

**MORFOLOGIA DO COMPLEXO *Nyssomyia intermedia*
(DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE)**

José Dilermando Andrade Filho

Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Epidemiologia

Orientadora: Prof. Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati

São Paulo

2003

**MORFOLOGIA DO COMPLEXO *Nyssomyia intermedia* (DIPTERA:
PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE)**

José Dilermando Andrade Filho

Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Epidemiologia

Orientador: Prof. Dra. Eunice Aparecida
Bianchi Galati

São Paulo

2003

A todos aqueles que sempre acreditaram em mim e estiveram ao meu lado

AGRADECIMENTOS

A Dra. Eunice Galati pela orientação e amizade.

A Ademir, Fernando, Cíntia, Rafael que me receberam em sua casa durante a realização dos créditos.

Ao professor Dr. Delsio Natal e Dr. Cláudio Casanova pelas sugestões.

Às Secretarias Estaduais do Estados do Espírito Santo, Paraná e Rio de Janeiro pelo envio dos dados sobre leishmaniose.

A Rute e Ana Maria pela alegre convivência no laboratório e nos trabalhos de campo.

Ao Diretor do Centro de Pesquisas René Rachou, Dr. Roberto Sena Rocha pelo apoio dado pela Instituição durante a realização dos experimentos.

Ao Dr. Reginaldo Peçanha Brazil chefe do Laboratório de Leishmanioses do Centro de Pesquisas René Rachou pelo incentivo e constante auxílio.

A D. Alda Falcão que me iniciou no estudo dos flebotomíneos, passando-me toda sua experiência e sabedoria.

Ao técnico Rogério Pereira e ao estudante Gustavo Mayr pela montagem dos flebotomíneos e ajuda nos trabalhos de campo.

Aos demais estudantes do laboratório de Leishmaniose pela agradável convivência e amizade.

Aos motoristas do Centro de Pesquisas René Rachou, Toninho e Cláudio, pelo auxílio nos trabalho de campo.

Aos moradores dos Municípios onde foram feitas as coletas, pelo auxílio e disposição em ajudar.

A Simone pelo incentivo, companheirismo e paciência durante esses anos.

A meu pai e minha mãe pelos vários anos de trabalho dado a eles.

Aos meus irmãos Cristina e Alexandre, minhas sobrinhas Izadora e Clara, pela amizade e disposição em sempre me receber.

A toda minha família pelos momentos de lazer.

RESUMO

Andrade Filho JD. **MORFOLOGIA DO COMPLEXO *Nyssomyia intermedia* (DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE)**. São Paulo, 2003. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo].

As duas espécies do complexo *Nyssomyia intermedia*, *N. intermedia* s. s. e *N. neivai*, vem sendo apontadas como importantes vetoras de leishmaniose tegumentar americana em ampla área do cone sul da América do Sul e, em algumas delas, ocorrem em simpatria. Morfologicamente são muito próximas. Este trabalho teve como objetivo estudar a morfologia de adultos das espécies *N. intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) e *N. neivai* (Pinto, 1926), na busca de caracteres que permitissem a distinção dos táxons e também o estudo de sua distribuição geográfica e importância na veiculação de leishmanioses, biologia, polimorfismo e variação interpopulacional e interespecífica. Foram analisados espécimes de ambas, provenientes de coleções científicas e de capturas realizadas em algumas regiões dos Estados de Minas Gerais e de São Paulo. As estruturas morfológicas da cabeça, tórax e abdômen de adultos das espécies envolvidas foram estudadas ao microscópio óptico, e após a correta identificação das duas espécies foi atualizada sua distribuição geográfica, levando-se em conta também os dados bibliográficos. Tentou-se associar essa distribuição com os casos de leishmaniose tegumentar. Para o estudo da biologia, as fêmeas provenientes do campo: Além Paraíba, Minas Gerais para *N. intermedia* e Lassance, Minas Gerais para *N. neivai*, foram individualizadas e anotados todos os dados referentes ao desenvolvimento de cada estágio imaturo. Para a análise do polimorfismo e variação interpopulacional e interespecífica, foram analisados o número de dentes horizontais do cibário, forma da cabeça da espermoteca e números de anéis nas espermatecas, formando-se cinco

populações para cada uma das espécies. O estudo morfológico mostrou ser possível separar as duas espécies, os machos por meio da ponta do filamento genital, que é em forma de concha em *N. intermedia* e em forma de colher em *N. neivai*. As fêmeas foram separadas por características das espermatecas, como número de anéis, forma da cabeça da espermateca e comprimento dos dutos individuais e comum das espermatecas. Exceto para a forma da cabeça da espermateca de *N. neivai*, todas populações mostraram-se altamente polimórficas em todas as estruturas analisadas. O estudo biológico mostrou que o ciclo de *N. neivai* é mais longo que o de *N. intermedia*, principalmente em L2 e L3. As duas espécies ocorrem em simpatria em algumas localidades dos Estados de Minas Gerais e São Paulo, sendo que no Brasil, *N. neivai* está presente nas Regiões Norte, Centro-Oeste, Sudeste e Sul, enquanto *N. intermedia* ocorre nas Regiões Centro-Oeste, Nordeste e Sudeste. *N. neivai* também está presente na Bolívia, Argentina e Paraguai. Na região Sudeste e Sul, as duas são as principais suspeitas de transmitir leishmaniose e *N. neivai*, também parece desempenhar esse papel na Argentina e Paraguai. Em suma, o estudo possibilitou identificar que, apesar de altamente polimórficas ambas as espécies, é possível distinguí-las, mesmo em áreas onde ocorrem em simpatria.

SUMMARY

Andrade Filho JD. **MORPHOLOGY OF THE *Nyssomyia intermedia* COMPLEX (DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE)**. São Paulo, 2003. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo].

The two species of the complex *Nyssomyia intermedia*, *N. intermedia s. s.* (Lutz & Neiva, 1912) and *N. neivai* (Pinto, 1926), are suspected of being vectors of American Cutaneous Leishmaniasis over a large area of the southern cone of South America and, in some parts of this region, both species occur in sympatry. Morphologically they are very close. The objective of this work was to study the adult morphology of the species *N. intermedia* and *N. neivai* to identify characters that allow the taxa to be distinguished and further to the study their geographical distribution, transmission of leishmaniasis, biology, polymorphism, interpopulation and interspecific variation. Insects of both species from scientific collections and from captures undertaken in some regions of the States of Minas Gerais and São Paulo were analyzed. The morphological structures of head, thorax and abdomen were studied by optical microscopy. After the two species had been correctly identified and the relevant literature reviewed information on geographical distribution was up-dated. An attempt was made to associate geographical distribution of the species with that of cutaneous leishmaniasis. The biological cycle of each species, *N. intermedia* captured in Além Paraíba and *N. neivai* from Lassance, both in Minas Gerais State, was studied under laboratory conditions. All data related to the development of each immature stage were noted. The polymorphism and variation were studied by analyzing the number of horizontal teeth in the cibarium, shape of the head of the spermathecae and number of

rings in the spermathecae, all based on five populations of each species. The morphological study showed that it was possible to distinguish between the males of the two species by the tip of the genital filament, shaped as a ladle in *N. intermedia* and as a spoon in *N. neivai* and the females by the characteristics of their spermathecae, such as number of rings, shape of head and length of individual and common ducts. Except for the shape of the head of the spermathecae in *N. neivai*, all populations of both species were seen to be highly variable in all the structures analyzed. Biological studies showed that the cycle of *N. neivai* is longer than that of *N. intermedia*, mainly in the L2 and L3 instars. Both species are found in sympatry in the States of Minas Gerais and São Paulo, *N. neivai* is present in the North, West Center, Southeast and South Regions of Brazil, while *N. intermedia* is found in the West Center, Northeast and Southeast Regions. *N. neivai* is also present in Bolivia, Argentina and Paraguay. In the Southeast and South Regions these species are the principal suspects of the transmission of Cutaneous Leishmaniasis, and *N. neivai* may also play this role in Argentina and Paraguay. In short, the study made it possible to verify that, despite both species being highly polymorphic, it is possible to distinguish them, even in the areas in which they occur in sympatry.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Leishmaniose Tegumentar Americana	1
1.2. Sub Família Phlebotominae	2
1.3. <i>Nyssomyia intermedia</i> e <i>Nyssomyia neivai</i>	4
1.3.1. Dados Ecológicos, Distribuição Geográfica e Importância Epidemiológica	6
1.3.2. Biologia de <i>Nyssomyia intermedia</i> e <i>Nyssomyia neivai</i>	8
2. JUSTIFICATIVA	9
3. OBJETIVO GERAL	10
3.1. Objetivos Específicos	10
4. MATERIAIS E MÉTODOS	11
4.1. Estudo Morfológico	11
4.2. Distribuição Geográfica e Importância na Veiculação de Leishmaniose	12
4.3. Captura dos Flebotomíneos	13
4.3.1. Armadilhas Utilizadas	13
4.3.2. Além Paraíba	19
4.3.3. Iporanga	21
4.3.4. Corinto	23
4.4. Manejo e Triagem do Material Coletado	25
4.5. Criação dos Flebotomíneos	27
4.6. Variação Interpopulacional, Interespecífica e Polimorfismo	30

4.6.1. Lassance, Estado de Minas Gerais	30
4.6.2. Além Paraíba, Estado de Minas Gerais	31
4.6.3. Iporanga, Estado de São Paulo	31
4.6.4. Corinto, Estado de Minas Gerais	31
4.6.5. Alfenas, Estado de Minas Gerais	31
4.6.6. Conchal, Estado de São Paulo	31
4.6.7. Análise Estatística	32
5. RESULTADOS	33
5.1. Estudo Morfológico	33
5.1.1. Redescrição dos Machos de <i>Nyssomyia intermedia</i> e <i>Nyssomyia neivai</i>	33
5.1.1.1. <i>Nyssomyia intermedia</i>	33
5.1.1.1. <i>Nyssomyia neivai</i>	35
5.1.2. Redescrição das Fêmeas de <i>Nyssomyia intermedia</i> e <i>Nyssomyia neivai</i>	41
5.1.2.1. <i>Nyssomyia intermedia</i>	41
5.1.2.2. <i>Nyssomyia neivai</i>	42
5.1.3. Material Examinado	50
5.2. Distribuição Geográfica	51
5.2.1. <i>Nyssomyia intermedia</i>	51
5.2.2. <i>Nyssomyia neivai</i>	53
5.3. Biologia de <i>Nyssomyia intermedia</i> e <i>Nyssomyia neivai</i>	56
5.3.1. <i>Nyssomyia intermedia</i>	56

5.3.2. <i>Nyssomyia neivai</i>	59
5.4. Variação interespecífica, Interpopulacional e polimorfismo	64
5.4.1. Variação Interespecífica	64
5.4.2. Polimorfismo	71
5.4.2.1. <i>Nyssomyia intermedia</i> – Além Paraíba	71
5.4.2.2. <i>Nyssomyia intermedia</i> – Lassance (galinheiro)	72
5.4.2.3. <i>Nyssomyia intermedia</i> – Lassance (cerrado)	72
5.4.2.4. <i>Nyssomyia intermedia</i> – Iporanga (peridomicílio)	73
5.4.2.5. <i>Nyssomyia intermedia</i> – Iporanga (chiqueiro)	73
5.4.2.6. <i>Nyssomyia neivai</i> – Corinto	78
5.4.2.7. <i>Nyssomyia neivai</i> – Alfenas	78
5.4.2.8. <i>Nyssomyia neivai</i> – Iporanga (chiqueiro)	79
5.4.2.9. <i>Nyssomyia neivai</i> – Iporanga (peridomicílio)	79
5.4.2.10. <i>Nyssomyia neivai</i> – Conchal	80
5.4.3. Variação Interpopulacional	85
5.4.3.1. <i>Nyssomyia intermedia</i>	85
5.4.3.2. <i>Nyssomyia neivai</i>	101
6. DISCUSSÃO	114
6.1. Estudo Morfológico	114
6.2. Distribuição Geográfica	117
6.3. Biologia de <i>Nyssomyia intermedia</i> e <i>Nyssomyia neivai</i>	126
6.4. Variação Interpopulacional, Interespecífica e Polimorfismo	130
6.4.1. Variação Interespecífica	130

6.4.2. Variação Interpopulacional e Polimorfismo	132
7. CONCLUSÕES	136
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	137

1. INTRODUÇÃO

1.1 . Leishmaniose Tegumentar Americana

As leishmanioses compreendem um grupo de doenças causadas por parasitas flagelados heteroxenos, pertencentes ao gênero *Leishmania* Ross, 1903. Segundo a ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (1990) está entre as seis mais importantes doenças parasitárias, afetando as populações de 88 países de todo mundo, com exceção de um Continente, a Oceania. A prevalência da doença está em torno de 12 milhões de pessoas, sendo que 350 milhões estão em área de risco (DESJEUX 2001).

No Brasil são notificados a cada ano entre 20 e 35 mil casos de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) (CENEPI/FUNASA 2000; KATZ 1997), sendo o país de maior prevalência desta doença nas Américas, atingindo todos os Estados da Federação.

Na natureza todas as espécies de *Leishmania* são transmitidas ao hospedeiro vertebrado por meio da picada de fêmeas de várias espécies de flebotomíneos. Estes parasitas apresentam duas formas básicas em seu ciclo de vida, sendo uma delas (promastigota) presente no trato digestivo do inseto vetor e a outra (amastigota) no interior de células do Sistema Mononuclear Fagocitário de várias espécies de mamíferos (COSTA 2002).

Cerca de 22 espécies de *Leishmania* são encontradas infectando o homem (GRIMALDI JÚNIOR et al. 1991; SHAW 1994; ASHFORD 2000; SILVEIRA et al. 2002) e destas, 15 ocorrem nas Américas (SHAW 1994; SILVEIRA et al. 2002). No Brasil as espécies associadas a leishmaniose tegumentar humana são: *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Lainson & Shaw, 1972, *Leishmania (Viannia) braziliensis* Vianna, 1911,

Leishmania (Viannia) guyanensis Floch, 1954, *Leishmania (Viannia) lainsoni* Silveira, Shaw, Braga & Ishikawa, 1987, *Leishmania (Viannia) naiffi* Lainson & Shaw, 1989, *Leishmania (Viannia) shawi* Lainson, Braga, Souza, Póvoa, Ishikawa & Silveira, 1989, *Leishmania (Viannia) lindenbergi* Silveira, Ishikawa, Souza & Lainson, 2002, (COSTA 2002).

1.2. Subfamília Phlebotominae

A subfamília Phlebotominae, apesar de largamente estudada desde o início do século passado, ainda apresenta diversas controvérsias entre os especialistas, tanto nas diferentes classificações, quanto na validade de certas espécies.

Existem cerca de 470 espécies de flebotomíneos descritas nas Américas. No Brasil estes insetos estão presentes em grande número por todo o território nacional e cerca de 60 espécies são comprovadas ou suspeitas de transmitirem leishmanioses (KILLICK-KENDRICK 1990; DEDET 1993; SANTOS et al. 1998; CIPA GROUP 1999; SILVA & GRUNEWALD 1999). As pesquisas sobre flebotomíneos realizadas durante os estudos desta doença levantaram informações não só a respeito da sua importância como vetores, mas também sobre sua biogeografia, processos de especiação e identificação de áreas prioritárias para conservação biológica (BARRET et al. 1996).

A distribuição geográfica de determinada espécie depende de sua capacidade em adaptar-se a diferentes nichos ecológicos (FREIRE-MAIA 1988). Estudos sobre dispersão de algumas espécies de flebotomíneos têm mostrado que as mesmas apresentam baixa mobilidade. MORRISON et al. (1993), trabalhando com *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), relataram que a maioria dos insetos recapturados estava entre 10 e 500 metros do sítio de soltura e para *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) a distância do ponto de soltura chegou a 120

metros, sendo que a maioria dos insetos foi recapturada a menos de 70 metros (CASANOVA 2001). Apesar da pouca mobilidade mostrada pelos flebotomíneos várias espécies apresentam ampla distribuição geográfica, dificultando ainda mais o estudo destes insetos, devido à formação de clines e variações geográficas.

Muitas populações apresentam diferenças em relação à espécie-tipo, sendo que algumas são consideradas como subespécies, sem evidências biológicas que suportem estas distinções (LANE 1988). Vários estudos com a utilização de técnicas modernas, tais como eletroforese enzimática, cromatografia gasosa e técnicas de DNA, têm sido realizados na tentativa de se resolver questões taxonômicas do grupo (TIBAYRENC et al. 1980; WARD et al. 1981; RYAN et al. 1986; READY et al. 1991).

A classificação dos flebotomíneos neotropicais é também bastante controversa. Alguns autores seguem a classificação de YOUNG & DUNCAN (1994), que considera válidos três gêneros, 15 subgêneros e 15 grupos de espécies. GALATI (1995), em estudo filogenético dos flebotomíneos, criou alguns gêneros e subgêneros elevando ainda vários subgêneros à categoria de gênero ficando composta esta classificação por 22 gêneros, 20 subgêneros e três grupos de espécies, para o Novo Mundo. Neste trabalho adotaremos esta classificação filogenética.

O gênero *Nyssomyia* Barretto, 1962 é composto por 17 espécies e duas subespécies. A sua distribuição geográfica vai desde o México até a Argentina, com sete espécies implicadas na transmissão da leishmaniose tegumentare, em áreas da América do Sul e Central (DEDET 1993; MARCONDES et al. 1998a), sendo que no Estado de São Paulo, a três delas, *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), *N. neivai* e *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) atribui-se este papel.

