2 - 0,7 (0,4)	1,1 - 2,2 (1,5)	1,0 - 1,6 (1,4)
Total	51	0,1 - 0,4 (0,2)	2,1 - 3,9 (2,7)	0,3 - 0,5 (0,4)	1,1 - 2,2 (1,6)	1,1 - 1,7 (1,4)
Desvio Padrão		1,36	0,06	0,75	0,07	0,24

Índice meato = comprimento do meato/comprimento da trompa Índice paleta = comprimento da paleta/menor largura

Índice da trompa = comprimento/menor largura da pina

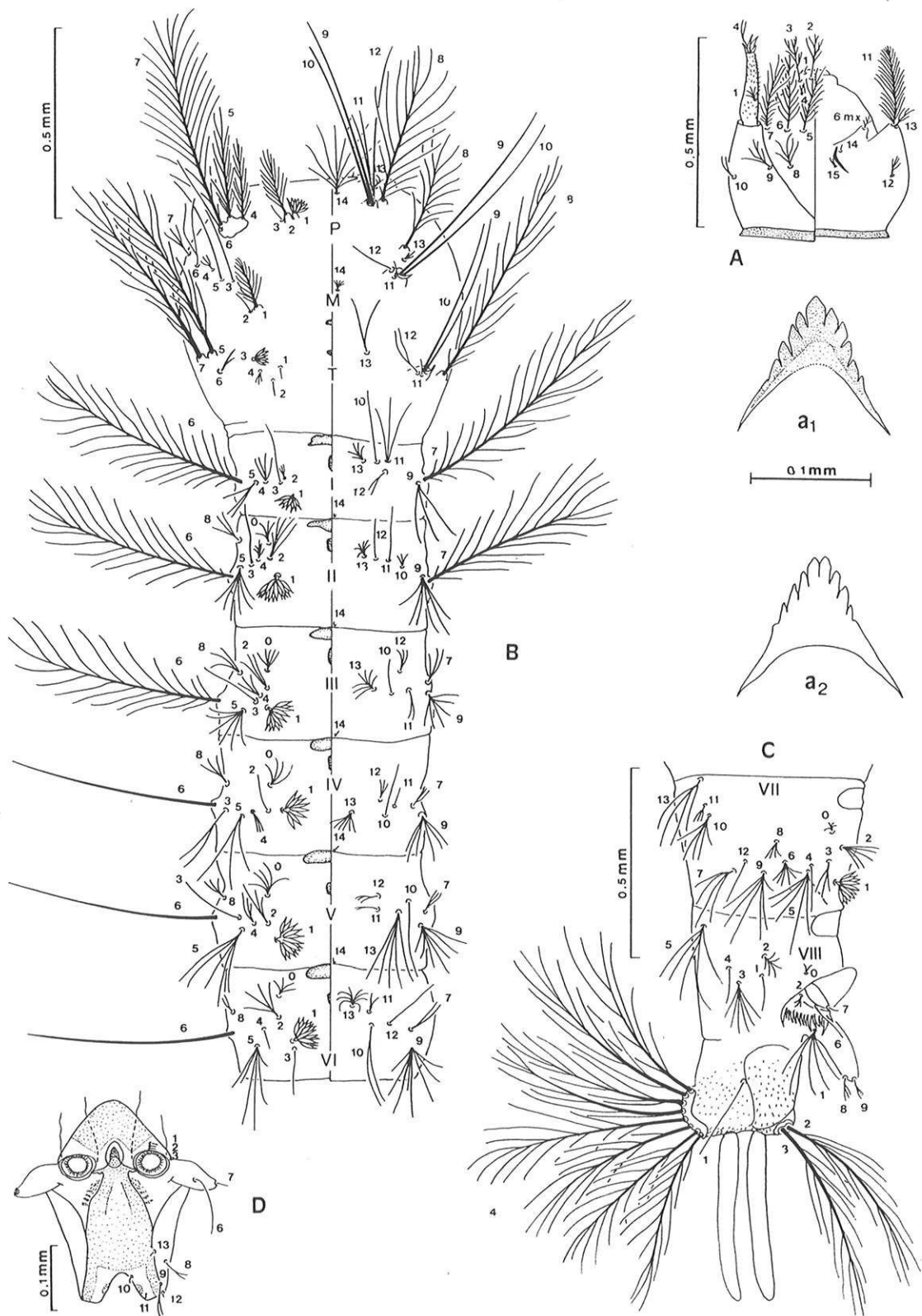


Figura: 5. *Anopheles konderi*. Larva: A – cabeça, a₁ – dorsomento, a₂ – ventromento, B – tórax e segmentos abdominais VII – X, D – aparato espiracular.

Tabela 17. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. konderi*, da população de Coari, Amazonas.

Cerdeira	Cabeça	Antena	Abdome										Espiráculo	X								
			P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII			VIII							
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1	41(5)	47,10(67)	11-1620(12)	21-30(26)	1	1	10-18(11,14)	4-6(4)	3-6(4)	1022-32(2122)	3-6(4)	3-6(4)	3-6(4)	3-5(4)	3-5(4)	1-4(23)	1	47(5)	-	-	-	-
2	41(59)	1	9-18(14)	1	1	2-7(2)	3-8(5)	14-27(20)	1021-29(2528)	1021-29(2528)	1	1	18-29(22)	18-29(22)	19-25(22)	1	4-8,15(5)	47(5)	-	-	-	-
3	2-4(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5-12(5)	-	-	-	-
4	13,15,18,21(13)	23(2)	9-25(12)	3-5(3,4)	2-4(3)	3-5(4)	3-7(5)	2-4(2)	2-3(3)	2-3(3)	2-3(3)	2-3(3)	2-3(3)	2-3(3)	2-3(3)	1	1	4-7(5)	-	-	-	-
5	12-19(16,18)	-	24-32(25)	1-2(1)	27-42(31)	3-4(3)	5-9(7)	5-9(7)	3,4	3,4	1	1	4-7(5)	4-7(5)	5-7,10(6)	4-7(5)	1	-	-	-	-	-
6	4-7(4)	-	1	1-2(2)	23(2)	25-41(25)	32-38(34,36,38)	27-35(29)	1	1	1	1	1	1	5-9(5)	-	1	1,2(1)	-	-	-	-
6mx	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	15-28(18-20)	-	23-32(25,32)	2-3(3)	20-36(26,32)	26-41(29,30)	30-38(32)	2-3(6)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)	3-6(3)	-	1	1	-	-	-	-
8	4-7(5)	-	20-33(25)	18-30(24,26)	24-36(27)	-	2-3(3)	3	3	3	3	3	2-3(3)	2-3(3)	3-5(3)	-	2-4(3)	-	-	-	-	-
9	4-9(6)	-	1	1	1	3-5(3,4)	3-7(6)	3-8(6,7)	2-9(6)	2-9(6)	2-9(6)	2-9(6)	3-12(4,8)	3-12(4,8)	4-10(6)	-	1-4(2,3)	-	-	-	-	-
10	2-4(2)	-	1	1	1	1-3(1)	1-5(2)	1	1	1	1	1	2-9(6)	2-9(6)	3-6(4)	-	-	-	-	-	-	-
11	30	-	1	1	1	1-3(1)	1	1	1	1	1	1	1	1	3-6(4)	-	1	1	-	-	-	-
12	3-6(4)	-	1	1	1	1-3(1)	1	1-3(1,2)	1-3(1,2)	1-3(1,2)	1-3(1,2)	1-3(1,2)	1-3(1,2)	1-3(1,2)	2-3,6(2)	-	1	1	-	-	-	-
13	3-5(4)	-	2-4(3)	4-6(4)	2-3(2)	1-2(2)	1-2(1)	1-3(2)	2-5(3,4)	2-5(3,4)	2-5(3,4)	2-5(3,4)	2-5(3,4)	2-5(3,4)	2-3,6(2)	-	1	1	-	-	-	-
14	1-4(2)	-	69(7)	6-13,8-10	2-3(2)	5-10(7)	4-9(9)	6-12(6,12)	4-8,11(5,8)	4-8,11(5,8)	4-8,11(5,8)	4-8,11(5,8)	5-9(7)	5-9(7)	4-6(4)	-	1	1	-	-	-	-
15	1-4(1,4)	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	-	-	-	-

p = plumosa

Tabela 18. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. kondneri*, da população de Porto Velho, Rondônia.

Cerca	Cabeça	Antera	Tórax			Abdome																
			P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Espiráculo	X							
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	1	3-8(6)	11-18(11,16)	21-30(23,24)	1	9-23(14)	4-7(5)	4-6(8)	4-7(4)	3-5(5)	3-6(4)	2-6(3,4)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	
2	6-11(7)	1	11-21(12)	1	1	2-6(4)	13-25(19,21)	20-28(24)	22-25(30,32)	2-4(3)	22-31(24)	15-26(22)	1	5-12(5,10)	1	3-8(5)	15-26(22)	1	47(5,6)	1	47(5,6)	
3	5-10(6)	1	1	1	8-15(13)	1	3-8(6)	2-5(3,5)	1	2-4(3)	3-7(4)	3-8(5)	1-3(2)	3-17(6,7,12)	1	2-4(3)	3-8(5)	3-8(5)	3-8(5)	3-8(5)	3-8(5)	3-8(5)
4	2-4(2)	2	11-20(14)	3	2-4(3)	3-6(4)	3-7(5)	2-4(2,3)	1-3(2)	2-3(3)	1	1	1-3(2)	1	1	2-4(3)	1	2-4(3)	1	1	1	1
5	13-21(13,14)	-	17-30(28)	1	24-35(35)	3-5(3)	3-7(6)	3-5-8(5,6)	2-6(3)	2-3(3)	1	1	1	1	5-9(6)	1	1	1	1	1	1	1
6	14-18(15,16)	-	1	1-3(2)	1-2(2)	24-33(30)	28-37(28,33)	20-32-40(22)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6mx	2-6(8,4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	15-23(18)	-	18-36(30)	1-3(3)	21-37(29)	24-36(28)	23-34(30)	2-3(3)	2-4(3)	2-3(3)	2-3(2)	2-3(2)	2-4(3)	2-3(3)	2-3(3)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)
8	4-6(8,5,6)	-	17-34(29)	14-26(18,25)	25-33(30)	-	2-3(3)	3	3	2-3(3)	2-3(2)	2-3(2)	3	2-3(3)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)
9	3-8(5,7)	-	1	1	1	3-4-6(10,3)	2-5-8(5)	5-9(5)	4-12(7)	5-10(6)	6-10(8)	6-10(8)	4-12(7)	5-10(6)	6-10(8)	6-10(8)	6-10(8)	6-10(8)	6-10(8)	6-10(8)	6-10(8)	6-10(8)
10	2-3(3)	-	1	1	1	1	2-4(3)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11	30,40,48(30)	-	1	1	1	3-4(3)	1	1-3(2)	1-2(2)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)	1-2(2)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)	2-4(2)
12	2-4(3)	-	1	1-2(1)	1-2(2)	1-4(2)	1	2-3	2-4(3)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-4(3)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)
13	3-6(4,5)	-	1-4(3)	2-4-6(5)	2-4(2)	6-13(9)	6-10(6)	4-12(6)	4-8(7)	4-7(5)	6-12(8)	6-12(8)	4-8(7)	4-7(5)	6-12(8)	6-12(8)	6-12(8)	6-12(8)	6-12(8)	6-12(8)	6-12(8)	6-12(8)
14	1-2	-	6-10(8,9)	4-10(8)	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
15	1-4(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

p = plumosa

Tabela 20. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. konderi*, da população de Senador Guiomar, Acre.

Cerdá	Cabeça	Antera	Abdome										Espínaculo	X												
			P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII			VIII											
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	1	469	13-15(14)	-	1	-	12,13,21(12)	56	46(5)	45,7(4)	45,7(4)	46(4)	3-5(5)	35	34(4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	6,12(6)	1	10,11,15(15)	1	1	1	4,5,7(4)	19,20,22,25	23,25,26,32	23,26,28,33	25,28,29,31	24,26,29	20,21,28(28)	20,21,28(28)	1	56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	8,10	1	1	1	1	11,13,18,19	1	46(5)	45(5)	1	23(2)	23(2)	46(5)	3,5,6,9	9-12(10)	2-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	2,6(2)	2	11,15,17,22	3,4(4)	3,5(4)	3,5(4)	3,4(4)	4,7(4)	23,5(5)	3,4	3,4	1	3,4(3)	3,4(3)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	11,15,16,18	-	14,21,26,30	3-5(4)	3-5(4)	27,28,30,40	3-5(4)	46,10	45,7(4)	3,6	3,6	1	68(6)	4-6,10	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	11-15(15)	-	1	2,3	2,3(2)	2,3(2)	26,28,31(31)	28,31,33	22,24,25,27	1	1	1	1	45,9(9)	5-7(7)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6mx	46(4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	17-19(19)	-	28,30,32,34	2,3	15,29,31(29)	15,29,31(29)	24,25,26,29	29,30,32(29)	3,4	2-4(3)	2-4(3)	3,4(3)	2,3	68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	3,6(5)	-	24,27(24)	20-24	24,27,30,32	24,27,30,32	-	3	2,3(3)	3	3	3	2,3(3)	3-5,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	6,8(7)	-	1	1	1	1	3,4(3)	5,6,9(9)	69-11	5,6,8,9	4,5(4)	46,8,9	68,10(6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	2,3(2)	-	1	1	1	1	1	2,3,5(5)	1	1	1	2,3(2)	3,5,6(3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	30-46(30)	-	1	1	1	1	1	1	13,8(1)	2,3(3)	2,3(3)	2,3(3)	3,5(4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	3-5(5)	-	1	1	1	1	2,3(2)	1,2(1)	2,4(2)	4,6(6)	2,3(3)	1	3-5(4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	3,4,6(4)	-	2-4(2)	4,5(4)	2,3(2)	2,3(2)	5-7,13	5-7,16(6)	69,11(9)	6,10(6)	4,5	59,10,13	3,4,6,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	1,2	-	7,9	8-10,12	2,3(2)	2,3(2)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	2-5(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

p = plumosa

Tabela 21. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. konderi*, da população de Sena Madureira, Acre.

Cerde	Cabeça	Antena	Tórax			Abdome																
			P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Esquínculo	X							
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1	1	4	10,13	24,25	1	10,12	3,6	28,32	46	25,29	4	26,28	3,5	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4
2	9,12	1	10,14	1	1	3,4	4,8	48	5,8	1	1	1	1,3	25,26	18,22	1	1	1	1	1	1	1
3	8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2,5	2,5	1	4,5	4,5	8,11	8,11	8,11	8,11	8,11	8,11	8,11
4	3	2	11,15	3,5	3	4	4,7	4,7	3	3	2,3	3,4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	12,21	-	20,24	1	31,39	5,7	6,7	6,7	6,8	5	5	5	5	6,7	5,10	5,10	5,10	5,10	5,10	5,10	5,10	5,10
6	14,24	-	1	2,3	2	30,36	28,32	28,32	26,29	1	1	1	1	1	4	4	4	4	4	4	4	4
6mx	3,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	19,22	-	24,37	2,4	30,36	27,30	24,28	3	3	3	3	3	3	2,3	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
8	5	-	19	20,28	28,33	-	3	3	3	3	3	3	3	2,4	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
9	6	-	1	1	1	5,10	6,9	7,11	4,9	1	1	1	1	4,10	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
10	2,3	-	1	1	1	1,2	1,2	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2
11	30	-	1,2	1	1	1,2	1,1	1,2	2	2	2	2	2	2,4	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
12	3,4	-	1	1	2	2,3	1	1,2	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
13	4,6	-	3	3,5	2,4	4,5	6,7	7,8	5,8	1	1	1	1	5,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8
14	1	-	8,9	9	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
15	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

p = plumosa

Tabela 22. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. konderi*, da população de Linhares, Espírito Santo

Cerdã	Antena			Tórax			Abdome									
	Cabeça	P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Espiráculo	X		
0	-	-	-	-	-	6	56	57	5	4	3,4	2	-	-		
1	13,15	1	21,27	1	14,15	24,25	27,29	23,27	30,32	26,30	22,23	1	67(67)	1		
2	14,17	1	1	1	4	67	36	1	23	5(65)	45	8,10	4	P		
3	49	1	1	7,13	1	1	1	1	1	1	23	69	-	P		
4	24	23	3,4	3	45	45	23	3,4	3	1	1	1	-	P		
5	17,18	1	1	26,36	3	38	78	46	56	68	46	58	-	-		
6	15,21	1	23	2	22,33	37,39	32,36	1	1	1	3,5	-	1	-		
6mx	46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
7	21,25	-	23	32,34	23,28	31,34	23	3	3	2	3,7	-	1	-		
8	48	-	22,29	33,39	-	3	3	3	3	2	6	-	3	-		
9	67	1	1	1	3,5	3,5	79	79	67	569	5	-	23(23)	-		
10	2	1	1	1	1	3	1	1	1	23	47	-	1	-		
11	15,30	-	1	1	23	1	12	2	2	2	2	-	1	-		
12	4	1	1	2	2	1	23	3,4	3	1	1	-	1	-		
13	56	4	45	23	5,10	67	68	67	67	6	4	-	1	-		
14	2	-	8	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	-		
15	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

p = plumosa

Tabela 23. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. kondéri* da população de Yurimaguas, Peru.

Cerca	Cabeça	Antera	Tórax		Abdome										Espínaculo								
			P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	X									
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	1	4-7(5)	9-22(12)	18-28(21)	1	-	9-24(9)	47-110(4)	3-57(4)	46(45)	27(4)	34(4)	3-5(4)	23(3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	3-9(5)	1	12-17(17)	1	1	2-4(3)	9-27(27)	9-27(27)	15-31(25,27)	19-36(25,28,30)	13-29(21,23)	15-29(18)	10-25(10,19)	12(1)	10-25(10,19)	12(1)	10-25(10,19)	12(1)	10-25(10,19)	12(1)	10-25(10,19)	12(1)	10-25(10,19)
3	5-13(9)	1	1	1	6-11(6)	1	1	3-6(8,5)	2-4(3)	1	1-3(2)	3-7(4,6)	3-7(11,4)	3-7(11,4)	3-7(11,4)	3-7(11,4)	3-7(11,4)	3-7(11,4)	3-7(11,4)	3-7(11,4)	3-7(11,4)	3-7(11,4)	3-7(11,4)
4	2-4(2)	2-3(2)	12-25(17,20)	3-5(3)	2-4(3,4)	2-4(3,4)	3-5(4)	3-5(4)	2-3(2)	2-4(3)	2-3(2)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	13-18(17)	-	18-37(25)	1-3(1)	27-38(30,32)	3-5(3)	4-7(9,6)	4-7(9,6)	48-10(5,6)	3-6(5)	3-8(6)	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8
6	12-17(14,15)	-	1	1-2(4,1)	2-3(2)	26-35(27,30,33,35)	28-41(36)	28-41(36)	23-36(29,33)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6mx	2-5,9,11(4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	13-24(15,17,18)	-	20-32-40(29,32)	2-4(2)	28-45(28)	23-36(32)	24-40(31,32)	24-40(31,32)	2-3(3)	2-4(3)	2-4(3)	2-3(3)	3-5,8,12	-	3-5,8,12	-	3-5,8,12	-	3-5,8,12	-	3-5,8,12	-	3-5,8,12
8	2-5(4)	-	14-38(28,30)	17-32(22,23)	23-41(32)	-	3	3	2-3(3)	3	2-4(3)	2-3(3)	5-9(8)	-	5-9(8)	-	5-9(8)	-	5-9(8)	-	5-9(8)	-	5-9(8)
9	3-7(5)	-	1	1	1	3-6(4)	4-11(6)	4-11(6)	3-6(12,9)	6-12(7)	5-10(7,9)	6-12(8)	5-8(6)	-	5-8(6)	-	5-8(6)	-	5-8(6)	-	5-8(6)	-	5-8(6)
10	1-4(1)	-	1	1	1	1	2-4(3)	2-4(3)	1	1	1	2-3(3)	5-6	-	5-6	-	5-6	-	5-6	-	5-6	-	5-6
11	30	-	1,2	1	1	1-3(2,3)	1	1	1,2	1,2	3	2-3(2)	2-3	-	2-3	-	2-3	-	2-3	-	2-3	-	2-3
12	2-4(4)	-	1	1	1-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-4(2)	2-4(3)	2-3(3)	1	1	-	1	-	1	-	1	-	1	-	1
13	2-6(4)	-	13-5(3)	3-9(4)	2-3(2)	4-9(6)	5-10(6)	5-10(6)	6-9(9)	5-12(7,8)	4-9(5,6,8)	6-11(8)	3-6(5)	-	3-6(5)	-	3-6(5)	-	3-6(5)	-	3-6(5)	-	3-6(5)
14	1-4(1)	-	3-14(8)	6-12(9)	2-3(2)	-	1	1	1	1	1	1	1	-	1	-	1	-	1	-	1	-	1
15	1-5(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 24. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. konderi*, de seis populações brasileiras, Coari (AM), Porto Velho e Candeias do Jamari (RO), Senador Guiomar e Sena Madureira (AC), Linhares (ES) e uma população peruana (Yurimaguas).

Cerdá	Tórax						Abdome								
	Cabeça	Antena	P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Espiráculo	X
0	-	-	-	-	-	-	-	3-8(45)	3-8(4)	2-7(45)	3-6(4)	2-6(4)	1-4(23)	-	-
1	1	3-10(5)	9-20(12)	18-32(22,26)	1	9-24(14)	3-10(4)	10-32(24)	10-36(26,28)	13-32(23)	15-31(24)	10-28(22)	1-2(1)	3-8(5)	1
2	3-12(5-7)	1	9-21(12,14)	1	1	2-7(3,4)	9-32(19,20)	2-8(3)	1	1-4(3)	3-8(45)	3-11(5)	3-12(5,6)	2-6(3)	P
3	2-13(8,9)	1	1	1	1	1-2(1)	3-8(5,6)	1	1-6(23)	1	1	2-5(3)	3-12(6)	-	P
4	1-6(2)	2-3(2)	9-25(12,15)	3-5(3)	2-5(3)	3-6(4)	3-9(45)	2-6(23)	1-4(3)	2-4(3)	1	1	1-2(1)	-	P
5	11-22(17)	-	14-37(24,25)	1-3(1)	22-47(28,30,32)	3-7(3)	3-10(6)	2-11(5-7)	3-6(8(3)	2-8(5)	4-9(6)	4-10(6)	3-9(5)	-	-
6	10-24(14,15)	-	1	1-4(2)	1-3(2)	23-41(30,31)	27-41(28,32,36)	18-40(29)	1	1	1	3-9(6)	-	1-2(1)	-
6mx	2-11(4)	-	-	-	-	21-41(28,29)	-	2-6(3)	-	2-4(3)	2-3(2)	3-8,12(3,4)	-	1-2(1)	-
7	5-30(18,29)	-	18-42(30,32)	1-4(3)	15-45(28,31,32)	21-41(28,29)	23-40(28,32)	2-6(3)	2-4(6(3)	2-4(3)	2-4(23)	2-9(4)	-	2-4(3)	-
8	2-8(4,5)	-	14-34(28)	14-30(20,24)	22-41(29,32)1	-	2-3(3)	2-4(3)	2-10,12(7)	4-12(7)	3-12(8)	3-8,10(5,6)	-	1-6(23)	-
9	2-9(5,6)	-	1	1	1	3-10(3)	2-11(5,6)	3-12(6)	1	1	1-3(2)	2-7(5)	-	1	-
10	1-4(2)	-	1	1	1	1	1-6(3)	1	1	1	1-4(2)	1-6,9(2,3)	-	1	-
11	15-46(30)	-	1	1	1-2(1)	1-4(3)	1-2(1)	1-3,8(2)	1-3(2)	1-4(2)	1	1	-	1	-
12	2-6(4)	-	1	1-2(1)	1-3(2)	1-4(2)	1-2(1)	1-4(2,3)	2-6(3)	1-3(2,3)	1	1	-	1	-
13	2-7(4)	-	1-5(3)	1-9(4)	1-4(2)	4-11,13(6,7)	4-16(6,7)	4-12(6,9)	4-12(6)	4-8(5)	5-12(8)	3-6,8(4)	-	1	-
14	1-4(1)	-	3-14(8)	4-12(8,9)	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	-
15	1-15(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

p = plumosa

Tabela 25. Morfometria da larva de *An. konderi* de seis populações brasileiras e uma peruana.

Populações	Número	Cabeça			Aparelho espiracular						
		Índice clipeal	Comp. antena/ espaço de 1-A até base antena	Comp. papila anal/ comp. cerda 4-X	Inserção de IX dentro da sela % (indivíduos)	AEP/ Espaço Eab	Pecten				
							Fórmula dos Espículos (%)			Número espículos (indivíduos)	
		I	II	III							
Brasil											
Coari (AM)	11	0,8-1,9 (1,2)	3,7-7,0 (5,2)	0,6-0,9 (0,7)	45,5 (05)	1,0-1,5 (1,4)	90,9	0,1	-		12-19 (16)
Porto Velho (RO)	11	1,1-1,7 (1,5)	3,8-5,9 (4,6)	0,6-1,1 (0,8)	0 (0)	1,1-1,6 (1,3)	72,7	-	27,3		14-20 (17)
Candeias do Jamari (RO)	11	1,0-1,7 (1,4)	3,9-6,7 (5,2)	0,7-1,4 (1,1)	36,4(04)	1,1-1,4 (1,2)	81,8	9,1	9,1		12-20 (14)
Senador Guiomar (AC)	03	1,0-1,6 (1,2)	3,5-8,5 (5,8)	0,8-1,1(0,9)	0(0)	1,3-1,8 (1,5)	33,3	66,6	-		16-17 (17)
Sena Madureira (AC)	02	1,5-1,6 (1,6)	2,8-4,2 (3,5)	0,6-0,7 (0,7)	100(02)	0,9-1,3 1,1)	100	-	-		12-16 (14)
Linhares (ES)	02	1,4 (1,4)	3,9-5,8 (4,9)	0,9-1,0 (1,0)	50,0 (01)	1,1-1,3 (1,2)	100	-	-		14-17 (16)
Peru											
Yurimaguas	11	1,1-1,7 (1,3)	2,9-7,9 (5,4)	0,6-1,0(0,8)	18 (02)	0,8-1,7 (1,3)	81,8	9,1	9,1		14-18 (16)
Total	51	0,8-1,9 (1,4)	2,8-8,5 (4,9)	0,6-1,4 (0,9)	13,7 (07)	0,8-1,8 (1,3)	79,2	6,2	14,6		12-20 (16)
Desvio Padrão	51	0,26	1,19	0,19	0,44	1,17	0,76				4,76

0 = espículo grande

1 = espículo mediano

2 = espículo pequeno

Fórmula Tipo I = 2-0-2(n)-0-2(n)-0

Fórmula Tipo II = 0 (n)-2(n)-1-2(n)-0

Fórmula Tipo III = 1(n)2-0-2(n)-0-2(n)-0

Índice clipeal = distâncias entre as cerdas 3-C/distância entre 2C

AEP = distância entre os ápices das expansões laterais da placa mediana do aparato espiracular anterior

Eab = espaço entre os espiráculos abdominais

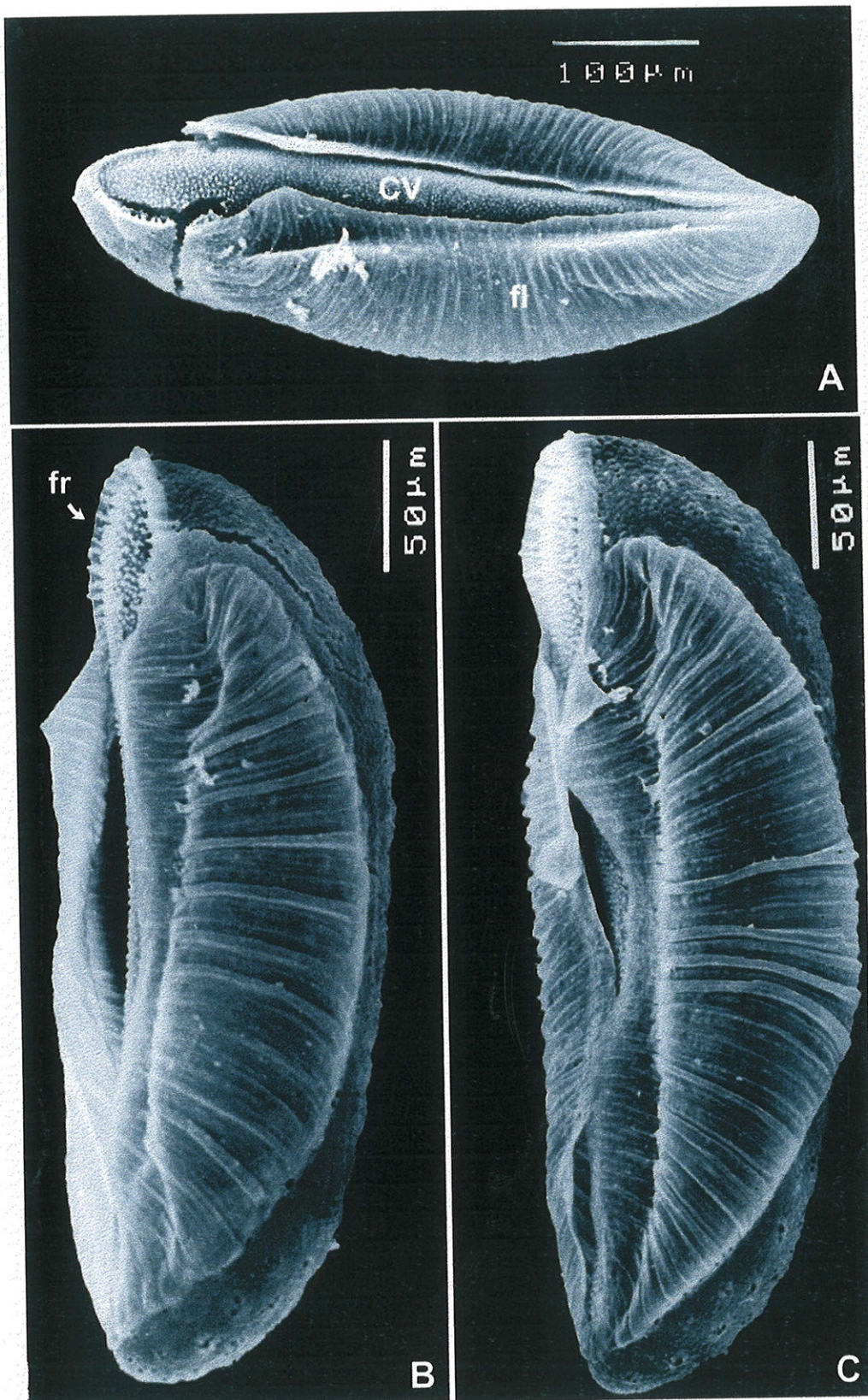


Figura 6: *An. konderi*. Ovos: População de Coari (AM); A - vista dorsal do ovo inteiro; B e C - vista lateral do ovo inteiro. CV - convés; fl - flutuador; fr - franja.