1.3. *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*

N. intermedia foi descrita baseada em adultos coletados na Fazenda Ouro Fino, município de Além Paraíba, Minas Gerais, sendo examinado ainda material dos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro. Os autores utilizaram como caráter diagnóstico, basicamente, o tamanho do quinto segmento palpal. Nessa descrição estes autores mencionam principalmente os dados dos machos, citando para a fêmea apenas que “os 2 exemplares machos e o femeo provêm de Ouro Fino.”. Apesar disto BARRETTO (1947), BARRETTO (1961), MARTINS et al. (1978), YOUNG & DUNCAN (1994) e MARCONDES (1997) consideraram que esta foi descrita por LUTZ & NEIVA (1912).

Vários autores ilustraram esta espécie (NITZULESCU 1930; COSTA LIMA 1932; THEODOR 1932; BARRETTO 1946; FORATTINI 1973; YOUNG & DUNCAN 1994), mas algumas destas ilustrações dizem respeito a *N. neivai*. O material examinado por LUTZ & NEIVA (1912) não foi localizado, estando perdido. Todavia, AL Falcão (informação pessoal) examinou este material no ano de 1959, verificando a existência de várias espécies além das descritas, entre elas *Pintomyia fischeri* (Pinto, 1926) e *Migonemyia migonei* (França, 1920), sendo estas identificadas como *L. longipalpis*, porém, dentre as espécies do gênero *Nyssomyia*, apenas *N. intermedia* s.l. estava presente. FRANÇA (1920) e MARCONDES (1996) redescreveram *N. intermedia*, sendo que o primeiro autor se valeu de insetos capturados no Sul da Bahia e Vila Americana, Estado de São Paulo e o segundo de insetos capturados em sua localidade-tipo, tendo inclusive designado um neótipo fêmea para a espécie.

N. neivai, descrita por PINTO (1926), a partir de um macho capturado dentro de casa, no Instituto Butantan, município de São Paulo, foi considerada como sinônimo júnior de *N. intermedia* por PINTO (1930) e essa interpretação foi seguida pelos estudiosos de

flebotomíneos, até que MARCONDES (1996) a revalida, baseado no holótipo e em uma fêmea de Fortim Campero, departamento de Tarija, Bolívia. Apesar de PINTO (1926) não ter descrito a fêmea desta espécie, MARCONDES (1996) não faz menção para este fato.

A distinção entre as fêmeas dessas duas espécies é feita principalmente pelos caracteres das espermatecas, tais como: comprimento, número de anéis, forma e largura da cabeça da espermateca, comprimento do duto comum em relação aos dutos individuais; e na cabeça, pelo número de dentes horizontais do cibário (MARCONDES 1996). Em ambos os sexos, a venação alar, principalmente alfa, a razão alfa/beta e, nos machos, a razão bomba ejaculadora/filamento genital, foram significativamente maiores em *N. neivai*. No entanto, este autor não conseguiu distinguir, com segurança, os machos destas espécies pela morfologia, separando-os apenas por uma série de dados morfométricos (MARCONDES & BORGES 2000).

Estas espécies apresentam ainda grande polimorfismo e variações interpopulacionais e interespecíficas. MARCONDES et al. (1998b) verificaram a presença de seis fórmulas palpais diferentes para *N. intermedia* e *N. neivai*. Esta variação fenotípica também foi observada, dentre outras, nos dentes horizontais do cibário, que variou de 8 a 12, na cabeça das espermatecas e no número de anéis das espermatecas, sendo que os valores deste último se sobrepõem em seus extremos em ambas espécies (MARCONDES 1996; MARCONDES 1997; MARCONDES et al. 1998b). Segundo MARCONDES et al. (1999) as variações nas dimensões de *N. intermedia* são influenciadas pela altitude, latitude e época de coleta dos insetos.

1.3.1. Dados Ecológicos, Distribuição Geográfica e Importância Epidemiológica

MARTINS et al. (1978) apresentam a distribuição geográfica de *N. intermedia* ainda considerando *N. neivai* como seu sinônimo júnior, baseada em exemplares depositados na Coleção de Flebotomíneos do Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz e em dados bibliográficos. MARCONDES et al. (1998a), a partir de extensivo estudo morfológico de exemplares depositados em várias coleções, de publicações anteriores e de comunicações pessoais, atualizam a distribuição geográfica de ambas espécies.

A distribuição geográfica de *N. intermedia* s. l. vai desde o Estado do Piauí até o Estado do Rio Grande do Sul, e do litoral brasileiro até o Norte da Argentina e Sul da Bolívia (MARCONDES et al. 1998a). No estado de São Paulo *N. intermedia* ocorre em áreas litorâneas e *N. neivai* em regiões de Planalto, sendo que no Alto e Vale do Ribeira elas ocorrem em simpatria, dificultando ainda mais a correta identificação de ambas. Além do Estado de São Paulo, *N. intermedia* ocorre também na Região Nordeste e nos demais Estados da Região Sudeste, sendo que em Minas Gerais, ela ocorre a oeste. *N. neivai* é encontrada ainda no leste de Minas Gerais, em todos estados da Região Sul do Brasil, além de Argentina, Paraguai e Bolívia (MARCONDES et al. 1998a, c).

N. intermedia e *N. neivai* ocorrem com alta densidade e são predominantes em várias regiões do Brasil e também na Argentina. Em Santa Cruz, município do Rio de Janeiro *N. intermedia* tem sido constante em todas as coletas (OLIVEIRA et al. 1995), sendo freqüente, ainda, na região serrana deste Estado (AGUIAR et al. 1996; SOUZA et al. 2002). Em capturas realizadas no peridomicílio no Estado de Minas Gerais *N. intermedia* predominou nos municípios de Além Paraíba, Lassance e Curvelo (dados não publicados), além de Timóteo (ANDRADE FILHO et al. 1997) e Araçuaí (GONTIJO et al. 2002). *N.*

neivai predominou em coletas realizadas em Uberlândia (dados não publicados) e no Estado de São Paulo *N. intermedia* s. l. foi freqüente no município de Pariquera-Açu (GOMES et al. 1978) e Conchal (CASANOVA 2001). Nos Estados da Região Sul também é evidente a abundância desse táxon no Paraná (TEODORO et al. 1993; TEODORO et al. 1999; TEODORO et al. 2001), em Santa Catarina (SÃO TIAGO & GUIDA 1990; MARCONDES et al. 1998a) e no Rio Grande do Sul (DIAS et al. 1997; SILVA & GRUNEWALD 1999).

SILVA & GOMES (2001) e GONTIJO et al. (2002) dissecaram várias fêmeas de *N. intermedia* s. l. e *N. intermedia* s.s., respectivamente, em focos ativos de leishmaniose tegumentar, com resultados negativos para a presença de leishmânias. Ambos os táxons picam o homem avidamente (GOMES et al. 1989; ANDRADE FILHO et al. 1994; OLIVEIRA NETO et al. 1998) e apesar de *N. intermedia* s.l. ter sido encontrada naturalmente infectada por flagelados na Região Sudeste (FORATTINI et al. 1972; RANGEL et al. 1984; CASANOVA et al. 1995) e predominar em várias áreas endêmicas ou epidêmicas para leishmaniose tegumentar (RANGEL et al. 1990; GOMES et al. 1995; GONTIJO et al. 2002; SALOMÓN et al. 2001), ainda é considerada apenas como suspeita de transmitir essa doença (KILLICK-KENDRICK 1990), pelo fato do parasita não ter sido identificado como sendo a mesma espécie de isolados de casos humanos e/ou caninos.

1.3.2. Biologia de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*

A criação de espécies de flebotomíneos é de grande importância para estudos de sua biologia, e, principalmente, na interação entre *Leishmania* e as várias espécies vetoras (COELHO 1962; COELHO et al. 1967b; KILLICK-KENDRICK et al 1977). Algumas espécies têm sido colonizadas com sucesso (BRAZIL et al 1997; FERRO et al. 1998; MONTOYA-LERMA et al. 1998; LUITGARDS-MOURA et al. 2000; ALVES et al. 2000; ALVES et al. 2001), entre elas *N. intermedia* s. l. (COELHO et al. 1967a; RANGEL et al. 1985a; SILVA & GOMES 2001; WERMELINGER & ZANÚNCIO 2001).

O tempo de incubação dos ovos para *N. intermedia* s.l. durou em média nove dias, a fase larval 21,5 dias, pupa 7,2 dias, sendo que o tempo total de ovo a adulto variou entre 26 a 56 dias, tendo uma média de 37,8 dias (RANGEL et al. 1985a), sendo que estes valores podem variar de acordo com a fonte alimentar, tanto dos adultos quanto das larvas, e de fatores abióticos, tais como iluminação, temperatura e umidade (RANGEL et al. 1986b; RANGEL et al. 1987; WERMELINGER & ZANÚNCIO 2001).

Na natureza, a taxa de sobrevivência diária para *N. neivai* foi estimada em 0,67 (67%) e seu ciclo gonotrófico completo em três/quatro dias, indicando que o contato desta espécie com o homem pode ocorrer a cada quatro dias, sendo ainda bastante eclética no que diz respeito à preferência alimentar (CASANOVA 2001).

2. JUSTIFICATIVA

Apesar de serem separadas pela morfologia, as fêmeas de *N. intermedia* e *N. neivai* apresentam algumas variações nas estruturas utilizadas para sua correta identificação, principalmente em áreas onde elas ocorrem próximas ou em simpatria, já que apresentam grande gradiente de variações. Os machos das duas espécies não são separados com segurança pela morfologia e/ou morfometria. As técnicas modernas de DNA mitocondrial que poderiam ser empregadas são dispendiosas, o que inviabiliza sua utilização rotineira.

A necessidade da correta identificação desses táxons para os estudos ecológicos, na tentativa de se conhecer aspectos do comportamento de ambos vulneráveis à intervenção para o controle da leishmaniose tegumentar, justifica estudos nesse sentido, sobretudo quando se considera a importância epidemiológica de ambas espécies, como vetores da doença na Região Sudeste.

3. OBJETIVO GERAL

Estudar a morfologia de adultos das espécies *N. intermedia* e *N. neivai*, na busca de caracteres que permitam a distinção dos táxons, complementado pela sua distribuição geográfica, importância na transmissão de leishmanioses, biologia, variação interpopulacional, interespecífica e polimorfismo.

3.1 OBJETIVOS ESPÉCIFICOS

- ✓ Identificar caracteres morfológicos das duas espécies envolvidas, tanto de exemplares capturados na natureza, quanto daqueles criados em laboratório.
- ✓ Descrever a distribuição geográfica dos táxons e importância na veiculação de leishmanioses.
- ✓ Descrever características da biologia de *N. intermedia* e *N. neivai* sob condições de laboratório.
- ✓ Verificar a variação interpopulacional, interespecífica e o polimorfismo de ambas espécies.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Estudo Morfológico.

As estruturas dos machos e fêmeas adultos de flebotomíneos estudadas são algumas daquelas descritas por GALATI (1995). Apenas o estudo morfológico dos machos e fêmeas foi realizado, já que um minucioso trabalho morfométrico foi realizado por MARCONDES (1997), e somente as estruturas sugeridas pelo CIPA GROUP (1991), necessárias para a redescrição de *N. intermedia* e *N. neivai*, foram utilizadas.

Na cabeça, foram estudadas a posição dos ascóides e papilas das antenas, espinhos de Newstead dos palpos e lacínea da maxila. No tórax, as estruturas estudadas foram as cerdas dos escleritos do noto e da pleura, as patas e os principais índices alares. No abdômen dos machos foram examinados o gonocoxito, gonóstilo, parâmero, lobo lateral, bomba ejaculadora e filamento genital e nas fêmeas o corpo das espermatecas, cabeça das espermatecas, dutos individuais e comum e cercas. Foi dada ênfase àquelas estruturas utilizadas por MARCONDES (1996) e que foram úteis a este autor para separar as espécies.

Para *N. intermedia* utilizou-se como base para o estudo o material desta espécie capturado em sua localidade-tipo, Além Paraíba e para *N. neivai* o holótipo macho descrito por PINTO (1926) e exemplares provenientes da criação desta espécie (F2), procedentes de captura em Conchal, Estado de São Paulo, e gentilmente cedidos pelo Doutor Cláudio Casanova.

Todo material foi examinado em microscópio óptico Olympus, modelo CH-2, as medidas foram realizadas com auxílio de ocular micrométrica, devidamente aferida para este

microscópio. As fotografias foram feitas em microscópio Zeiss, e digitalizadas para o microcomputador, utilizando o programa KS300.

4.2. Distribuição Geográfica e Importância na Veiculação de Leishmaniose.

Foram examinados exemplares adultos de *N. intermedia* e *N. neivai* depositados na coleção da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo e também da Coleção de Flebotomíneos do Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz, a fim de se verificar a distribuição geográfica das espécies envolvidas.

Após a distinção entre os machos das espécies envolvidas, a distribuição geográfica das mesmas foi atualizada. Os Municípios que tiveram algumas das espécies examinadas foram incluídos, assim como dados do trabalho de MARCONDES et al. (1998a), onde este autor identificou com certeza alguma das espécies envolvidas e também da citação de novos dados bibliográficos. Após o nome do Município, entre parênteses, a referência bibliográfica para o mesmo. Quando a distribuição foi assinalada por outro autor e também neste trabalho aparece a referência do citado trabalho e obs. pessoal.

Tentou-se fazer uma associação entre a ocorrência de *N. intermedia* e *N. neivai* com os casos de leishmaniose tegumentar registrados na literatura ou ainda de registros enviados pelas Secretarias Estaduais dos Estados do Espírito Santo, Paraná e Rio de Janeiro.

4.3. Captura dos Flebotomíneos

As capturas foram realizadas em três locais: em Além Paraíba, Estado de Minas Gerais, que é a localidade-tipo de *N. intermedia* s. s, Corinto, Estado de Minas Gerais e em Iporanga,

onde as duas espécies são simpátricas (MARCONDES 1997; GALATI et al. 2002). A seguir a descrição destas capturas.

4.3.1. Armadilhas Utilizadas

Para coleta do material estudado, foram utilizados métodos já conhecidos, e próprios para a coleta de flebotomíneos (BARRETTO & COUTINHO 1940; SHERLOCK & PESSOA 1964; NEVES & SILVA 1989; ALEXANDER 2000). As armadilhas utilizadas são descritas abaixo.

Foram utilizadas três armadilhas: armadilha luminosa de Falcão, armadilha CDC e armadilha de Shannon. A armadilha de Falcão (Figura 1) consta de um tubo cilíndrico de PVC, contendo em sua abertura inferior um motor de seis volts, ao qual se liga uma hélice de alumínio e em sua abertura superior uma lâmpada de três volts; para seu funcionamento utilizam-se seis pilhas grandes (FALCÃO 1981). A armadilha CDC (Figura 2) possui um tubo cilíndrico de acrílico, onde ficam a lâmpada de três volts (abertura superior) e o motor de seis volts (abertura inferior) ao qual é acoplada uma hélice. Logo abaixo desta, coloca-se um recipiente onde serão retidos os insetos capturados. As quatro pilhas grandes necessárias para seu funcionamento são colocadas na lateral do tubo de acrílico (SUDIA & CHAMBERLAIN 1962). Neste trabalho as pilhas destas armadilhas foram substituídas por baterias de 6 Volts, sendo que na armadilha CDC o recipiente onde os insetos acondicionam-se foi trocado por gaiolas de filó, a fim de se manter o maior número possível de flebotomíneos vivos até o laboratório.

Foi também utilizada a armadilha de Shannon (SHANNON 1939) (Figura 3). Esta armadilha é uma estrutura retangular, larga, feita com cretone ou outro tecido. Em seu interior é colocada uma fonte luminosa e/ou isca animal que servirá como atrativo para os

insetos. Estes pousam na parede da armadilha ou da isca, sendo então sugados com capturador manual de Castro (Figura 4). Este capturador consta de um tubo de vidro, com cerca de 20 a 30 centímetros de comprimento e aproximadamente um cm de diâmetro, com uma das extremidades aberta e a outra fechada por um pedaço de morim ou uma tela de cobre com a malha muito fina, que impeça a passagem dos insetos capturados. Esta extremidade está ligada a uma mangueira de borracha. Os flebotomíneos penetram no tubo de vidro por aspiração feita na mangueira de borracha pelo indivíduo capturador, sendo em seguida removidos para um pote apropriado para acondicionar os exemplares capturados (CASTRO com. pessoal a BARRETTO e COUTINHO 1940 *apud* PESSOA & BARRETTO 1948).



Figura 1. Armadilha de Falcão.



Figura 2. Armadilha CDC.



Figura 3. Armadilha de Shannon.



Figura 4. Capturador de Castro.

4.3.2. Além Paraíba

Foram realizadas duas excursões a este local, nos dias 06 e 07 de março e 27 e 28 de agosto, ambas no ano de 2002. Neste local, as capturas foram realizadas na região conhecida como Benjamim Constant, que foi onde LUTZ & NEIVA (1912) descreveram a espécie (Figura 5). Este local apresenta áreas ainda preservadas de Floresta Atlântica, sendo comum áreas de pastagem para bovinos. Vários autores já realizaram capturas nesta área (RANGEL et al 1985b; MARCONDES 1997; FALCÃO informação pessoal), sendo *N. intermedia* bastante abundante.

As armadilhas luminosas CDC (apenas em março) e Falcão (apenas em agosto) foram expostas em um curral, um chiqueiro, um galinheiro, uma árvore (mangueira) que serve de abrigo noturno para galinhas e em um “cercado”, onde um cão fica fechado à noite, sendo este último próximo a mangueira. O horário de captura foi entre 18 horas até 7 horas do dia seguinte.

A armadilha de Shannon branca com isca luminosa foi exposta na primeira captura de março debaixo de três mangueiras próximas a um curral, sendo que nas demais capturas esta foi colocada no peridomicílio da sede da Fazenda Barra do Ouro Fino (Figura 6). As capturas foram realizadas das 18 horas até as 22 horas.



Figura 5. Vista da antiga estação ferroviária de Benjamin Constant, município de Além Paraíba, onde LUTZ & NEIVA (1912) coletaram *Nyssomyia intermedia*.



Figura 6. Local onde foram realizadas as capturas no município de Além Paraíba, Minas Gerais.

4.3.3. Iporanga

Em Iporanga as capturas foram realizadas próximas ao Parque Estadual e Turístico do Alto Ribeira (PETAR), na Província Espeleológica do Vale do Ribeira, localizada na região sul do Estado de São Paulo, às margens do médio e alto curso do Rio Ribeira, ocupando áreas dos municípios de Eldorado, Ribeira, Apiaí, Ribeirão Grande, Guapiara, Capão Bonito e Iporanga, sendo que neste município se dá a maior concentração de cavernas. Estas são os principais atrativos procurados pelos turistas e concentram-se no PETAR, onde somam mais de 200, distribuídas em dois núcleos, o do Espírito Santo ou dos Caboclos e do Vale do Rio Betari ou Santana, no qual se localiza a Caverna Santana, a de maior desenvolvimento planimétrico, 6.300 metros (KARMANN & FERRARI 1999). Fora dos limites da região do PETAR, próximas ao Núcleo Santana, foram descritas, a oeste deste, cerca de 20 cavernas e a leste outras seis. Nesta face, a maior delas, Caverna Tapagem ou Caverna do Diabo, no município de Eldorado, apresenta mais de cinco quilômetros de desenvolvimento, com os primeiros 500 metros contíguos à ressurgência explorada turisticamente, com iluminação artificial na maior parte do período diurno (GNASPINI NETO & TRAJANO 1994).

No Bairro Serra (24° 37' S e 48° 35' W; 260 m.a.n.m.), município de Iporanga, situado na área acima descrita foram utilizadas duas armadilhas de Shannon, uma branca e outra preta, como sugerido por GALATI et al. (2001) no peridomicílio (Figura 7) e CDC modificadas (NATAL et al. 1991) em um chiqueiro, sendo este de dimensões avantajadas, tendo seu fundo cercado por rochas naturais, e logo acima destas uma área de floresta (Figura 8). As coletas foram realizadas das 18 às 6 horas, nos dias 19 e 20 de abril de 2002.

As devidas licenças para captura dos flebotomíneos foram providenciadas junto aos órgãos competentes.



Figura 7. Peridomicílio onde foram realizadas as capturas no Bairro Serra, município de Iporanga, Estado de São Paulo.



Figura 8. Vista do chiqueiro onde foram realizadas as capturas no Bairro Serra, município de Iporanga, próximo ao Parque Estadual e Turístico do Alto Ribeira, Estado de São Paulo.

4.3.4. Corinto

Apesar de ser pertencente ao município de Corinto o local de capturas (17° 58' S e 49° 32' W; 214 m.a.n.m.) é bem próximo à cidade de Lassance, distando cerca de oito quilômetros da mesma. Este local consta de diversos ranchos, utilizados por pescadores e/ou moradores, que fazem desta atividade, junto com a agricultura, as principais da região. A vegetação predominante é o cerrado. As capturas foram realizadas com armadilha de Shannon, em um galinheiro (Figura 9), a cerca de três metros das margens do Rio das Velhas (Figura 10), no dia 04 de junho de 2002, das 18 às 23 horas.



Figura 9. Vista do galinheiro em Corinto, Estado de Minas Gerais, onde foram realizadas capturas com armadilha de Shannon.



Figura 10. Vista do Rio das Velhas, em Corinto, Estado de Minas Gerais, próximo ao local de captura.

4.4. Manejo e Triagem do Material Coletado

Ao se recolher as armadilhas os insetos vivos foram transferidos para potes plásticos, medindo 11 centímetros de diâmetro, sendo que no fundo foram feitos pequenos orifícios, sendo então cobertos com gesso afim de se manter úmido o ambiente. Este pote é vedado com tecido “filó”, tendo em seu centro um orifício, por onde foram colocados os flebotomíneos capturados com auxílio de capturador de Castro, e tampado com algodão. Em cada pote foi colocado um chumaço de algodão embebido em solução açucarada. Ainda no campo foi oferecida alimentação sangüínea em hamster [*Mesocricetus auratus* (Water House, 1839)] anestesiado, via intramuscular, com 0,7-0,8 ml de Thiopental (1g/20 ml de água destilada), colocado diretamente sobre o pote de criação (Figuras 11 e 12). Tentou-se ainda alimentação com codorna (*Coturnix coturnix japonica* Temminck & Schlegel, 1849), sendo que, em última instância, foi oferecida alimentação humana (autor do estudo). Para o transporte do local da coleta até seu destino, os potes foram acondicionados em caixa de isopor ou caixas plásticas tipo “tupperware” úmidas.

Os exemplares que morreram durante o transporte até o laboratório foram acondicionados em álcool a 70°. No laboratório foi oferecida nova alimentação sanguínea em hamster, e após dois dias os machos foram sacrificados em éter, e, juntamente com aqueles exemplares que chegaram mortos, foram preparados e montados entre lâmina e lamínula, em meio Enecê (CERQUEIRA 1943) ou em líquido de Berlese para identificação. Os exemplares das espécies *N. intermedia* e *N. neivai* foram separados para

estudo. As fêmeas que sobreviveram e realizaram o repasto sanguíneo foram transferidas para potes individuais onde foram mantidas para estudos de biologia.



Figura 11. Repasto sanguíneo em hamster dos flebotomíneos provenientes do campo.



Figura 12. Vista lateral da Alimentação sanguínea dos flebotomíneos em hamster.

4.5. Criação dos Flebotomíneos

A criação das duas espécies foi desenvolvida com adaptações de técnicas preconizadas por KILLICK-KENDRICK et al. (1991) e BRAZIL et al. (1997). As fêmeas provenientes do campo foram colocadas individualmente em potes próprios para criação, com quatro centímetros de diâmetro (Figura 13), onde foi novamente oferecida uma solução açucarada em um chumaço de algodão, sendo observada diariamente para verificação de postura. Àquelas que realizaram a postura e não morreram foi oferecida nova alimentação sanguínea em hamster, codorna ou homem.

Após a morte da fêmea esta era numerada, recebendo o mesmo número do pote contendo sua postura, sendo então montada diretamente em líquido de Berlese para identificação. Os últimos três segmentos abdominais foram retirados com auxílio de estiletes, para facilitar a visualização das espermatecas e seus dutos, como detalhado por KILLICK-KENDRICK et al. (1994) e MARCONDES (1998), tendo ainda a cabeça destacada do tórax e colocada em posição ventral, a fim de se visualizar as estruturas do cibário.

Os potes de criação foram mantidos dentro de caixas plásticas (Figura 14) e acondicionados dentro de BOD's, com temperatura variando entre 25° e 26° C, com umidade relativa do ar em torno de 80%.

Após a eclosão, as larvas foram alimentadas com ração feita a base de pó de xaxim, fezes de coelho, alface desidratada e vitormônios, misturados em igual proporção. A observação das mesmas para retirada de restos alimentares, fezes, fungos e ácaros foi realizada diariamente.

Foram contados os números de ovos por fêmea, e o número de larvas em cada estágio, bem como pupas e adultos, mas apenas os dados sobre número de ovos, larvas de primeiro estágio, número de pupas e adultos emergidos foram analisados, já que o acúmulo de restos

de alimento, fezes e exúvias dificultavam a contagem dos estádios intermediários entre L1 e pupa. Os dados sobre a biologia de *N. intermedia* e *N. neivai*, tais como tempo de duração das fases de ovo, estádios larvais e adultos foram realizados tomando-se uma média entre o primeiro dia da fase e o último dia da mesma.



Figura 13. Material utilizado para a criação individual dos flebotomíneos.



Figura 14. Potes para criação acondicionados em caixas plásticas.

4.6. Variação Interpopulacional, Interespecífica e Polimorfismo

Para o estudo da variação e do polimorfismo foram estudadas apenas as fêmeas de *N. intermedia* e *N. neivai* provenientes dos Estado de Minas Gerais e São Paulo. Além do material proveniente das coletas, foram utilizadas as populações destas espécies depositadas na Coleção de Flebotomíneos do Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz e comparadas as variações intrapopulacional e interpopulacional.

O material foi analisado ao microscópio óptico, marca Olympus, modelo CH-2. Foram comparados os cibários e as espermatecas. No cibário foi contado o número de dentes horizontais e nas espermatecas o número de anéis nas duas espermatecas e a forma da cabeça das espermatecas, sendo estas classificadas em simples, simples/bilobada, bilobada, bilobada/trilobada ou trilobada.

Apenas àquelas populações que apresentaram um número razoável de representantes capturados em uma mesma coleta foi analisada, a fim de se evitar as modificações morfológicas populacionais provenientes das variações sazonais. Onde as duas espécies ocorrem em simpatria estas foram separadas baseado no estudo morfológico. As populações utilizadas são descritas a seguir.

4.6.1. Lassance, Estado de Minas Gerais.

Foram utilizadas duas populações de *N. intermedia* de Lassance, uma coletada em área de cerrado com armadilha de Shannon em 07 de julho de 1997 e a outra em um galinheiro, com armadilha de Falcão em 08 de julho de 1997, distante cerca de dois quilômetros da área da primeira captura. Todo material encontra-se depositado na Coleção de Flebotomíneos do Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz, sob os números 74.768 a 75.108.

4.6.2. Além Paraíba, Estado de Minas Gerais.

Material de *N. intermedia* coletado para este estudo e descrito no item 4.3.2. Montagem provisória, descartada após o estudo.

4.6.3. Iporanga, Estado de São Paulo.

Material coletado como descrito no item 4.3.3., sendo consideradas duas populações de cada uma das espécies, uma coletada no peridomicílio e outra no chiqueiro, distantes cerca de um quilometro. Montagem provisória, descartada após o estudo.

4.6.4. Corinto, Estado de Minas Gerais.

Esta população pertencente à espécie *N. neivai* foi coletada como descrito no item 4.3.4. Montagem provisória, descartada após o estudo.

4.6.5. Alfenas, Estado de Minas Gerais.

Foi utilizada uma população de *N. neivai* coletada na Barra do Rio cabo Verde e Sapucaí, com armadilha de Shannon em 05 de setembro de 1958. Material depositado na Coleção de Flebotomíneos do Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz, sob os números 6.786 a 6.843.

4.6.6. Conchal, Estado de São Paulo.

População de *N. neivai*, gentilmente cedida pelo Doutor Cláudio Casanova, capturado com armadilha CDC nos dias 26 e 27 de junho de 2002. Montagem provisória, descartada após o estudo.

4.6.7. Análise Estatística

Para efeito do teste estatístico foi feita a análise de variância (ANOVA), a 5% de probabilidade, comparando-se entre as duas espécies e também entre cada população específica. As três estruturas estudadas foram analisadas isoladamente. Para o tipo de cabeça da espermateca foi dado valores a cada um; simples (1), simples/bilobada (2), bilobada (3), bilobada/trilobada (4).

5. RESULTADOS

5.1. Estudo Morfológico

5.1.1. Redescrição dos Machos de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*

Todas as medidas são dadas em micrômetros, entre parênteses a média, desvio padrão e número de exemplares examinados.

5.1.1.1. *Nyssomyia intermedia*

Cabeça (Tabela 1): razão dos comprimentos cípeo/cabeça 0,39 ($0,41 \pm 0,04$; n = 19), olhos/cabeça 0,89 ($0,91 \pm 0,04$; n = 19). Labro-epifaringe (LE) longo, razão do comprimento LE/cabeça 1,02 ($1,05 \pm 0,06$; n = 19). Razão entre AIII/LE 0,94 ($1,04 \pm 0,09$; n = 19) cípeo/distância interocular 1,02 ($0,99 \pm 0,10$; n = 19). Fórmula antenal AIII-AXIII 2; AXIV-AXVI 0. Ascóides internos e externos implantados ao mesmo nível, sendo seu prolongamento posterior longo, com ápice chegando bem próximo ao do flagelômero, não apresenta prolongamento basal. Presença de papila pré-apical em AIII, AIV, AXIV, AXV e AXVI. Ausência de cerda simples de AIII a AXIII. Segmentos AXV igual a AXVI (n = 2) ou menor (n = 5). Espinhos de Newstead do 3^o segmento palpal agrupados no terço mediano, em área ligeiramente mais larga que o resto do segmento. Fórmula palpal 1.4.2.3.5 (n = 14), ocorrendo ainda a fórmula 1.4.2.5.3 e 1.4.2.(3.5), uma em cada exemplar.

Cérvix: sensila ventro cervical ausente.

Tórax (Tabela 2): noto e paratergito castanho escuro, pleuras claras. Ausência de cerdas na região anterior do catepisterno. Presença de Cerdas proepimerais e anepisternais superiores. Asas medindo 554 (520 ± 28 ; n = 19) de largura, R5 com 1201

(1185 \pm 65; n = 19) de comprimento. Principais índices alares: α (alfa) 532 (466 \pm 39; n = 19); β (beta) 238 (285 \pm 35; n = 19); γ (gama) 136 (186 \pm 27; n = 19); δ (delta) 283 (229 \pm 37; n = 19). Tarsômeros III e IV com espinhos delgados, implantados em dois níveis, um apical e outro mediano, alguns exemplares apresentam estes espinhos mais robustos. Fêmur anterior medindo 657 (647 \pm 29; n = 18) de comprimento, médio 634 (628 \pm 38; n = 18) e posterior 702 (697 \pm 35; n = 17). Tíbia anterior medindo 804 (818 \pm 64; n = 18), média 952 (988 \pm 57; n = 18), posterior 1178 (1197 \pm 81; n = 16). Tarsômero I anterior, médio e posterior medindo 441 (440 \pm 23; n = 18), 521 (544 \pm 26; n = 18), 589 (602 \pm 31; n = 16), respectivamente.

Abdômen (Tabela 3): Ausência de papilas terciais nos tergitos abdominais. Gonocoxito: 297 (292 \pm 15; n = 19) de comprimento por 75 (70 \pm 8; n = 19) de largura em sua parte mediana, sem tufo de cerdas em sua região basal e com alguns elementos distribuídos esparsamente pela região mediana. Gonóstilo: 147 (141 \pm 7; n = 19) de comprimento, com quatro espinhos bem desenvolvidos, sendo um apical, um externo superior, implantado em seu quarto apical, um externo inferior e um interno. Estes dois últimos implantados ao mesmo nível, um pouco além do meio do artícolo. Cerda pré-apical ausente. Parâmero digitiforme, largo em sua base e no meio da estrutura com um brusco afilamento da região ventral. Apresenta ainda um grupo de cerdas finas na margem dorsal da região apical e outro na margem ventral, implantado na região de maior largura do parâmero. Lobo lateral de comprimento aproximadamente equivalente ao do gonocoxito, com a razão gonocoxito/lobolateral 1,05 (1,04 \pm 0,04; n = 19). Edeago cônico. Bomba ejaculadora com o pavilhão largo. Filamento genital curto, razão filamento genital/bomba ejaculadora 1,40 (1,34 \pm 0,11; n = 19). Ponta do filamento genital em forma de colher funda, sendo o ângulo de sua concavidade bastante acentuado (Figura 15).

5.1.1.2. *Nyssomyia neivai*

Holótipo. Cabeça (Tabela 1): razão dos comprimentos clipeo/cabeça $0,37 (0,41 \pm 0,02; n = 9)$, olhos/cabeça $0,86 (0,89 \pm 0,03; n = 9)$. Labro-epifaringe (LE) longo, razão do comprimento LE/cabeça $0,90 (0,98 \pm 0,06; n = 9)$. Razão entre AIII/LE $1,09 (1,01 \pm 0,06; n = 9)$. A cabeça do holótipo encontra-se em posição lateral, não sendo possível medir a distância interocular. Razão clipeo/distância interocular nos demais insetos $1,00 \pm 0,06 (n = 9)$. Fórmula antenal AIII-AXIII 2; AXIV-AXVI 0. Ascóides longos, estando seu ápice próximo ao fim do flagelômero. Ascóides internos e externos implantados ao mesmo nível. Presença da papila pré-apical em AIII, AXIV, AXV e AXVI. Ausência de cerdas simples de AIII a AXIII. Os dois últimos segmentos antenais são de tamanho variável, sendo AXV igual a AXVI ($n = 1$) ou menor ($n = 4$). Espinhos de Newstead do 3º segmento palpal implantados agrupados no terço mediano em área mais larga que no resto do artículo. Fórmula palpal 1.4.2.5.3, sendo que nos demais exemplares esta é 1.4.2.3.5 ($n = 9$).

Cérvix: sensila ventro cervical ausente.