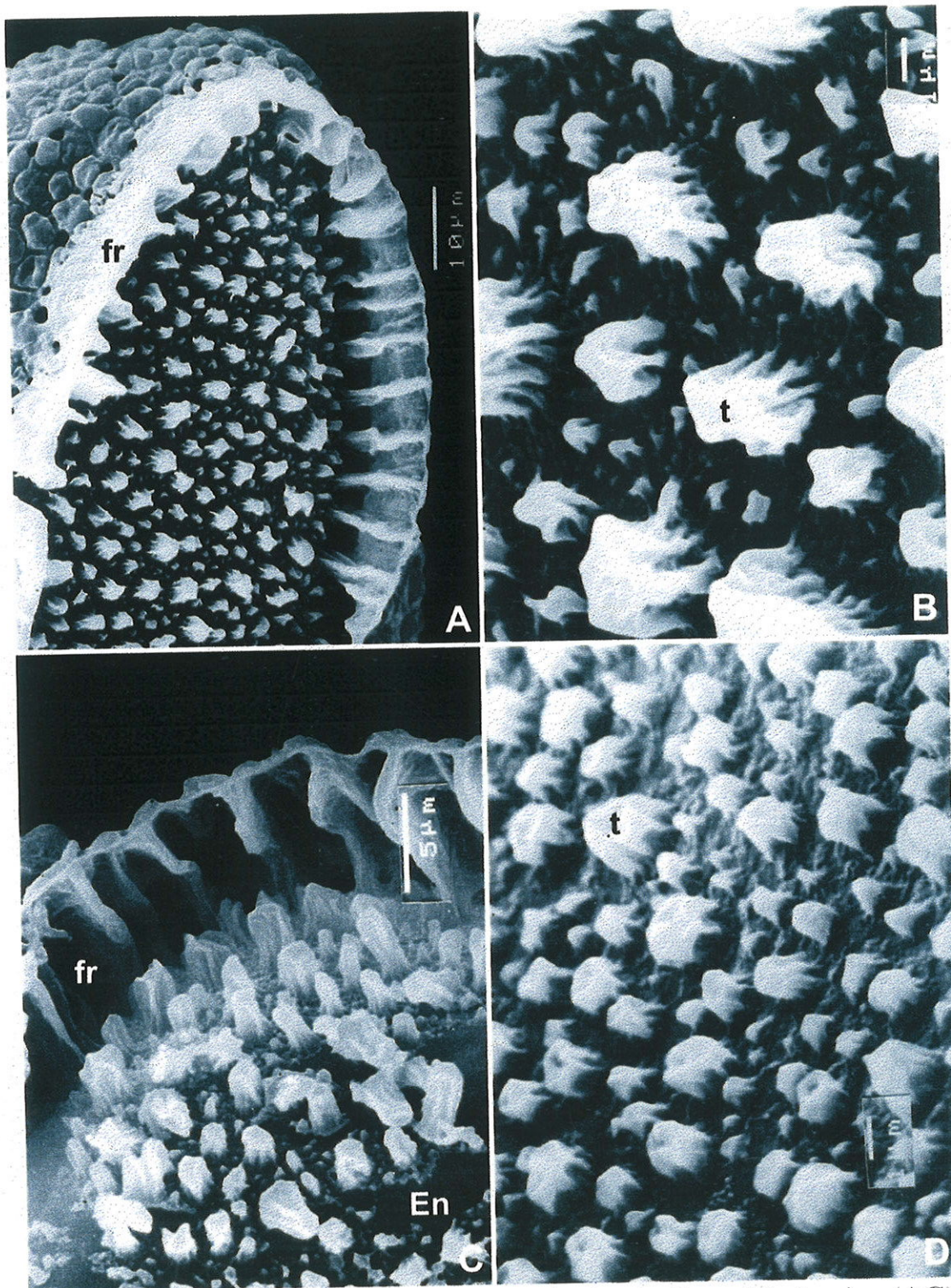


Figura 7: *An. konderi*. Ovos: A - População de Sena Madureira (AC) vista geral do exocório: convés da região anterior; B - População de Sena Madureira (AC) detalhe do convés da região anterior mostrando os tubérculos; C - População de Yurimaguas (Peru) vista geral do convés da região anterior; D - População de Yurimaguas (Peru) convés da região média.

fr - franja; t - tubérculo; En - endocório

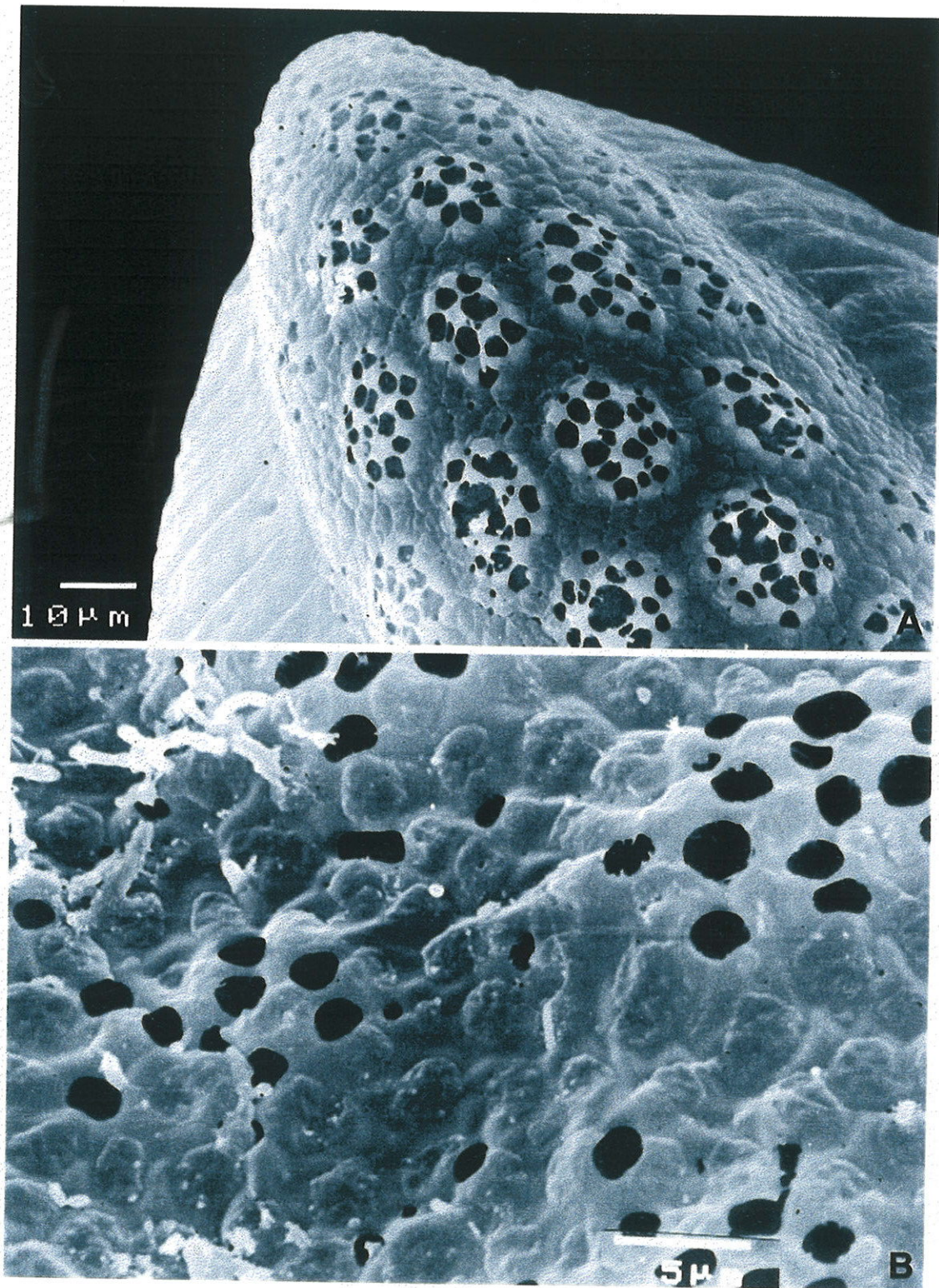


Figura 8: *An. konderi*. Ovo: Região ventral. A - População de Porto Velho (RO) - células coriônicas; B - População de Coari (AM) - detalhe das células coriônicas.

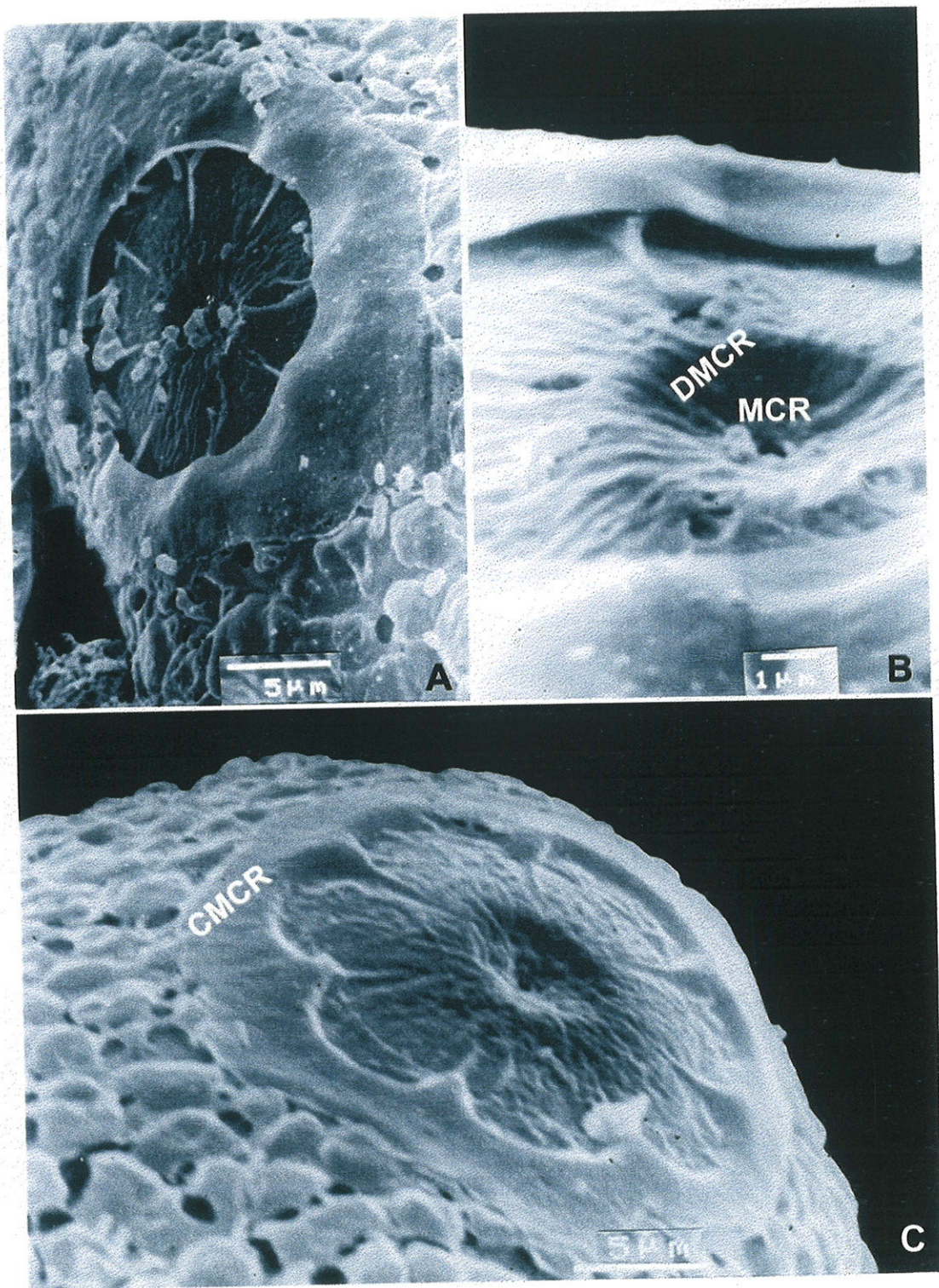


Figura 9: *An. konderi*. Tipos de aparelho micropilar; A e B - População de Coari (AM); C - População de Candeias de Jamari (RO).
 MCR - micrópila; CMCR - colar da micrópila; DMCR - disco da micrópila

Material examinado:

Total de espécimens examinados: 38 machos G, 13 machos Le Pe G, 26 fêmeas Le Pe, 25 fêmeas Le Pe G. Procedência: BRASIL: Estado do Amazonas, Coari – Travessia (3° 57'S e 63° 12'W), agosto de 1998, proveniente de desova de fêmeas coletadas em isca humana, det. C. Flores-Mendoza, col. C. Flores-Mendoza, F.A.Souza, 11 machos Le Pe G, 7 fêmeas Le Pe, 4 fêmeas Le Pe G; Rondônia, Porto Velho - São Miguel (8° 55'S e 64° 12'W), junho de 1996, proveniente de desova de fêmeas coletadas em isca humana, det. C. Flores-Mendoza, col. D.C. Lima, 11 machos G, 5 fêmeas Le Pe, 6 fêmeas Le Pe G; Candeias de Jamari – Usina Hidroelétrica de Samuel (8° 55' S e 64° 08'W), maio de 1997, proveniente de desova de fêmeas coletadas em isca humana, det. C. Flores-Mendoza, col. M.T. Marrelli, C. Flores-Mendoza, 11 machos G, 7 fêmeas Le Pe, 4 fêmeas Le Pe G; Acre, Senador Guiomar – Ramal Oco do Mundo (10°09'S e 67°44'W), março de 1998, proveniente de desovas de fêmeas coletadas em isca animal, det. Flores-Mendoza e col. R.S. Santos, 3 machos G, 1 fêmea Le Pe, 2 fêmeas Le Pe G; Sena Madureira – Seringal São Pedro de Icó (9°05'S e 68°45'W), agosto de 1998, proveniente de desova de fêmeas coletadas em isca animal, det. C. Flores-Mendoza, col. R.S. Santos, 2 machos Le Pe G, 2 fêmeas Le Pe G; Espírito Santo, Linhares – Reserva Florestal de Sooretama (19°41'S e 39°59'W), abril de 1996, proveniente de desovas de fêmeas coletadas em isca animal, det. C. Flores-Mendoza, col. C. Flores-Mendoza, C.B. Santos, 2 machos G, 1 fêmeas Le Pe G; PERU Loreto, Yurimaguas - Munichis (05° 53' S e 76° 12' W), janeiro de 1999, proveniente de desova de fêmeas coletadas em isca animal, det. C. Flores-Mendoza, col. C. Flores-Mendoza, R. Fernández, 11 machos G, 5 fêmeas Le Pe, 6 fêmeas Le Pe G.

Distribuição

BRASIL: *An. konderi* já foi coletado por nós e por outros autores (Galvão Damasceno, 1942, Deane et al. 1948, Coutinho 1947) nos seguintes Estados brasileiros: Amazonas, Acre, Rondônia, Espírito Santo, Pará, São Paulo, Mato Grosso, Rio de Janeiro. PERU: Loreto. BOLÍVIA: Alto Linares, Departamento de Cochabamba (Lounibos et al. 1997).

Bionomia

As fêmeas de *An. konderi* são geralmente coletadas fora de casa, pois são mais comuns em área silvestre e na sua periferia, que em áreas muito alteradas pelo homem. Picam essencialmente ao crepúsculo vespertino. Em Coari, o pico de maior atividade

hematofágica de *An. konderi* foi observado das 17:30 às 18:30h, embora a espécie continuasse a praticar hematofagia até 21:00h, assim como no crepúsculo matutino (4:00 às 6:00h). A espécie é mais abundante quando se usa isca animal nas coletas, demonstrando ser zoófila, embora pique o homem. No Brasil, em Coari, nas coletas feitas em curral de vacas, foram pegos 55 anofelinos, dos quais 26 eram *An. konderi*. Em Rondônia, foram coletados 270 anofelinos em isca humana, destes 16 foram *An. konderi*. Na floresta de Samuel, as coletas realizadas em isca humana renderam 182 anofelinos, 40 dos quais eram *An. konderi*. Em Linhares, em coletas feitas em isca animal (cavalo), de 157 anofelinos pegos, apenas um era *An. konderi*. Em, Senador Guiomar, onde realizamos coletas somente com isca humana, 485 anofelinos foram obtidos, porém nenhum era *An. konderi*; quando usamos isca animal (cavalo) no mesmo local, de 110 anofelinos, 3 eram *An. konderi*. Em Sena Madureira, foram realizadas coletas diretamente em isca animal, quando foram pegos 155 anofelinos, sendo 2 *An. konderi*, ao passo que quando foram realizadas coletas em armadilha de Shannon, tendo bezerro como isca, foram pegos 256 anofelinos, dos quais 29 eram *An. konderi*. Em coletas feitas em isca humana no município de Coari (no período de agosto 1997 a julho 1998), nas localidades Igarapé Isidoro, Igarapé da Pêra, Igarapé Bucuará, Itapeua e Monte Sinai, de 6,050 anofelinos pegos nenhum deles era *An. konderi*. No Peru, em Munichis, *An. konderi* correspondeu a 10% dos 1.207 anofelinos pegos na armadilha Shannon (isca cavalo); nenhum foi pego usando-se isca humana.

As larvas de *An. konderi* são geralmente encontradas em poças contendo água de chuva, em braços de rio, ou em igarapés, principalmente em águas ricas em matéria orgânica. Os criadouros que nós encontramos eram sombreados ou parcialmente sombreados. As suas larvas foram por nós encontradas criando-se associadas a *An. nuneztovari*, *An. mediopunctatus* s.l. (Theobald) e *An. mattogrossensis* Lutz & Neiva. Em Coari coletamos 93 larvas de anofelinos em um igarapé que recebia drenagem de esgoto. Desses, 48 eram *An. konderi*, 4 *An. nuneztovari*, 6 *An. mediopunctatus* s.l. e 28 *An. mattogrossensis*. Galvão e Damasceno (1942:132) assim descreveram as condições dos criadouros de *An. konderi*

"O holotipo foi criado a partir de uma larva (...) foco temporário, sem correnteza, com vegetação vertical, detritos, insetos, com água turva, rica em matéria orgânica e parcialmente sombreada. Junto

foram colhidas larvas de *A. goeldii*. Os Paratipos de Coari e de Rio Branco, Acre, foram obtidos de larvas colhidas em focos idênticos, onde se criavam respectivamente larvas de *goeldii*¹ e *rangeli*². O paratipo de Manaus foi criado de larva colhida em remanso de ribeirão ("igarapé"), com vegetação horizontal, vertical, em água turva, sombreada parcialmente e onde também se criavam larvas de *goeldii*"(sic.).

No Estado do Acre, nos seringais do Rio Zinho, foram encontradas larvas de *An. konderi* e *An. puntimacula* (Dyar & Knab) em poças de água barrentas, situadas em caminhos dentro da floresta, portanto sombreadas (Deane et al. 1948).

Importância Médica

Se desconhece o papel de *An. konderi* como vetor natural da malária. A importância epidemiológica da espécie não pôde ainda ser avaliada, essencialmente porque as fêmeas desse anofelino não podiam ser distinguidas das de *An. oswaldoi* pelos caracteres morfológicos. No entanto, infecções experimentais por nós realizadas, com *Plasmodium vivax*, sugeriram que *An. konderi* é menos susceptível que *An. oswaldoi*, já que apenas 3,3% das fêmeas de *An. konderi* desenvolveram oocistos contra 13,8% em *An. oswaldoi* não foram encontrados esporozoítos em suas glândulas salivares (Marrelli et al. 1999a).

Variações intraspecíficas

As análises morfológicas e morfométricas de sete populações mostraram que *An. konderi* é uma espécie polimórfica, já que variações foram observadas dentre indivíduos de uma mesma progênie, de uma mesma população e entre populações (Tabelas 47-51).

De 13 relações entre caracteres analisados nas fêmeas através dos teste de Kruskal-Wallis, 11 não apresentaram diferenças intraespecíficas significativas ($p > 0,05$) (Tabela 47)

intraespecíficas. O Índice palpo/ fêmur anterior apresenta variações significativas intraespecíficas ($p = 0,003$); do mesmo modo a proporção da mancha escura do III tarsômero anterior apresentou variações significativas ($p < 0,001$).

¹ *An. goeldii* Rozeboom & Gabaldon (= *An. nuneztovari*)

² *An. rangeli* Gabaldon, Cova-Garcia & Lopes

Nos machos analisaram-se 7 caracteres (Tabela 48), quatro caracteres não apresentaram diferença estatisticamente significante ($p > 0,05$), mostrando uma homogeneidade entre as populações estudadas (Tabela 49); nas relações do comprimento da cerda CPB/base gonocoxito, as diferenças entre as populações foi significativa ($p = 0,009$); nas relações maior largura do gonocoxito largura medida na base houve heterogeneidade intraespecífica ($p < 0,001$).

Na pupa, analisaram-se 5 caracteres (Tabela 49), mas nenhum deles apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) (Tabela 49) intraespecífica.

Na larva, de sete caracteres e relações entre caracteres analisados, quatro não apresentaram diferença significativa intraespecífica ($p > 0,05$) (Tabela 50). A relação dos comprimentos da papila anal/cerda 4-X apresentou diferença significativa ($p = 0,001$); inserção da cerda 1-X na sela ($p = 0,035$); os tipos de pecten apresentaram diferenças significantes ($p = 0,037$).

Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi (Peryassú 1922)

Cellia oswaldoi Peryassú 1922:179.

Síntipos: machos e fêmeas, Vale do Rio Doce, Estado do Espírito Santo e Baixada Fluminense, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, Museu Nacional do Rio de Janeiro (MNRJ).

Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi Rozeboom & Gabaldon, 1941:99. Komp, 1942: 74. Galvão 1943:156. Ramos, 1943:62. Cova Garcia, 1946: Fig. 2. Causey et al. 1944: 2-5. Causey et al. 1946: 27. Coutinho, 1946: 48. Deane et al. 1946: 12. Deane et al. 1948:874. Floch & Abonnenc 1951: 45. Lane, 1953: 263. Lounibos et al. 1997:147.

Anopheles (Nyssorhynchus) tarsimaculatus var. *aquacaelestis* Curry, 1932:566-571. Tipo: macho, fêmea, Hospital Cólón, lado do Atlântico do Canal de Panamá, Panamá: material considerado perdido (Knight & Stone 1977). Senevet & Abonnenc (1938) (Sinonímia).

Fêmea: Aspecto geral da fêmea semelhante a *An. konderi*. As variações morfométricas são resumidas nas Tabelas 26 a 31 **Cabeça:** Probóscide com comprimento de 1,8 – 2,4 mm (média 2,3 mm); probóscide 1,0 (0,9 – 1,0) do comprimento do palpo. Palpo maxilar com comprimento de 1,7 – 2,4 mm (média 2,2 mm); 1,5 (1,2 – 1,8) ± 0,17 em relação ao fêmur anterior; palpômero I 0,15 – 0,22mm (média 0,19mm); palpômero II 0,4 – 0,6mm (média 0,48mm); palpômero III 0,63 – 0,75mm (0,7mm) quase todo escuro [escamas escuras cobrindo 4,9 (2,1 – 10,3) ±1,20 vezes o correspondente à área clara]; palpômero IV 0,3 – 0,5mm (média 0,4mm) e palpômero V 0,2 – 0,3mm (0,3mm). Antena: comprimento 1,16 – 1.75mm (média 1,35mm). Aspectos do espaço interocular, vertex, occipício, pós-gena e clipeo semelhantes a *An. konderi*. **Cibário:** 15-19 (16) dentes.

Tórax: Escudo: comprimento do escudo 1,5 – 1,9mm (média 1,6mm). Pleura: Mesocatepisterno superior com cerca de 3-4 escamas esbranquiçadas e 3 cerdas bronzeadas. Mesocatepisterno inferior, mesanepímero superior, proepisterno superior e cerdas proepisternal inferiores semelhantes ao descrito para *An. konderi*. **Pernas:** Coxa, trocanter e fêmures semelhantes ao descrito em *An. konderi*; áreas escuras com aspecto negro fosco. Pernas anteriores: fêmur com comprimento de 1,1 – 1,9 mm (média 1,6 mm); tibia 1,6 – 2,2 mm (média 2,0 mm); tarsômeros: I comprimento 1,2 – 1,5 mm (média 1,3 mm); anel fino distal de escamas esbranquiçadas (média 0,05); II comprimento 0,3 – 0,6 mm (média 0,5 mm.), com banda basal de escamas escuras de 0,6 (0,4 – 0,8) ±0,10; III claro, comprimento 0,3 – 0,6mm (média 0,4mm), mancha basal de escamas escuras

ocupando apenas de 0,1 – 0,4 (0,2) \pm 0,07; IV todo escuro, com raras escamas claras apicais, comprimento 0,16 – 0,3mm (média 0,2mm); V comprimento 0,15 – 0,19mm (média 0,17 mm), com anel basal de escamas escuras (0,48 do segmento). Pernas medianas: fêmur 1,3 – 1,8mm (média 1,7mm); tíbia 1,7 – 2,1 mm (média 1,8 mm), com finos espinhos ao longo do segmento; tarsômeros: I escuro, 1,25 - 1,66 mm (média 1,42 mm), com ápice de escamas claras (0,04); II comprimento 0,5 – 1,3 mm (média 0,7 mm), escuro em 0,9 (0,8 – 1,0) \pm 0,06 do tarsômero; III comprimento 0,2 – 0,7 mm (média 0,5 mm), quase todo escuro (0,9 [0,8 – 1,0] \pm 0,04), com raras escamas esbranquiçadas distais; IV escuro, comprimento 1,6 - 3,4 mm (média 2,6 mm), com raras escamas esbranquiçadas apicalmente; V claro, comprimento 0,18 – 0,24 mm (média 0,21 mm), com banda basal de escamas escuras (0,5). Pernas posteriores: fêmur escuro, 1,3 – 2,1mm (média 1,7mm); tíbia 1,6 – 2,4mm (média 1,9mm); tarsômeros: I escuro, comprimento 0,21 - 0,3mm (média 0,25mm), com estreito anel distal de escamas esbranquiçadas; II comprimento 0,3 – 0,6mm (média 0,5mm), anel basal de escamas escuras 0,11 (0,08 – 0,16) \pm 0,026 do comprimento do tarsômero; III branco, comprimento 0,38 – 0,66mm (média 0,56mm); IV branco, comprimento 0,34 – 0,53 mm (média 0,4 mm); tarsômero V branco, comprimento 0,18 0,35mm (média 0,26mm), com anel basal de escamas escuras (0,47). *Asa*: comprimento da asa 3,0 – 3,8mm (média 3,4mm) \pm 0,22. *Veia costa*: mancha umeral branca 4,5(1,3 - 10) \pm 2,70 vezes a pré umeral escura; 60,0% (\pm 0,5) dos indivíduos apresenta a sectorial escura dividida; subcosta 0,3 (0,03 – 0,5) \pm 0,10 da sectorial escura; pré apical clara 0,4 (0,2 – 1,0) \pm 0,20 da pré apical escura; apical escura 0,3(0,2 – 0,6) \pm 0,10 da pré apical clara. *Veia R₁*: 4,5 manchas escuras; *R_{8+R2+3}* com 1-4 manchas escuras, freqüentemente com 3 manchas (41,4%); *Veias R₂, R₃, R₄₊₅, M₁₊₂, M₁, M₂, M₃₊₄, Cu A, 1A e Cup* semelhantes a *An. konderi*. Observaram-se quatro tipos de ovos (Fig. 12), sendo mais frequente os tipos 1 e 2. *Halter*: medindo 0,36mm; escabelo, pedicelo e capitelo semelhantes a *An. konderi*. *Abdômen*: tergitos e esternitos semelhantes a *An. konderi*. Esternito VIII ligeiramente mais curto que largo 0,8 (0,3 – 1,0); esternito IX com relação comprimento/largura de 0,6 (0,1 – 1,2). *Genitália feminina*: as cerdas do lobo genital semelhantes a *An. konderi*; comprimento [6,7 (5,6 – 8,0)] do espaço entre elas; comprimento das cerdas ligeiramente menor que o da cerca 0,6 – 0,9 (0,8).