Tórax (Tabela 2): noto e paratergito castanhos escuro, pleuras clara. Cerdas proepimerais e anepisternais superiores presentes. Região anterior do catepisterno sem cerdas. Asas medindo $600 (524 \pm 18; n = 9)$ de largura, R5 com $1348 (1133 \pm 27; n = 9)$ de comprimento. Principais índices alares: α (alfa) $544 (476 \pm 26; n = 9)$; β (beta) $283 (247 \pm 18; n = 9)$; γ (gama) $238 (188 \pm 18; n = 9)$; δ (delta) $295 (240 \pm 27; n = 9)$. Tarsômeros III e IV com espinhos delgados, implantados em dois níveis, um apical e outro mediano. Pata anterior do holótipo perdida, medindo o fêmur anterior, em média, nos demais exemplares $643 \pm 22 (n = 8)$ de comprimento, médio $680 (623 \pm 24; n = 7)$ e posterior $725 (693 \pm 26; n = 7)$. Tíbia anterior medindo $762 \pm 21 (n = 8)$, média $1042 (934 \pm$

24; n = 7), posterior 1258 (1139 ± 56 ; n = 6). Tarsômero I anterior com 412 ± 12 (n = 8), de comprimento, médio 589 (499 ± 26 ; n = 7) e posterior 680 (574 ± 25 ; n = 6).

Abdômen (Tabela 3): ausência de papilas terciais. Gonocoxito: 289 (279 ± 13 ; n = 9) de comprimento por 50 (64 ± 5 ; n = 9) de largura. Ausência de tufo basal de cerdas, apenas com poucas cerdas esparsas em sua região mediana. Gonóstilo medindo 139 (134 ± 5 ; n = 9) de comprimento, apresentando quatro espinhos fortes, sendo um apical, um externo superior implantado em seu quarto apical, um externo inferior e um interno. Estes dois últimos são implantados ao mesmo nível, na metade apical da estrutura. Ausência de cerda pré-apical. Parâmero digitiforme, largo em sua base, e no meio da estrutura com um brusco afilamento da região ventral, com um grupo de cerdas finas na margem dorsal da região apical e outro na margem ventral, implantado na região de maior largura do parâmero. Lobo lateral com 269 (267 ± 12 ; n = 9) de comprimento, com a razão gonocoxito/lobo lateral 1,07 ($1,05 \pm 0,07$; n = 9). Edeago cônico. Bomba ejaculadora com pavilhão largo. Filamento genital curto, razão filamento genital/bomba ejaculadora 1,60 ($1,49 \pm 0,08$; n = 9). Ponta do filamento genital distendida, em forma de colher rasa (Figura 16).

Tabela 1. Caracteres morfométricos da cabeça e seus apêndices de machos de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*.

Estrutura	<i>Nyssomyia intermedia</i>					<i>Nyssomyia neivai</i>				
	média	Desvio padrão	máximo	mínimo	n	média	Desvio padrão	máximo	mínimo	n
Comprimento										
da cabeça	239,95	15,37	266	211	19	242,89	9,98	261	230	9
Comprimento										
dos olhos	218,95	11,31	239	195	19	216,44	5,55	224	208	9
Distância										
interocular	96,53	7,92	105	75	19	99,89	6,25	109	94	9
Clípeo	97,58	6,61	108	86	19	105,91	6,24	109	92	9
Labro- epifaringe	229,74	15,75	250	195	19	237,33	12,17	255	220	9
AIII	238,79	21,18	275	172	19	239,56	6,91	253	233	9
AIV	110,11	7,57	125	89	19	108,33	4,90	117	103	9
AV	109,79	6,90	122	92	19	108,78	5,52	117	97	9
P1	35,37	2,93	42	30	19	33,00	2,45	39	31	9
P2	110,05	7,69	125	94	19	109,44	4,56	117	103	9
P3	131,56	8,94	152	119	18	136,89	8,68	145	119	9
P4	52,94	3,57	61	47	18	55,44	4,28	61	47	9
P5	140,00	8,16	153	130	16	153,22	10,63	164	128	9

Tabela 2. Caracteres morfométricos das principais estruturas das asas e patas de machos de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*.

Estrutura	<i>Nyssomyia intermedia</i>					<i>Nyssomyia neivai</i>				
	média	Desvio padrão	máxim o	mínim o	n	média	Desvi o	máxim o	mínim o	n
Largura da asa	519,89	28,09	578	465	19	523,67	17,80	544	487	9
R5	1185,4	64,96	1280	997	19	1132,7	27,32	1178	1087	9
	2					8				
Alfa	466,32	39,33	533	397	19	476,00	26,02	510	419	9
Beta	284,63	34,75	362	215	19	246,89	18,41	272	216	9
Gama	185,89	27,35	238	125	19	187,56	18,18	227	170	9
Delta	229,00	37,18	295	159	19	240,44	27,04	272	181	9
Fêmur anterior	647,00	29,26	702	567	18	642,88	22,40	668	600	8
Fêmur médio	628,06	38,27	691	521	18	623,00	23,62	646	578	7
Fêmur posterior	697,00	35,21	748	600	17	693,00	26,16	714	646	6
Tíbia anterior	818,78	64,40	993	702	18	761,63	20,72	793	693	8

Tíbia média	987,50	57,32	1087	838	18	933,57	24,30	963	895	7
Tíbia posterior	1196,8	80,86	1341	986	16	1138,5	55,89	1201	1065	6
	1					0				
Tarsômero I										
anterior	440,33	22,63	487	397	18	412,25	11,89	431	397	8
Tarsômero I										
médio	543,94	25,58	612	498	18	498,86	26,05	533	465	7
Tarsômero I										
posterior	601,88	30,83	657	533	16	573,83	25,29	600	544	6

Tabela 3. Caracteres morfométricos do abdômen de machos de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*.

Estrutura	<i>Nyssomyia intermedia</i>					<i>Nyssomyia neivai</i>				
	média	Desvio padrão	máxim o	mínim o	n	média	Desvi padrã o	máxim o	mínim o	N
Comprimento do gonocoxito	292,42	15,20	316	260	19	279,13	12,62	302	266	9

Largura do										
gonocoxito	70,37	7,90	84	55	19	63,56	4,95	69	53	9
Comprimento										
do gonóstilo	140,74	7,12	153	122	19	134,22	5,26	141	127	9
Comprimento										
do lobo lateral	281,26	12,78	306	258	19	267,33	11,76	288	252	9
Largura lobo										
lateral	25,11	3,61	33	22	19	26,56	1,94	30	25	9
Bomba										
ejaculadora	219,05	7,31	233	203	19	195,56	8,14	211	186	9
Filamento										
genital	297,79	19,78	325	255	19	291,89	10,58	313	277	9

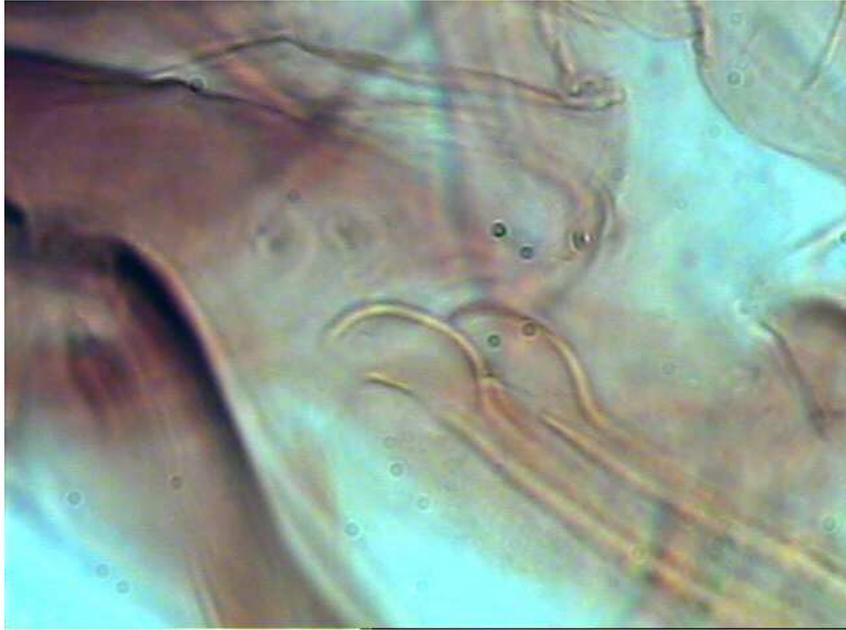


Figura 15. Ponta do filamento genital de *Nyssomyia intermedia* em forma de colher funda (concha) (X 1.000)



Figura 16. Ponta do filamento genital de *Nyssomyia neivai* em forma de colher rasa
(X 1.000)

5.1.2. Redescrição das fêmeas de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*

5.1.2.1. *Nyssomyia intermedia*

Cabeça (Tabela 4): razão entre os comprimentos do clipeo/cabeça $0,49 (0,48 \pm 0,04; n = 19)$, olhos/cabeça $0,88 (0,88 \pm 0,03; n = 19)$. Labro-epifaringe longo, razão labro-epifaringe/cabeça $1,36 (1,37 \pm 0,07; n = 19)$ e AIII/labro-epifaringe $0,65 (0,64 \pm 0,03; n = 19)$. Ascóides implantados ao mesmo nível, sem prolongamento basal, sendo o prolongamento distal longo, atingindo o ápice do segmento subsequente. Fórmula antenal AIII-AXIII 2; AXIV-AXVI 0. Ausência de cerdas simples de AIII a AXIII. AXV menor que AXVI ($n = 11$), podendo ser ainda igual ($n = 3$) ou menor ($n = 2$). Fórmula palpal altamente variável sendo a mais comum 1.4.5.2.3 ($n = 11$), ocorrendo ainda 1.4.2.5.3 ($n = 5$) e 1.4.(2.5).3 ($n = 4$), Espinhos de Newstead agrupados na região mediana do 3º segmento palpal, ou implantados também no quarto apical, em pequenos grupos, próximos uns dos outros. Lacínia da maxila apresenta dois grupos longitudinais de oito a dez dentes externos ($n = 19$). Cibário com 8-10 (predomínio de oito) dentes horizontais. Dentes verticais fortes e numerosos, variando este número entre 16 e 24. Arco do cibário completo e área pigmentada bem definida. Faringe sem dentes, com pequenas rugosidades em sua região apical.

Cérvix: sensila ventro cervical ausente.

Tórax (Tabela 5): coloração e presença de cerdas como no macho. Asa com largura de 623 ($621 \pm 24; n = 19$), R5 com 1394 ($1350 \pm 54; n = 19$) de comprimento. Principais índices alares: α (alfa) 544 ($557 \pm 45; n = 19$); β (beta) 295 ($310 \pm 32; n = 19$); γ (gama) 192 ($215 \pm 21; n = 19$); δ (delta) 306 ($298 \pm 51; n = 19$). Tarsômeros III e IV com espinhos

delgados, implantados em dois níveis, um apical e outro mediano. Fêmur anterior medindo 702 (683 ± 26 ; $n = 19$) de comprimento, médio 714 (686 ± 26 ; $n = 19$) e posterior 770 (750 ± 32 ; $n = 19$). Tíbia anterior medindo 816 (805 ± 40 ; $n = 19$), média 1031 (1017 ± 45 ; $n = 18$), posterior 1280 (1252 ± 75 ; $n = 19$). Tarsômero I anterior, médio e posterior medindo 442 (429 ± 24 ; $n = 19$), 555 (548 ± 31 ; $n = 18$), 634 (624 ± 33 ; $n = 19$), respectivamente.

Abdômen (Tabela 6): espermatecas aneladas, medindo 47 (56 ± 6 ; $n = 19$) de comprimento por 17 (17 ± 1 ; $n = 19$) de largura (Figura 17). Número de anéis variáveis, entre oito e 15, havendo predomínio de 11 e 10 anéis. A soma dos anéis das duas espermatecas varia entre 17 e 33, com predomínio de 22 anéis. Cabeça da espermateca medindo cerca de 11 (11 ± 2 ; $n = 19$) de comprimento e 12 (12 ± 2 ; $n = 19$) de largura em seu ápice, e 10 (10 ± 2 ; $n = 19$) em sua base, sendo a forma simples predominante, ocorrendo ainda as formas simples/bilobada e bilobada. Dutos individuais estriados, com algumas concreções em sua inserção com a espermateca, medindo 97 (99 ± 12 ; $n = 19$) de comprimento e o duto comum 47 (48 ± 10 ; $n = 19$) (Figura 19). Razão duto individual/comum 2,06, variando entre 1,20 e 3,05 ($2,14 \pm 0,52$; $n = 19$). Cercas sem características especiais, medindo 144 (144 ± 10 ; $n = 19$) de comprimento.

5.1.2.2. *Nyssomyia neivai*

Cabeça (Tabela 4): razão entre os comprimentos do clipeo e cabeça 0,47 ($0,46 \pm 0,03$; $n = 9$), olhos/cabeça 0,91 ($0,88 \pm 0,02$; $n = 9$). Labro-epifaringe longo, razão labro-epifaringe/cabeça 1,31 ($1,31 \pm 0,09$; $n = 9$) e AIII/labro-epifaringe 0,67 ($0,64 \pm 0,04$; $n = 9$). Ascóides implantados ao mesmo nível em todos segmentos, sem apresentar prolongamento basal, prolongamento apical chegando ao ápice do próximo segmento. Fórmula antenal AIII-AXIII 2; AXIV-AXVI 0. Ausência de cerdas simples em AIII-AXIII;

presença de papila pré-apical em AIII, AIV, AXIV, AXV e AXVI. AXV menor que AXVI (n = 4). Foram encontradas duas fórmulas palpais, 1.4.5.2.3 (n = 7) e 1.4.(2.5).3 (n = 2). Espinhos de Newstead encontrados dispersos pela região mediana do 3º palpômero, ou em dois ou três pequenos grupos. Lacínea da maxila apresenta dois grupos longitudinais de sete a dez dentes externos (n = 9). Cibário com 8-10 dentes horizontais, com predomínio de 10. Os dentes verticais são fortes em número que varia entre 17 e 24. Arco do cibário completo e área pigmentada bem definida. Faringe sem dentes, com pequenas rugosidades em sua região apical.

Cérvix: sensila ventro cervical ausente.

Tórax (Tabela 5): coloração e presença de cerdas como no macho. Asas medindo 567 (633 ± 22 ; n = 8) de largura, R5 com 1178 (1321 ± 15 ; n = 8) de comprimento. Principais índices alares: α (alfa) 465 (579 ± 35 ; n = 8); β (beta) 329 (285 ± 18 ; n = 8); γ (gama) 204 (224 ± 21 ; n = 8); δ (delta) 215 (313 ± 16 ; n = 8). Tarsômeros III e IV com espinhos delgados, implantados em dois níveis, um apical e outro mediano. Fêmur anterior medindo 634 (697 ± 20 ; n = 6) de comprimento, médio 634 (691 ± 14 ; n = 5) e posterior 748 (759 ± 19 ; n = 8). Tibia anterior medindo 668 (780 ± 15 ; n = 6), média 884 (997 ± 37 ; n = 5), posterior 1190 (1215 ± 28 ; n = 8). Tarsômero I anterior, médio e posterior medindo 363 (440 ± 6 ; n = 4), 442 (525 ± 20 ; n = 4), 589 (600 ± 14 ; n = 7), respectivamente.

Abdômen (Tabela 6): Espermateca formada por sete a 10 anéis, com predomínio de oito e nove anéis, medindo 39 (42 ± 3 ; n = 10) de comprimento por 14 (14 ± 1 ; n = 10) de largura (Figura 18). Soma dos anéis das duas espermatecas variando entre 13 e 22, com predomínio de 17 anéis. Cabeça da espermateca simples na maioria dos exemplares, medindo oito (8 ± 1 ; n = 10) de comprimento e a largura, oito (8 ± 1 ; n = 10) em seu ápice e seis (6 ± 1 ; n = 18) em sua base. Dutos individuais levemente estriados, medindo 64 ($71 \pm$

11; $n = 6$) de comprimento e o duto comum 22 (22 ± 5 ; $n = 5$) (Figura 20). Razão duto individual/comum 2,91, ocorrendo variação entre 2,68 e 4,41, ($3,42 \pm 0,73$; $n = 5$). Cercas sem características especiais, medindo 152 (148 ± 11 ; $n = 10$) de comprimento.

Tabela 4. Caracteres morfométricos da cabeça e seus apêndices de fêmeas de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*.

Estrutura	<i>Nyssomyia intermedia</i>					<i>Nyssomyia neivai</i>				
	média	Desvio padrão	máxim o	mínim o	n	médi a	Desvio padrão	máxim o	mínim o	n
Comprimento da cabeça	251,37	11,46	280	230	19	266,8 9	7,54	280	255	9
Comprimento dos olhos	222,89	10,20	250	211	19	234,2 2	8,23	249	224	9
Distância interocular	119,95	7,27	138	105	19	117,0 0	10,31	139	100	9
clípeo	120,37	9,53	142	109	19	121,7 8	5,83	130	116	9
Labro- epifaringe	346,89	20,69	402	302	19	350,5 6	20,34	369	316	9
AIII	221,79	13,59	253	200	19	226,0 0	10,31	241	208	8
AIV	95,47	3,99	103	89	19	96,00	4,28	103	89	8
AV	95,47	4,36	105	89	19	96,63	2,50	100	94	8

P1	42,21	3,12	47	36	19	42,25	3,01	44	39	8
P2	154,11	8,45	169	139	19	158,0	3,21	161	152	8
						0				
P3	169,16	9,78	191	153	19	175,6	3,78	177	172	8
						3				
P4	59,84	5,05	69	50	19	67,75	5,28	72	58	8
P5	148,74	6,64	161	139	19	153,3	5,88	161	147	8
						8				

Tabela 5. Caracteres morfométricos das principais estruturas das asas e patas de fêmeas de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*.