Macho: (Tabelas 27 e 28; figuras 10 e 13) aspecto externo em geral semelhante a *An. konderi*. Cabeça: Antena 1,6 mm. Probóscida 2,0 – 2,5 (média 2,02 mm); palpo maxilar 2,2

– 2,36 mm (2,27 mm), 0,9 – 1,1 (1,03) o comprimento da probóscida. *Perna posterior*: mancha do tarsômero II com anel basal 0,07 – 0,17 (0,12) \pm 0,028 do segmento. *Asa*: medindo de 2,8 – 3,9mm (3,3 mm) \pm 0,26. Halter: 0,25mm. *Abdome*: Esternito VIII moderadamente mais curto que largo [0,6 – 1,1 (0,8) \pm 1,5]. *Genitália*: lobos do esternito IX, tão longos quanto largos, comprimento 0,62mm (0,5 – 0,8mm). Cerda parabasal 0,8 (0,5 – 1,2) \pm 0,14 da largura do gonocoxito. Gonocoxito 3,2 (2,3 – 4,7) \pm 0,55 a largura da sua base; a maior largura do gonocoxito 1,5 (1,2 – 2,1) 0,23 da largura da sua base. Claspete: Lobo ventral e dorsal semelhantes a *An. konderi*. Edeago 1,2 (1,0 – 1,6) \pm 1,23 do comprimento do claspete, ápice ovalado e fortemente quitinizado; comprimento do ápice do edeago 1,2 (0,8 – 2,1) da sua largura.

Pupa: Aspecto geral da pupa e número de ramificações das cerdas são semelhantes a *An. konderi* (Tabela 33,34). Na tabela 38 acham-se reunidos os dados referentes à variação do número de ramos das cerdas de pupa de todas as populações examinadas (Tabelas 33 a 37). Trompa de comprimento 0,52 – 0,77 mm (0,59 mm); índice da trompa 2,5 (1,9 – 3,4) \pm 0,06; meato 0,3 (0,2 – 0,4) \pm 1,36 o comprimento da trompa; pina de comprimento 0,1 – 0,27 mm (média 0,19 mm), traqueóide 0,5 (0,3 – 0,5) \pm 0,75 do comprimento da trompa. *Abdome*: tergitos e esternitos de tegumento nu; cerda 1-IV fortemente quitinizada, de comprimento 0,35 – 0,55 mm (média 0,45 mm); o comprimento da cerda 1-IV é moderadamente maior (1,3 – 2,5 [1,5] \pm 0,07) que o comprimento do tergito V. Comprimento do tergito V 0,25 – 0,4mm (média 0,31mm). Índice da paleta 1,3 – 1,9 (1,4) \pm 0,24 (Tabela 39).

Larva: Aspecto geral da larva e número de ramificações das cerdas semelhantes a *An. konderi* (Tabelas 40 a 45). Na tabela 46 acham-se reunidos os dados referentes à variação do número de ramos das cerdas das larvas de todas as populações examinadas. *Cabeça*: Antena: comprimento 0,93 – 1,15 mm (média 1,03 mm), compreendendo de 2,2 a 7,1 (4,8) \pm 0,23 vezes o espaço entre o ponto de inserção de 1-A até e a base da antena; cerda 1-A localizada a 0,14 – 0,45 mm (média 0,22 mm) da base da antena; apresenta 4 – 7 (5,6) ramos 0,6 – 1,6 (0,9) vezes a largura da antena (ao nível da inserção de 1-A); cerda 4-A bifurcada. Índice clipeal 1,0 – 2,1 (1,5) \pm 1,19; espaço entre as cerdas 2-C 0,08 – 0,18 mm (média 0,13 mm), ligeiramente menor que entre as 3-C 0,16 – 0,22 mm (média 0,19 mm); cerdas 2-C e 3-C de comprimento quase igual, com ramificações dicotômicas longas.

Ventramento de tegumento claro, com 3-4 dentes a cada lado e dois centrais. Dorsomento de tegumento escuro fortemente quitinizado com 4-5 dentes laterais e um central, todos bem desenvolvidos. *Tórax*: cerda 1-P de aspecto palmado, 1,2,3-P implantadas separadamente. *Abdome*: 1-X geralmente implantado fora da sela (67,9%). Papila anal de comprimento 0,27 - 0,85 mm (média 0,47 mm); 0,6 - 1,6 (1,0) \pm 0,49 do comprimento da cerda 4-X. Aparato espiracular: relação de EAP 1,0 - 1,9 (1,2) vezes o espaço entre os espiráculos. Pécten geralmente apresenta o tipo I (63,0%) (\pm 0,83); o total de espículos varia de 12 - 21 (16) \pm 3,45 (Tabela 46).

Ovo: (Tabela 51 e Figura 11) Foram analisadas ovos apenas da população de Sena Madureira (N = 8). O aspecto geral dos ovos é semelhante a *An. konderi*. Observou-se também um tipo de ovo com os flutuadores um pouco mais afastados, deixando visualizar melhor o convés (Figura 11, Tabela 51). Comprimento do ovo 410 - 430 μ m (média 420 μ m), largura 120 - 140 μ m (média 130 μ m); comprimento 3,3 (3,1 - 3,4) vezes a largura. *Superfícies lateral e dorsal*: flutuadores localizados a cada lado do ovo curvos, ocupando 1/3 da superfície dorsal; unem-se por gomos estreitos na porção posterior; número de gomos 31 e 34 (32); comprimento do flutuador é 0,88 (0,88 - 0,9) do comprimento do ovo. *Superfície ventral*: *Aparelho micropilar*: diâmetro de 12,5 - 16 μ m (14,3 μ m); colar: largura 2,5 - 4,0 μ m (3,3 μ m), borda irregular unida ao disco da micrópila por estruturas filiformes, que variam em número de 7 ou 8. *Disco da micrópila*: diâmetro 4,8 - 6,2 μ m (4,9 μ m); tegumento de aspecto rugoso.

Tabela 26. Variação da relação entre as medidas de alguns caracteres da fêmea de *An. oswaldoi* s.s. de quatro populações brasileiras e uma venezuelana.

Populações	Número de fêmeas	Comp da proboscide/ comp. palpo	Com. Palpo/ Comp. Fêmur I	Comp. Palpo III/ comp. banda branca	Perna anterior		Perna media	
					Comprimento total/ mancha escura		Comprimento total/ mancha escura	
					Tarso II	Tarso III	Tarso II	Tarso III
Brasil								
Linhares (ES)	03	0,9-1,0 (0,9)	1,4 (1,4)	4,4-10,3 (6,6)	0,4-0,7 (0,6)	0,1-0,2 (0,1)	0,9-1,0 (0,9)	0,8-1,0 (0,9)
Peixoto de Azevedo (MT)	12	1,0 (1,0)	1,2-1,6 (1,4)	2,1-6,3 (4,3)	0,4-0,8 (0,6)	0,1-0,3 (0,2)	0,8-1,0 (0,9)	0,9-1,0 (0,9)
Senador Guiomar (AC)	04	1,0 (1,0)	1,3-1,7 (1,6)	4,1-5,4 (4,9)	0,7 (0,7)	0,2-0,4 (0,3)	0,9 (0,9)	0,9 (0,9)
Sena Madureira (AC)	03	1,0 (1,0)	1,4-1,8 (1,6)	2,4-4,2 (3,3)	0,6-0,7 (0,7)	0,2-0,3 (0,2)	0,8-0,9 (0,8)	0,9 (0,9)
Venezuela								
Ocamo	08	1,0 (1,0)	1,2-1,6 (1,4)	4,0-7,7 (5,5)	0,5-0,8 (0,6)	0,2-0,3 (0,3)	0,9-1,0 (1,0)	0,9-1,0 (0,9)
Total	30	0,9-1,0 (1,0)	1,2-1,8 (1,5)	2,1-10,3 (4,9)	0,4-0,8 (0,6)	0,1-0,4 (0,2)	0,8-1,0 (0,9)	0,8-1,0 (0,9)
Desvio Padrão	30		0,17	1,20	0,10	0,07	0,06	0,04

Tabela 27. Variação da porção negra do segundo tarso posterior das fêmeas e machos de *An. Oswaldoi* s.s., de quatro populações brasileiras e uma venezuelana.

Populações	Variação de negro do segundo tarso posterior									
	Número		Média		Valores mínimo e máximo		Desvio padrão			
	F	M	F	M	F	M	F	M		
Brasil										
Linhares (ES)	03	02	0,10	0,10	0,08 - 0,12	0,09 - 0,1	± 0,021	± 0,070		
Peixoto de Azevedo (MT)	12	08	0,12	0,13	0,08 - 0,16	0,07 - 0,17	± 0,028	± 0,042		
Senador Guiomar (AC)	04	04	0,11	0,14	0,08 - 0,13	0,13 - 0,15	± 0,021	± 0,012		
Sena Madureira (AC)	03	03	0,12	0,12	0,10 - 0,16	0,12 - 0,13	± 0,032	± 0,091		
Venezuela										
Ocamo	08	05	0,11	0,12	0,07 - 0,13	0,09 - 0,14	± 0,026	± 0,019		
Total		22	0,11	0,12	0,08 - 0,16	0,07 - 0,17	± 0,026	± 0,028		

F= fêmea

M= macho

Tabela 28. Variações do tamanho das asas das fêmeas e machos de *An. Oswaldoi* s.s., em quatro populações brasileiras e uma venezuelana

Populações	Número		Média		Valores mínimos e máximos		Desvio padrão	
	F	M	F	M	F	M	F	M
Brasil								
Linhares (ES)	03	03	3,8	3,6	3,7 - 3,8	3,2 - 3,9	± 0,05	± 0,361
Peixoto de Azevedo (MT)	12	08	3,5	3,5	3,3 - 3,8	3,4 - 3,7	± 0,184	± 0,115
Senador Guiomar (AC)	04	04	3,3	3,3	3,0 - 3,4	3,2 - 3,4	± 0,186	± 0,086
Sena Madureira (AC)	03	03	3,3	3,3	3,2 - 3,5	3,3 - 3,4	± 0,142	± 0,06
Venezuela								
Ocamo	08	05	3,4	3,04	3,1 - 3,7	2,8 - 3,2	± 0,210	± 0,181
Total	30	23	3,4	3,3	3,0 - 3,8	2,8 - 3,9	± 0,22	± 0,256

F= fêmea

M= macho

Tabela 29. Valores da relação das manchas da veia costa de exemplares fêmeas de *An. oswaldoi* s.s., de quatro populações brasileiras e uma população Venezuelana.

Populações	Número de exemplares	UB/PUE	SC/SE	PB/PE	AE/PB	% SE dividida (Número)
Brasil						
Linhares (ES)	03	2,5 - 3,1 (3,0)	0,2 - 0,3 (0,3)	0,3 - 0,4 (0,3)	0,3 - 0,3 (0,3)	66,7 (02)
Peixoto de Azevedo (MT)	12	2,0 - 10 (5,3)	0,03 - 0,5 (0,3)	0,2 - 0,6 (0,3)	0,2 - 0,6 (0,4)	33,3 (04)
Senador Guiomar (AC)	04	2,4 - 10 (5,3)	0,2 - 0,4 (0,3)	0,3 - 0,4 (4,0)	0,2 - 0,3 (0,3)	75,0 (03)
Sena Madureira (AC)	03	3,0 - 10 (6)	0,3 - 0,5 (0,4)	0,3 - 0,4 (0,3)	0,3 - 0,5 (0,4)	100 (03)
Venezuela						
Ocamo	08	1,3 - 6,3 (2,7)	0,2 - 0,4 (0,3)	0,3 - 1,0 (0,5)	0,2 - 0,5 (0,3)	75,0 (06)
Total	30	1,3 - 10 (4,5)	0,03 - 0,5 (0,3)	0,2 - 1,0 (0,4)	0,2 - 0,6 (0,3)	60,0 (18)
Desvio Padrão	30	2,70	0,10	0,20	0,10	0,50

UB = umeral branca PUE= pré-umeral escura SB= Subcosta PB = pré-apical branca
 PE = pré-apical escura AE = apical escura SE = setorial escura

Tabela 30. Número de manchas das veias das asas de fêmeas de *An. oswaldoi* s.s. de quatro populações brasileiras e uma população da Venezuela.

Populações	Número De fêmeas	VEIAS																						
		R ₁	R ₂	R ₃	M ₁₊₂	M ₁	M ₂	CuA	M ₃₊₄	CuP														
Brasil		4	5	1	2	3	4	1	2	3	1	2	3	1	2	1	3	1						
Linhares (ES)	02	1	1	-	-	2	-	2	-	-	2	-	1	1	1	1	2	2						
Peixoto de Azevedo (MT)	12	5	7	6	2	3	1	-	10	2	4	5	3	6	4	-	2	1	10	1	9	3	12	12
Senador Guiomar (AC)	04	3	1	-	3	1	-	1	3	-	1	3	-	1	2	1	-	-	4	-	4	-	4	4
Sena Madureira (AC)	03	-	3	1	-	2	-	-	3	-	2	1	-	2	1	-	-	3	-	3	-	3	-	3
Venezuela																								
Ocamo	08	4	4	-	3	4	1	-	7	1	-	7	1	-	5	2	1	2	6	-	6	2	8	8
Total	29	13	16	7	8	12	2	3	23	3	7	17	5	9	13	4	3	4	24	1	23	6	29	29
Percentual	100	44,8	55,2	24,1	27,7	41,4	6,9	10,3	79,3	10,7	24,1	58,6	17,2	31,1	44,8	13,8	10,3	13,8	82,4	3,4	79,3	20,7	100	100

O padrão das veias R₄₊₅ e 1 A, é constante, apresentando uma mancha negra perto de cada extremidade (distal e proximal). qn = apresenta apenas uma mancha que ocupa mais de 70% da veia

Tabela 31. Variação e relação entre as medidas de alguns caracteres da genitália feminina e cibário da fêmea de *An. oswaldoi* s. s., de quatro populações brasileiras e uma venezuelana.

Populações	Número De Fêmeas	VIII esternito Comp./larg.	IX esternito Comp./larg.	Comp.cerda/ Espaço das cerdas	Comp.cerda/ Comp. cerca	Número dentes do cibário
Brasil						
Linhares	01	0,8 (0,8)	0,3 (0,3)	5,6 (5,6)	0,6 (0,6)	16 (16)
Peixoto de Azevedo (MT)	04	0,9 - 1,0 (0,9)	0,5 - 0,6 (0,5)	6,4 - 8,0 (7,1)	0,6 - 0,7 (0,7)	17 - 19 (17)
Senador Guiomar (AC)	02	0,3 - 0,5 (0,4)	0,9 - 1,2 (1,1)	7,2 - 7,8 (7,5)	0,8 (0,8)	15 - 17 (16)
Sena Madureira (AC)	02	0,7 - 0,9 (0,8)	0,6 - 0,8 (0,7)	5,8 - 6,5 (6,2)	0,7 - 0,9 (0,8)	17 - 18 (17)
Venezuela						
Ocamo	02	0,8 - 1,0 (0,9)	0,1 - 0,3 (0,2)	6,3 - 7,6 (7,0)	0,8 (0,8)	17 - 19 (18)
Total	22	0,3 - 1,0 (0,8)	0,1 - 1,2 (0,6)	5,6 - 8,0 (6,7)	0,6 - 0,9 (0,7)	15 - 19 (16)



Figura: 10. Genitália masculina de *Anopheles oswaldoi* s.s. Peryassú 1922.
(A) edeago, (B) lobo ventral do clapete.

Tabela 32. Variação da relação entre as medidas de alguns escleritos da genitália masculina de *An. Oswaldoi* s.s., de quatro populações brasileiras e uma venezuelana.

Populações	Número de Machos	Comp. eadego/comp claspete	Comp. CPB/ Larg. base Gonocoxito.	Apice eadego		VIII esternito		Gonocoxito	
				Comp./larg.	Comp./Larg.	Comp./Larg. Base	Larg. Maior/ Larg. Base		
Brasil									
Linhares (ES)	02	1,1-1,2 (1,2)	0,6-0,7 (0,7)	0,9-1,3 (1,1)	0,9 (0,9)	2,4-3,2 (2,8)	1,2-1,3 (1,3)		
Peixoto de Azevedo (MT)	08	1,3-1,6 (1,4)	0,5-0,9 (0,8)	1,0-1,5 (1,2)	0,6-0,9 (0,7)	2,5-4,0 (3,1)	1,2-1,6 (1,4)		
Senador Guiomar (AC)	04	1,1-1,4 (1,2)	0,7-0,9 (0,8)	1,0-2,1 (1,4)	0,8 (0,8)	3,2-3,9 (3,5)	1,4-1,8 (1,6)		
Sena Madureira (AC)	03	1,3-1,4 (1,3)	0,7-0,8 (0,7)	1,1-1,7 (1,4)	1,0-1,1 (1,1)	2,8-3,6 (3,2)	1,2-1,7 (1,4)		
Venezuela									
Ocamo	05	1,0-1,2 (1,1)	0,7-1,2 (0,9)	0,8-1,1 (1,0)	0,6-1,0 (0,7)	2,3-4,7 (3,5)	1,2-2,0 (1,6)		
Total	22	1,0-1,6 (1,2)	0,5-1,2 (0,8)	0,8-2,1 (1,2)	0,6-1,1 (0,8)	2,3-4,7 (3,2)	1,2-2,0 (1,5)		
Desvio Padrão		1,23	0,14		1,5	0,55	0,23		

CPB= cerda parabasal

Tabela 33. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas das pupas de *An. oswaldoi* s.s., da população de Linhares, Espírito Santo.

Cerdeira	Cefalotórax	Metanoto	Abdome											Paleta
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX			
0	-	-	-	2,4	6	5	4	4	4	4	4	1	-	
1	1	-	d	4,7	5	1	1	1	1	1	1	1	1	
2	1,2	-	5	5,6	4	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1	
3	2,3	-	1	1	1	3,4	2,3	2	2	3	3	-	-	
4	1,2	-	4,5	4	1,3	1,2	1,2	2	2	1,2	1,2	3,4	-	
5	1,2	-	1,2	4,5	5,7	3,4	1	1	1	1	1	-	-	
6	1,2	-	1	1,2	1,2	1	1,2	1,2	1,2	1,2	1	-	-	
7	2	-	1,2	1,2	2,3	2,4	2	2	1,2	1,2	1	-	-	
8	1	-	-	-	2	1	1	1	1,2	3	3	-	-	
9	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	
10	-	1	-	-	1	1	1	1	1	2	2	-	-	
11	-	4,5	-	-	1	1	1	1	1,2	1	1	-	-	
12	-	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	

d = dendrítica

Tabela 34. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da pupa de *An. oswaldoi* s.s., da população de Peixoto de Azevedo, Mato Grosso.

Cerdeira	Cefalotórax	Metanoto	Abdome										
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Paleta		
0	-	-	-	4,5 (4)	4-7 (5)	3-5 (5)	3-5 (4)	3-6 (4,5)	3-5 (4)	1,2 (1)	-	-	
1	1-3 (1,2)	-	d	6-9 (9)	4-9 (6)	1	1	1	1	1	1	1	
2	2	-	4-6 (5)	4-8 (7)	4-6 (5,6)	1-3 (2)	1-3 (1)	1-3 (1,2)	1,2 (1)	-	1,2 (2)	-	
3	2,3 (3)	-	1	1	1	2-5 (3,4)	2,3 (3)	1-3 (1)	1,3,4 (3)	-	-	-	
4	2	-	3-6 (4)	3,4	1-3 (2)	1,2 (2)	2-4 (2)	1,2 (2)	1-3 (2)	3,4 (3)	-	-	
5	1-3 (1)	-	1-3 (2)	1,4,5 (5)	4-7 (5)	2-5 (3)	1,2 (1)	1	1	-	-	-	
6	1,2	-	1,2 (1)	1-3 (1)	1,2 (1)	1	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	-	-	-	
7	2-4 (3)	-	2-4 (3)	2-4 (3)	1,2 (2)	1-3 (2)	1,2 (2)	1,2 (1)	1	-	-	-	
8	1	-	-	-	1-3 (2,3)	2,3 (3)	2,3 (2)	2,3 (3)	2-5 (3)	-	-	-	
9	1-3 (2)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	
10	-	1	-	-	2,3 (3)	1	1	-	1-3 (2)	-	-	-	
11	-	3-5 (4)	-	-	1-3 (1)	1	1,3 (1)	1	1,2 (1,2)	-	-	-	
12	-	1-3 (1,2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	

d = dendrítica

Tabela 35. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da pupa de *An. oswaldoi* s.s., da população de Senador Guiomar, Acre.

Cerdá	Cefalotórax	Metanoto	Abdome									
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Paleta	
0	-	-	-	4,5	6	4,5	4-6	4-6 (6)	3-5 (5)	1,2 (1)	-	
1	2	-	d	7-9 (7)	4,5,8 (8)	1	1	1	1	1	1	
2	2,3	-	3-5 (4)	6-8 (6)	5,6 (6)	1-3 (1)	1,2	1-3 (3)	1-3 (2,3)	-	1,2 (2)	
3	2,3 (3)	-	1,2 (1)	1	1	2,4,5 (4)	2,3,5 (2,3)	1-3 (1)	3,4 (4)	-	-	
4	1-3 (2)	-	4,5 (4)	2,4,5 (4)	2,4 (2)	2,3 (2)	2,3 (2)	1,2 (2)	1,2 (2)	3	-	
5	1-3 (2)	-	1-3	3-6	4-6 (6)	3,5 (3)	1,2 (1)	1	1	-	-	
6	1,2 (1)	-	1,2 (1)	1,2	1,2	1	1,2 (1)	1,2 (1)	2	-	-	
7	2,3 (2)	-	2,3	2,3 (2)	1,2 (2)	2,4 (2)	2,3 (2)	1,2 (1)	1,2 (1)	-	-	
8	1	-	-	-	2,3 (3)	2-4 (2)	2-4 (3)	1-3 (2,3)	3,4 (4)	-	-	
9	1,2	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	
10	-	1	-	-	1-3	1	1	-	1-3	-	-	
11	-	2-5	-	-	1,2	1	1	1	1,2 (2)	-	-	
12	-	1-3 (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	

d = dendrítica

Tabela 36. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da pupa de *An. oswaldoi* s.s., da população de Sena Madureira, Acre.

Cerde	Cefalotórax	Metanoto	Abdome									
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Paleta	
0	-	-	-	4,6 (6)	4-6	3-5	4,5 (5)	4	3,5 (5)	1	-	
1	1,2 (1)	-	d	8,9 (8)	4,5,7	1	1	1	1	1	1	
2	1-3	-	3,4,6	4,5,9	1,5,7	1,2 (2)	1,2 (1)	2	1,2,5	-	1	
3	2,3 (3)	-	1	1,2,5	1,2,5	4	2	1,2 (1)	2,3 (3)	-	-	
4	3	-	3,4,7	2,3 (3)	3	2,5 (2)	2,3 (2)	1,2 (2)	1,3	3,4 (3)	-	
5	2	-	2,3 (2)	4,5,7	3,5 (5)	3,4 (3)	1	1	1	-	-	
6	2	-	1,2 (2)	1,2 (2)	1,2 (1)	1,2 (1)	1	1	1	-	-	
7	2-4	-	2,3 (2)	3,4 (3)	2,3 (2)	2-4	1,3 (3)	1	1	-	-	
8	1	-	-	-	3	2,3 (3)	2	1,2 (2)	3,4 (3)	-	-	
9	2	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	
10	-	1,2 (1)	-	-	2,3 (2)	1	1	-	1	-	-	
11	-	4,5 (5)	-	-	1,2 (1)	1,2 (1)	1	1	1	-	-	
12	-	1,2 (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	

d = dendrítica

Tabela 37. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da pupa de *An. oswaldoi* s.s., da população de Ocamo, Venezuela.

Cerdeira	Cefalotórax	Metanoto	Abdome										Paleta
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII			
0	-	-	-	3,4,6 (4)	4-6 (6)	3-5 (4)	4,5 (4)	3-5 (4)	3,4	1,2 (1)	-		
1	2	-	d	6-10 (7)	1-8 (6,8)	1	1	1	1	1	1		
2	1-3 (2)	-	4-7 (5,6)	5-7,10(7)	5,6 (5)	1-4 (1,2)	1-3 (2)	1,2 (2)	1	-	1,2 (2)		
3	2,3	-	1	1	1,3 (1)	1-4 (4)	3,4 (3)	1-3 (2,3)	3,4 (3)	-	-		
4	1-3 (3)	-	3-6 (4,5)	4,5 (4)	2-5 (3-5)	2-5 (3)	3,4 (3)	2,3	1,2	3,4 (3)	-		
5	2,3,5 (2)	-	2,3 (2)	3-6 (4,5)	4-7 (4)	1-3 (3)	1,3 (1)	1	1	-	-		
6	1-3 (1)	-	1-3 (1)	1,2 (2)	1-3 (1)	1,2 (1)	1,2	1,2 (1)	2	-	-		
7	2,3 (2)	-	1-3 (3)	2,4 (4)	2-6 (3)	3-5	1-5 (3)	1,2 (1)	1	-	-		
8	1	-	-	-	3-5	3,4 (3)	2,3 (3)	2-4 (2)	2-4 (4)	-	-		
9	1-3 (2)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-		
10	-	1,2 (1)	-	-	1-4 (1,3)	1	1,2 (1)	-	1,2	-	-		
11	-	2-5 (3)	-	-	1-3 (1)	1	1,2	1,2 (1)	1,2 (2)	-	-		
12	-	1-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-		

d = dendrítica

Tabela 38. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da pupa de *An. oswaldoi* s.s., das populações de Linhares (ES), Peixoto de Azevedo (MT), Senador Guiomar e Sena Madureira (AC), Ocamo (VEN).