Estrutura	<i>Nyssomyia intermedia</i>					<i>Nyssomyia neivai</i>				
	média	Desvio padrão	máxim o	mínim o	n	média	Desvi o	máxim o	mínim o	n
Largura da asa	621,21	24,00	657	578	19	633,00	21,64	657	600	8

R5	1349,8	53,60	1427	1235	19	1321,3	15,21	1337	1292	8
	4					8				
Alfa	557,32	45,46	646	435	19	579,25	34,26	634	533	8
Beta	310,05	32,21	374	238	19	285,00	18,47	306	261	8
Gama	215,26	20,88	260	181	19	223,75	21,39	249	193	8
Delta	297,53	50,75	408	204	19	313,00	16,46	351	306	8
Fêmur anterior	682,58	26,49	736	646	19	696,83	20,49	714	668	6
Fêmur médio	686,16	25,93	736	657	19	690,80	14,31	702	668	5
Fêmur posterior	750,00	32,14	827	691	19	759,00	18,94	793	736	8
Tíbia anterior	805,47	39,73	884	725	19	779,83	15,28	793	759	6
Tíbia média	1016,7	45,42	1099	929	19	997,00	37,15	1042	952	5
	8									
Tíbia posterior	1252,1	74,98	1427	1110	19	1215,1	28,33	1269	1190	8
	6					3				
Tarsômero I anterior	429,32	23,77	487	397	19	413,50	6,35	419	408	4
Tarsômero I médio	548,22	30,64	612	510	19	524,50	19,63	533	499	4
Tarsômero I posterior	623,58	32,55	691	578	19	600,29	14,39	623	589	7

Tabela 6. Caracteres morfométricos do abdômen de fêmeas de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*.

Estrutura	<i>Nyssomyia intermedia</i>					<i>Nyssomyia neivai</i>				
	média	Desvio padrão	máxim o	mínim o	n	média	Desvi o	máxim o	mínim o	N
Comprimento da espermateca	56,26	5,74	67	47	19	41,70	2,50	44	36	10
Largura da espermateca	16,89	1,20	19	14	19	13,7	0,95	14	11	10
Comprimento da cabeça da espermateca	11,16	2,12	14	8	19	8,3	0,95	11	8	10
Largura da cabeça da espermateca em seu ápice	11,79	2,42	14	8	19	7,90	1,37	89	55	6
Largura da cabeça da espermateca em sua base	10,25	1,65	14	8	19	6,21	0,63	8	6	18

Comprimento										
duto individual	98,89	11,71	128	86	19	71,33	11,34	89	55	6
Comprimento										
duto comum	48,21	10,16	72	33	19	21,60	4,67	28	17	5
Comprimento										
das cercas	143,53	10,18	161	125	19	148,10	10,52	166	130	10

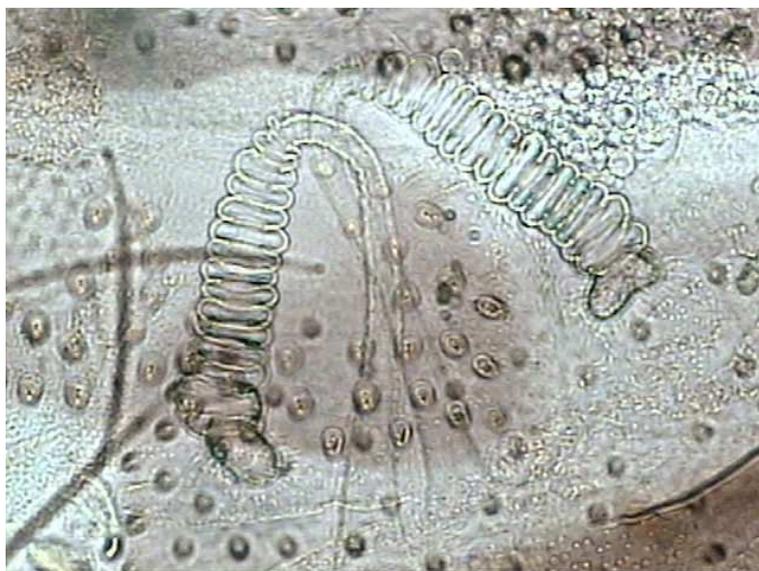


Figura 17. Espermateca de *Nyssomyia intermedia* com 13-15 anéis e uma cabeça simples e outra bilobada (X 400)



Figura 18. Espermateca de *Nyssomyia neivai* com oito-nove anéis e cabeça simples

(X 400)

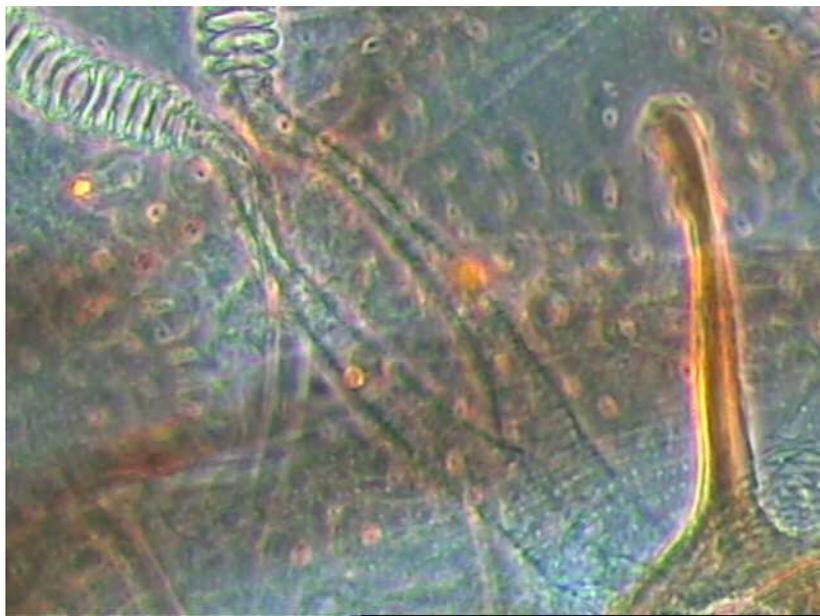


Figura 19. Dutos individuais e comum de *Nyssomyia intermedia* (X 400)



Figura 20. Dutos individuais e comum de *N. neivai* (X 400)

5.1.3. Material Examinado

Os exemplares utilizados neste estudo são descritos a seguir:

N. intermedia – Material coletado em Além Paraíba, Minas Gerais, por JD Andrade Filho, com armadilha luminosa de Falcão, em 27/08/2002, depositado na Coleção do Centro de Pesquisas René Rachou-Fiocruz, ainda sem numeração definida, com a Nota de Entrada 3143/02.

N. neivai – Holótipo macho, coletado no Instituto Butantan, São Paulo, por R. Fischer, em 02/07/1926, depositado na Coleção do Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, sob o número 2267. Demais exemplares utilizados procedentes da criação desta espécie (F2), coletados no município de Conchal, São Paulo, por C Casanova.

5.2. Distribuição geográfica

A distribuição geográfica para *N. intermedia* e *N. neivai* foi obtida da bibliografia, com a distinção da ocorrência por área geográfica para as duas espécies alicerçada nos estudos de MARCONDES et al. (1998a) e também na observação de cerca de 4.000 exemplares das duas espécies, sendo a maioria (2.247) depositada na Coleção de Flebotomíneos do Centro de Pesquisas René Rachou, e rotulada como *N. intermedia*. Para cada uma das espécies, foram listadas as ocorrências, segundo os estados, com respectivos municípios. A figura 21 ilustra a distribuição no território brasileiro.

5.2.1. *Nyssomyia intermedia*

Alagoas – Palmeira dos Índios.

Bahia – Barreiras, Ilhéus (MARCONDES et al 1998a), Piauí, Santo Amaro (FOLLADOR et al. 1999).

Ceará – Crato.

Espírito Santo – Afonso Cláudio (FERREIRA et al. 2001), Aracruz, Colatina, Ecoporanga, Itaguaçu, Linhares, Mimoso do Sul, Santa Leopoldina, Santa Tereza, Serra, Venda Nova do Imigrante (MARCONDES et al. 1998a), Viana (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al. 1998a), Vitória.

Goiás – Sítio D'abadia.

Mato Grosso do Sul – Miranda

Minas Gerais – Aimorés, Além Paraíba (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al. 1998a), Alto Caparaó, Araçuaí (GONTIJO et al. 2002), Arinos, Barra Longa, Belo Horizonte, Bocaiúva, Buenópolis, Buritizeiro, Caeté, Caparaó, Caratinga, Cava Grande, Conceição de

Ipanema, Conselheiro Pena, Coroaci, Coronel Fabriciano, Curvelo, Corinto, Dom Cavati, Diamantina, Felipe dos Santos, Galileia, Governador Valadares, Iapu, Itambacurí, Itanhomi, Januária, Juiz de Fora, Lagoa Santa (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al. 1998a), Lassance (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al. 1998a), Leopoldina, Manhuaçu, Mantena, Mariana, Marliéria, Mutum, Pirapora, Pocrane, Pompeu (MARCONDES et al. 1998a), Porteirinha, Rio Casca, Santa Bárbara, São João do Paraíso, Silveirânea, Tarumirim, Timóteo (ANDRADE FILHO et al. 1997), Viçosa (SANTOS DE MARCO et al 2002), Volta Grande.

Pernambuco – Jaboatão dos Guararapes, Quipapá (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al. 1998a).

Piauí – Teresina (MARCONDES et al 1998a).

Rio de Janeiro – Araruama, Cachoeiras de Macacu (MARCONDES et al. 1998a), Cardoso Moreira (MARCONDES et al. 1998a), Casimiro de Abreu (SOUZA et al. 2001), Cordeiro (MARCONDES et al. 1998a), Duque de Caxias, Ibicuí, Itaboraí, Itacurussa, Itaguaí (MARCONDES et al. 1998a), Itaperuna, Macaé, Magé, Muriqui, Niterói (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al. 1998a), Nova Iguaçu, Parati (MARCONDES et al. 1998a), Petrópolis (OBS. PESSOAL; SOUZA et al. 2002), Rio Bonito (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al. 1998a), Rio de Janeiro, Silva Jardim (SOUZA et al. 2001), Teresópolis, Valença, Vassouras.

São Paulo – Bananal, Caraguatatuba (MARCONDES et al. 1998a), Iporanga (OBS. PESSOAL; GALATI et al. 2002), Pariqüera Açú (MARCONDES et al. 1998a), São Sebastião (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al. 1998a; BRITO et al. 2002), Taubaté (CASANOVA, dados não publicados), Ubatuba (MARCONDES et al. 1998a).

5.2.2. *Nyssomyia neivai*

Goiás – Corumbáiba, Itumbiara (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al. 1998a).

Minas Gerais – Alfenas, Arinos, Bambuí (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al. 1998a),
Betim, Conceição do Rio Verde, Coração de Jesus, Divinópolis, Esmeralda, João Pinheiro
(MARCONDES et al. 1998a), Lagoa Santa, Lassance, Paracatu, Passos, Pedro Leopoldo,
Perdões (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al. 1998a), Pirapora, Presidente Olegário,
Tupaciguara, Uberlândia.

Pará – São Geraldo do Araguaia (GALATI, dados não publicados).

Paraná – Cianorte (MARCONDES et al 1998a), Fênix (MARCONDES et al. 1998a),
Jussara (MARCONDES et al. 1998a), Paiçandu, Perobal, Santo Antônio, São Jorge do Ivaí
(MARCONDES et al. 1998a), Terra Boa (TEODORO et al. 2001).

Rio Grande do Sul – Campo Novo (MARCONDES et al. 1998a), Santa Maria
(MARCONDES et al. 1998a), Tenente Portela (OBS. PESSOAL; SILVA &
GRUNEWALD 1999)

Santa Catarina – Biguaçu, Indaial, Itajaí, Quilombo (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al
1998a), Rancho Queimado (MARCONDES et al. 1998a), Santo Amaro da Imperatriz, São
Carlos.

São Paulo – Angatuba (MARCONDES et al. 1998a), Araçatuba (MARCONDES et al.
1998a), Araraquara (MARCONDES et al. 1998a), Atibaia (MARCONDES et al. 1998a),
Cajamar (MARCONDES et al. 1998a), Capela do Alto (MARCONDES et al. 1998a),
Conchal (CASANOVA 2001), Dourado (MARCONDES et al. 1998a), Eldorado
(MARCONDES et al. 1998a), Iporanga (OBS. PESSOAL, MARCONDES et al. 1998a;
GALATI et al. 2002), Itupeva (MARCONDES et al. 1998a), Miracatu (MARCONDES et
al. 1998a), Monte Mor (MARCONDES et al. 1998a), Natividade da Serra (MARCONDES
et al. 1998a), Pariqüera Açu (MARCONDES et al. 1998a), Pedro de Toledo

(MARCONDES et al. 1998a), Pereira Barreto (MARCONDES et al. 1998a), Pirapora do Bom Jesus (MARCONDES et al. 1998a), Porto Ferreira (MARCONDES et al. 1998a), São Luís do Paraitinga (MARCONDES et al. 1998a), São Paulo (OBS. PESSOAL; MARCONDES et al 1998a), São Roque (MARCONDES et al. 1998a), Taubaté (CASANOVA, dados não publicados), Teodoro Sampaio (MARCONDES et al. 1998a).

N. neivai também ocorre na Argentina, Bolívia e Paraguai (MARCONDES et al. 1998a).

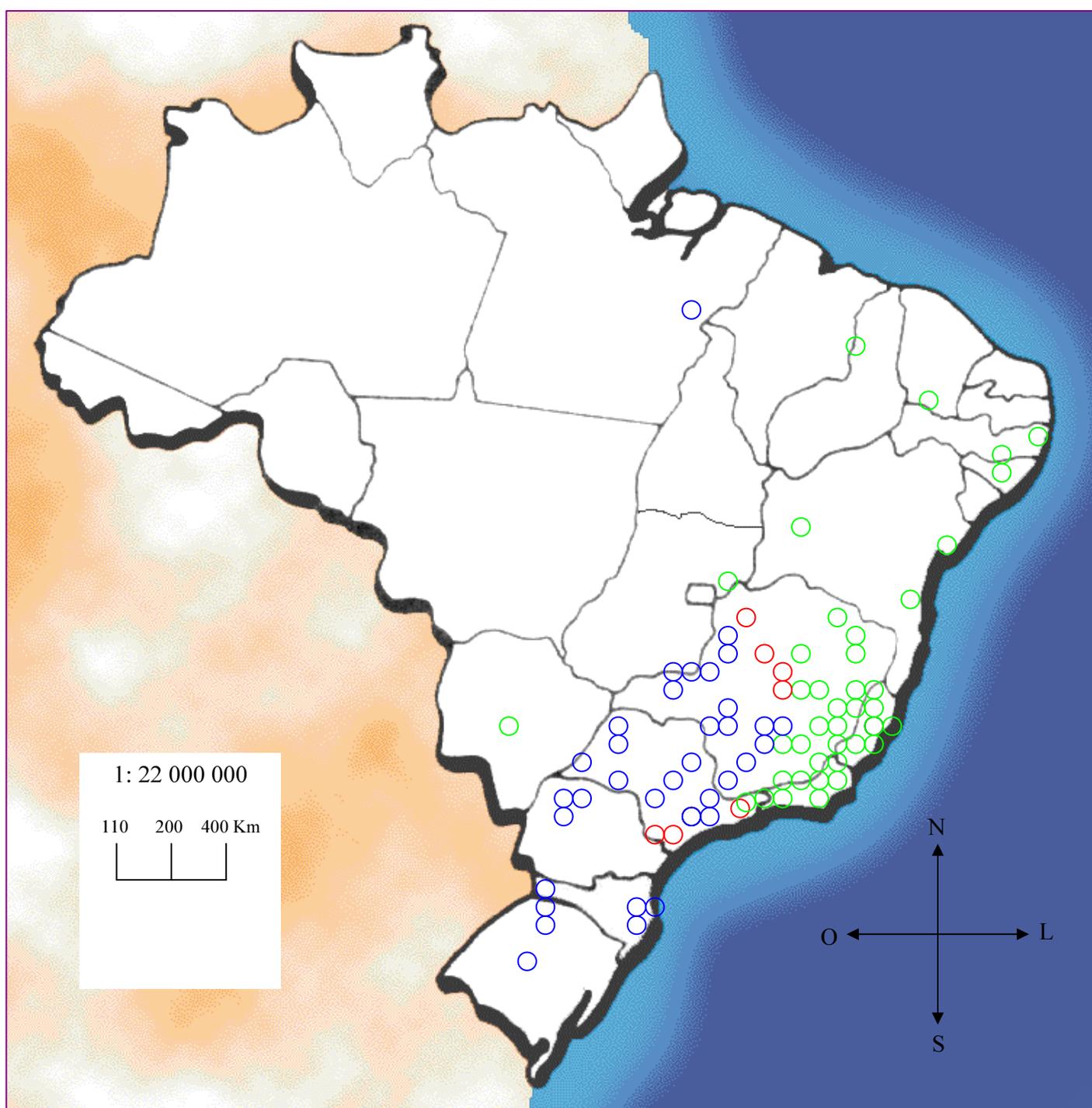


Figura 21. Distribuição geográfica no Brasil de *Nyssomyia intermedia* (círculo verde) e *Nyssomyia neivai* (círculo azul). Os círculos vermelhos referem-se às áreas de simpatria entre as duas espécies.