Cerdeira	Cefalotórax	Metanoto	Abdome					VIII	Paleta		
			I	II	III	IV	V			VI	VII
0	-	-	-	2-6 (4)	4-7 (6)	3-5 (5)	3-6 (4)	3-6 (4)	3-5 (4,5)	1,2 (1)	-
1	1-3 (1,2)	-	d	4-10 (7)	1,4-9 (5,6)	1	1	1	1	1	1
2	1-3 (2)	-	3-7 (5)	4-10 (7)	1,4-7 (5)	1-4 (2)	1-3 (1,2)	1-3 (2)	1-5 (1)	-	1,2 (2)
3	2,3 (3)	-	1,2 (1)	1	1-5 (1)	1-5 (3,4)	2-5 (3)	1-3 (1,2)	1-4 (3)	-	-
4	1-3 (2,3)	-	3-7 (4)	2-5 (4)	1-5 (2,3)	1-5 (2)	1-4 (2)	1-3 (2)	1-3 (1,2)	-	-
5	1-5 (2)	-	1-3 (2)	1-7 (4,5)	3-7 (5)	2-5 (3)	1-3 (1)	1	1	-	-
6	1-3 (1,2)	-	1-3 (1)	1-3 (1,2)	1-3 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2 (1)	1,2	-	-
7	2-4 (2)	-	1-4 (3)	1-4 (3,4)	1-6 (2)	1-5 (2)	1-5 (2,3)	1,2 (1)	1,2 (1)	-	-
8	1	-	-	-	1-5 (2,3)	1-4 (3)	1-4 (2,3)	1-4 (2,3)	2-5 (3,4)	-	-
9	1-3 (2)	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-
10	-	1,2 (1)	-	-	1-4 (3)	1	1,2 (1)	-	1-3 (2)	-	-
11	-	2-5 (4,5)	-	-	1-3 (1)	1,2 (1)	1-3 (1)	1,2 (1)	1,2	-	-
12	-	1-3 (1,2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-

d = dendrítica

Tabela 39. Variação da relação entre as medidas de alguns caracteres da pupa de *An. oswaldoi* s.s. de quatro populações brasileiras e uma população venezuelana.

Populações	Número	Pupa							
		Cefalotórax		Abdome cerda I/IV tergito	Índice paleta	Índice meato			
		Índice meato	Índice. trompa				Comp. traqueóide./ comp. trompa		
Brasil									
Linhares (ES)	02	0,2 - 0,3 (0,3)	2,4 - 2,6 (2,5)	0,4 - 0,5 (0,5)	1,4 - 1,7 (1,6)	1,3 - 1,4 (1,4)			
Peixoto de Azevedo (MT)	09	0,2 - 0,4 (0,3)	1,9 - 2,4 (2,2)	0,3 - 0,5 (0,4)	1,4 - 2,5 (1,7)	1,3 - 1,5 (1,4)			
Senador Guiomar (AC)	04	0,3 - 0,4 (0,3)	1,9 - 2,3 (2,1)	0,4 - 0,5 (0,5)	1,3 - 1,6 (1,5)	1,4 - 1,6 (1,5)			
Sena Madureira (AC)	03	0,2 - 0,3 (0,3)	2,9 - 3,4 (3,1)	0,3 - 0,4 (0,4)	1,3 - 1,4 (1,3)	1,4 (1,4)			
Venezuela									
Ocamo	07	0,2 - 0,3 (0,2)	2,0 - 3,1 (2,4)	0,4 - 0,53 (0,5)	1,4 - 1,8 (1,6)	1,3 - 1,9 (1,5)			
Total	25	0,2 - 0,4 (0,3)	1,9 - 3,4 (2,5)	0,3 - 0,5 (0,5)	1,3 - 2,5 (1,5)	1,3 - 1,9 (1,4)			
Desvio Padrão		0,12	0,06	0,40	0,06	0,24			

Índice meato = comprimento do meato/comprimento da trompa Índice paleta = comprimento da paleta/menor largura
Índice da trompa = comprimento/menor largura da pina

Tabela 40. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. oswaldoi* s.s., da população de Linhares, Espírito Santo.

cerda	Cabeça	Antera	Tórax						Abdome										
			P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Espiráculo	X				
0
1	1	45	12,14	19,22	1	10,18	3,4	20	45	5	46	3,6	3,4	23	20	9,19	1	5	1
2	3,6	1	11,15	1	1	23,2	1,5	4	20,25	1	2,23	45	2	2	45	46	68	5	p
3	5,7	1	1	1	12,15	1	1	1	4	3,4	1,3	1	1	2	1	2	59	-	p
4	2	2	11,16	2,3	3	3,5	3,4	3	3	1,3	1,4	2,3	1	1	1	1	1	-	p
5	15,17	-	30,35	1	24,33	3,5	5,6	5,7	5,7	5,7	3,5	4,6	4,6	4,6	4,6	4,6	5	-	-
6	14,15	-	1	24	23	23,28	24,34	24,26	24,26	1	1	1	1	4,5	1	4,5	-	1	-
6mx	3,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	16,22	-	27,28	3,5	28,30	22,29	25	3	3	3	2,3	3	3	3	3	3	-	1	-
8	4,5	-	26,27	17,20	25,32	-	3	3	3	2,3	3	2,3	3	3,4	2,3	3,4	-	2,3	-
9	4,5	-	1	1	1	2,3	5	7,8	5	5	4,5	6,9	4,5	4,5	6,9	4,5	-	2	-
10	2,3	-	1	1	1	1	2,4	1	1	1	1	1,3	2,8	2,8	2,8	2,8	-	1	-
11	30,40	-	1,2	1	1	3	1	2,3	2,3	2	2	2,3	2	2	2,3	2	-	1	-
12	4	-	1	1	2	2	1	2	2	2,3	2,3	1	1	1	1	1	-	1	-
13	4,5	-	4,5	4,6	2	2,5	6,9	7	7	5,8	5,6	7,9	3,4	3,4	3,4	3,4	-	1	-
14	2,3	-	6,8	8	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-
15	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

p = plumosa

Tabela 41. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. oswaldoi* s.s., da população de Peixoto de Azevedo, Mato Grosso.

Cerdã	Cabeça	Antena	Tórax				Abdomen												
			P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Espiráculo	X				
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	1	47(6)	10-18(12)	24-33(25-27)	1	1	8-18(15,17)	5-8(7)	21-31(24)	47(6)	4-6(5,6)	4-6(4)	2-5(3,4)	3-5(3,4)	2-4(3)	2-4(3)	1	1	-
2	41-1(45,89)	1	11-22(16,18)	1	1	3-6(4)	21-31(24)	1-4-8(4)	1-4-6(6)	1	22-28(26)	22-28(26)	25-29(23)	17-22(20-19)	1	2-4(3)	1	57(6)	1
3	3-6-11(8)	1	1	1	7-16(8-12)	1	1	1	1-4-6(6)	1	1-3(2,3)	1-3(2,3)	4-6(4,5)	47(4)	2-4(3)	3-10(8,9)	3-4(3)	-	-
4	2-6(4)	2-4(2)	14-27(38-14)	3-6(4)	3-6(3-5)	4-6(4)	3-8(4)	3-8(4)	2-5(4)	2-4(3)	2-4(3)	2-3(2)	1	1	1	1	1	-	-
5	12-20(12,14,17)	-	20-40(22,28)	1-2(1)	27-38(33)	3-5(4)	47-10(5)	6-9(6,8)	3-5(4)	3-5(4)	3-5(4)	3-8(3,4,6)	5-8(5)	4-8(8)	4-8(8)	47-10(5)	-	-	-
6	14-19(15)	-	1-4(2)	1-4(2)	2-4(2)	2-3(8)	2-3(8)	21-34(23)	21-34(23)	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-
6m	3-6(6)	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-
7	16-25(30,17)	-	22-40(30)	2-4(3)	25-37(27,32,37)	2-6(3)	2-6(3)	2-6(3)	2-6(3)	-	2-4(2,3)	2-4(2)	2-3(3)	4-6(4)	-	-	-	-	-
8	3-6(8,4,6)	-	20-26-31(28)	22-30(27)	22-31-38(31)	3-4(3)	3-4(3)	3-4(3)	3-4(3)	3-5(3)	3-5(3)	3	2-3(2)	2-4(4)	-	-	-	-	-
9	3-9(6)	-	1	1	1	2-5(4,5)	5-8,10(6)	47-10(8)	47-10(8)	5-13(5)	4-8(5)	4-8(5)	4-9(5,8)	3-9(4)	-	-	-	-	-
10	2-5(2-4)	-	1	1	1	1	1-4(3)	1	1	1	1	1	2-4(2)	3-6(3-5)	-	-	-	-	-
11	20-30(38,30)	-	1,2	1	1	2-4(4)	1	1-4(3)	1-4(3)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-3(2)	2-4(3)	-	-	-	-	-
12	1-4-6(4)	-	1	1	2-3(2)	2	2-6(4)	2-6(4)	2-6(4)	2-4(3)	2-4(3)	2-4(2)	1	1	-	-	-	-	-
13	3-6(5)	-	2-5(3-4)	2-6,10(4)	2-3(2)	4-9(6)	5-13(9)	5-13(9)	5-13(9)	5-12(5)	4-9(5,8)	4-9(5,8)	4-9(5,8)	3-8(4,5,8)	-	-	-	-	-
14	1-2(2)	-	6-12(2,4,10)	4-8-11(8)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-
15	1-3(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

p = plumosa

Tabela 42. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. oswaldoi* s.s., da população de Senador Guiomard, Acre.

Cerdas	Cabeça	Antena	Tórax							Abdome	Espiráculo	X						
			P	M	T	I	II	III	IV				V	VI	VII	VIII		
0	-	-	-	-	-	-	-	-	46(4)	56(6)	56(6)	56(6)	35(3)	4	24(4)	-	-	-
1	1	56(6)	13,14,15	24,25,31	1	13,15,16	14,23,24	24,34,36	24,5	24,5	21,22,25	21,23,28	24,25	21,26	1	57	1	1
2	3,4,7	1	9,13,16	1	1	3,4(4)	5,6,8	24,34,36	45(5)	45(5)	1	1	23(3)	46,7	68(8)	23(3)	P	P
3	23,7	1	1	1	8,13,15	1	1	1	1	1	1	1	1	3	7,10(7)	-	-	P
4	2,4	2	15,19,23	3,4(3)	3	4,6	4	4,7(4)	3,4(3)	3,4(3)	3,6,8	2,3(2,3)	1	1	1	-	-	P
5	13,19(13)	-	26,33(26)	1	28,32,37	3,4(3)	4,7(4)	31,38,43	46,8	46,8	3,6,8	4,5(4)	5,6(5)	5,7,8	5,6(5)	-	-	-
6	13,14,17	-	1	2	2	22,31,33	31,38,43	25,29,30	-	-	1	1	1	4,5(4)	-	1,2	-	-
6mx	3,4(3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	17,20,23	-	21,28,32	3	20,33(33)	23,31,32	24,34,36	24,5	24,5	24,6	24,6	3,7(3)	23(2)	5,7(5)	-	1,2(1)	-	-
8	3,5	-	26,30,39	28,31(31)	26,31,33	-	3	3	3	13(3)	13(3)	23(3)	23	3,4,5	-	3,5(3)	-	-
9	6,9(6)	-	1	1	1	3,5(3)	5,6,7	5,6,8	5,6,8	6,8(8)	6,8(8)	3,6,9	6,7(6)	4,6(6)	-	23(3)	-	-
10	2	-	1	1	1	1	2,3,5	1	1	1,2(1)	1,2(1)	1	2,3	4,5(4)	-	1	-	-
11	30	-	1,2	1	1	3	1	1,2(1)	1,2(1)	1,2,3	1,2,3	2,3(3)	2	2,3	-	1	-	-
12	3,4,7	-	1	1	2	2	1	2,3,4	2,3,4	1,3(3)	1,3(3)	2,3(3)	1	1	-	1	-	-
13	4,5,7	-	2,4	6,7	23(2)	3,5(5)	6,8(6)	3,7,8	3,7,8	4,6,7	4,6,7	3,4(4)	4,8,9	3,4(4)	-	1	-	-
14	1,3	-	6,7,12	6,9,11	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-
15	1,3(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

p = plumosa

Tabela 43. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. oswaldoi* s.s., da população de Sena Madureira, Acre.

Cerdá	Cabeça	Antera	Abdome										Espiráculo	X	
			T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII				
0	-	-	-	-	56	46	56	46	56	46	5	45	23	-	-
1	1	45	1	923	2226	2425	2425	2329	2132	2632	2224	1	6	1	
2	6	1116	1	35	45	24	1	1	23	45	45	56	34	p	
3	45	1	1	1	1	1	23	2	1	1	3	67	-	p	
4	23	1315	2	34	36	24	2	2	34	12	1	1	-	p	
5	14	2530	1	3	7	57	36	36	67	56	5	5	-	p	
6	1516	1	13	2431	3134	2327	1	1	1	1	34	-	12	-	
6mx	34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	1617	-	23	2433	2537	3	3	3	23	23	78	-	1	-	
8	34	-	1923	-	23	3	3	3	23	3	3	-	24	-	
9	45	-	1	4	45	79	5	5	6	56	36	-	3	-	
10	23	-	1	1	23	1	1	1	1	2	4	-	1	-	
11	30	-	1	3	1	1	23	23	23	3	2	-	1	-	
12	3	-	1	2	1	23	23	23	24	1	1	-	1	-	
13	45	-	2	4	47	67	58	58	5	410	4	-	1	-	
14	1	-	810	-	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	
15	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

p = plumosa

Tabela 44. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. oswaldoi* s.s., da população de Ocamo, Venezuela.

	Cerca		Tórax					Abdome					Espínaculo	X	
	Cabeça	Antera	P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII			VIII
0	-	-	-	-	-	-	-	5(5)	3-5(4)	47(5)	3-5(5)	3-5(4)	23(3)	-	-
1	1	5-7(10)	11-15(12)	24-30(25)	1	13-22(14,15)	20-28(20,25,22)	21-25(24,25)	12-28(28)	21-25(22,24)	17-26(21,26)	18-24(22)	1	6-12(6)	1
2	5-13(9)	1	11-18(13)	1	1	46(4)	46(5)	3-4(3)	1	3	2-5(3,5)	4-6(5)	48(45,9)	24	P
3	6-12(6)	1	1	6-13(13)	1	1	1-3(1)	1	2-4(2)	12(1)	1	2-4(3)	6-11(6)	-	P
4	3-4(3)	2	13-17(28,13,15,17)	1-4(4)	3-5(3,4)	46(5,6)	3-6(4)	2-3(3)	1-3(2)	23(3)	1	1	1	-	P
5	15-20(20)	-	13(1)	36-45(36)	1	23(3)	6-10(7,9)	4-10(6,10)	3-6(3)	46(6)	3-6(6)	5-10(7)	4-13(5,6)	-	-
6	16-22(17)	-	23(2)	1-3(2)	36-45(36)	30-36(33,36)	28-40	23-31(29)	1	1	1	3-7(4,6)	1	1-2(2)	-
6mx	2-4(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	16-22	-	20-45	29-44	29-44	27-35(29)	22-43(33)	23	2-4(3)	23(3)	2-5(4)	3-6(4)	1	1	-
8	49(6)	-	25-38(26)	22-37	26-36(30)	-	2-4(3)	3-4(3)	3	3	3-4(3)	4-6(6)	1-6(3,4)	-	-
9	5-9(6,9)	-	1	1	1	3-5(5)	5-8(9)	7-13(12)	6-11(8)	49(5,7)	4-11(5,8)	5-11(5,10)	2-7(3,5)	-	-
10	3-4(3)	-	1	1	1	1	2-3(3)	1	1	12(1)	1-3(2,3)	2-9(2,4)	1	1	-
11	30	-	12	1	1	23(2)	1	1	2-3(2)	23(2)	2-3(3)	2-4(2,3)	1	1	-
12	3-6(4)	-	1	23(2)	23(2)	2-4(2)	12(1)	2-5(3)	3-5(3)	23(3)	1	1	1	1	-
13	3-5(3-5)	-	3-6(4,6)	47(5)	23(2)	6-8(6)	5-14(5,7)	6-11(6,8)	5-11(5)	58(5,6)	48(6)	3-6(3-5)	1	1	-
14	12	-	6-9(8)	7-12(8,9)	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	-
15	23-5(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

p= plumosa

Tabela 45. Limites da variação e moda (entre parênteses) do número de ramos das cerdas da larva de quarto instar de *An. oswaldoi* s.s., de quatro populações brasileiras, Linhares (ES), Peixoto de Azevedo (MT), Senador Guiomar e Sena Madureira Acre e uma população Venezuelana (Ocamo).

Cérda	Cabeça	Antena	Abdome										Espiráculo	X											
			P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII			VIII										
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1	1	47,10(56)	10-18(12,13)	19-33(24,25)	1	1	8-23(15)	3-9(6)	1420-31(202,4)	47(56)	3-6(4,6)	4-7(5,6)	4-7(5,6)	2-6(3,5)	3-5(4)	2-4(3)	1	5-7,12(6)	-	-	-	-	-	-	
2	3-13(4,6,9)	1	9-22(11,13,16)	1	1	2-5(4)	2-5(4)	4-8(5)	1	1-6(4)	1	1	1-3(3)	17-29(26)	17-30(19,22)	1	3-10(6,8,9)	2-6(3)	-	-	-	-	-	-	-
3	2-12(8)	1	1	1	1	1	1	1-3(1)	1	1	1-4(1)	1-3(1)	1-3(1)	1	2-4(3)	1	4-13(6,10)	-	-	-	-	-	-	-	-
4	2-6(3,4)	2-4(2)	11-27(14-16)	1-6(4)	2-6(3)	3-4(4)	3-4(4)	3-8(4)	4-10(7)	2-3(3)	1-4(3)	1-4(2,3)	1-4(2,3)	1-3(1)	1	1	4-13(5)	-	-	-	-	-	-	-	-
5	12-22(14,19,20)	-	15-42(26,30,33)	1-3(1)	2-4(5(33))	3-5(3)	3-5(3)	4-10(7)	21-34(23)	4-10(6,8)	3-8(3,4)	3-8(6)	3-8(6)	3-8(5,6)	4-10(5,7,8)	3-9(4,6)	1	1,2(1)	-	-	-	-	-	-	-
6	13-22(15,17)	-	1	1-4(2)	1-4(2)	22-38(31,33)	22-38(31,33)	24-43(34)	-	21-34(23)	1	1	1	1	3-9(4,6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6mx	2-7(3,4)	-	-	-	-	-	-	-	24-43(25,27,29)	2-6(3)	2-6(3)	2-6(3)	2-6(3)	2-5(3)	3-8(4)	1	1,2(1)	-	-	-	-	-	-	-	-
7	16-25,30(16,17)	-	21-45(30)	2-5(3,4)	20-44(33)	22-33(29,33)	22-33(29,33)	24-43(25,27,29)	2-4(3)	3-4(3)	1-3(5)	2-3(3)	2-3(3)	2-4(3)	2-6(4)	1	1-5(3)	-	-	-	-	-	-	-	-
8	3-9(4,6)	-	20-38(26,28)	17-37(26,30)	22-36(31,36)	-	-	2-4(3)	4-10(5,6)	4-13(8,10)	5-13(5)	3-9(5,6)	3-9(5,6)	4-11(5,6)	3-11(4,6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	3-9(4,6)	-	1	1	1	2-5(4,5)	2-5(4,5)	4-10(5,6)	1-5(3)	1	1,2(1)	1,2(1)	1,2(1)	1-4(2)	2-8(4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	2-5(3)	-	1	1	1	1	1	1-5(3)	1	1	1-4(1)	1-4(1)	1-4(1)	2-3(2)	2-4(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	20,30,40,58(30)	-	1,2	1	1	2-4(3)	2-4(3)	1	1	2-6(2-4)	1-7(3)	2-6(2-4)	2-6(2-4)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	1-7(4)	-	1	1	1	2-3(2)	2-3(2)	1,2(1)	1,2(1)	6-13,17(8,10)	4-12(5)	4-12(5)	4-12(5)	4-10(4,9)	3-8(3,4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	3-9(4,5)	-	2-6(4)	2-10(4,6)	2-3(2)	2-13(6)	2-13(6)	4-13(8,9)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
14	1-3(1,2)	-	6-12,24(6,8)	4,8-12(8)	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
15	1-3(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

p = plumosa

Tabela 46. Morfometria da larva de *An. Oswaldoi* s.s. de quatro populações brasileiras e uma venezuelana.

Populações	Número	Cabeça			Aparelho espiracular								
		Índice clipeal	Comp. antena/ espaço de 1-A até base antena	Comp. papila anal/ comp. cerda 4-X	Inserção de 1X dentro da sela % (indivíduos)	AEP/ espaço Eab	Pecten						
							Formula dos espículos (%)						
			I	II	III	Número de espículos (indivíduos)							
Brasil													
Linhares (ES)	02	1,6-1,7 (1,7)	2,2-4,1 (3,2)	1,0-1,6 (1,3)	0 (0)	1,2 (1,2)	50,0	-	50,0	-	18 (18)		
Peixoto de Azevedo (MT)	11	1,2-1,8 (1,5)	3,3-6,7 (5,4)	0,7-1,1 (0,9)	27,0 (03)	1,0-1,3 (1,2)	81,8	-	18,2	-	13-18 (15)		
Senador Guiomar (AC)	04	1,4-2,1 (1,8)	3,5-6,3 (4,8)	0,6-0,7 (0,7)	25,0 (01)	1,0-1,9 (1,4)	100	-	-	-	16-21 (18)		
Sena Madureira (AC)	03	1,3-1,5 (1,4)	5,7-7,1 (6,2)	0,6-0,7 (0,7)	0 (0)	1,1-1,3 (1,2)	-	-	100	-	15-17 (16)		
Venezuela													
Ocamo	08	1,0-1,6 (1,3)	3,7-5,8 (4,4)	1,0-1,3 (1,2)	62,5 (05)	1,0-1,2 (1,1)	42,9	57,1	-	-	12-16 (15)		
Total	28	1,0-2,1 (1,5)	2,2-7,1 (5,0)	0,6-1,6 (1,0)	32,1 (09)	1,0-1,9 (1,2)	63,0	14,8	22,2	-	12-21 (16)		
Desvio Padrão	28	1,3	1,19	0,23	0,49	0,18	0,76			3,45			

0 = espículo grande

1 = espículo mediano

2 = espículo pequeno

Fórmula Tipo I = 2-0-2(n)-0-2(n)-0

Fórmula Tipo II = 0 (n)-2(n)-1-2(n)-0

Fórmula Tipo III = 1(n)2-0-2(n)-0-2(n)-0

Índice clipeal = distâncias entre as cerdas 3-C/distância entre 2C

AEP = distância entre os ápices das expansões laterais da placa mediana do aparato espiracular anterior

Eab = espaço entre os espículos abdominais

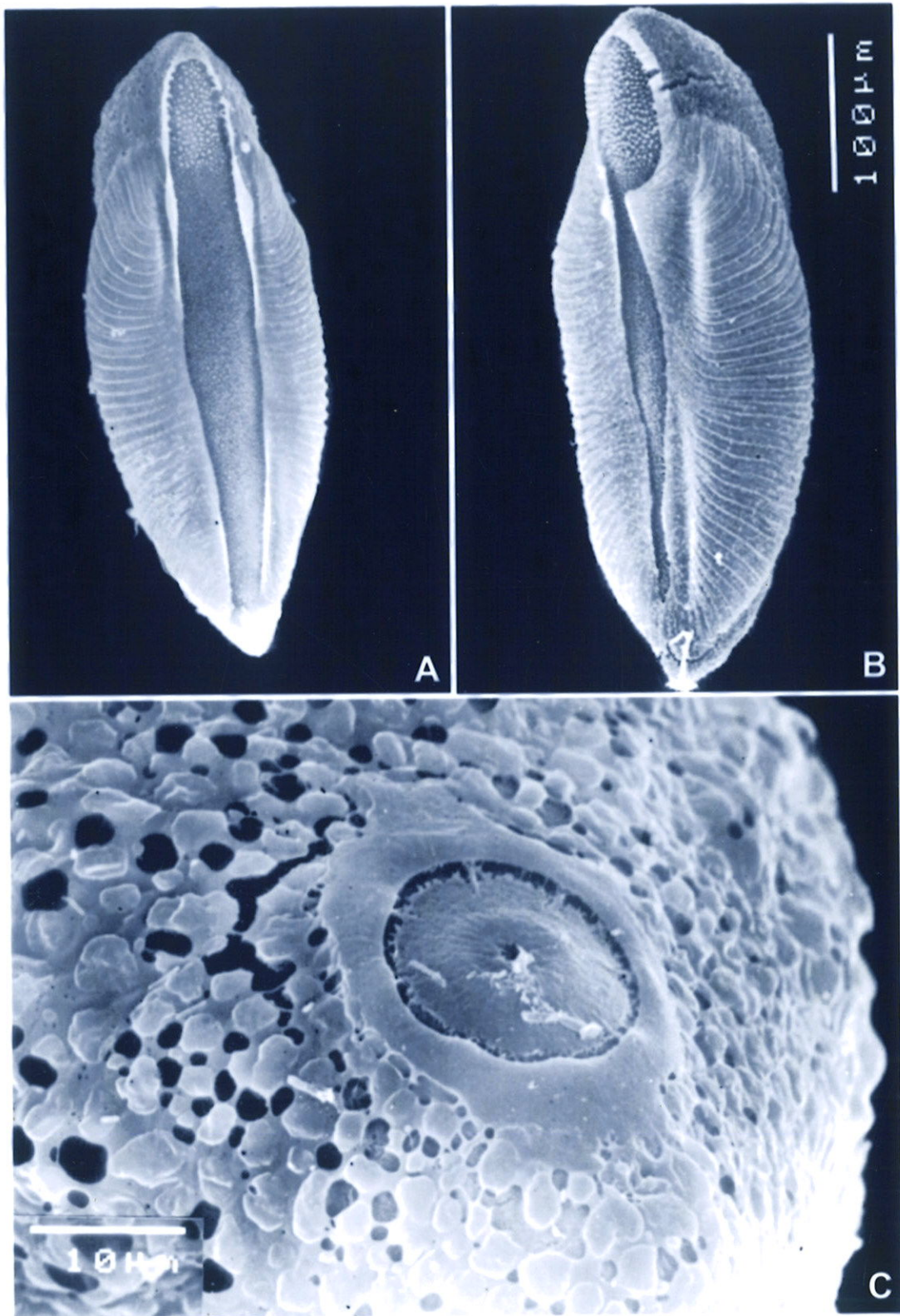


Figura 11: *An. oswaldoi* s.s.. Ovos: População de Sena Madura (AC); A e B - vista dorsal do ovo inteiro; C - aparelho micropilar.

Material examinado: Total de espécimen examinados: 22 machos Le Pe G, 5 fêmeas Le Pe, 25 fêmeas Le Pe G. Procedência: BRASIL: Sintipos: macho G, fêmea, Espírito Santo, Vale do Rio Doce, novembro de 1922, det. A.G Peryassú, col. A.G Peryassú, Estado do Espírito Santo, Linhares, Reserva Florestal de Sooretama (19°41'S e 39°59'W), abril de 1996, proveniente de desovas de fêmeas coletadas em isca animal, det. C. Flores-Mendoza, col. C. Flores-Mendoza, C.B. Santos, 2 machos G, 1 fêmea Le Pe, 1 fêmea Le Pe G; Mato Grosso, Peixoto de Azevedo (10°13'S e 54°58'W), dezembro de 1993, proveniente de desovas de fêmeas coletadas em iscas humana e animal, det. R. Wilkerson, col. R. Wilkerson, 8 machos Le Pe G, 8 fêmeas Le Pe, 4 fêmeas Le Pe G; Acre, Senador Guiomar, Ramal Oco do Mundo (10°9'S e 67°44'W), março de 1998, proveniente de desovas de fêmeas coletadas em isca animal, det. C. Flores-Mendoza, col. R. Souza dos Santos, 4 machos G Le Pe, 4 fêmeas Le Pe, 2 fêmeas G; Acre, Sena Madureira, Seringal São Pedro de Icó (9°5'S e 68°45'W), agosto de 1998, provenientes de desovas de fêmeas coletadas em isca animal, det. C. Flores-Mendoza, col. R. Souza dos Santos, 3 machos Le Pe G, 1 fêmeas Le Pe, 2 fêmeas G. VENEZUELA, Estado Amazonas, Alto Orinoco, Ocamo (2°50'N e 65°14'W), dezembro de 1987 e dezembro de 1997, provenientes de desovas de fêmeas coletadas em isca humana, det. col. Y. Rubio-Palis, 5 machos 2 Le Pe G, 4 fêmeas Le Pe, 2 fêmeas Le Pe G.

Distribuição

BRASIL: *An. oswaldoi* já foi coletado por nós e por outros autores (Peryassú, 1922, Galvão 1943, Ramos 1943, Deane et al. 1948, Coutinho 1947, Lounibos et al. 1997) nos seguintes Estados brasileiros: Espírito Santo, Rio de Janeiro, Bahia, São Paulo, Goiás, Sergipe, Maranhão, Ceará, Minas Gerais, Mato Grosso, Acre e Pará. Foi coletado também no PANAMÁ: Zona do Canal (Curry, 1932). VENEZUELA: Carabobo, Trujillo e Yarucuy (Cova Garcia 1939; nós em Ocamo no presente estudo). EQUADOR: Coca, Província de Napo (Lounibos et al. 1997) e SURINAME: Brokopondo (Lounibos et al. 1997).