5.3. Biologia de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*

5.3.1. *Nyssomyia intermedia*

As fêmeas trazidas do campo alimentaram-se avidamente em hamster e também tentavam picar o homem, sendo que neste último não foi permitida a alimentação. Foram individualizadas 123 fêmeas coletadas em Além Paraíba, das quais obteve-se postura de 72 (58,5%). Apenas uma fêmea não pertencia a espécie estudada, sendo identificada como *N. whitmani*. A porcentagem de fêmeas de *N. intermedia* com postura foi de 57,7% e, em todos os potes, os ovos eclodiram. Das fêmeas que realizaram postura, 39 (54,2%) continuaram vivas, porém nenhuma efetuou o segundo repasto sanguíneo. O número total de ovos foi de 3.228 e média de 45,5 ovos por fêmea, como valor mínimo de ovos postos por uma fêmea de 12 e o máximo de 78. Deste total de ovos, foram obtidas 1.474 larvas de primeiro estágio, representando uma taxa de eclosão de 45,7%. Em 82,3% (60/72) dos potes com postura, houve emergência de adultos, sendo que o número total foi de 1.144, 35,4% do total de ovos e 77,6% do total de larvas eclodidas, sendo que destes adultos 51,5% foram de fêmeas e 48,5% de machos (Figura 22).

A Figura 23 mostra o tempo médio de desenvolvimento de cada estágio imaturo e a figura 24 os valores médios, mínimos e máximos de cada uma dessas fases. Observou-se que os machos foram os primeiros a emergir. O tempo médio de desenvolvimento de ovo a adulto para *N. intermedia* foi de 34,9 dias, sendo o mínimo de 29 e o máximo de 42 dias. O tempo de incubação dos ovos foi de 5,7 dias, variando entre quatro e oito dias. O tempo de desenvolvimento para L1, L2, L3 e L4 foi de 5,1, 3,1, 4,2 e 7,9 dias, respectivamente. O tempo mínimo de desenvolvimento para L2 e L3 foi de dois dias e o máximo de sete dias, sendo este valor máximo o mesmo para L1, que teve como valor mínimo quatro dias. L4

teve como tempo médio de duração oito dias, com o mínimo de seis e máximo de 11 dias. O estágio de pupa foi o mais demorado com média de 9,0 dias, mínimo de sete e máximo 11 dias.

Figura 22. Produtividade de ovos, taxa de eclosão de L1, pupas e adultos emergidos em laboratório da primeira geração de *Nyssomyia intermedia* proveniente de Além Paraíba, Estado de Minas Gerais.

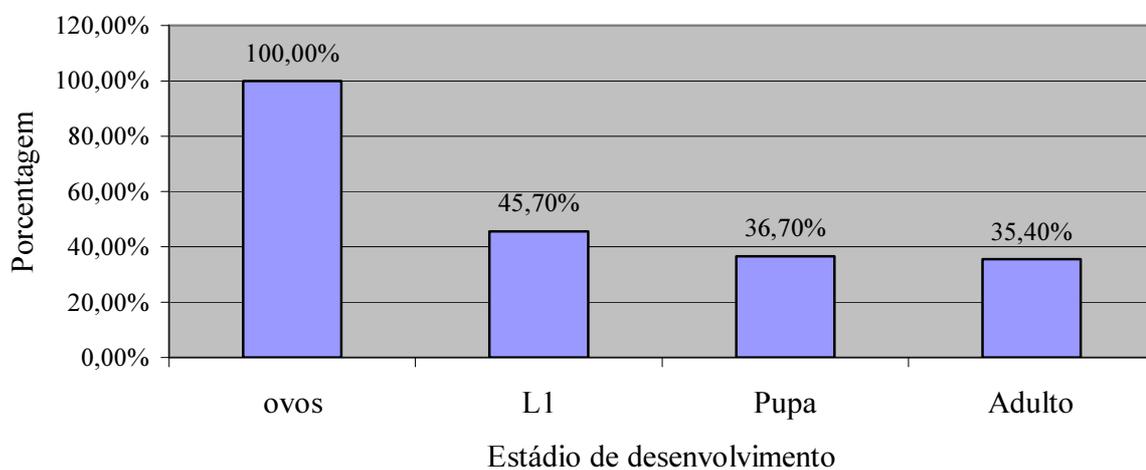


Figura 23. Tempo de desenvolvimento em laboratório da primeira geração de *Nyssomyia intermedia* proveniente de Além Paraíba, Estado de Minas Gerais

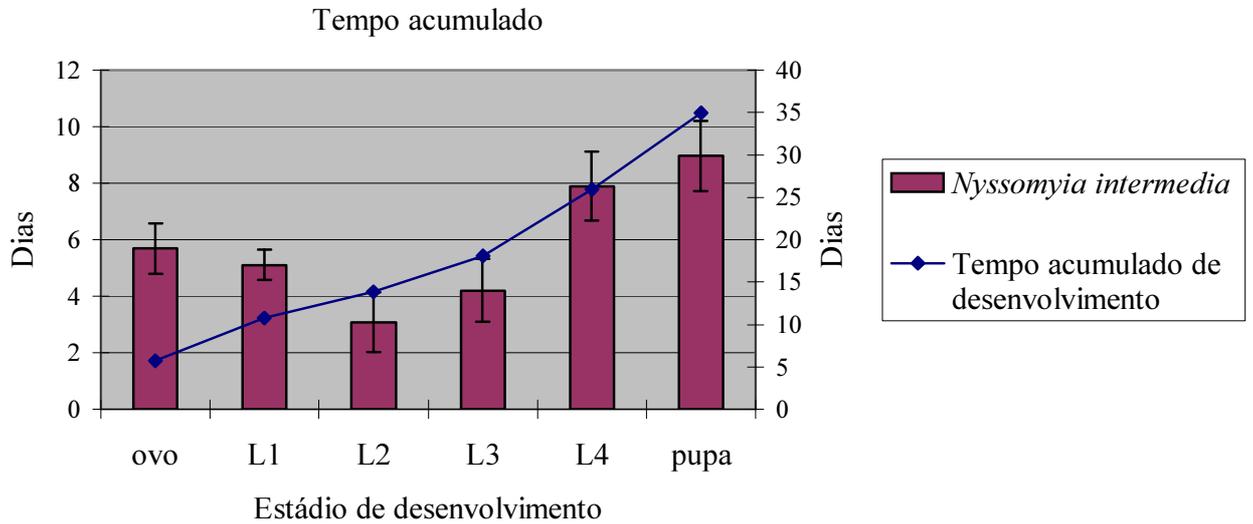
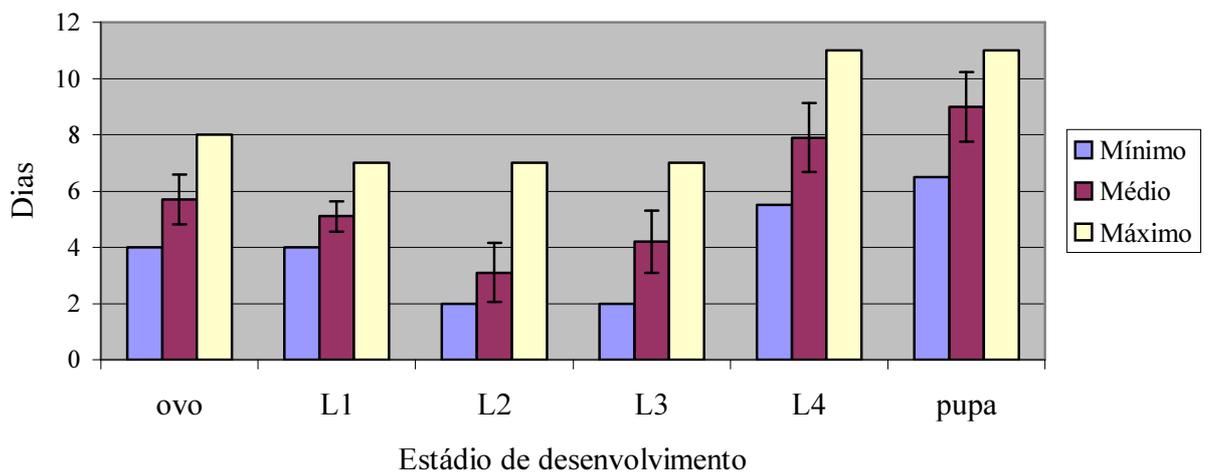


Figura 24. Tempo mínimo, médio e máximo do desenvolvimento em laboratório dos estádios imaturos da primeira geração de *Nyssomyia intermedia* proveniente de Além Paraíba, Estado de Minas Gerais.



5.3.2. *Nyssomyia neivai*

Como em *N. intermedia*, as fêmeas de *N. neivai* se alimentaram facilmente em hamster, picando também o homem, quando colocada esta fonte sanguínea à disposição, entretanto, na codorna não se obteve sucesso. Um total de 91 fêmeas capturadas em Corinto foi individualizada para postura. Dos 54 (59,3%) potes com postura, apenas em um deles foi identificada a espécie *Evandromyia lenti* (Mangabeira, 1938), nos demais, *N. neivai*. Destas 53 fêmeas, apenas oito (15,1%) permaneceram vivas após a postura, não realizando outro repasto sanguíneo. Um total de 2.573 ovos foram postos pelas 53 fêmeas de *N. neivai*, com média de 48,5 ovos por fêmea, ocorrendo variação de dez até 70 ovos por postura. Do total de ovos postos, houve eclosão de 60,3% (1.552/2.573) larvas. As formas aladas ocorreram em 73,6% (39/53) dos potes com postura. A taxa de eclosão de adultos foi de 20,7% (533/2.573) em relação ao total de ovos e 34,3 % (533/1.552) do total de L1. A porcentagem de fêmeas foi de 56,7% contra 43,3% de machos (Figura 25).

A figura 26 mostra o tempo médio de desenvolvimento de cada estágio e a figura 27 os valores médios, mínimos e máximos de cada uma dessas fases. Como em *N. intermedia*, os machos foram os primeiros a emergir. O ciclo total de ovo a adulto para *N. neivai* foi de 45,1 dias, com o mínimo de 36 e o máximo de 54 dias. O tempo de incubação dos ovos foi de 5,0 dias, com uma variação de quatro a sete dias. A variação do tempo de desenvolvimento dos três primeiros estádios larvais foi pequena, sendo sua duração média de 6,5, 6,9 e 7,3 dias, respectivamente, com L4 durando em média 9,0 dias e a fase de pupa 10,4 dias. O tempo mínimo para L1, L2, e L3 foi de quatro dias, chegando a seis para L4 e nove dias para pupa. A máxima duração de L1 e L2 foi de nove dias, L3 e L4 de 12 dias e pupa 15 dias.

As figuras 28, 29, 30 e 31 mostram a comparação dos resultados obtidos para as duas espécies, no que diz respeito a proporção entre os sexos, produtividade e tempo de desenvolvimento.

Figura 25. Produtividade de ovos, taxa de eclosão de L1, pupas e adultos emergidos em laboratório da primeira geração de *Nyssomyia neivai* proveniente de Corinto, Estado de Minas Gerais.

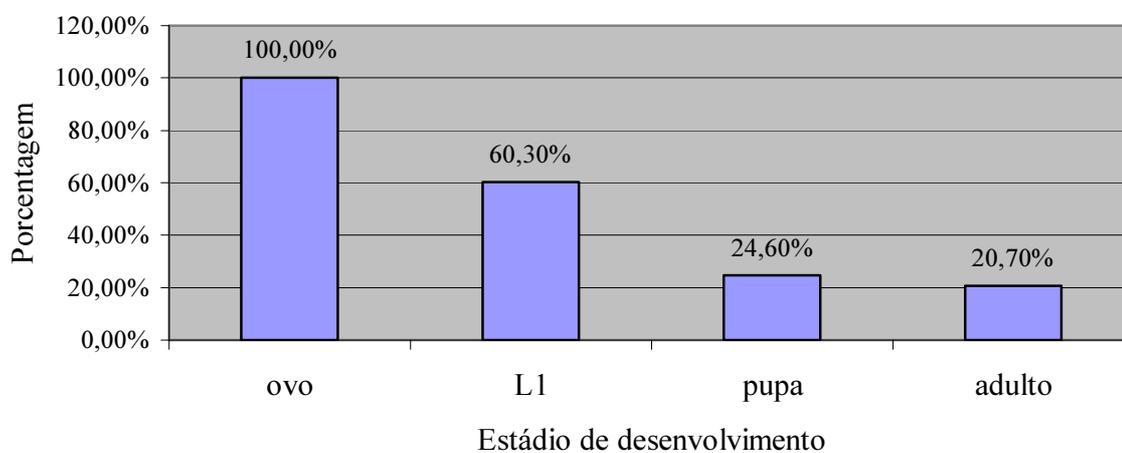


Figura 26. Tempo de desenvolvimento em laboratório da primeira geração de *Nyssomyia neivai* proveniente de Corinto, Estado de Minas Gerais

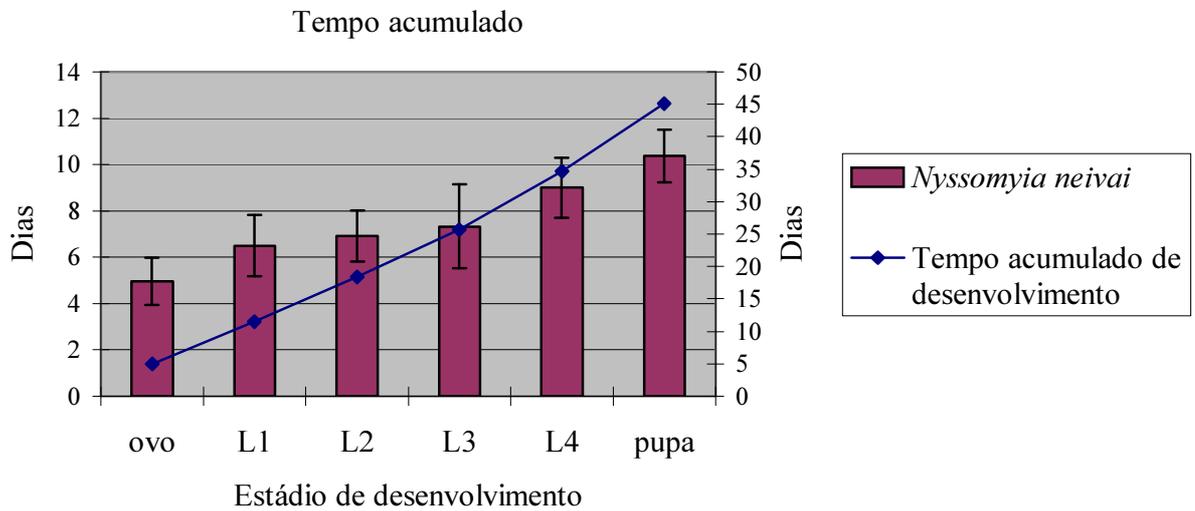


Figura 27. Tempo mínimo, médio e máximo do desenvolvimento em laboratório dos estádios imaturos da primeira geração de *Nyssomyia neivai* proveniente de Corinto, Estado de Minas Gerais.

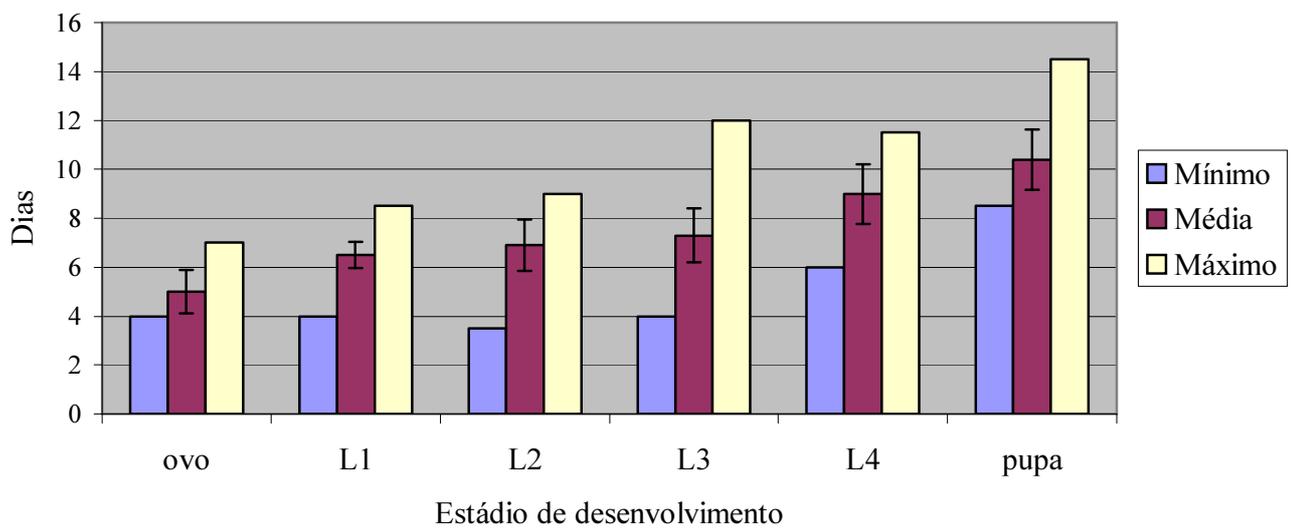


Figura 28. Produtividade de ovos, taxa de eclosão de L1, pupas e adultos emergidos em laboratório da primeira geração de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai* provenientes do Estado de Minas Gerais.