Bionomia

O comportamento de *An. oswaldoi* parece semelhante ao de *An. konderi*. Ambas as espécies são coletadas com maior freqüência em áreas de floresta, bastante chuvosas, como em áreas da Amazônia e de influência da mata Atlântica. O horário de maior atividade

hematófaga é também semelhante a *An. konderi*, isto é, os crepúsculos. Tem hábito preferentemente zoófilo, mas pode atacar o homem, especialmente dentro, ou próximo à floresta. Em coletas realizadas por nós, em Linhares, em isca animal (cavalo), de 157 anofelinos pegos apenas 1 era *An. oswaldoi*. Em Senador Guiomar, em coletas feitas em isca animal (bezerro), de 110 anofelinos, 4 eram *An. oswaldoi* e em Sena Madureira, também usando isca animal, de 411 anofelinos 18 eram *An. oswaldoi*.

Peryassú (1922), considerou *An. oswaldoi* s.s. como um anofelino de preferência pelo domicílio.

As formas imaturas de *An. oswaldoi* são geralmente encontradas em depósitos parcialmente, sombreados. As duas espécies aqui tratadas apresentam ligeira diferença na bionomia: as larvas de *An. oswaldoi* s.s. se criam em água fresca, transparente, enquanto as de *An. konderi*, geralmente, se cria, em água barrenta. Há diferença também quanto a susceptibilidade à malária, como visto a seguir.

Importância médica

Pouco se conhece sobre o papel de *An. oswaldoi* s.s. como transmissor de malária, já que as fêmeas apresentam caracteres morfológicos semelhantes a *An. konderi*. Peryassú (1922), considerou *An. oswaldoi* s.l. como principal transmissor de malária no Vale do Rio Doce e na Baixada Fluminense. Porém, em ambas as localidades ocorrem ambos *An. oswaldoi* s.s. e *An. konderi*, impossibilitando-nos conhecer a qual das duas espécies se referia este autor e outros que o seguiram. Infecções experimentais realizadas por nós, com *Plasmodium vivax*, sugeriram que *An. oswaldoi* s.s. é mais susceptível que *An. konderi*, já que de 6,9% de fêmeas de *An. oswaldoi* s.s. desenvolveram infecção até esporozoíta e em nenhum *An. konderi* a infecção conseguiu chegar até esta fase. Contudo, nesse experimento, esse índice de glândulas positivas é bem menor que em *An. darlingi* (22,5 – 30%) (Marrelli et al. 1999a).

Variações intraespecíficas

A análise dos caracteres de adultos, pupa, larva analisados pelo teste de Kruskal-Wallis revelou algumas variações intraespecíficas, que são aqui relatadas conforme o estágio de vida (Tabela 47-50):

Nas fêmea de 13 caracteres analisados só dois apresentaram variações intraespecíficas estatisticamente significante: o comprimento da asa ($p = 0,025$); e comprimento da mancha escura do II tarso médio ($p = 0,031$) (Tabela 47).

Nos macho de 7 caracteres morfológicos analisados estatisticamente, 4 não apresentaram variações intrapopulacionais ($p > 0,05$) (Tabela 48); 3 caracteres apresentaram diferenças interpopulacionais, que foram: comprimento da asa ($p = 0,06$); e a relação comprimento do edeago/claspete, que varia significativamente ($p = 0,007$) entre as 5 populações estudadas; e a relação entre o comprimento da cerda parabasal e a largura da base do gonocoxito ($p = 0,03$).

Nas pupa de 5 caracteres estudados, apenas dois não apresentaram diferença significante (Tabela 49). Os caracteres que apresentaram diferenças estatisticamente significantes foram: índice do meato ($p = 0,029$); índice da trompa ($p = 0,014$); relação dos comprimentos da cerda 1-IV/V tergito ($p = 0,035$).

Nas larva de 7 caracteres analisados, dois não apresentaram diferenças significativas a nível de $p > 0,05$ (Tabela 50). Os caracteres que apresentaram variações interpopulacionais foram: índice clipeal ($p = 0,012$); relação entre o comprimento da antena e a distância do ponto de inserção da cerda 1-A e base da antena ($p = 0,045$); relação comprimento papila anal/cerda 4-X, ($p < 0,001$); tipo de pecten ($p = 0,044$) e as variações no número de espículos no pecten ($p = 0,036$).

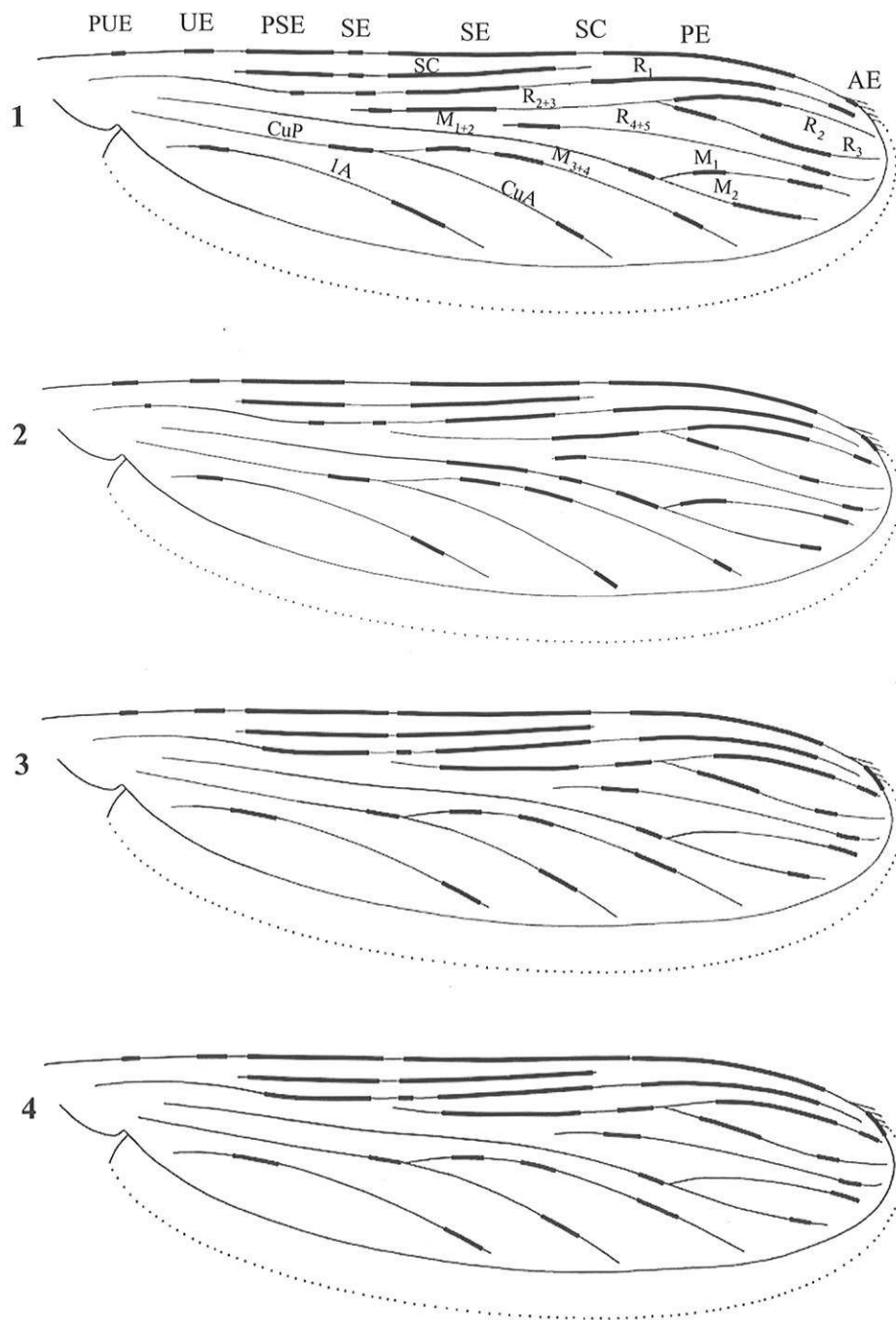


Figura: 12. Tipos de padrão de manchas na veia costa e demais veias da asa em *An. oswaldoi s.l.* O tipo mais freqüente foi o 4 em *An. konderi*. O tipo 1, com mancha setorial escuradividida, mais freqüente em *An. oswaldoi s.s.*

An. oswaldoi s.s.

An. konderi

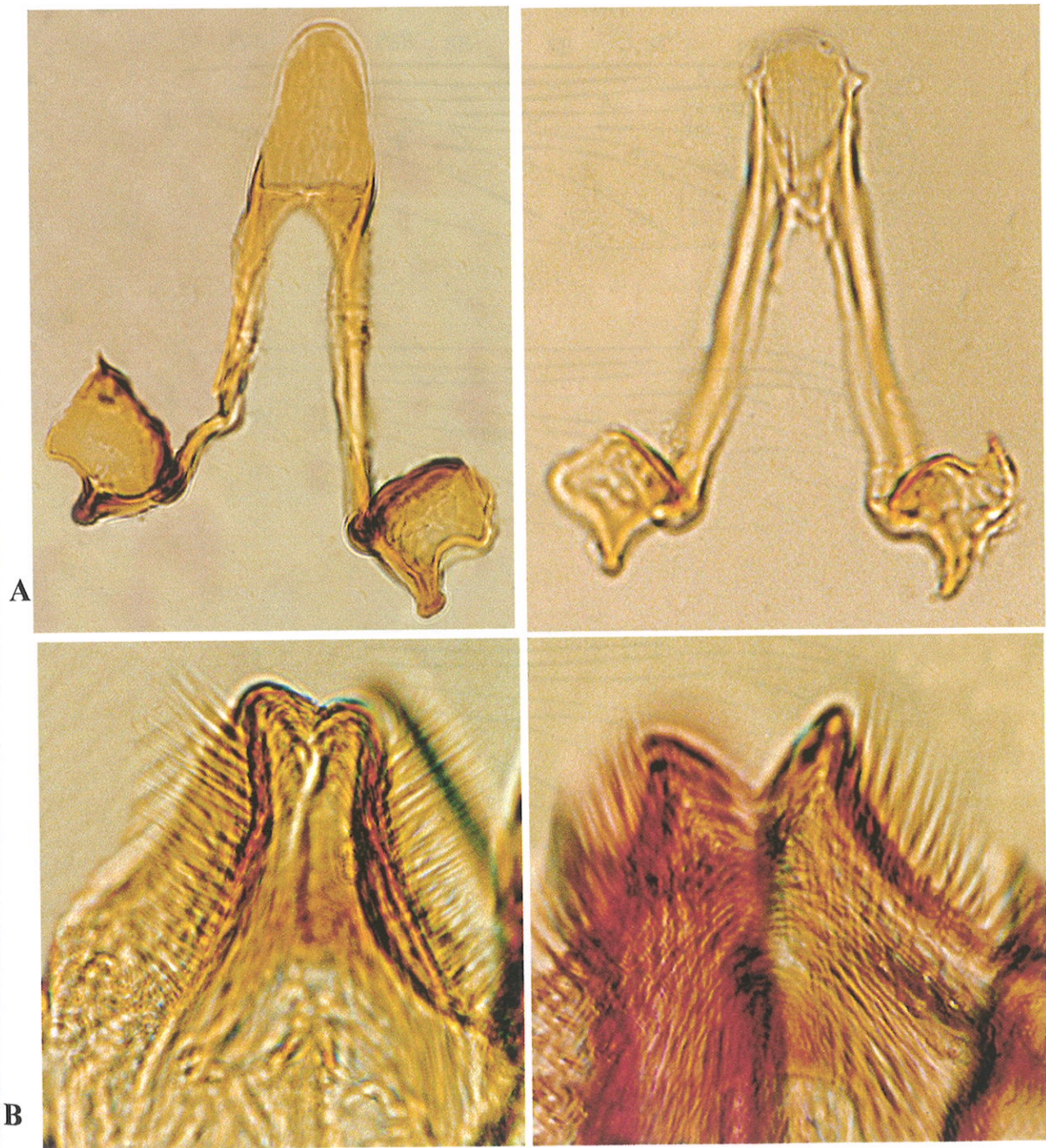


Figura:13 *Anopheles oswaldoi s.s.* e *Anopheles konderi*. Genitália masculina: (A) edeago, (B) lobo ventral do claspete.



Figura: 14. Localidades onde foram encontrados *Anopheles konderi* e *Anopheles oswaldoi s.s.*, segundo as nossas observações.

Tabela 47. Análise dos caracteres das fêmeas de *An. konderi* e *An. oswaldoi* s.s. através do teste de Kruskal-Wallis

Caracteres	População	<i>An. konderi</i>			<i>An. oswaldoi</i> s.s.		
		Número indiv.	Posto médio	p	Número indiv.	Posto médio	p
Mancha esc. II-tarso posterior	Linhares	2	4,75		3	12,50	
	Peixoto Azevedo	-	-		12	17,79	
	S. Guiomar	3	17,00		4	12,63	0,715
	S. Madureira	2	8,75		3	17,67	
	Ocamo	-	-		8	13,81	
	Coari	11	22,27	0,23	-	-	
	Porto Velho	11	30,64		-	-	
	Candeias de Jamari	11	35,82		-	-	
Yurimaguas	11	24,73		-	-		
Comprimento da asa	Linhares	2	4,25		3	26,33	
	Peixoto Azevedo	-	-		12	18,42	
	S. Guiomar	3	30,00		4	8,25	0,025
	S. Madureira	2	19,25		3	8,17	
	Ocamo	-	-		8	13,44	
	Coari	11	32,95	0,275	-	-	
	Porto Velho	11	25,32		-	-	
	Candeias de Jamari	11	24,91		-	-	
Yurimaguas	11	24,91		-	-		
Comp.palpo/comp fêmur I	Linhares	2	19,25		3	14,50	
	Peixoto Azevedo	-	-		12	14,42	
	S. Guiomar	3	33,83		4	21,38	0,127
	S. Madureira	2	5,25		3	24,33	
	Ocamo	-	-		8	11,25	
	Coari	11	38,95	0,003	-	-	
	Porto Velho	11	26,82		-	-	
	Candeias de Jamari	11	15,77		-	-	
Yurimaguas	11	25,32		-	-		
Comp.palpoIII/comp.banda bra	Linhares	2	6,00		3	20,00	
	Peixoto Azevedo	-	-		12	12,42	
	S. Guiomar	3	31,17		4	17,25	0,060
	S. Madureira	2	20,00		3	6,17	
	Ocamo	-	-		8	21,06	
	Coari	11	17,68	0,103	-	-	
	Porto Velho	11	31,32		-	-	
	Candeias de Jamari	11	31,09		-	-	
Yurimaguas	11	27,23		-	-		
Comp.mancha esc. II-Tanterior	Linhares	2	11,75		3	12,50	
	Peixoto Azevedo	-	-		12	14,21	
	S. Guiomar	3	18,83		4	23,00	0,280
	S. Madureira	2	18,00		3	19,50	
	Ocamo	-	-		8	13,31	
	Coari	11	34,36	0,128	-	-	
	Porto Velho	11	21,68		-	-	
	Candeias de Jamari	11	30,41		-	-	
Yurimaguas	11	23,55		-	-		
Comp.mancha esc. III-Tanterior	Linhares	2	13,25		3	6,33	
	Peixoto Azevedo	-	-		12	12,50	
	S. Guiomar	3	25,65		4	20,25	0,40
	S. Madureira	2	13,25		3	17,00	
	Ocamo	-	-		8	20,50	
	Coari	11	43,36	0,00	-	-	
	Porto Velho	11	18,18		-	-	
	Candeias de Jamari	11	18,91		-	-	
Yurimaguas	11	28,27		-	-		

Os números marcados em negrito são valores de $p < 0,05$

Tabela 47. Análise dos caracteres das fêmeas de *An. konderi* e *An. oswaldoi* s.s. através do teste de Kruskal-Wallis

Caracteres	População	<i>An. konderi</i>			<i>An. oswaldoi</i> s.s.		
		Número indiv.	Posto médio	p	Número indiv.	Posto médio	p
Comp.mancha esc. II-T médio	Linhares	2	18,75	0,694	3	17,83	0,031
	Peixoto Azevedo	-	-		12	13,83	
	S. Guiomar	3	29,50		4	13,50	
	S. Madureira	2	29,50		3	6,17	
	Ocamo	-	-		8	21,63	
	Coari	-	29,73		-	-	
	Porto Velho	11	28,68		-	-	
	Candeias de Jamari	11	21,68		-	-	
Comp.mancha esc. III-T médio	Linhares	2	14,25	0,45	3	14,17	0,783
	Peixoto Azevedo	-	-		12	17,13	
	S. Guiomar	3	34,83		4	13,50	
	S. Madureira	2	27,50		3	13,50	
	Ocamo	-	-		8	15,31	
	Coari	-	33,50		-	-	
	Porto Velho	11	23,32		-	-	
	Candeias de Jamari	11	21,23		-	-	
Umeral branca/preumeral esc.	Linhares	2	15,00	0,193	3	11,83	0,88
	Peixoto Azevedo	-	-		12	18,79	
	S. Guiomar	3	35,67		4	18,13	
	S. Madureira	2	43,25		3	20,33	
	Ocamo	-	-		8	8,81	
	Coari	-	24,27		-	-	
	Porto Velho	11	24,95		-	-	
	Candeias de Jamari	11	19,00		-	-	
Subcosta/setorial escura	Linhares	2	45,00	0,302	3	10,33	0,438
	Peixoto Azevedo	-	-		12	14,25	
	S. Guiomar	3	18,00		4	14,88	
	S. Madureira	2	13,00		3	23,17	
	Ocamo	-	-		8	16,75	
	Coari	11	22,73		-	-	
	Porto Velho	11	29,41		-	-	
	Candeias de Jamari	11	28,36		-	-	
Pré apical branca/pré apical esc.	Linhares	2	24,50	0,378	3	14,65	0,070
	Peixoto Azevedo	-	-		12	11,54	
	S. Guiomar	3	28,67		4	15,13	
	S. Madureira	2	31,00		3	12,67	
	Ocamo	-	-		8	23,00	
	Coari	11	19,73		-	-	
	Porto Velho	11	20,86		-	-	
	Candeias de Jamari	11	32,50		-	-	
Apical escura/pré apical branca	Linhares	2	27,75	0,684	3	13,33	0,915
	Peixoto Azevedo	-	-		12	16,08	
	S. Guiomar	3	16,67		4	14,50	
	S. Madureira	2	15,50		3	19,33	
	Ocamo	-	-		8	14,50	
	Coari	-	23,77		-	-	
	Porto Velho	11	28,91		-	-	
	Candeias de Jamari	11	25,05		-	-	
Setorial escura dividida	Linhares	2	18,25	0,649	3	16,50	0,164
	Peixoto Azevedo	-	-		12	11,50	
	S. Guiomar	3	31,00		4	17,75	
	S. Madureira	2	18,25		3	21,50	
	Ocamo	-	-		8	17,75	
	Coari	-	26,36		-	-	
	Porto Velho	11	24,05		-	-	
	Candeias de Jamari	11	26,36		-	-	
	Yurimaguas	11	28,68	-	-		

Os números marcados em negrito são valores de $p < 0,05$

Tabela 48. Análise dos caracteres dos machos de *An. konderi* e *An. oswaldoi* s.s. através do teste de Kruskal-Wallis

Caracteres	População	<i>An. konderi</i>			<i>An. oswaldoi</i> s.s.		
		Número indiv.	Posto médio	p	Número indiv.	Posto médio	p
Mancha esc. II-tarso posterior	Linhares	1	14,50		1	4,00	
	Peixoto Azevedo	-	-		8	12,44	
	S. Guiomar	3	23,83		4	13,75	0,469
	S. Madureira	2	31,75		3	7,83	
	Ocamo	-	-		5	9,80	
	Coari	11	33,45	0,054	-	-	
	Porto Velho	11	31,09		-	-	
	Candeias de Jamari	11	22,95		-	-	
Yurimaguas	11	14,82		-	-		
Comprimento da asa	Linhares	1	8,50		2	14,50	
	Peixoto Azevedo	-	-		8	16,81	
	S. Guiomar	3	29,50		4	10,13	0,006
	S. Madureira	2	22,50		3	11,33	
	Ocamo	-	-		5	3,00	
	Coari	11	34,68	0,157	-	-	
	Porto Velho	11	23,77		-	-	
	Candeias de Jamari	11	26,68		-	-	
Yurimaguas	11	17,86		-	-		
Comprimento CPB/base Gx	Linhares	1	22,50		2	4,00	
	Peixoto Azevedo	-	-		8	10,63	
	S. Guiomar	3	39,50		4	13,50	0,113
	S. Madureira	2	48,00		3	8,00	
	Ocamo	-	-		5	16,40	
	Coari	12	21,71	0,001	-	-	
	Porto Velho	11	18,36		-	-	
	Candeias de Jamari	11	18,36		-	-	
Yurimaguas	11	38,59		-	-		
Comprimento edeago/claspete	Linhares	1	30,50		2	6,25	
	Peixoto Azevedo	-	-		8	17,13	
	S. Guiomar	3	29,50		4	8,50	0,007
	S. Madureira	2	38,25		3	14,50	
	Ocamo	-	-		5	5,20	
	Coari	12	30,67	0,104	-	-	
	Porto Velho	11	18,77		-	-	
	Candeias de Jamari	11	18,77		-	-	
Yurimaguas	11	31,77		-	-		
VIII esternito comp./largura	Linhares	1	41,00		1	16,50	
	Peixoto Azevedo	-	-		8	8,69	
	S. Guiomar	3	21		4	12,50	0,030
	S. Madureira	2	41,00		3	19,83	
	Ocamo	-	-		5	7,10	
	Coari	12	19,13	0,112	-	-	
	Porto Velho	11	30,82		-	-	
	Candeias de Jamari	11	30,82		-	-	
Yurimaguas	11	21,14		-	-		

Os números marcados em negrito são valores de $p < 0,05$

Tabela 48. Análise dos caracteres dos machos de *An. konderi* e *An. oswaldoi* s.s. através do teste de Kruskal-Wallis

Caracteres	População	<i>An. konderi</i>			<i>An. oswaldoi</i> s.s.		
		Número indiv.	Posto médio	p	Número indiv.	Posto médio	p
Gonocoxito comp./larg. base	Linhares	1	17,00	0,009	2	5,50	0,448
	Peixoto Azevedo	-	-		8	10,00	
	S. Guiomar	3	27,17		4	15,00	
	S. Madureira	2	45,00		3	12,00	
	Ocamo	-	-		5	13,20	
	Coari	12	12,58		-	-	
	Porto Velho	11	27,73		-	-	
	Candeias de Jamari	11	27,73		-	-	
	Yurimaguas	11	34,23		-	-	
Gonoxito maior larg./larg. base	Linhares	1	28,00	0,000	2	5,00	0,199
	Peixoto Azevedo	-	-		8	10,50	
	S. Guiomar	3	28,00		4	16,38	
	S. Madureira	2	42,00		3	8,17	
	Ocamo	-	-		5	13,80	
	Coari	12	15,08		-	-	
	Porto Velho	11	22,00		-	-	
	Candeias de Jamari	11	22,00		-	-	
	Yurimaguas	11	42,27		-	-	

Os números marcados em negrito são valores de $p < 0,05$

Tabela 49. Análise dos caracteres das pupas de *An. konderi* e *An. oswaldoi s.s.* através do teste de Kruskal-Wallis

Caracteres	População	<i>An. konderi</i>			<i>An. oswaldoi s.s.</i>		
		Número indiv.	Posto médio	p	Número indiv.	Posto médio	p
Índice do meato	Linhares	1	14,00	0,526	2	9,25	0,029
	Peixoto Azevedo	-	-		9	15,78	
	S. Guiomar	3	28,67		4	17,38	
	S. Madureira	2	14,00		3	11,33	
	Ocamo	-	-		6	6,00	
	Coari	10	28,35		-	-	
	Porto Velho	11	24,00		-	-	
	Candeias de Jamari	11	28,86		-	-	
	Yurimaguas	11	21,09		-	-	
Índice da trompa	Linhares	1	35,00	0,170	2	18,75	0,014
	Peixoto Azevedo	-	-		9	9,44	
	S. Guiomar	3	40,83		4	6,63	
	S. Madureira	2	11,50		3	22,50	
	Ocamo	-	-		6	13,92	
	Coari	10	22,45		-	-	
	Porto Velho	11	20,09		-	-	
	Candeias de Jamari	11	24,36		-	-	
	Yurimaguas	11	30,09		-	-	
Comp. traq. / comp. trompa	Linhares	1	16,50	0,525	2	14,50	0,406
	Peixoto Azevedo	-	-		9	11,72	
	S. Guiomar	3	23,83		4	14,40	
	S. Madureira	2	27,50		3	6,17	
	Ocamo	-	-		6	14,83	
	Coari	10	29,05		-	-	
	Porto Velho	11	28,00		-	-	
	Candeias de Jamari	11	25,45		-	-	
	Yurimaguas	11	18,50		-	-	
Cerde 1-V segmento	Linhares	1	42,50	0,209	2	12,75	0,035
	Peixoto Azevedo	-	-		9	17,28	
	S. Guiomar	3	26,83		4	9,88	
	S. Madureira	2	20,50		3	3,17	
	Ocamo	-	-		6	11,67	
	Coari	10	26,85		-	-	
	Porto Velho	11	31,50		-	-	
	Candeias de Jamari	11	16,45		-	-	
	Yurimaguas	11	24,09		-	-	
Índice da paleta	Linhares	1	20	0,344	2	7,75	0,511
	Peixoto Azevedo	-	-		9	12,39	
	S. Guiomar	3	25,33		4	17,63	
	S. Madureira	2	28,00		3	12,50	
	Ocamo	-	-		6	12,86	
	Coari	10	31,73		-	-	
	Porto Velho	11	30,09		-	-	
	Candeias de Jamari	11	20,18		-	-	
	Yurimaguas	11	20,09		-	-	

Os números marcados em negrito são valores de $p < 0,05$

Tabela 50. Análise dos caracteres das larvas de *An. konderi* e *An. oswaldoi* s.s. através do teste de Kruskal-Wallis

Caracteres	População	<i>An. konderi</i>			<i>An. oswaldoi</i> s.s.		
		Número indiv.	Posto médio	p	Número indiv.	Posto médio	p
Índice clipeal	Linhares	2	25,50		2	20,50	
	Peixoto Azevedo	-	-		11	16,27	
	S. Guiomar	3	16,33		4	23,13	0,012
	S. Madureira	2	36,25		3	12,17	
	Ocamo	-	-		8	7,13	
	Coari	11	28,05	0,266	-	-	
	Porto Velho	11	18,64		-	-	
	Candeias de Jamari	10	27,95		-	-	
	Yurimaguas	11	30,68		-	-	
Comp. antena/espaco+ 1-A base	Linhares	2	23,25		2	4,25	
	Peixoto Azevedo	-	-		11	17,45	
	S. Guiomar	3	28,67		4	12,25	0,045
	S. Madureira	2	6,00		3	23,17	
	Ocamo	-	-		8	10,88	
	Coari	11	28,05	0,221	-	-	
	Porto Velho	11	18,64		-	-	
	Candeias de Jamari	10	27,95		-	-	
	Yurimaguas	11	30,68		-	-	
Comprimento da papila anal/4-X	Linhares	2	35,75		2	23,00	
	Peixoto Azevedo	-	-		11	13,23	
	S. Guiomar	3	32,67		4	4,50	0,000
	S. Madureira	2	7,75		3	4,17	
	Ocamo	-	-		8	23,00	
	Coari	11	15,14	0,001	-	-	
	Porto Velho	11	25,73		-	-	
	Candeias de Jamari	10	40,95		-	-	
	Yurimaguas	11	21,00		-	-	
Cerca 1-X dentro sela	Linhares	2	31,50		2	9,50	
	Peixoto Azevedo	-	-		11	14,59	
	S. Guiomar	3	19,00		4	13,00	0,259
	S. Madureira	2	44,00		3	9,50	
	Ocamo	-	-		8	18,25	
	Coari	11	30,36	0,035	-	-	
	Porto Velho	11	19,00		-	-	
	Candeias de Jamari	10	26,50		-	-	
	Yurimaguas	11	23,55		-	-	
EAP/espaco Eab	Linhares	2	21,50		2	18,50	
	Peixoto Azevedo	-	-		11	15,95	
	S. Guiomar	3	39,00		4	16,88	0,258
	S. Madureira	2	17,75		3	17,50	
	Ocamo	-	-		8	9,19	
	Coari	11	21,23	0,595	-	-	
	Porto Velho	11	26,68		-	-	
	Candeias de Jamari	10	25,65		-	-	
	Yurimaguas	11	26,91		-	-	
Tipo de pecten	Linhares	2	21,50		2	15,50	
	Peixoto Azevedo	-	-		11	12,91	
	S. Guiomar	3	38,50		4	10,00	0,044
	S. Madureira	2	47,00		3	26,00	
	Ocamo	-	-		8	14,38	
	Coari	11	23,36	0,037	-	-	
	Porto Velho	11	23,82		-	-	
	Candeias de Jamari	10	24,10		-	-	
	Yurimaguas	11	23,86		-	-	

Os números marcados em negrito são valores de $p < 0,05$

Tabela 50. Análise dos caracteres das larvas de *An. konderi* e *An. oswaldoi s.s.* através do teste de Kruskal-Wallis

Caracteres	População	<i>An. konderi</i>			<i>An. oswaldoi s.s.</i>		
		Número indiv.	Posto médio	p	Número indiv.	Posto médio	p
Número de espículas	Linhares	2	24,50	0,562	2	26,00	0,036
	Peixoto Azevedo	-	-		11	12,23	
	S. Guiomar	3	34,17		4	20,88	
	S. Madureira	2	16,75		3	17,83	
	Ocamo	-	-		8	10,31	
	Coari	11	26,82		-	-	
	Porto Velho	11	29,91		-	-	
	Candeias de Jamari	10	19,25		-	-	
	Yurimaguas	11	24,86		-	-	

Os números marcados em negrito são valores de $p < 0,05$

Tabela 51. Análises dos ovos por microscopia eletrônica de varredura de *An. konderi* (população de Coari, Porto Velho, Candeias do Jamari, Sena Madureira e Yurimaguas) e de *An. oswaldoi* s.s. (Sena Madureira).

Populações/ Espécies	Dimensões dos ovos em µm								
	Nº de ovos	Comprimento.	Largura	Comp./ largura	Comprimento flutuador	Nº de gomos	Diâmetro do aparelho micropilar	Largura colar micropila (CMCR)	Diâmetro do disco da micropila (DMCR)
<i>An. konderi</i>									
Brasil									
Coari (AM)	42	423-520 (458)	114-150 (133)	3,0-3,9 (3,5)	312-430 (330)	33-40 (36)	16,6	4,7	5,3
Porto Velho (RO)	20	394-430 (413)	138-160 (149)	2,6-2,9 (2,7)	339-397 (378)	32-41 (36)	14,3	2,8	4,5
Candeias de Jamari (RO)	14	389-410 (390)	112-170 (158)	2,2-3,1 (2,3)	357-381 (368)	33-39 (35)	15,5	4,5	3,9
Sena Madureira (AC)	10	440-468 (450)	120-150 (130)	2,7-3,7(3,2)	385-405 (375)	33-38 (35)	13,9	3,3	4,7
Peru									
Yurimaguas	27	379-432 (395)	117-153 (120)	2,5-3,9 (3,3)	345-393 (374)	32-40 (37)	15,5	3,8	4,9
Total	113	379-520 (421)	114-170 (130)	2,4-3,8 (3,4)	351-489 (368)	35-38 (36)	13,9-16,6(15,2)	2,8-4,5 (3,8)	3,9-5,3 (4,7)
<i>An. oswaldoi</i> s.s.									
Brasil									
Sena Madureira (AC)	8	410-430 (420)	120-140 (130)	3,1-3,4 (3,3)	373-380 (368)	31-34 (32)	12,5-16 (14,3)	2,5-4,0 (3,3)	4,8-6,2 (4,9)

Tabela 52. Análises compartilhadas de caracteres da fêmea, macho, larva e pupa de *An. konderi* e *An. oswaldoi* s.s. pelo teste Mann-Whitney

Caracteres	Espécie	Número indiv.	Posto médio	p
Fêmea				
Mancha esc. II-tarso posterior	<i>An. konderi</i>	51	50,40	0,000
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	30	25,02	
Comp. palpómero III/mancha branca	<i>An. konderi</i>	51	42,16	0,563
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	30	39,03	
Comp.mancha esc. II-tarso anterior	<i>An. konderi</i>	51	49,72	0,00
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	30	26,18	
Comp.mancha esc.III-tarso medio	<i>An. konderi</i>	51	38,41	0,69
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	30	45,40	
Comp. umeral branca/pré umeral esc.	<i>An. konderi</i>	51	38,28	0,269
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	30	44,20	
Subcosta/setorial escura	<i>An. konderi</i>	51	32,27	0,000
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	30	55,83	
Pré apical branca/pré apical escura	<i>An. konderi</i>	51	35,76	0,009
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	30	49,90	
Apical escura/pré apical branca	<i>An. konderi</i>	51	42,62	0,417
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	30	38,25	
Setorial escura dividida	<i>An. konderi</i>	51	44,06	0,048
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	30	35,80	
Macho				
Mancha esc. II-tarso posterior	<i>An. konderi</i>	50	40,63	0,003
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	21	24,98	
Pupa				
Índice da paleta	<i>An. konderi</i>	50	39,47	0,388
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	25	35,06	
Larva				
EAP/espaco Eab	<i>An. konderi</i>	51	44,10	0,028
	<i>An. oswaldoi</i> s.s.	28	32,54	

Os números marcados em negrito são valores de $p < 0,05$

Sistemática

An. evansae Brethes, 1926, *An. rangeli* e *An. galvaoi* Causey, Deane & Deane, 1943, são muitas vezes coletados juntamente com *An. oswaldoi s.s.* e *An. konderi*. As fêmeas daquelas espécies podem apresentar a mancha escura no tarsômero II posterior correspondendo a $0,18 \pm 2$ do segmento sendo raro em *An. galvaoi*, que normalmente apresenta mais de 40% de negro no tarsômero. Com isso, podem ser confundidas com as do complexo oswaldoi. Porém, as fêmeas de *An. oswaldoi s.l.* podem ser diferenciadas das de *An. evansae* pelo tamanho da mancha umeral branca UB, que em geral é 4,0 vezes a pré-umeral (PUE) em *An. oswaldoi s.s.* (média = 4,51) e em *An. konderi* (média = 3,60) enquanto que é, em geral, 7 vezes maior em *An. evansae*. Além disso, a mancha subcostal corresponde em geral a 0,25 da setorial escura em *An. oswaldoi s.s.* e *An. konderi* ($0,30 \pm 0,10$ e $0,19 \pm 0,09$ respectivamente), ao passo que em *An. evansae* essa relação é de 0,45 (0,4 - 0,6); nas áreas claras da asa, as escamas são branco amareladas e branco em *An. oswaldoi s.l.* e definitivamente cremes em *An. evansae*.

As fêmeas de *An. oswaldoi s.l.* comparadas com as de *An. rangeli*, diferenciam-se pelo tamanho da mancha subcostal, que em *An. oswaldoi s.s.* e *An. konderi* é pequena, como já citamos (Tabela 4, 29) enquanto que em *An. rangeli* a mancha SC é 0,5 a 1,3 vezes a SE; além disso, as escamas da asa de *An. rangeli* são bem amareladas, emprestando ao mosquito um aspecto geral amarelado.

Nos machos, *An. oswaldoi s.s.*, *An. rangeli*, *An. aquasalis* e *An. galvoi* são semelhantes no aspecto geral do edeago. Porém, *An. oswaldoi s.s.* se diferencia dessas espécies graças ao aspecto do lobo ventral do claspete, já que *An. oswaldoi s.l.* apresenta um sulco mediano bem definido.

4.4 Análise molecular pela técnica de RAPD-PCR

Foram analisados um total 29 espécimens, 10 indivíduos morfologicamente identificados como *An. oswaldoi* s.s. (populações de LI, PA, SG e SM), 17 indivíduos de *An. konderi* (populações de CO, PV, CM, SG, SM e YU) e 2 indivíduos de *An. oswaldoi* s.l. (população de LI)

A dosagem de DNA extraído de cada espécimen variou de 2,8 a 9,4µg / mosquito. De quatro iniciadores testados, três (62, OPA8 e 131) geraram perfis de bandas (não houve amplificação com o 139).

Os fragmentos foram selecionados segundo Ballinger-Crabtree et al. (1992), e escolhidos aqueles com maior nitidez. Fragmentos muito próximos foram considerados como um só. Fragmentos cuja frequência foi abaixo de 7% não foram considerados.

É possível observar polimorfismo intraespecífico (Fig. 15) no número e tamanho das bandas dos indivíduos analisados do complexo *oswaldoi*. Foram obtidas bandas de tamanho entre 300 – 2000pb, para os três diferentes iniciadores. A combinação das diferentes bandas determinou 43 perfis distintos (Tabela 53).

A variação dos coeficientes de similaridade fenética de *An. oswaldoi* s.l. é mostrada na tabela 54. O fenograma (Fig. 16), baseado na distância fenética, revelou a formação de dois grupos principais: I' (indivíduos da população de PV) e I (indivíduos das populações de PV, SG, SM, CM, YU, CO, PA e LI), apresentando um índice de similaridade de 0,19. Os indivíduos da população de PV mostraram elevado polimorfismo.

O grupo I subdivide-se em: II (populações de SG, CM, YU, SM, CO e PV) identificados morfologicamente como *An. konderi* e III (populações do PA, SM, SG, e LI) identificados como *An. oswaldoi* s.s., cujo índice de similaridade foi de 0,24.

O grupo III apresentou os subgrupos i (populações de PA, SM, SG e LI) e ii (indivíduo da população de LI identificado como *An. oswaldoi* s.l.), com similaridade fenética de 0,29. Dentro do grupo i, os subgrupos A (população de LI) e B (populações SM, SG e PA) apresentaram índice de similaridade de 0,32. O grupo B subdivide-se nos subgrupos a (populações de (PA e SG) e a' (PA, SM e SG) com índice de similaridade de de IS = 0,36. Polimorfismo foi observado nos indivíduos das populações de SG e PA.

O grupo **II**, integrado pelos subgrupos **V** (indivíduo da população de SG) e **IV** (populações de SG, CM, YU e CO, PV), tiveram $IS = 0,26$. A população de SG mostrou-se heterogênea.

O grupo **IV** é formado pelos grupos **iii** (PV, CO, SM, YU) e **iv** (CM e SG), cujo índice de similaridade foi de 0,31. O grupo **iii** formado pelos grupos menores **C** (populações PV) e **D** (populações de CO, SM e YU), apresentam distância índice de similaridade de 0,36. O grupo **D** formado pelos subgrupos **b** (população de CO) e **b'** (população de YU e SM), apresentou um índice de similaridade de 0,39. Um certo grau de homogeneidade dentre os indivíduos das populações de YU e CO foi observado.

Observamos a presença de uma banda de aproximadamente 400pb (iniciador 62), somente na população de *An. oswaldoi s.s.* (10/10 indivíduos identificados como tal e mais 1 indivíduo identificado pela morfologia como *An. oswaldoi s.l.*), que pode constituir um possível fragmento diagnóstico. O mesmo pode se dizer para *An. konderi*: duas bandas, uma de aproximadamente 600pb (15/17 indivíduos) e outra de aproximadamente de 900pb (14/17 indivíduos) geradas pelo iniciador 131 (Fig. 17), que não foram vistos em *An. oswaldoi s.s.*

O índice de similaridade observada entre os grupos **II** (*An. oswaldoi s.s.*) e **III** (*An. konderi*) foi $IS = 0,24$, valor que permite considera-los espécies diferentes.

Tabela 53. Bandas comuns amplificadas pela técnica RAPD-PCR de *An. oswaldoi* s.l., procedentes de 7 populações brasileiras e 1 população peruana.

Populações	Número de fragmentos gerados																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
ES-LI-1-1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	9	9	9	9	9	9	9
*ES-LI-2	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	9	9	9	9	9	9	9
*ES-LI-3	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	9	9	9	9	9	9	9
AC-SG-4-1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	9	9	9	9	9	9	9
AC-SG-5-1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	9	9	9	9	9	9	9
AC-SG-6-1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	9	9	9	9	9	9	9
AC-SM-7-1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	9	9	9	9	9	9	9
AC-SM-8-1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	9	9	9	9	9	9	9
AC-SM-9-1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	9	9	9	9	9	9	9
MT-PA-10-1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	9	9	9	9	9	9	9
MT-PA-11-1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	9	9	9	9	9	9	9
MT-PA-12-1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	9	9	9	9	9	9	9
AM-CO-13-2	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	9	9	9	9	9	9
AM-CO-14-2	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1
AM-CO-15-2	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1
AM-CO-16-2	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1
RO-PV-17-2	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
RO-PV-18-2	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1
RO-PV-19-2	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1
RO-CM-20-2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
RO-CM-21-2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
RO-CM-22-2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1
AC-SG-23-2	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AC-SG-24-2	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AC-SM-25-2	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
PE-YU-26-2	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
PE-YU-27-2	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
PE-YU-28-2	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1
PE-YU-29-2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0

identificados morfológicamente como: * = *An. oswaldoi* s.l. 1 = *An. oswaldoi* s.l. 2 = *An. konderi* 9 = não gerou bandas

Tabela 53. Bandas comuns amplificadas pela técnica RAPD-PCR de *An. Oswaldoi* s.l., procedentes de 7 populações brasileiras e 1 população peruana.

Populações	Número de bandas geradas																			
	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43		
ES-LI-1	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0		
ES-LI-2	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0		
ES-LI-3	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0		
AC-SG-4-1	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1		
AC-SG-5-1	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1		
AC-SG-6-1	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0		
AC-SM-7-1	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1		
AC-SM-8-1	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0		
AC-SM-9-1	9	9	9	9	9	9	9	9	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0		
MT-PA-10-1	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0		
MT-PA-11-1	9	9	9	9	9	9	9	9	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1		
MT-PA-12-1	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0		
AM-CO-13-2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	9		
AM-CO-14-2	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	9		
AM-CO-15-2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	9		
AM-CO-16-2	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	9		
RO-PV-17-2	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9		
RO-PV-18-2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	9		
RO-PV-19-2	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	9		
RO-CM-20-2	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	9		
RO-CM-21-2	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	9		
RO-CM-22-2	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	9		
AC-SG-23-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	9		
AC-SG-24-2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	9		
AC-SM-25-2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	9		
PE-YU-26-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	9		
PE-YU-27-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	9		
PE-YU-28-2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	9		
PE-YU-29-2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	9		

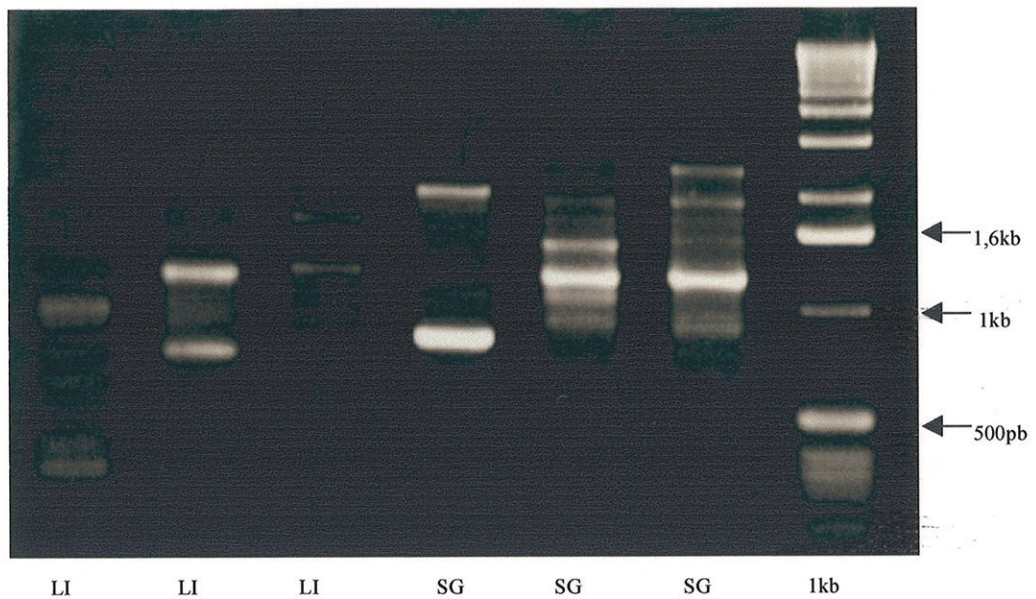
9 = não gerou bandas

1 = An. Oswaldoi.s.s 2 = An. konderi

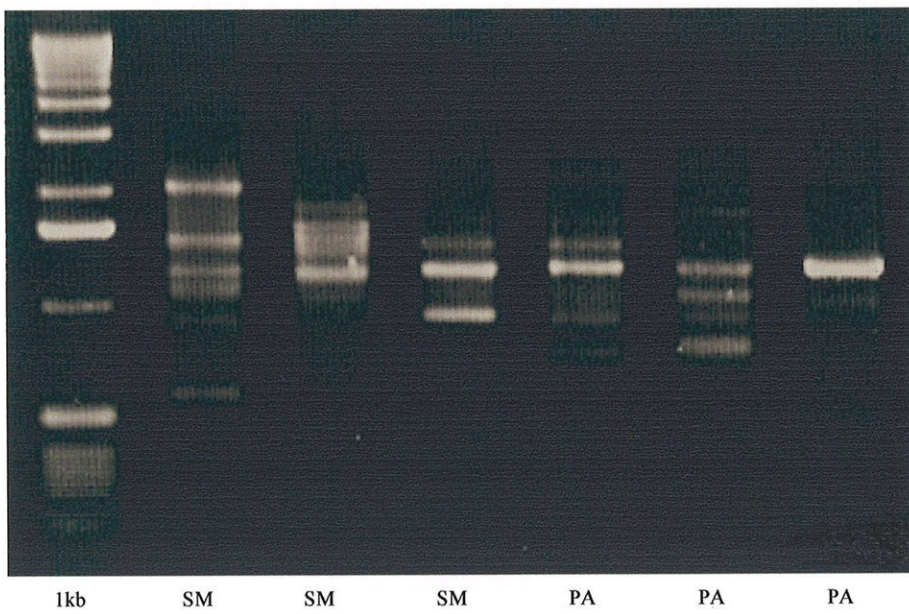
identificados morfológicamente como:

Tabela: 54. Matriz de coeficiente de similaridade gênica de exemplares de *An. Oswaldoi* s.s. (Linhares, Mato Grosso, Sena Madureira, e Senador Guiomar) e *An. konderi* (Coari, Porto Velho, Candeias de Jamari, Senador Guiomar, Sena Madureira e Yurimaguas)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	26	27	28	29
1=ES-LI-1	1.00																											
2=ES-LI	0.50	1.00																										
3=ES-LI	0.17	0.33	1.00																									
4=AC-SG-1	0.17	0.25	0.33	1.00																								
5=AC-SG-1	0.35	0.44	0.24	0.37	1.00																							
6=AC-SG-1	0.19	0.41	0.41	0.26	0.58	1.00																						
7=AC-SM-1	0.29	0.50	0.31	0.24	0.50	0.47	1.00																					
8=AC-SM-1	0.14	0.35	0.28	0.35	0.45	0.42	0.60	1.00																				
9=AC-SM-1	0.19	0.41	0.26	0.33	0.58	0.56	0.67	0.80	1.00																			
10=MT-PA-1	0.22	0.40	0.40	0.31	0.35	0.56	0.47	0.41	0.56	1.00																		
11=MT-PA-1	0.42	0.37	0.30	0.37	0.45	0.36	0.35	0.38	0.50	0.59	1.00																	
12=MT-PA-1	0.41	0.28	0.28	0.44	0.53	0.42	0.33	0.37	0.42	0.33	0.38	1.00																
13=AM-CO-2	0.24	0.25	0.19	0.11	0.30	0.33	0.24	0.22	0.26	0.17	0.08	0.21	1.00															
14=AM-CO-2	0.29	0.37	0.32	0.30	0.39	0.43	0.35	0.40	0.43	0.42	0.33	0.26	0.68	1.00														
15=AM-CO-2	0.20	0.15	0.16	0.15	0.21	0.29	0.14	0.25	0.29	0.20	0.21	0.18	0.50	0.54	1.00													
16=AM-CO-2	0.32	0.26	0.21	0.20	0.30	0.33	0.32	0.30	0.33	0.32	0.25	0.29	0.61	0.76	0.60	1.00												
17=RO-PV-2	0.14	0.15	0.27	0.15	0.24	0.27	0.23	0.21	0.19	0.23	0.17	0.13	0.18	0.27	0.12	0.27	1.00											
18=RO-PV-2	0.33	0.36	0.20	0.19	0.32	0.21	0.25	0.17	0.21	0.18	0.19	0.22	0.39	0.39	0.22	1.00												
19=RO-PV-2	0.20	0.21	0.23	0.13	0.28	0.24	0.20	0.19	0.24	0.29	0.28	0.18	0.27	0.35	0.29	0.35	0.20	0.50	1.00									
20=RO-CM-2	0.13	0.21	0.14	0.13	0.21	0.31	0.13	0.19	0.17	0.13	0.15	0.11	0.33	0.46	0.35	0.46	0.26	0.25	0.37	1.00								
21=RO-CM-2	0.19	0.20	0.06	0.13	0.26	0.22	0.19	0.18	0.16	0.12	0.14	0.11	0.36	0.42	0.43	0.42	0.18	0.33	0.40	0.56	1.00							
22=RO-CM-2	0.13	0.14	0.15	0.23	0.16	0.18	0.21	0.20	0.18	0.21	0.22	0.12	0.26	0.33	0.33	0.38	0.19	0.24	0.42	0.35	0.71	1.00						
23=AC-SG-2	0.19	0.20	0.21	0.20	0.14	0.16	0.19	0.18	0.16	0.12	0.20	0.11	0.20	0.24	0.42	0.29	0.11	0.24	0.16	0.22	0.33	0.35	1.00					
24=AC-SG-2	0.20	0.21	0.23	0.13	0.15	0.24	0.20	0.12	0.11	0.13	0.21	0.05	0.17	0.26	0.30	0.26	0.21	0.38	0.39	0.39	0.42	0.44	0.31	1.00				
25=AC-SM-2	0.17	0.33	0.46	0.33	0.30	0.41	0.40	0.29	0.33	0.40	0.24	0.21	0.55	0.52	0.36	0.41	0.17	0.43	0.38	0.32	0.41	0.36	0.25	0.27	1.00			
26=PE-Y-2	0.22	0.40	0.43	0.40	0.35	0.39	0.47	0.35	0.39	0.47	0.29	0.26	0.50	0.54	0.38	0.42	0.13	0.52	0.33	0.22	0.36	0.32	0.26	0.29	0.82	1.00		
27=PE-Y-2	0.13	0.21	0.23	0.31	0.15	0.17	0.29	0.27	0.31	0.38	0.21	0.18	0.37	0.38	0.38	0.32	0.00	0.40	0.26	0.14	0.30	0.32	0.25	0.21	0.59	0.73	1.00	
28=PE-Y-2	0.18	0.36	0.38	0.36	0.25	0.28	0.43	0.40	0.44	0.54	0.32	0.22	0.43	0.48	0.32	0.37	0.18	0.45	0.33	0.17	0.30	0.32	0.20	0.23	0.72	0.76	1.00	
29=PE-Y-2	0.15	0.17	0.08	0.08	0.11	0.13	0.25	0.14	0.13	0.15	0.05	0.13	0.33	0.29	0.23	0.29	0.11	0.37	0.22	0.22	0.41	0.28	0.13	0.24	0.39	0.41	0.73	1.00



LI LI LI SG SG SG 1kb



1kb SM SM SM PA PA PA

Figura: 15. Perfis de bandas mostrando polimorfismo de *Anopheles. oswaldoi* s.s., usando iniciador OPA8

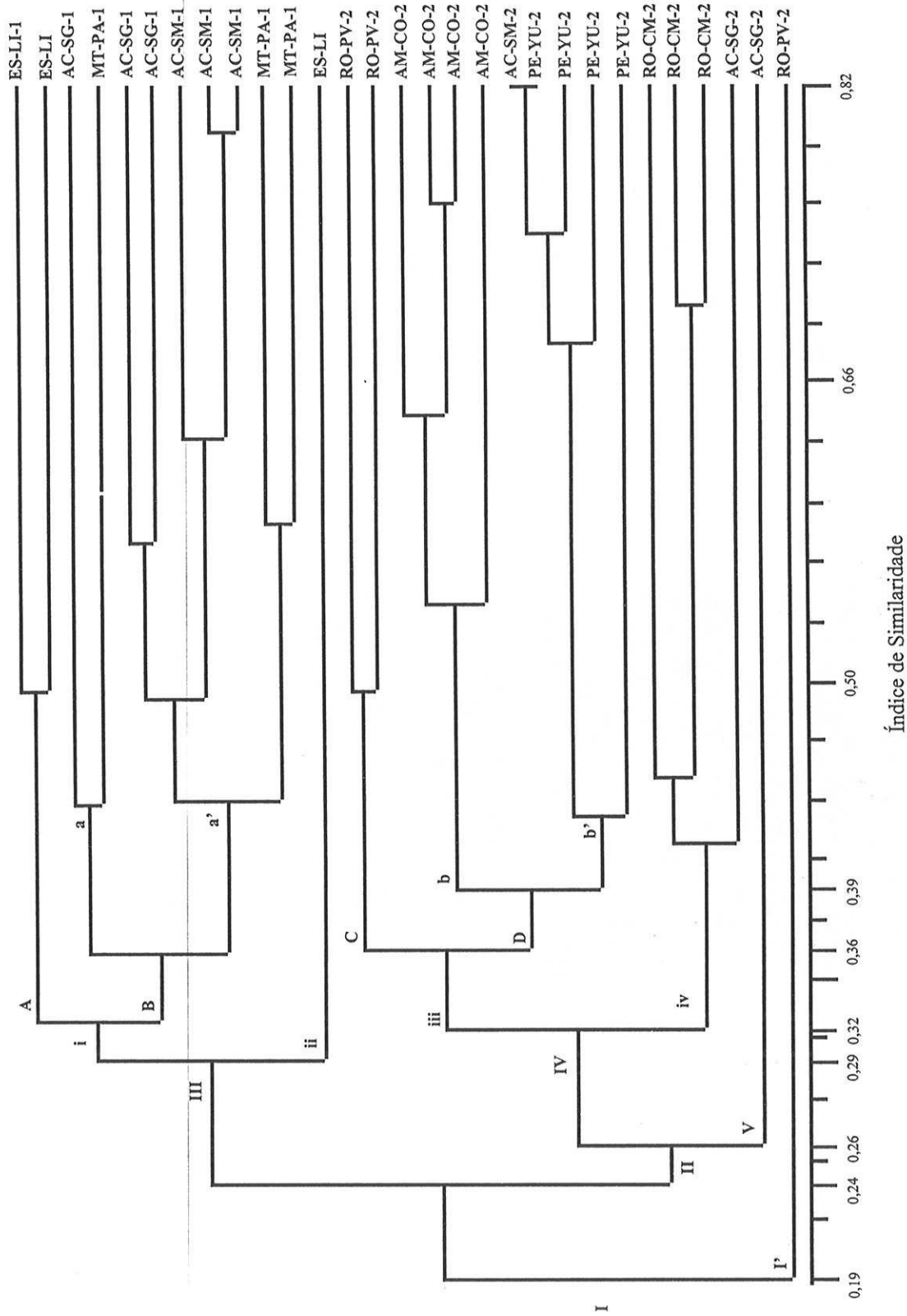


Figura: 16. Fenograma mostrando índice de similaridade entre *An. oswaldoi s.l.* Populações: Linhares (LI), Peixoto de Azevedo (PA), Sena Madureira (SM), Senador Guiomar, Coari (SG), Porto Velho (PV), Candeias de Jamari (CM) e Yurimaguas (YU).