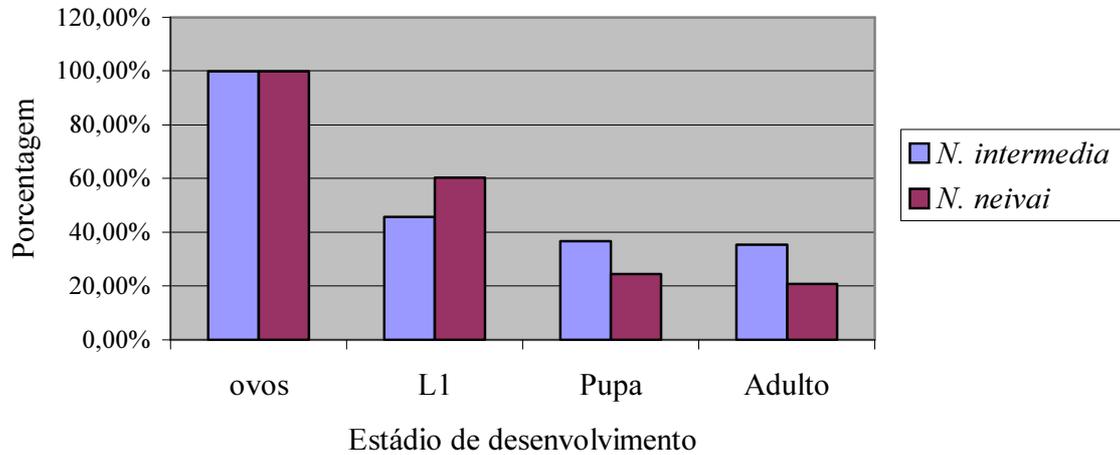


Figura 29. Tempo de desenvolvimento em laboratório da primeira geração de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai* provenientes do Estado de Minas Gerais

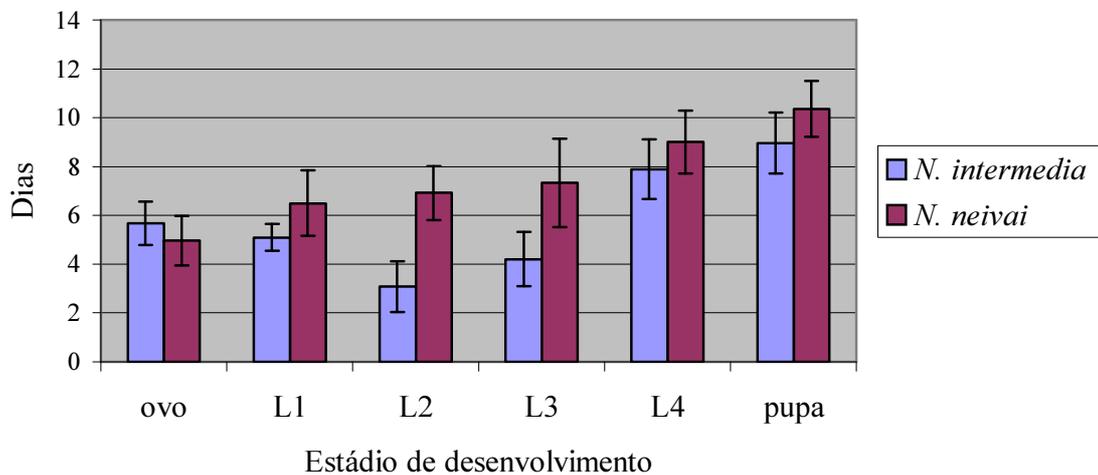


Figura 30. Tempo acumulado do desenvolvimento em laboratório da primeira geração de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*, provenientes do Estado de Minas Gerais

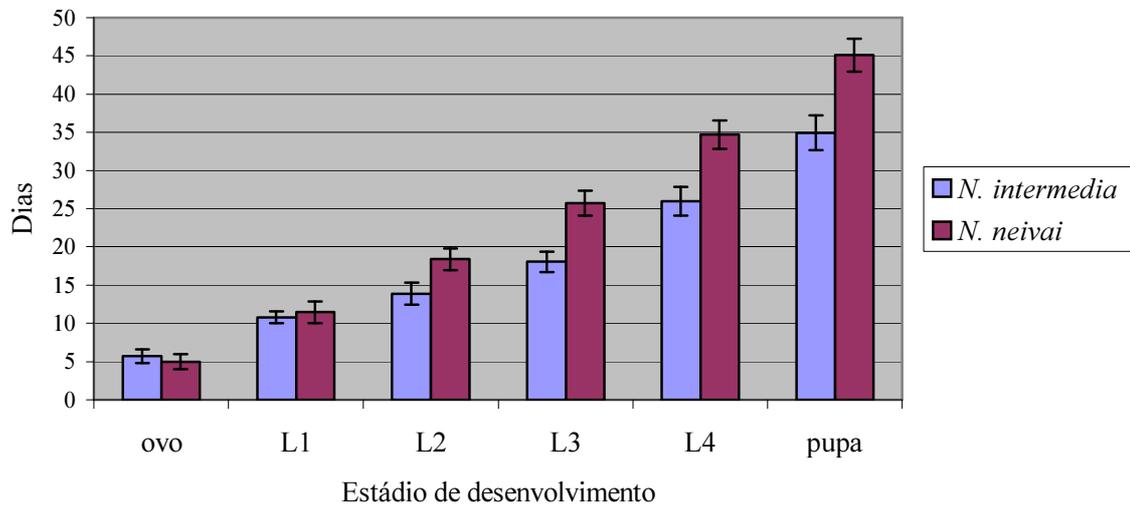
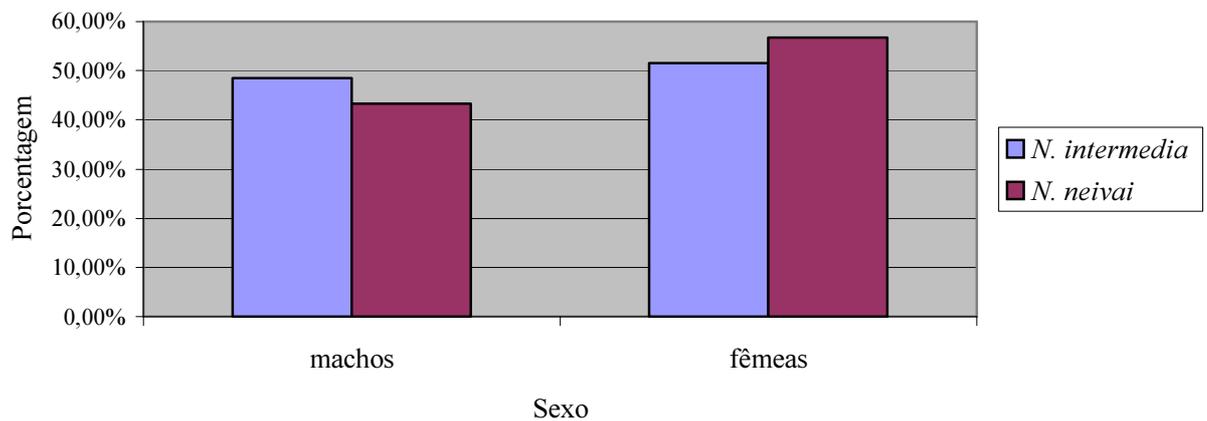


Figura 31. Porcentagem de machos e fêmeas emergidos em laboratório da primeira geração das espécies *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*, provenientes do Estado de Minas Gerais.



6. DISCUSSÃO

6.1. Estudo Morfológico

As características morfológicas, tais como ausência de sensila ventro-cervical, e cerdosidade na região anterior do catepisterno, apenas uma papila apical presente em AIII, palpômeros 4^o + 5^o maior que o 3^o e espinhos de Newstead ausentes no 2^o palpômero permitem, com toda certeza, enquadrar as duas espécies estudadas no gênero *Nyssomyia*.

Os machos das duas espécies podem ser separados das demais espécies do gênero pela combinação dos caracteres, ausência de cerdas simples nos segmentos basais das antenas, filamentos genitais curtos, sendo a razão filamento/bomba ejaculadora menor que 1,60 e o pavilhão da pompeta que é bem mais largo que nas outras espécies. As fêmeas podem ser separadas das demais pela ausência de cerdas simples nos segmentos basais das antenas, pelo número de dentes do cibário, pela forma e número de anéis das espermatecas e pelo comprimento de seus dutos. Além disso, a coloração do tórax também permite separar com facilidade *N. intermedia* e *N. neivai* de algumas espécies.

Sem dúvidas, *N. intermedia* e *N. neivai*, são espécies válidas, passíveis de separação entre elas. A espécie *Phlebotomus mazzai* Paterson, 1926 foi descrita de material da Argentina (PATERSON 1926), mesmo ano da descrição de *N. neivai*, entretanto não há registro para o dia e mês desta descrição. Segundo o Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, capítulo 5, artigo 21, quando isto ocorre, deve ser levado em consideração o último dia do ano da publicação (ICZN 1999), ou seja, 31 de dezembro de 1926, o que nos leva a concluir, que *N. neivai*, publicada em 30 de junho de 1926, é sinônimo sênior de *P. mazzai*, tendo prioridade sobre seu sinônimo júnior, sendo a espécie válida.

Não foi localizada nenhuma estrutura morfológica na cabeça e no tórax que permita separar as duas espécies aqui estudadas, entretanto, a ponta do filamento genital de ambas permite a correta separação dos táxons. Em *N. intermedia* esta é em forma de colher funda, lembrando a aparência de uma concha, enquanto em *N. neivai* esta é mais rasa, dando aspecto de uma colher.

A grande variação encontrada no número de dentes horizontais do cibário não permite separar as fêmeas. O número de anéis das espermatecas pode auxiliar na correta identificação, porém são insuficientes na maioria dos casos, já que estes valores se sobrepõem, mas outros aspectos desta estrutura podem ser úteis. A espermateca de *N. intermedia*, freqüentemente apresenta sua largura máxima nos anéis apicais, diminuindo gradativamente até os basais, ao passo que, em *N. neivai*, a sua largura máxima, normalmente, está nos anéis centrais. Outro aspecto importante com relação aos anéis das espermatecas é que *N. intermedia* pode apresentar alguns anéis irregulares, assimétricos, o que raramente ocorre com *N. neivai*. A soma dos anéis das espermatecas também pode ser útil, cerca da metade dos exemplares estudados de cada espécie apresenta menos de 16 anéis para *N. neivai* e mais que 23 para *N. intermedia*.

A forma da cabeça da espermateca pode facilitar na correta separação das espécies, visto que raramente esta é bilobada em *N. neivai*, além disso, a largura da cabeça da espermateca de *N. intermedia*, seja em seu ápice ou em sua base, é sempre maior que em *N. neivai*, o que dá à cabeça da espermateca da primeira espécie um aspecto mais robusto, enquanto a outra parece mais delicada.

Os dutos individuais e comuns da espermateca também podem ser úteis. O duto comum é sempre mais longo em *N. intermedia* e os dutos individuais são mais estriados e

com concreções em sua inserção com a espermateca, quando comparados com os de *N. neivai*.

O conjunto dos caracteres descritos acima ou a presença de alguns deles permite a separação, com toda segurança, das fêmeas de *N. intermedia* e de *N. neivai*. Apenas pela morfologia não foi possível identificar se existe ou não uma terceira espécie. Fato este pouco provável. Mas, técnicas moleculares podem auxiliar na elucidação desta questão.

6.2. Distribuição geográfica

Os dados sobre distribuição geográfica relatados por MARCONDES et al. (1998a) são semelhantes àqueles encontrados no presente estudo, o que vem a corroborar a validade e a possibilidade de se realizar a correta identificação de ambas as espécies.

A distribuição geográfica de *N. intermedia* e *N. neivai* é bastante extensa, sendo que elas ocorrem em todas as Regiões brasileiras, porém nos Estados das Regiões Norte, Nordeste e Centro Oeste elas não são tão abundantes quanto nos Estados das Regiões Sudeste e Sul (Figura 21).

Na Região Norte, segundo RYAN (1986), nenhuma das espécies é encontrada no Estado do Pará. Todavia, *N. neivai* parece estar limitada ao sul do estado do Pará, onde foi capturada em São Geraldo do Araguaia, na Serra das Andorinhas (GALATI, dados não publicados). Em Tocantins, coletas realizadas em quatro municípios, em sua maioria no peridomicílio, nenhuma das duas espécies foi capturada (ANDRADE FILHO et al. 2001a). Mesmo assim, é possível que uma delas ocorra em outras áreas deste Estado, pois CARVALHO et al. (1989), citaram a presença de *N. intermedia* para o Estado, porém pode ser que se trate de *N. neivai*. E, portanto, esta área estaria formando um corredor de

dispersão dessa espécie, da Região Sul, oeste paulista e Triângulo Mineiro até o Estado do Pará.

N. intermedia foi registrada por FORATTINI (1959, 1960) para o Estado do Amapá, porém MARCONDES et al. (1998a) acreditam que se trate de outra espécie. GALATI (1993), denuncia o erro de identificação desta espécie por Forattini (1959, 1960) “De 8 machos identificados por este autor, como *Phlebotomus intermedius*, 5 eram *L. umbratilis*, 2 *L. anduzei*, e 1 *L. yuilli pajoti*” (CIPA GROUP 1999). BRAZIL et al. (2000) e FREITAS et al. (2002) desenvolveram estudos neste Estado, não encontrando nenhuma das espécies aqui estudadas. Portanto, é possível que realmente não se trate de *N. intermedia* àquela citada por FORATTINI (1959, 1960).

Apesar de já terem sido realizados vários trabalhos nos demais Estados da Região Norte, como Acre (MARTINS & Silva 1964), Amazonas (BARRET et al. 1996; CABANILLAS & CASTELLÓN 1999), Rondônia (MARTINS et al. 1965) e Roraima (MARTINS et al. 1963; CASTELLÓN et al. 1991a, CASTELLÓN et al. 1991b), até o momento estas espécies não foram encontradas.

Na Região Centro-Oeste, *N. intermedia* s.l. tem sua presença relatada nos Estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (CARVALHO et al. 1989; NAVES et al. 1991; MARCONDES et al. 1998a). No Estado de Goiás foi possível verificar a ocorrência de *N. Intermedia* no Município de Sítio D’abadia e *N. Neivai* foi registrada aqui para os Municípios de Corumbá e Itumbiara, sendo este último também registrada por MARCONDES et al. (1998a). Confirma-se também a presença de *N. Intermedia* no Estado de Mato Grosso do Sul, no Município de Miranda, porém esta espécie parece ser rara neste Estado, já que outros autores não a registraram (GALATI et al. 1996; GALATI et al. 1997; SANTOS et al. 2001; OLIVEIRA et al. 2003 in press), assim como para o Estado do Mato

Grosso (DIAS & FALCÃO 1999; BIANCARDI & CASTELLÓN 2000; AZEVEDO et al. 2002).

Apenas *N. intermedia* foi constatada na Região Nordeste, mas parece não ser espécie predominante, exceto no sul da Bahia (FOLLADOR et al. 1999), sendo que em alguns Estados, como o Maranhão ela não ocorre (REBÊLO et al. 1996; REBÊLO et al. 1997; REBÊLO et al. 2001). No estado do Piauí MARCONDES et al (1998a) registraram essa espécie para a capital, Teresina, sendo que ANDRADE FILHO et al. (2001b) realizaram coletas em sete Municípios, não encontrando nenhum exemplar de *N. intermedia*.

No Estado do Ceará apenas no Município do Crato ocorreu esta espécie, não sendo encontrada em nenhum dos trabalhos realizados na região da Serra do Baturité (AZEVEDO & RANGEL 1991; QUEIROZ et al. 1991; LIMA 1993) e não há registros para o Estado do Rio Grande do Norte (XIMENES et al. 1999). No Estado da Paraíba já houve citações para esta espécie (MARTINS et al. 1978), entretanto nenhuma lâmina deste Estado foi examinada neste trabalho e MARCONDES et al. (1998a) a tratam como *N. intermedia* s.l. No estado de Pernambuco foi possível confirmar a presença de *N. intermedia* em dois Municípios, sendo que um deles já havia sido registrado por MARCONDES et al. (1998a), porém neste Estado sua frequência também é bastante baixa, sendo que ela não ocorre em algumas regiões, como na Zona da Mata do Estado (BRANDÃO FILHO et al. 1993).

Para o Estado de Alagoas é aqui registrada pela primeira vez a presença de *N. intermedia*. Esta foi capturada no mês de Julho de 1999 no Município de Palmeira dos Índios, correspondendo por cerca de 10% do total de insetos capturados, sendo que a espécie predominante foi *M. migonei*. No Estado de Sergipe MARCONDES et al. (1998a) assinalam *N. intermedia* s.l., sendo que não foi aqui examinado este material.