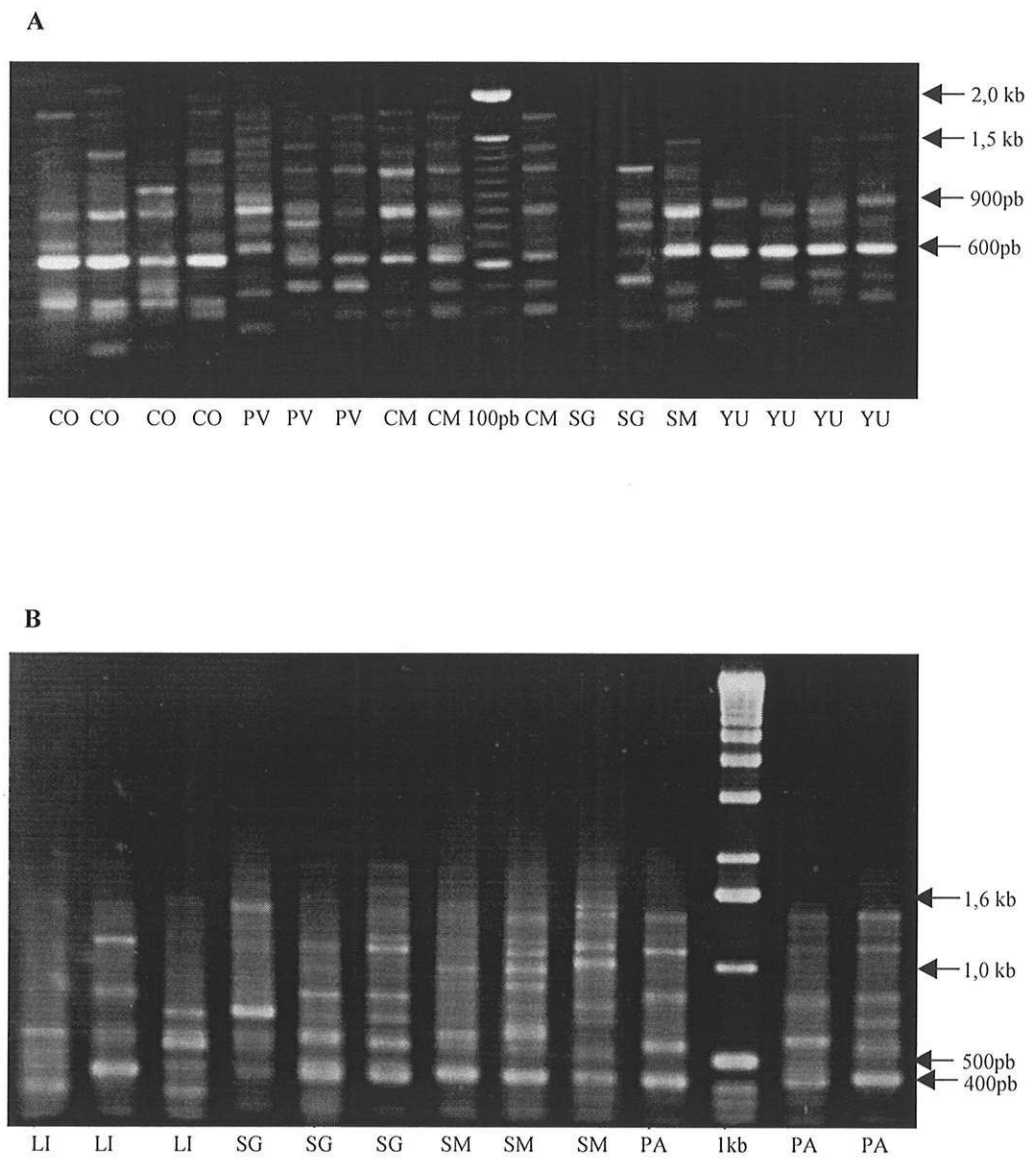


Figura: 17. Gel mostrando as bandas: A) 600pb e 900pb (iniciador 131) em *An. konderi* e B) 400pb (iniciador 62) presente em *An. oswaldoi s.s.*

5. Discussão

No presente estudo foram redescritos e ilustrados a fêmea, o macho, a pupa, a larva e ovo de *An. konderi*. Destaca-se que a quetotaxia e demais aspectos morfológicos da larva e da pupa da espécie são pela primeira vez conhecidos para a ciência. Além disso, aqui elege-se um neótipo para *An. konderi* Galvão & Damasceno. Complementando, apresenta-se uma redescrição de *An. oswaldoi* s.s. (Peryassú) em todos os seus aspectos morfológicos e morfométricos de adultos e formas imaturas.

Apesar do recente aumento do interesse pela taxonomia dos anofelinos Neotropicais, em vista do aumento do número de espécies vetoras potenciais de malária e da descoberta de que algumas delas representavam complexo de espécies (Arruda 1986, Oliveira-Ferreira 1990, Póvoa et al. 1993 e Rosa-Freitas et al. 1998), *An. oswaldoi* s.l. muito raramente vinha sendo estudado. Uma explicação para isso pode ser encontrada na considerável dificuldade que hoje normalmente se tem para coletá-lo. De fato a frequência de *An. oswaldoi* s.l. é baixa em praticamente todas as áreas de seu território (Coutinho 1946, Deane et al. 1948, Lourenço-de-Oliveira & Luz 1996, Tadei et al. 1998), dificuldade que também enfrentamos para a realização do presente estudo em todas as localidades em que trabalhamos. Por isso, as análises morfológicas, morfométricas e moleculares tiveram de incluir número reduzido de exemplares e o emprego de outras técnicas, como a análise de isoenzimas, foi descartado.

Bionomia

An. oswaldoi e *An. konderi* apresentam distribuição anual relacionada aos níveis da precipitação pluviométrica. Anualmente, devido às enchentes, os igarapés e rios podem transbordar e formar novos criadouros naturais em áreas florestadas, o que oferece condições apropriadas para o desenvolvimento dessas espécies. As enxurradas e as

prolongadas secas interferem diretamente na abundância da espécie, já que promovem respectivamente, o arrasto ou a desidratação das formas imaturas. Indiretamente, os crescentes desmatamentos e a diminuição do nível dos cursos de água, fenômenos que têm sido verificados em várias partes da América do Sul, influenciam negativamente na oferta de criadouros para estas espécies. Nós mesmos verificamos modificações na frequência de *An. oswaldoi s.l.*, nas coletas realizadas em Linhares. Em 1996, o rio Barra Seca (Espírito Santo), que limita o Município de Linhares (Reserva Florestal de Sooretama) com o Município de Jaguaré, saiu de seu curso normal, devido às chuvas ocorridas nos meses de janeiro e fevereiro desse ano. No mês de abril que se seguiu, conseguimos coletar vários exemplares tanto de *An. konderi* quanto de *An. oswaldoi s. s.*, pois instalou-se um prolongado período de estio, provavelmente consequência do fenômeno "El Niño". Nos anos 1997 (outubro) e 1998 (março e julho) não coletamos nenhum *An. oswaldoi s.s.* Um outro exemplo da influência da quantidade de áreas alagadas na floresta pode se extrair de estudos efetuados em hidroelétricas em rios amazônicos. Quando a represa de Balbina se formava, em 1988, houve uma explosão populacional de mosquitos, identificados como *An. oswaldoi s.l.* pela Eletronorte (*apud* Lourenço-de-Oliveira 1993). A frequência da espécie era de 5,8 mosquitos/homem/hora de coleta feita na copa da árvore, quando Lourenço-de-Oliveira & Luz (1996) visitaram a área nos anos de 1988 e 1989 e o reservatório ainda se estabilizava. Esses são eventos isolados, atípicos, situação em que um número mais elevado de *An. oswaldoi s.l.* pode ser coletado.

Fêmeas de *An. konderi* foram por nós coletadas com maior frequência em companhia de *An. mediopunctatus s.l.* e *An. mattogrossensis*, como em Coari, por exemplo. Diminuiu a frequência de ambos *An. konderi* e *An. oswaldoi s.s.* quando na fauna abundavam *An. benarrochi*, *An. rangeli*, *An. evansae*, *An. nuneztovari* e *An. triannulatus*, como foi visto por nós em Linhares, Senador Guiomar e Sena Madureira. Com efeito, as larvas de *An. mediopunctatus* e *An. mattogrossensis* são umbrófilas e mais silvestres que antrópicas como *An. konderi* e *An. oswaldoi s.s.* Muito mais raramente, *An. oswaldoi s.s.* e *An. konderi* têm sido coletados quando na fauna abundam *An. albitarsis s.l.* e *An. darlingi*, espécies mais antrópicas (Forattini et al. 1993, Lourenço-de-Oliveira & Luz 1996). Algumas buscas de *An. oswaldoi s.l.* foram infrutíferas, mesmo sendo realizadas em épocas e locais onde tradicionalmente acreditava-se que a espécie era frequente há poucas décadas. Como exemplo citamos o ocorrido em junho/1998 no Estado do Pará, Município de Oriximiná onde a FNS local assegurava que *An. oswaldoi s.l.* era freqüente - quando

coletamos 1.070 anofelinos usando isca animal (bezerro), mas nenhum era *An. oswaldoi s.l.* No Estado do Rio de Janeiro, as coletas feitas nas localidades de Porto das Caixas e Silva Jardim (Baixada Fluminense, onde Coutinho 1946, por exemplo coletou varias vezes *An. oswaldoi s.l.*), de janeiro a março/1998 não renderam um único exemplar de *An. oswaldoi s.l.*

As nossas observações sobre a atividade hematofágica crepuscular vespertina de *An. oswaldoi s.l.*, no Peru e Brasil, coincidem com as realizadas por Deane et al. (1948). Porém, Rubio-Palis & Curtis (1992) observaram, em Jabillos (Venezuela), que a maior atividade hematofágica ocorria próximo às 21:00h; Elliot (1967) observou, na Colômbia, que a maior atividade hematofágica de *An. oswaldoi s.l.* ocorria de 23:00 até 1:00h. Possivelmente, essas populações venezuelana e colombiana sejam diferentes das estudadas por nós.

An. oswaldoi s.l. é frequentemente achado em áreas de transmissão de malária simiana, o que pode sugerir estar envolvido na transmissão desta zoonose potencial (Deane et al. 1971, Lourenço-de-Oliveira 1996). Quanto à malária humana, sabe-se que nas últimas décadas Arruda et al. (1986) realizaram estudos no Pará, para identificar os vetores potenciais da malária por *P. vivax* e *P. falciparum*, usando ELISA (*Enzyme-Linked immunosorbent assay*) e IRMA (*immunoradiometric assay*): detectaram 1 (0,2%) *An. oswaldoi s.l.* infectado com *P. vivax*. Oliveira-Ferreira et al. (1990) investigaram infecção natural em anofelinos do Estado de Rondônia, usando IRMA: detectaram infecção por *P. falciparum* (1,6%) em *An. oswaldoi s.l.* Tadei et al. (1998), no Amazonas, detectaram, através de ELISA infecção por *P. falciparum* em *An. oswaldoi s.l.* Não sabemos, com isso, qual das espécies do complexo oswaldoi foi encontrada naturalmente infectada com plasmódios humanos pelos autores supracitados.

Exatamente para investigar possível diferença na susceptibilidade no complexo oswaldoi, realizamos um ensaio com populações de *An. oswaldoi s.s.* do Acre e de *An. konderi* de Rondônia. Verificamos que somente *An. oswaldoi s.s.* permitiu a evolução da infecção por *P. vivax* até a chegada de esporozoítas nas glândulas salivares (Marrelli et al. 1999b).

Variações morfométricas e morfológicas

An. oswaldoi s.s. apresenta alguns caracteres com variações intrapopulacionais e interpopulacionais, tanto na pupa quanto na larva, o que não permitiu a comparação de tais caracteres entre esta espécie e *An. konderi*. Vale citar, contudo, que a relação largura de EAP/ espaço Eab apresenta diferença significativa entre as duas espécies ($p = 0,028$) (Tabela 52).

Nas comparações morfométricas entre fêmeas de *An. oswaldoi s.s.* e *An. konderi*, pelo teste Mann-Whitney (Tabela 52), só foram considerados 9 dos 13 caracteres analisados para cada espécie, já que quatro deles (comprimento da asa; comprimento palpo/fêmur I anterior, proporção de mancha escura do tarsômero III anterior e comprimento da mancha escura do II tarso médio) apresentaram diferenças interpopulacionais significativas ($p < 0,05$) em *An. konderi*, não sendo aconselhável compará-los com *An. oswaldoi s.s.*

Dos 9 caracteres analisados nas fêmeas, cinco revelaram diferenças entre *An. oswaldoi s.s.* e *An. konderi* [área escura do tarsômero II posterior ($p < 0,001$); proporção ocupada pela área escura basal do tarsômero II anterior ($p < 0,001$); relação da mancha SC/SE ($p < 0,001$); entre a PB/PE ($p = 0,009$); proporção de indivíduos que apresentam a SE dividida ($p = 0,048$)].

A coloração escura dos tarsômeros, isto é, a tonalidade das escamas escuras, seria um caráter para separar *An. konderi* de *An. oswaldoi s.s.*, pois na primeira espécie as partes escuras nesses segmentos são de um negro intenso, brilhoso, enquanto em *An. oswaldoi s.s.* o negro é um pouco esmaecido, fosco.

Através do posto médio do teste Kruskal-Wallis aplicado aos dados morfométricos, pudemos agrupar populações semelhantes (posto médio próximo) ou populações distintas (posto médio distante) (Tabelas 47 a 50) dentro de cada um dos *taxa* que separamos com base nos caracteres morfológicos.

Segundo a análise intraespecífica em *An. konderi*, vimos que, nas fêmeas, em relação ao índice comprimento palpo/comprimento fêmur anterior, as populações de CM e LI (posto médio = 15,77 e 19,25 respectivamente) são semelhantes e o posto médio das populações de YU e PV apresentam valores próximos, com tendência à semelhança; as populações de SG e CO (33,83 e 38,95 respectivamente) formam também um grupo homogêneo, ao passo que a população de SM (posto médio = 5,25) mostrou-se diferente de todas. Considerando-se o carácter proporção da mancha escura do III tarso anterior,

observou-se que as populações de LI, SG, SM, PV e CM parecem ser mais homogêneas (posto médio = 13,25 a 28,27), enquanto que a população de CO (posto médio = 43,36) se mostra diferente das outras (Tabela 47).

Na genitália dos machos, quando considerada a relação entre comprimento da cerda par basal/largura da base do gonocoxito, verificou-se que as populações de *An. konderi* SM, SG e YU (posto médio = 38,59 a 48,00) e as de CM, PV, CO e LI (posto médio = 18,36 a 22,50) são respectivamente semelhantes, formando dois grupos; o índice comprimento do gonocoxito/largura da base do gonocoxito revelou que as populações de SM e YU são diferentes das demais; a população de CO (posto médio = 12,58) está mais próxima de LI (posto médio = 17,00); na análise da relação maior largura do gonocoxito/largura da base do gonocoxito, as populações de SM e YU (posto médio = 42,00 e 42,27 respectivamente) formam um grupo; as populações mais homogêneas foram respectivamente LI e SG (posto médio = 28,00) e PV e CM (posto médio = 22); a população de CO (posto médio = 15,08) mostrou-se novamente diferente das demais.

Na larva de *An. konderi*, quanto ao carácter comprimento da papila anal, as populações de CM, CO, e SM (posto médio = 40,95; 15,14 e 7,75) mostraram-se diferentes entre elas e entre as outras populações analisadas (LI, SG, YU e PV); em relação à proporção de indivíduos que apresentam inserção da 1-X dentro da sela, a população de SM (posto médio = 44,00) mostrou-se diferente, enquanto as populações de CO e LI e de PV, CM e YU (posto médio = 19,00 a 26,50) são respectivamente semelhantes e formaram dois grupos homogêneos; quanto ao carácter tipo de pecten, as populações de SM e SG (posto médio = 47,00 e 38,50 respectivamente) são diferentes das outras (PV, CM, LI e CO).

Nota-se, ainda, que a população de *An. konderi* de CO mostrou-se diferente das demais quando considerados alguns caracteres da fêmea, como a proporção da mancha escura do III tarso anterior e, no macho, quanto à proporção do comprimento /largura da base do gonocoxito. As populações de PV e CM são homogêneas quanto a alguns dos caracteres analisados da fêmea (proporção da mancha escura do III tarso anterior) e do macho (a maior largura do gonocoxito/largura da base do mesmo). Mas, no índice comprimento palpo/fêmur anterior, estas proporções são diferentes.

De todos os modos, as populações de *An. konderi* estudadas mostraram homogeneidade em 11 caracteres nas fêmeas, quatro caracteres nos machos, todos os caracteres analisados na pupa e quatro caracteres na larva (Tabelas 47 a 50). Isto é, do total

de 32 caracteres analisados, 26 foram homogêneos. Isto está dentro de um espectro de variações que ocorre entre populações de uma mesma espécie.

Variações intraespecíficas também foram notadas quando se procedeu análise de exemplares de *An. oswaldoi* s.s. Nas fêmeas, com relação ao caráter comprimento da asa, observamos que as populações de *An. oswaldoi* s.s. de SM e SG (posto médio = 8,17 e 8,25) se assemelhavam e, ao mesmo tempo se distinguiam do grupo formado pelas populações de OCA, LI, PA (posto médio = 13,44 a 26,33); no comprimento da mancha escura do II tarso médio, as populações de SM e OCA (pm = 6,17 e 21,63) são ao mesmo tempo diferentes entre si e das populações de LI, PA, SG (pm = 13,50 a 17,83).

No macho, o caráter comprimento da asa da população de *An. oswaldoi* s.s. de OCA (posto médio = 3,00) é diferente do grupo das populações LI, PA, SG e SM (posto médio = 10,13 a 16,81); a análise do índice comprimento do edeago/claspete, revelou que as populações de OCA, SG e LI (posto médio = 5,20 a 8,50) formam um grupo homogêneo e diferente do formado pelas populações de PA, e SM (posto médio = 17,13 e 14,50 respectivamente); quanto ao índice comprimento/ largura do VIII esternito, as populações de PA e OCA (posto médio = 8,60 e 7,10, respectivamente) são diferentes do grupo formado pelas populações de LI, SG e SM (12,50 a 19,83).

Quanto à análise dos caracteres da pupa, o índice do meato na população de OCA (posto médio = 6,00) distinguia-se do grupo formado pelas populações de LI, PA, SG e SM (posto médio = 9,25 a 17,38); o índice da trompa nas populações de PA e SG (posto médio = 9,44 e 6,33, respectivamente) é semelhante, enquanto que nas populações de LI, SM e OCA esse caráter permite a formação de outro grupo, por ser semelhante; quanto ao índice comprimento da cerda 1-V/comprimento do V segmento abdominal, as populações de SG e SM são diferentes entre si e diferentes das populações de LI, PA e OCA, que por sua vez formam um grupo homogêneo em *An. oswaldoi* s.s.

Na larva, o índice clipeal nas populações de *An. oswaldoi* s.s. de PA, SG, SM e LI é semelhante, enquanto a população de OCA é diferente; a análise do índice comprimento da antena/ espaço entre a cerda 1-A e a base da antena revelou que as populações de LI e SM são diferentes entre elas e diferentes do grupo formado pelas populações de PA, SG e OCA; para a relação entre o comprimento da papila anal/comprimento da cerda 4-X as populações de SG e SM (posto médio = 4,50 e 4,17 respectivamente) são homogêneas e diferentes do grupo formado pelas populações de LI, OCA e PA (posto médio = 13,0 a

13,23); quanto aos tipos de pecten, a população de SM (posto médio = 26,00) se distingue do grupo formado pelas demais populações de LI, PA, SG, SM e OCA (posto médio = 10,0 a 15,5).

A população de *An. oswaldoi* s.s. de Ocamo (OCA), Venezuela, foi considerada a mais polimórfica quanto aos caracteres analisados (a proporção da mancha escura do II tarso médio, na fêmea; comprimento da asa dos machos; o índice do meato das pupas e o índice clipeal na larva).

Dos 13 caracteres analisados em *An. oswaldoi* s.s., 11 foram homogêneos na fêmea; no macho, quatro dentre sete caracteres analisados foram homogêneos; na pupa, dois dentre cinco, foram homogêneos e, na larva, de sete caracteres, dois foram homogêneos. No total dos 32 caracteres analisados em *An. oswaldoi* s.s., 19 foram homogêneos (Tabela 47 a 50). Com isso verifica-se que as variações interpopulacionais observadas em *An. oswaldoi* s.s. foram mais numerosas que a detectada em *An. konderi*.

Apesar de demonstrarem variações interespecíficas, *An. oswaldoi* e *An. konderi*, compartilham alguns dos caracteres analisados. Através do teste Mann-Whitney, analisaram-se 9 caracteres das fêmeas das duas espécies e quatro deles foram semelhantes; nos machos e na larva os únicos caracteres analisados por este teste não foram compartilhados por essas espécies; na pupa, o índice da paleta (único caracter analisado) foi semelhante entre as espécies. Do total de 12 caracteres analisados (fêmea, macho, pupa e larva) cinco foram compartilhados entre *An. oswaldoi* s.s. e *An. konderi* e sete foram heterogêneos.

A morfometria e o aspecto geral das superfícies dorsal, lateral (franja, tubérculos do convés anterior e médio) e ventral (células coriônicas) foram quase semelhantes nas diferentes populações analisadas de *An. konderi*. Mas, na população de CM, o comprimento do ovo foi menor (média 390µm) que os de fêmeas das populações de CO, PV, e SM (Tabela 51). De qualquer modo, a média geral do comprimento de ovos de *An. konderi* foi menor (421µm) que o obtido por Lounibos et al. (1997) ao medir espécimens da população de Alto Linares – Bolívia (média 520 µm ± 3,5). A largura dos ovos da maioria dos indivíduos das populações que examinamos é semelhante (média 130µm), mas menor que as de Alto Linares (média 197µm) segundo Lounibos et al. (1997). A relação comprimento/largura e o número de gomos dos flutuadores dos ovos de *An. konderi* de todas as populações que examinamos (CO, PV, CM e SM) e da população boliviana estudada por Lounibos et al. (1997) são semelhantes.

Observamos dois tipos de tubérculos em ovos de *An. konderi*: um na população de SM (Fig. 7b), onde o tubérculo é tão largo quanto longo e outro tipo na população de CO, CM e YU, onde o tubérculo é mais longo que largo. Com referência aos tipos de aparelho micropilar, vimos que a população de CM (Figura 9b) assemelha-se ao observado por Lounibos et al. (1997), na população de Alto Linares, Bolívia. Esses tipos de variações por nós observadas são comuns em algumas espécies do subgênero *Nyssorhynchus* e normalmente não são consideradas suficientes para definir complexo de espécies, como se observou em *An. aquasalis* (Linley et al. 1993, Flores-Mendoza 1994).

Um tipo de aparelho micropilar encontrado em ovos de *An. konderi* (Fig. 9a) é semelhante ao observado por nós (Fig. 11c) e por Lounibos et al. (1997) em populações de *An. oswaldoi s.s.*

Observamos que nos ovos de *An. oswaldoi s.s.*, os flutuadores são um pouco afastados no lado dorsal, expondo parte do convés; um detalhe também observado por Lounibos et al. (1997), porém em ovos de *An. konderi*.

A morfometria dos ovos de *An. oswaldoi s.s.*, por nós realizada, mostrou que o comprimento dos ovos das populações que examinamos são menores (média 420µm) que os examinados por Lounibos et al. (1997) das populações desta espécie de Capanema - Brasil (média de 481µm ± 3,4), Brokopondo - Suriname (média 475µm ± 4,5) e Coca - Equador (média 506µm ± 4,5).

Em geral, observamos que muitos caracteres do ovo eram compartilhados entre as espécies do complexo oswaldoi: tipo de aparelho micropilar, grau do afastamento dos flutuadores, número de gomos nos flutuadores e tipo de células coriônicas. Esse tipo de homologia no aspecto geral dos ovos, entretanto, tem sido observado entre espécies bastantes distintas como *An. benarrochi* e *An. rangeli* (Linley & Lounibos 1993, Lounibos et al. 1997).

An. oswaldoi s.s. e *An. konderi* são duas espécies bastante polimórficas, especialmente na pupa e na larva, sendo, porém, morfologicamente similares quanto à aparência dos adultos e do ovo, exceto pelo aspecto do edeago. Morfometricamente, porém, cinco caracteres ou índices analisados na fêmea e um na larva revelaram diferenças significantes entre estas taxa.

Segundo nossas observações, *An. oswaldoi s.s.* e *An. konderi* são espécies simpátricas no Acre e no Espírito Santo (Figura 14).

A pesar da heterogeneidade e distância genética às vezes consideravelmente elevada entre as populações estudadas das duas espécies que separamos morfológicamente em *An. oswaldoi s.l.*, observamos que a técnica RAPD-PCR identifica e agrupa na sua maior parte, os indivíduos por área geográfica, mostrando um elevado polimorfismo coincidente àquele observado nas análises morfológicas e morfométricas por população e por espécie.

Variações Genotípicas

Os valores limite de índice de distância fenética [D] (ou de similaridade), permite estimar os níveis de relação entre populações co-específicas, espécies ou subespécies, e mesmo gênero; alguns autores (Thorpe & Solé-Cava 1994) trabalharam com esses limites em diversos reinos animais e determinaram diferentes limites, critérios, embora aleatórios, para distribuições entre esses níveis taxonômicos.

A técnica de RAPD-PCR, por sua vez não tem sido usada como instrumento para se fazerem conjecturas filogenéticas. Por outro lado, RAPD-PCR tem sido amplamente usadas para distinguir espécies ou raças e subespécies de cada origem geográfica, a partir da identificação de bandas diagnósticas, o que já foi útil no estudo de *Anopheles (Nyssorhynchus)* (Wilkerson *et al.* 1995a,b, Manguin *et al.* 1999 e Lounibos *et al.* 1988). Porém, em trabalhos realizados com afídeos e com *Aedes albopictus*, por Black IV *et al.* (1992) e Black IV (1996), foram construídos dendrogramas a partir dos resultados de RAPD-PCR, embora limites de valores de distância fenética ou identidade fenética para separar ou agrupar *taxa* não tem sido atribuídos com o uso desta técnica.

A distância genética observada entre os grupos II e III (Fig. 16) foi $IS = 0,24$, o que está na faixa proposta para espécies diferentes, se considerados, por exemplo, os índices propostos pelos autores supracitados que trabalharam com análises isoenzimáticas. Esses grupos no complexo oswaldoi corresponderiam a dois *taxa* distintos, coincidentes com o morfotipo de *An. konderi* (grupo II) e *An. oswaldoi s.s.* (grupo III).

Dentre os três indivíduos analisados de PV, um deles, morfológicamente identificado como *An. konderi*, apresentou diferença (não se encontraram os fragmentos 600pb e 900pb no RAPD-PCR), tendo sido agrupado separadamente como grupo I' ($IS = 0,19$), enquanto que os dois outros indivíduos foram agrupados como *An. konderi*.

O grupo II formado pelos subgrupos IV e V, teve um índice de similaridade de 0,26, também considerada elevada.

O grupo III apresentou os subgrupos i (populações de PA, SM, SG e LI) e ii (população de LI), com IS = 0,29. Com efeito, o único indivíduo que representa o grupo ii foi separado porque não gerou a banda de 400pb (iniciador 62) típica de *An. oswaldoi s.s.* Por não amplificar a seqüência correspondente a banda 400pb indicaria se tratar de uma terceira espécie críptica, dentro do que até agora consideramos *An. oswaldoi s.s.* Coincidentemente, na análise de ITS2 de um indivíduo de Espírito Santo, este se separou, destacando-se, das demais populações analisadas (Marrelli et. al. 1999b). Porém, outros indivíduos de Espírito Santo, que nós testamos no presente estudo, agrupam-se (com maiores índices de similaridade) com os de outras áreas. Mesmo assim, o grupo i, formado pelos subgrupos A (população LI) e B (populações de SM, SG e PA), ainda teve um IS de 0,32.

Assim, a técnica RAPD-PCR mostrou fidelidade para detectar populações diferentes, porém simpátricas, e polimorfismos intraespecíficos tanto em *An. oswaldoi s.s.* quanto em *An. konderi*, procedentes do Acre (SM e SG) e do Espírito Santo (LI). Além disso, agrupou populações por área geográfica, como observado no grupo II (populações de CM, YU, CO e SG) e no grupo III (população de SM).

Ao analisarmos a seqüência do espaçador transcrito interno do DNA ribossômico (ITS2) de *An. oswaldoi s.l* (Marrelli et al. 1999b) verificamos que os espécimens analisados foram agrupados em 4 grupos, com diferenças interespecíficas na seqüência nucleotídica. Um grupo denominado 1 era formado pelas populações do Acre, Amazonas e Rondônia, com similaridade >99%; o segundo grupo formado pelas populações de Amapá e Venezuela com 100% de similaridade; enquanto que o terceiro grupo, formado pela população do Espírito Santo, teve variação nucleotídica de 3,8 a 4,5% e o quarto grupo formado pela população do Peru apresentou variação de 12,1 a 13,0% da região ITS2. Considerando nossas atuais observações, julgamos que o grupo 1 corresponderia ao *An. konderi*. É incerta a comparação do terceiro grupo com uma das espécies que separamos no presente estudo, já que ele corresponde a espécimen de LI e indivíduos desta região podem ser relacionados aos nossos subgrupos i ou ii. (Fig. 16). O quarto grupo de Marrelli et al.(1999b), onde ficou isolada a população de Peru, foi estabelecido a partir de amostra procedente também de Yurimaguas. Os espécimens que analisaram desta localidade, por RAPD-PCR, agrupam-se com as populações de Amazonas, Rondônia e parte do Acre, correspondendo a *An. konderi*. Há, com isso, possibilidade de que o quarto grupo de Marrelli et al. 1999b corresponder a outra espécie no complexo oswaldoi.

Os quatro *taxa*, representados pelos grupos I', II, III e ii (Fig. 16), apresentam distâncias genéticas compatíveis para serem considerados como constituindo um complexo de espécies levando-se em conta os limites estabelecidos em estudos de isoenzimas, como citado anteriormente. Contudo, os caracteres morfológicos são comuns, sendo as fêmeas desses grupos praticamente indistinguíveis.

Nossos resultados com RAPD-PCR assemelham-se aos de Wilkerson et al. (1995a,b), que estudavam o complexo *albitarsis*. Observaram a presença de quatro espécies que foram designadas como *An. albitarsis* A, B, C e D. Essas espécies eram identificáveis, mesmo com alto polimorfismo, por bandas diagnósticas. Os grupos designados corresponderam à espécies já descritas: o grupo A correspondente ao *An. albitarsis* Lynch-Arribáizaga, o grupo C correspondente ao *An. marajoara* Galvão & Damasceno, o grupo D correspondente a *An. deaneorum* Rosa-Freitas e o grupo C ainda não descrito. A técnica RAPD-PCR deu suporte para ressuscitar *An. trinkae* de sinonímia com *An. dunhami* (Lounibos et al. 1998). Manguin et al. 1999 também usaram a técnica RAPD-PCR para estudar o provável complexo *darlingi* e foram capazes de separar grupos por área geográfica. Com esse resultado definiram *An. darlingi* como uma só espécie. Para nós, as técnicas de RAPD-PCR e análise da sequência do ITS2 demonstram a presença de quatro grupos do complexo *oswaldoi*. Duas espécies aqui estão sendo redescritas *An. oswaldoi* s.s. e *An. konderi*.

Em nosso estudo, o fragmento de 400pb (iniciador 62) e os fragmentos 600 e 900pb (iniciador 131) são possíveis bandas diagnósticas para o *An. oswaldoi* s.s e *An. konderi*, respectivamente.

Segundo nossos achados os valores de distância fenética obtidos para estimar variações intrapopulacionais em *Nyssorhynchus* seriam IS menor que 0,20; para variações intra-específicas, de 0,31 a 0,39; para espécies crípticas, de 0,25 a 0,32 e, para espécies, acima de 0,24.

6. Conclusões

- *An. oswaldoi* é um complexo de espécies crípticas.
- Pelo menos dois morfotipos foram identificados, associados, respectivamente, a *An. oswaldoi* s.s. (Peryassú) e *An. konderi* Galvão & Damasceno.
- Esses morfotipos coincidem com dois dos grupos revelados por RAPD-PCR.
- *An. oswaldoi* s.s. e *An. konderi* aparentemente têm hábitos hematofágicos e criadouros semelhantes, mas distinta susceptibilidade a plasmódios.
- *An. oswaldoi* e *An. konderi* são simpátricos nos Estados do Acre e do Espírito Santo. *An. konderi* parece ser espécie alopátrica em Coari, Amazonas, em Rondônia e Peru (Yurimaguas), enquanto que *An. oswaldoi* s.s. é espécie alopátrica no Estado do Mato Grosso e na Venezuela (Ocamo).
- As análises morfológicas das fêmeas, pupas, larvas e ovos indicaram que ambos *An. oswaldoi* s.s. e *An. konderi* exibem elevado grau de polimorfismo, o que foi corroborado pelas análises estatísticas efetuadas.
- *An. konderi* e *An. oswaldoi* s.s. são diferenciáveis mais facilmente pelo aspecto do edeago, na genitália masculina. Cinco caracteres morfométricos na fêmea e um na larva apresentaram diferença estatisticamente significativa entre *An. oswaldoi* s.s. e *An. konderi*.
- Observaram-se bandas diagnósticas de 400pb (iniciador 62) em *An. oswaldoi* s.s. e de 600pb e 900pb (iniciador 131) em *An. konderi*, pela técnica RAPD-PCR.
- Com base nas análises morfológicas, morfométricas e moleculares revalidamos *An. konderi* Galvão & Damasceno 1942 da sinonímia de *An. oswaldoi* Peryassú 1922, elegemos um neótipo para *An. konderi* e redescrevemos ambas as espécies com detalhe e ilustrações.
- As análises moleculares sugeriram, além de *An. konderi* (grupo II) e *An. oswaldoi* s.s. (grupo III), a existência de outros dois membros do complexo oswaldoi: um indivíduo da população de Porto Velho, RO (grupo I'), identificado morfológicamente como *An.*

konderi, e um indivíduo da população de Linhares, identificado como *An. oswaldoi* *s.l.*(grupo ii).

7. SUMMARY

A morphological, morphometric and molecular analysis was conducted with specimens morphologically identified as *Anopheles oswaldoi* s.l. from 9 localities in Brazil, Peru and Venezuela. The population of Ocamo, Venezuela, was not analyzed by molecular techniques. The morphological and morphometric analyses included characters of adults male and females, eggs, larvae and pupae, and was done through light microscopy, except the eggs which were also studied by scanning electron light microscopy. A total of 40 morphometric characters and indices were compared between populations: 13 in female, 7 in male, 5 in the pupa, 7 in the larva and 8 in the egg. Molecular analysis was performed random amplified polymorphic DNA-RAPD and polymerase chain reaction-PCR, RAPD-PCR. We found that *An. oswaldoi* is a species complex, in which at least two members may be distinguished by the shape of the aedeagus. Besides, five morphometric characters in the female and one in the larva are significantly distinct. Both *An. oswaldoi* s.s. and *An. konderi* are highly polymorphic. They are sympatric in three studied localities from the States of Espírito Santo and Acre, respectively in southern and northwestern Brazil. Diagnostic bands were revealed by RAPD-PCR: 400pb (primer 62) for *An. oswaldoi* and 600pb and 900bp (primer 131) for *An. konderi*. Furthermore, the RAPD-PCR suggested the existence of other two species in the oswaldoi complex, related to specimens analyzed from Espírito Santo and Rondônia, Brazil, morphologically indistinguishable from *An. oswaldoi* and *An. konderi*, respectively, that need to be better investigated. *An. konderi* is herein resurrected from synonymy with *An. oswaldoi* s.s.; a neotype is selected to *An. konderi* and illustrated redescription of morphological characters of adults, larva, pupa and egg of both *An. konderi* and *An. oswaldoi* s.s are included.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arruda M, Carvalho MB, Nussenzweig RS, Maracic M, Ferreira WA, Cochrane AH 1986. Potential vectors of malaria and their different susceptibility to *Plasmodium vivax* in Northern Brazil identified by immunoassay. *Am J Med Hyg* 35: 873-881.
- Ballinger-Crabtree ME, Black IV WC, Miller BR 1992. Use of genetic polymorphism's detected by the random-amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) for differentiation and identification of *Aedes aegypti* subspecies and population. *Am J Trop Med Hyg* 47: 893-901.
- Belkin JN, Schick RX, Heinemann SJ 1971. Mosquito studies (Diptera, Culicidae) XXV. Mosquitoes originally described from Brazil. *Cont Am Ent Inst* 7: 1-67.
- Black IV CW, Du Teau NM, Puterka GJ, Nechols JR, Pettorini JM 1992. Use of the random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) to detect DNA polymorphisms in aphids (Homoptera: Aphidae). *Bull Entomol Res* 82:151-159.
- Black IV WC, Munstermann LE 1996. Molecular Taxonomy and Systematics of Arthropod Vectors. In: Ed. Barry J, Marquadt WC. *The Biology of Disease*. Univ Colorado 438-470p.
- Black IV WC 1996. Statal Analysis of Arbitrarily Primer PCR Patterns In Molecular Taxonomics Studies. In *Species Diagnostics Protocols; PCR and Other Nucleics Acid Methods* Edit Clapp JP, Human Press, Totowa, New Jersey 416p.
- Branquinho MS, Lagos CBT, Rocha RM, Natal D, Barata JMS, Cochrane AH, Nardin E, Nussenzweig RS, Kloetzel JK 1993. Anophelines in the state of Acre, Brazil, infected with *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, the variant *P. vivax* VK247 and *P. malariae*. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 87: 391-394.
- Causey OR, Deane LM, Deane MP 1944. An illustrated key to the eggs of thirty species of Brazilian anophelines with several new descriptions. *Am J Hyg* 39: 1-7.
- Causey OR, Deane LM, Deane PM 1945. *Anopheles aquasalis* vs *Anopheles tarsimaculatus* as this name for the brackish water anopheline of Central and South America and the Caribbean Islands. *J Nat Malaria Soc* 4: 243-250.
- Causey OR, Deane LM, Deane MP 1946. II An illustrated Key by Male Genitalic Characteristics For The Identification of thirty-four Species Of Anopheline from the Notheast and Amazon Regions of Brazil, with a note on dissection technique. In: *Studies on Brazilian Anophelines from the Northeast and Amazon Regions*. *Am J Hyg Monographic Series* 18: 21-31

- Chadee DD, Beier JC 1996. Diel oviposition and fecundity of *Anopheles oswaldoi* in Trinidad, West Indies. *J Am Mosq Control Assoc* 3: 402-405.
- Clements NA 1992. *The biology of mosquitoes*. The eggs shell 3: 63-73p. Ed. Chapman and Hall, London.
- Collins FH, Mendez MA, Ramussen MO, Mehaffey PC, Besansky NJ, Finnerty V 1987. A ribosomal RNA gene probe differentiates member species of the *Anopheles gambiae* complex. *Am J Med Hyg* 37: 37 - 41.
- Conn JE, Cockburn AF, Mitchel SE 1993a. Populations differentiation of the malaria vector an *An. aquasalis* using mitochondrial DNA. *J Hered* 84: 248-253.
- Conn J, Puertas YP, Seawright JA 1993b. A New Cytotype of *Anopheles muneztovari* from western Venezuela and Colombia. *J Am Mosq Control Assoc* 9: 294 - 301.
- Conn JE, Mitchell SE, Cockburn AF 1997. Mitochondrial DNA Variation within and between Two Species of Neotropical Anopheline Mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of Heredity* 88: 98 - 107.
- Consoli R, Lourenço de Oliveira R 1994. *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil*. Ed. Fiocruz Rio de Janeiro, 225 p.
- Costa-Lima A 1928. Sobre algumas anophelinas encontrados no Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 3 (Suppl. nov): 91-113.
- Coutinho JO 1942. O "Anopheles (N.) oswaldoi metcalfi" Galvão e Lane, 1937 e o "Anopheles (N.) albitarsis" Arribalzaga, 1878 como transmissores de malária no Distrito Federal. *Revista Brasil-Medico* 4-5: 8-13.
- Coutinho JO 1946. Anofelinos do Rio de Janeiro (Distrito Federal) com referência aos transmissores de malária. *O Hospital* 30: 651-662.
- Coutinho JO 1947. *Contribuição para o estudo da distribuição geográfica dos anofelinos do Brasil*. Tese Fac Med Univ São Paulo 117p.
- Cova-Garcia 1939. Notas sobre los anofelinos de Venezuela y su identificación. *Pub Div Mal, Ministerio de Salud Venezuela* 2: 1-34.
- Cova-Garcia P 1946. Notas sobre los anofelinos de Venezuela e su Identificación. *XII Conferencia Sanitaria Panamericana, Cuadernos Amarillos, Grafolit, Caracas*. 208 p.
- Cruz OG 1901. Contribuição para o estudo dos culicídeos do Rio de Janeiro. *Brasil-Med* 15:423-426.
- Curry DP 1932. Some observations on the *Nyssorhynchus* group of the *Anopheles* (Culicidae) of Panama. *Am J Hyg* 15: 566-572.

- Deane LM 1986. Malaria vectors in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 81(Suppl.II): 5-14.
- Deane LM, Causey OR, Deane MP 1946. An illustrated key by adult female characteristics for the Identification of thirty-five species of Anophelini, with notes on the malaria vectors (Diptera, Culicidae). In: Studies on Brazilian Anophelines from the Northeast and Amazon Regions. *Am J Hyg Monographic Series* 18: 1-18.
- Deane LM, Causey OR, Deane MP 1948. Notas sobre a distribuição e a biologia dos anofelinos das Regiões Nordeste e Amazônica do Brasil. *Rev Serv Esp Saúde Pública* 1: 827-963.
- Deane LM, Deane MP, Neto JAF, Almeida FB 1971. On the transmission of simian malaria in Brazil. *Rev Inst Med Trop* 13: 311-319.
- Elliott R 1967. The biting cycles of some anopheline mosquitos in Colombia. *World Health Org Bull.* WHO/MAL/67.000
- Faran ME 1980. Mosquito studies (Diptera: Culicidae) XXXIV. A revisão of de Albimanus Section of the subgenus *Nyssorhynchus* of *Anopheles*. *Contrib Am Entomol Inst (Ann Arbor)* 15:1-215
- Floch H, Abonnenc E 1951. Archives de L'Institut Pasteur de la Guyane et du Territoire de L'inini. *Anopheles da la Guyane Française. CAHORS, A Coueslant* 236: 1-77.
- Flores-Mendoza C 1994. *Um estudo sobre alguns aspectos comportamentais, morfológicos e bioquímicos de Anopheles aquasalis Curry, 1932*, MSc Tese, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, 172 p.
- Fonseca JAB, Fonseca F 1942. Transmissão da malária humana por anofelinos da Série *Tarsimaculatus*. *Mem Inst Butantan* 16: 93-124.
- Forattini OP, Kakitani I, Massad E, Marucci D 1993. Studies on mosquito (Diptera: Culicidae) and antropic enviroment. 3 Survey of adult stages at rice irrigation system and emergence of *Anopheles albitarsis* in Southern-Eastern, Brazil. *Rev Saúde Pública* 27:313-325.
- Freitas G 1942. Pesquisas sôbre a transmissão da malária na Baixada Fluminense. *Rev Med Cirurgica do Brasil* 50: 15-20.
- Freitas-Sibajev MGR, Conn J, Mitchel, Cockburn AF, Seawright JA, Momen H 1995. Mitochondrial DNA and morphological analyses of *Anopheles darlingi* populations from Brazil. *Mosq Syst* 27: 79-85.
- Fritz GN, Bermudez H, Seawright JA 1995. Genetic differentiation and diagnostic loci of *Anopheles nuneztovari*, *An. trinkae*, and *An. rangeli* (Diptera: Culicidae). *J Med Ent* 32:663-672.
- Gabalton A, Aguilera C 1940. Variaciones del color de las especies venezolanas de la sub serie *oswaldoi* (Diptera: Culicidae) *Pub Div Malariologia* 5: 63-82.

- Galvão 1943. Chaves para a determinação das espécies do Subgênero *Nyssorhynchus* do Brasil. *Arq Zool São Paulo* 8: 141-162.
- Galvão ALA, Damasceno RG 1942. *Anopheles (Nyssorhynchus) konderi* nova espécie de *Anopheles* do Vale do Amazonas e considerações sobre as espécies do complexo *tarsimaculatus* (Diptera: Culicidae). *Folia Clin Biol Hig São Paulo* 14: 115-135.
- Galvão ALA, Lane J 1938. Notas sobre os *Nyssorhynchus* de S. Paulo. VI. Revalidação de *Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi* Peryassú, 1922 e discussão sobre *Anopheles (Nyssorhynchus) tarsimaculatus* Goeldi, 1905. In *Livro Jubilar Professor Lauro Travassos*. Rio de Janeiro 165-178 p.
- Galvão ALA 1938. Observações sobre o ciclo evolutivo do *Anopheles oswaldoi* Peryassú, 1922. *Rev Biologia e Hygiene* 9: 101-103.
- Goeldi E 1905. Os mosquitos do Pará. *Mem Mus Goeldi Hist Nat Ethn* 4: 1-154.
- Harbach RE, Knight KI 1980. *Taxonomist's Glossary of Mosquito Anatomy*. Elsevier Pub Amsterdam 415 p.
- Hayat MA 1970. *Principles and techniques of electron microscopy Biological Applications*. Van Nostrand Reinhold Company, New York, Vol 1, 596 p.
- Hayes J, Calderon G, Falcon R, Zambrano V 1987. Newly incriminated anopheline vectors of human malaria in Junin Department Peru. *J Am Mosq Control Assoc* 3: 418-422.
- Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) 1998. Monitorando a Floresta Amazônica [online] Disponível via arquivo capturado em 31/05/99: <http://www.inpe.br/informações>.
- Jaccard P 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull Soc Vaudoise Sc Nat* 44: 223-270.
- Klein TA, Lima JBP 1990. Seasonal distribution and biting patterns of *Anopheles* mosquitoes in Costa Marques, Rondônia, Brazil. *J Am Mosq Control Assoc* 6: 700-707.
- Klein TA, Lima JBP, Tada MS, Miller R 1991. Comparative susceptibility of anopheline mosquitoes in Rondônia, Brazil to infection by *Plasmodium vivax*. *Am J Trop Med Hyg* 45: 463-470.
- Knight KL, Stone A 1977. *A Catalog of the mosquitoes of the world (Diptera: Culicidae)*. Thomas Say Foundation VI 611p.
- Komp WHW 1941. The species of *Nyssorhynchus* confused under *tarsimaculatus* Goeldi and new name, *A. emilianus*, for one species found in Pará, Brazil (Diptera: Culicidae). *Ann Entomol Soc of Am* 34: 791-807.
- Komp WHW. 1942. The anopheline mosquitoes of the Caribbean Region. *Natl Inst Health Bull* 175-195.

- Kreutzer RD, Kitzmiller JB, Ferreira E 1972. Inversion polymorphism in the salivary gland chromosomes of *Anopheles darlingi*. *Mosq News* 32: 555-556.
- Lane J 1953. *Neotropical Culicidae*. Univ São Paulo, Vol 1, 548 p.
- Linley JR, Lounibos LP 1993. The eggs of *Anopheles (Nyssorhynchus) rangeli* and *Anopheles (Nyssorhynchus) dunhami* (Diptera: Culicidae). *Mosq Syst* 25: 157-169.
- Linley JR, Lounibos LP, Conn J 1993. A description and morphometric analysis of the eggs of four South American populations of *Anopheles (Nyssorhynchus) aquasalis* (Diptera: Culicidae). *Mosq Syst* 25: 198-214.
- Lounibos LP, Wilkerson RC, Conn JE, Hribar LJ, Fritz GN, Danoff-Burg JA 1998. Morphological, Molecular, and Chromosomal Discrimination of Cryptic *Anopheles (Nyssorhynchus)* (Diptera: Culicidae) from South America. *J Med Entomol* 35: 830 – 838.
- Lounibos LP, Duzzak D, Linley JR 1997. Comparative egg morphology of six species of the Albimanus Section of *Anopheles (Nyssorhynchus)* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 34: 136-155.
- Lourenço-de-Oliveira 1993. *Um estudo sobre a malária simiana e a possibilidade da veiculação da infecção ao homem*. Doutor Tese, Univ Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Rio de Janeiro. 215p.
- Lourenço-de-Oliveira, Luz SLB 1996. Simian malaria at two sites in the Brazilian Amazon. II. Vertical distribution and frequency of anopheline species inside and outside the forest. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 91: 687 – 694.
- Lourenço-de-Oliveira R, Guimarães AEG, Arlé M, Silva TF, Castro MG, Motta MA, Deane LM 1989. Anopheline species, some of their habits and relation to malaria in endemic areas of Rondônia state, Amazon region of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 84: 501-514.
- Manguin S, Wilkerson RC, Conn JE, Rubio-Palis Y, Danoff-Burg JA, Roberts DR 1999. Population structure of the primary malaria vector in South America, *Anopheles darlingi* using isozyme, RAPD, ITS2 and morphological markers. *Am J Trop Med Hyg* 60: 364-376.
- Marrelli MT, Branquinho MS, Hoffmann EHE, Taípe-Lagos CB, Natal D, Kloetzel JK 1998. Correlation between positive serology for *Plasmodium vivax*-like/*Plasmodium simiovale* malaria parasites in the human and anopheline populations in the State of Acre, Brazil. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 92: 149-151.
- Marrelli MT, Honório NA, Flores-Mendoza C, Lourenço-de-Oliveira R, Marinotti O, Kloetzel JK 1999a. Comparative susceptibility of two members of the *Anopheles oswaldoi* complex, *An. oswaldoi* and *An. konderi*, to infection by *Plasmodium vivax*. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 93: 1-4.
- Marrelli MT, Malafrente RS, Flores-Mendoza C, Lourenço-de-Oliveira R, Kloetzel JK, Marinotti O 1999b. Polymorphism in the second internal transcribed spacer (ITS2) of ribosomal DNA among specimens of *Anopheles oswaldoi*. *J Med Entomol*. *J Med Entomol* 36:679-684.

- Merida AMP, Mata MP, Molina E, Porter CH, Black IV WC 1995. Variation in ribosomal DNA intergenic spacers among populations of *Anopheles albimanus* in South and Central America. *Am J Med Hyg* 53: 469-477.
- Narang SK, Klein TA, Perera OP, Lima JB, Tang AT 1993. Genetic evidence for the existence of cryptic species in the *Anopheles albitarsis* complex in Brazil: allozymes and mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. *Biochem Genet* 31: 97-112.
- Natal D, Barata JMS, Taípe CB, Branquinho MS, Rocha RSJ 1992. Note on the Culicidae (Diptera: Culicidae) of the River Purus Basin, Acre Amazon, Brazil. *Rev Saúde Pública S Paulo* 26: 129-131.
- Nei M 1972. Genetic distance between populations. *Am Nat* 106: 283-292.
- Oliveira-Ferreira J, Lourenço-de-Oliveira R, Deane LM, Daniel-Ribeiro CT 1992. Feeding Preference of *Anopheles darlingi* in Malaria Endemic Areas of Rondônia State – Northern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87: 601-602.
- Oliveira-Ferreira J, Lourenço-de-Oliveira R, Teva A, Deane LM, Daniel-Ribeiro CT 1990. Natural Malaria Infections in Anophelinae in Rondônia State, Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg* 43: 6-10.
- Paskewitz SM, Kaki NG, Coetzee M, Hunt R H 1993. Evaluation of the Polymerase Chain Reaction Method for Identifying Members of the *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) Complex in Southern Africa. *J Med Entomol* 30: 953 – 957.
- Peryassú AG 1908. *Os Culicídeos do Brasil*. Trabalhos Instituto Manguinhos, Rio de Janeiro 407p.
- Peryassú AG 1921. *Os Anophelíneos do Brasil*. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro 99 p.
- Peryassú AG 1922. Duas Novas Espécies de Mosquitos do Brasil. *Folha Medica* 29: 179.
- Póvoa MM, Segura MNO, Lacerda R, Vaz da Silva O, Almeida RN, Lessa R, Rosario V, Miles MA & Warhust DC 1993. Anophelinae infected with human *Plasmodium* in the Serra Navio region of Amapá State, Brazil. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 87: 353-496.
- Quintero LO, Thatcher BD, Tadei WP 1996. Biologia de Anofelinos Amazônicos. XXI. Ocorrência de Espécies de *Anopheles* e Outros Culicídeos na Área de Influência da Hidrelétrica de Balbina Cinco Anos Após o Enchimento do Reservatório. *Acta Amazônica* 26: 281-296.
- Ramos AS 1943. Observações sobre os anofelinos do litoral Paulista *Anopheles (Nyssorhynchus) tarsimaculatus* (Goeldi, 1905), *Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi* (Peryassú, 1922). *Arq Hig Saúde Pública* 8: 51-62.
- Reitnert JF 1975. Mosquitos generic and subgeneric abbreviations (Diptera: Culicidae). *Mosq Syst* 7: 105-110.

- Root FM 1926a. Studies on Brazilian mosquitoes. I. The anophelines of the *Nyssorhynchus* group. *Am J Hyg* 6: 684-717.
- Root MF 1926b. *Studies of the epidemiology of malaria in the coastal lowland of Brazil, made before and after execution of control measures*. In: Boyd MF1926. Note the species of *Anopheles* found in the lowlands of Brazil. *Am J Hyg Monografic Series* 5: 50-110.
- Rosa-Freitas MG, Deane LM, Momen H 1990. A morphological, isozymatic and behavioral study of ten populations of *Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis* Lynch-Arribalzaga, 1878. (Diptera: Culicidae) including from the type-locality – Baradero, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85: 275-289.
- Rosa-Freitas MG, Broomfiel G, Priestmann A, Milligan PJM, Momen H, Molineux DH 1992. Studies on cuticular components, isozymes and behavior of 3 populations of *Anopheles darlingi* from Brazil. *J Am Mosq Control Assoc* 8: 357-366.
- Rosa-Freitas MG, Lourenço-de-Oliveira R, Carvalho-Pinto CJ, Flores-Mendoza C, Silva do Nascimento TF 1998. Anopheline species complexes in Brazil. Current knowledge of those related to malaria transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro* 93: 651-655.
- Rozeboom LE 1941. Distribution and ecological of the *Anopheles* mosquitoes of the Caribbean region. *Am J Trop Med* 15: 98-107.
- Rozeboom LE 1942. Subspecific variations among neotropical anopheles mosquitoes and their importance in the transmission of malaria. *Am J Trop Med* 22: 235 –255.
- Rozeboom LE, Gabaldon A 1941. A summary of the “tarsimaculatus” complex of *Anopheles* (Diptera: Culicidae). *Am J Hyg* 33: 88-100.
- Rubio-Palis, Curtis CF 1992. Biting Behavior of anophelines in Western Venezuela and implications for control of malaria transmission. *Med Vet Entomol* 6:325-334.
- Rubio-Palis Y, Wirtz AR, Curtis CF 1992. Malaria entomological inoculation rates in western Venezuela. *Acta Tropica* 52: 167-174.
- Rubio-Palis Y, Curtis CF, Gonzales C, Wirtz RA 1994. Host choice of anopheline mosquitoes in a malaria endemic area of Western Venezuela. *Med Vet Entomol* 8: 275-280.
- Sambrook J, Fritsch EF , Maniatis T 1989. Molecular cloning. A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, NY.
- Scarpassa VM, Tadei WP, Suarez MF 1999. Population structure and genetic divergence in *Anopheles nuneztovari* (Diptera: Culicidae) from Brazil and Colombia. *Am J Trop Hyg* 60: 1010-1018.
- Senevet G, Abonnenc E 1938. Quelques anophelines de la Guyane Francaise. *Arch Inst. Pasteur Alger* 16: 486-512.

- Silva-do-Nascimento T 1995. *Estudo taxonômico e notas sobre a Biologia de Anopheles triannulatus de 8 localidades*, MSc Tese, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, 88 p.
- Steiner WWM, Kitzmiller JB, Swofford DL 1982. Genetic divergence and evolution in neotropical *Anopheles* (Subgenus *Nyssorhynchus*) *Recent development in the Genetics of Insect Disease vectors*. Stipes Pub, Illinois 523-551.
- Tadei WP, Thatcher BD, Santos JMM, Scarpassa WM, Rodrigues IB, Rafael MS 1998. Ecologic observations on anopheline vectors of malaria in the Brazilian amazon. *Am J Trop Med Hyg* 59: 325-335.
- Townsend CHT 1933. On *Nyssorhynchus tarsimaculatus* Goeldi and Races of *Nyssorhynchus*. *Rev Entomol* 3: 7-12.
- Thorpe PJ, Solé-Cava AM 1994. The use of allozyme electrophoresis in invertebrate systematics. *Zool Scripta* 23:1-18
- Valle D, Monnerat AT, Soares MJ, Rosa-Freitas MG, Pelajo-Machado M, Vale SB, Lenzi HL, Galler R, Lima JPB 1999. Mosquito embryos and eggs: polarity and terminology of chorionic layers. *J Ins Phys* 45: 701-708.
- Wilkerson RC, Peyton EL 1990. Standardized nomenclature for the costal wing spots of the genus *Anopheles* and other spotted-wing mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 27: 27-224.
- Wilkerson R.C, Gaffigan TV, Lima JB 1995a. Identification of Species Related to *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *albitarsis* by Random Amplified Polymorphic DNA-Polymerase Chain Reaction (Diptera: Culicidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 90: 721 – 732
- Wilkerson RC, Parsons TJ, Klein TA, Gaffigan TV, Bergo E, Consolim J 1995b. Diagnosis by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction of four cryptic species related to *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *albitarsis* (Diptera: Culicidae) from Paraguay, Argentina and Brazil. *J Med Entomol* 32: 697-704.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531 – 6535.