Na Bahia *N. intermedia* apresenta maior distribuição, porém sua frequência é baixa na maioria dos Municípios (VEXENAT et al. 1986; SHERLOCK et al. 1996), exceto em Santo Amaro e na Fazenda “Vovo” (FOLLADOR et al. 1999; PEREIRA & HOCH 1990), onde esta espécie predominou, o que difere do padrão epidemiológico da leishmaniose tegumentar no Estado, que apresenta a espécie *N. whitmani* como a principal vetora (VASCONCELOS et al. 1994; AZEVEDO et al. 1996). O trabalho de PEREIRA & HOCH (1990) não esclarece em qual Município fica localizada a Fazenda “Vovo”.

Na Região Sudeste ambas as espécies ocorrem a oeste nos Estados de Minas Gerais e de São Paulo, como já mencionaram MARCONDES et al. (1998a). No Estado do Rio de Janeiro e Espírito Santo, apenas *N. intermedia* tem sido encontrada.

N. intermedia, no Espírito Santo, é bastante abundante e suspeita de transmitir leishmanioses em algumas regiões do Estado (FALCÃO et al. 1991; FALQUETO 1995). No Município de Afonso Cláudio, esta espécie ocorre com maior frequência em regiões abaixo de 750 m.a.n.m., sendo que nestas altitudes estão localizados os mais altos índices de casos de leishmaniose tegumentar (FERREIRA et al. 2001). Este Estado é formado por 77 municípios, tendo sido registrada a presença de *N. intermedia* em 13 deles, nos quais 43% dos casos de leishmaniose tegumentar foram notificados entre 1986 e 1996, chegando a 46% em 1997, com queda progressiva nos anos subsequentes, chegando a 25% no primeiro semestre de 2002 (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE E SECRETARIA DO ESTADO DA SAÚDE DO ESPÍRITO SANTO).

No Estado do Rio de Janeiro *N. intermedia* é bastante frequente em várias regiões, sendo a espécie dominante em várias áreas (RANGEL et al. 1986a; BRAZIL et al. 1991; RANGEL et al. 1990; OLIVEIRA et al. 1995). AGUIAR et al. (1987) encontraram grande número de exemplares desta espécie em Itaguaí, sendo capturada com maior frequência

picando o homem. Porém no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, em áreas de Floresta Atlântica e matas secundárias, ela não ocorre ao longo do ano, mesmo com diferentes armadilhas utilizadas (AGUIAR & SOUCASAUX 1984; AGUIAR et al. 1985; AGUIAR et al. 1986), porém em outras áreas de mata ela aparece, com frequência pequena (SOUZA et al. 2001). No município de Petrópolis esta espécie é coletada em maior número nos meses mais quentes do ano (SOUZA et al. 2002). Neste Estado foi possível confirmar a presença de *N. intermedia* em 20 dos 82 Municípios, sendo que em quatro deles (Cardoso Moreira, Ibicuí, Itacurussa e Muriqui) não há registro de casos de leishmaniose tegumentar. Ocorreram no estado do Rio de Janeiro 4.212 casos desta doença no período de 1985 a 2001, e os municípios onde foi registrada a espécie respondem por 57% dos mesmos (SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DO RIO DE JANEIRO).

Em Minas Gerais a distribuição de *N. intermedia* e *N. neivai* segue basicamente aquela dada por MARCONDES et al. (1998a). *N. intermedia* ocorre nas regiões do Jequitinhonha, Vale do Rio Doce, Metalúrgica e Zona da Mata, enquanto *N. neivai* ocorre nas regiões do Triângulo Mineiro e Sul. Nas regiões do Alto São Francisco e Noroeste ambas são encontradas.

As duas espécies foram encontradas em simpatria nos Municípios de Arinos, Pirapora, Lassance e Corinto, e com exceção do primeiro, onde apenas um exemplar de *N. intermedia* e dois de *N. neivai* foram analisados, sempre houve amplo predomínio de uma ou de outra. É interessante destacar que todos estes municípios estão situados às margens de grandes rios (Rio Urucaia em Arinos, Rio São Francisco em Pirapora e Rio das Velhas em Lassance e Corinto), os quais podem estar servindo de barreira geográfica para separar as duas espécies, e os poucos exemplares de uma ou de outra que consigam atingir a outra margem não são suficientes para competir com a espécie dominante. Porém é necessário

que se façam capturas sistematizadas nestes municípios para que se possa corroborar este ponto de vista, já que as coletas em Lassance e Corinto foram realizadas na margem esquerda do Rio das Velhas e não foi possível a observação na outra margem deste rio, para verificar se houve alteração na composição e dominância das espécies.

Em Lagoa Santa, região Metropolitana de Belo Horizonte, parece ter havido uma sucessão entre as duas espécies, ambas foram coletadas na Gruta da Lapinha, porém em anos diferentes, de 1957 a 1960, sempre com a frequência bem baixa. No ano de 1993 a 1995 apenas a espécie *N. intermedia* foi coletada nesta Gruta (ANDRADE FILHO et al. 1998).

Em outros municípios da região Metropolitana de Belo Horizonte também foram encontradas as duas espécies, *N. intermedia* na capital e *N. neivai* em Betim, Esmeraldas e Pedro Leopoldo.

N. intermedia parece ser a espécie vetora de leishmaniose tegumentar em várias áreas do Estado, como em Araçuaí, onde, em investigação sobre um surto desta doença, 98% dos flebotomíneos coletados pertenciam a esta espécie (GONTIJO et al. 2002). Resultado semelhante foi encontrado em Alto caparaó e Caparaó, onde também é apontada como o provável vetor (SARAIVA et al. 2002).

Em Corinto, foi possível investigar alguns casos humanos da doença, e provavelmente, o vetor neste local é *N. neivai*, pois representou cerca de 99% dos flebotomíneos capturados, sendo frequente dentro das casas, causando desconforto aos moradores, como relatado por eles, já que os insetos picam avidamente dentro das residências.

No Estado de São Paulo, as duas espécies foram encontradas em simpatria na região do Vale do Ribeira, em Pariqüera Açu (MARCONDES et al. 1998a) e Iporanga (GALATI

et al. 2002) e ainda no município de Taubaté (CASANOVA, dados não publicados). No presente estudo verificou-se a ocorrência de *N. intermedia* no litoral norte do Estado e em seu interior *N. neivai*, o que está de acordo com os dados de MARCONDES et al. (1998a). O desmatamento da floresta Atlântica neste Estado parece estar beneficiando *N. intermedia* s.l., em detrimento de outras espécies, como *L. longipalpis* e *Pintomyia pessoai* (Coutinho & Barretto, 1940) (GOMES et al. 1989; GOMES et al 1995).

No litoral norte do Estado de São Paulo, *N. intermedia* foi a espécie mais abundante, com cerca 95% dos flebotomíneos capturados, tanto no intradomicílio quanto no peridomicílio e na mata (BRITO et al. 2002) e no litoral sul, no município de Cananéia, *N. intermedia* s.l. ocorre em baixa frequência, tanto na mata quanto no domicílio, ao passo que no município de Iguape, foi o único táxon relatado (GOMES & GALATI 1989; GOMES et al. 1990).

Ainda em área ao sul do Estado, endêmicas para a transmissão de leishmaniose tegumentar, no Vale do Ribeira, em Pariqüera Açu, *N. intermedia* s.l. parece estar mais adaptada ao ambiente alterado, sendo considerada o vetor de leishmaniose tegumentar (GOMES et al. 1980), com o contato vetor-homem acontecendo no domicílio (GOMES et al. 1983). Ocorre ainda predomínio desse táxon em áreas de mata residual, na margem da mata e no ambiente aberto (GOMES & GALATI 1987). No município de Pedro de Toledo *N. intermedia* s.l. predominou, principalmente no intra e peridomicílio (DOMINGOS et al. 1998)

Na região centro-nordeste do Estado de São Paulo, nos municípios de Araraquara e São João da Boa Vista, poucos exemplares de *N. intermedia* s.l. foram coletados na mata, enquanto em outros dois municípios, Dourado e Mogi-Guaçu ocorreu o inverso, com amplo predomínio desta espécie, também em áreas de mata, porém não tão conservadas quanto as

primeiras (GOMES et al. 1989). Este táxon também predominou a oeste do Estado, no município de Teodoro Sampaio (CONDINO et al. 1998). Já em Itupeva, situado no centro-leste do Estado, o domínio de *N. intermedia* s.l. não foi verificado (MAYO et al. 1998). De acordo com a distribuição dada por MARCONDES et al. (1998a), é provável que nestes municípios se trate de *N. neivai*.

Para o Estado de São Paulo, houve correlação em 88% dos municípios com casos de leishmaniose tegumentar pesquisados e a presença de *N. intermedia* s.l., sendo o táxon mais freqüente e de maior distribuição, predominando, juntamente com *M. migonei*, em todo tipo de cobertura vegetal e em todas as regiões topográficas, sendo ambas consideradas como as principais vetoras (CAMARGO NEVES et al. 2002).

No Paraná *N. neivai* ocorre na maior parte do Estado (MARCONDES et al. 1998a), não havendo registro para *N. intermedia*, porém ela pode ocorrer em áreas a nordeste, próximos à divisa com o Estado de São Paulo, onde foi registrada a espécie *N. intermedia*. O Município de Jussara, onde *N. neivai* (citado como *N. intermedia*) predominou (AGUIAR et al. 1989), apresentou no ano de 2000 uma incidência de 422,80 casos de leishmaniose tegumentar por 100.000 habitantes, a maior do Estado (DADOS DA SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE). Em área de Floresta Atlântica no município de Morretes não houve ocorrência de *N. neivai* (MARCONDES et al. 2001), mostrando que a espécie está melhor adaptada aos ambientes alterados pelo homem.

Em Santa Catarina e Rio Grande do Sul é certo que apenas a espécie *N. Neivai* ocorre (MARCONDES et al. 1998a), estando bem distribuída no primeiro Estado, principalmente em áreas modificadas. Já para o Rio Grande do Sul, devido aos poucos trabalhos realizados, tem-se registros de seu predomínio apenas no Parque Estadual do Turvo, Município de Tenente Portela (DIAS et al. 1997).

Pelo exposto, *N. intermedia* e *N. neivai* prevalecem ou são abundantes em várias áreas de ocorrência de leishmaniose tegumentar. Segundo KILLICK-KENDRICK (1988), para se confirmar uma espécie como vetor desta doença é preciso obedecer a cinco critérios: 1) a espécie deve ser abundante no foco de leishmaniose. 2) ser altamente antropofílica. 3) mostrar o desenvolvimento de parasitas na ausência de sangue no intestino. 4) mostrar a mais alta taxa de infecção natural dentre os flebotomíneos observados e 5) o parasita isolado do flebotomíneo deve ser indistinguível daqueles isolados de casos humanos.

N. intermedia e *N. neivai* apresentam características que atendem ao primeiro e segundo critérios. Quanto ao terceiro e quarto critérios vários estudos já demonstraram infecção natural nas duas espécies, com a maior taxa de infecção natural dentre os flebotomíneos, porém com índices baixos, que variam de 0,1 a 0,6% de infectividade (FORATTINI et al. 1972; RANGEL et al. 1984; CASANOVA et al. 1995). Apenas o último critério não foi confirmado para estas espécies, não se conseguindo, até hoje, isolar, caracterizar e comparar os parasitas dos flebotomíneos com aqueles oriundos dos pacientes humanos.

A infecção experimental tem demonstrado que estas espécies são facilmente infectáveis com várias cepas e espécies de *Leishmania* (CHAGAS 1940; COELHO et al. 1967a; RANGEL et al. 1992; RANGEL et al. 1993; SILVA & GOMES 2001), o que vem a demonstrar serem estas espécies susceptíveis à *Leishmania*. Dado o exposto, parece não haver dúvidas quanto à capacidade vetorial de *N. intermedia* e *N. neivai*.

6.3. Biologia de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai*

O encontro de aproximadamente 99% de dominância para cada uma das espécies nos locais de captura demonstra que estas áreas podem ser utilizadas para se iniciar futuras criações de *N. intermedia* e *N. neivai*.

Em laboratório mais da metade das fêmeas de *N. intermedia* permaneceram vivas após a postura, sendo este valor bem menor para *N. neivai*. Este aspecto indica a importância destas espécies na veiculação de leishmaniose, já que estas estariam aptas a realizarem um novo repasto sanguíneo. Apesar do fato mencionado acima nenhuma delas se realimentou em laboratório, mesmo utilizando-se hamster, codorna ou homem, entretanto é importante ressaltar que as fêmeas estavam individualizadas, na ausência de machos ou mesmo de outras fêmeas que pudessem estimular o repasto sanguíneo.

GOMES et al. (1982) relataram a realimentação de fêmeas de *N. intermedia* s.l. na natureza, fato também observado por BRAZIL et al. (1991), para *N. intermedia* e DIA-ELDIN et al. (1992) na natureza e em laboratório com *L. longipalpis*. Na natureza, a sobrevivência após a postura para *N. intermedia* s.l. também foi relatada por GOMES et al. (1982), sendo este fato também raro em laboratório, com poucos registros, e em taxas bem baixas, com valores de 17,7% para *Lutzomyia renei* (Martins Falcão & Silva, 1957) (ALVES et al. 2001) e 8,3% para *L. longipalpis* (SOUZA et al. 1995). Segundo CASANOVA (2001) *N. neivai* estaria apta a se alimentar até três vezes ao longo de dez dias.

A porcentagem de fêmeas individualizadas que fizeram postura foi praticamente igual para as duas espécies, 57,5% para *N. intermedia* e 59,3% para *N. neivai*. Valor bastante próximo foi encontrado por RANGEL et al. (1985a), que trabalhou com quatro gerações de *N. intermedia*, das quais 58,9% das fêmeas alimentadas desovaram.

CASANOVA (2001) verificou que na natureza, no ambiente domiciliar, a taxa de alimentação no homem foi prevalente para *N. neivai*, porém este autor considerou esta espécie como oportunista, se alimentando de acordo com a disponibilidade do hospedeiro. Com *N. intermedia* coletado em Itaguaí, estado do Rio de Janeiro AGUIAR et al. (1987) encontraram resultados semelhantes. Segundo RANGEL et al. (1986b), que trabalhou com *N. intermedia*, o número de fêmeas que fizeram postura e a taxa de ovos por fêmea foi dependente da fonte de alimentação sanguínea, sendo os melhores resultados obtidos quando o hamster foi a fonte alimentar e os piores, em relação ao número de fêmeas que ovipuseram, o homem e, para a média de ovos, o cão.

A média de ovos foi muito próxima para ambas as espécies, ligeiramente maior para *N. neivai*. Estas médias para as duas espécies foram maiores que aquelas encontradas por RANGEL et al. (1985a), que obteve 40,2 ovos por fêmea de *N. intermedia* da primeira geração e ALVES et al. (2001), para *L. renei* provenientes do campo, com 15,7 ovos por fêmea. Para *Evandromyia carmelinoi* (Ryan Fraiha Lainson & Shaw, 1986) este número foi mais expressivo, 32,7 ovos por fêmea (ALVES et al. 2000).

N. neivai apresentou taxa de eclosão de 60,3%, bem maior que a de *N. intermedia* (45,7%), sendo os valores da primeira espécie próximos ao encontrado para *N. intermedia* por RANGEL et al (1985a) que foi de 64,1%. Os dados das duas espécies são bem superiores aos de *L. renei* que teve uma taxa de eclosão de 24,0% (ALVES et al. 2001).

Foi obtida uma produtividade bem melhor para *N. intermedia* em relação a *N. neivai*, visto que, para a primeira espécie, a porcentagem de adultos que emergiram no total de ovos foi de 35,4%, passando para 77,6% quando analisadas as L1 eclodidas, o que representa uma baixa taxa de mortalidade dos estádios imaturos, e para *N. neivai* estes valores foram de 20,7% e 34,3%, respectivamente. É notório que a maior taxa de mortalidade entre os

flebotomíneos ocorre nos dois primeiros estádios de desenvolvimento, e *N. neivai* teve seu período de desenvolvimento nestes estádios bem mais elevado que *N. intermedia*, principalmente L2, o que pode ter ocasionado a maior mortalidade deste estádio. *L. renei* apresentou taxas bem mais baixas para a primeira comparação, com 8,6% de adultos emergidos do total de ovos, com baixa mortalidade, aumentando para 35,6% de adultos do total de L1 (ALVES et al. 2001). RANGEL et al. (1986b) obtiveram índices semelhantes com *N. intermedia*, dando uma taxa de 34,4% de adultos sobre o número de ovos e 53,6% do total de L1.

A proporção de machos e fêmeas foi semelhante, ocorrendo índices maiores desta última, dado contrário ao verificado por RANGEL et al. (1985a) para *N. intermedia*, que obteve 45,1% de fêmeas. Os machos emergiram primeiro que as fêmeas, fato já relatado por outros autores (CHANIOTIS & ANDERSON 1965; KILLICK-KENDRICK et al. 1977; MONTOYA-LERNA et al. 1998; ALVES et al 2000). Com os machos nascendo antes que as fêmeas esses estariam maduros sexualmente antes destas, evitando assim, o cruzamento entre indivíduos de uma mesma prole, porém experimentos de campo devem ser feitos a fim de se verificar esta hipótese.

N. neivai apresentou seu ciclo de desenvolvimento mais longo do que o de *N. intermedia*, chegando a 45 dias, contra 35 desta última. Este fato deu-se, principalmente, pelo tempo de desenvolvimento mais prolongado das larvas de segundo e terceiro estádio, em média sete dias para cada um deles, enquanto *N. intermedia* o mesmo foi de sete dias para completar as duas fases (três para L2 e quatro para L3). O tempo de desenvolvimento das fases imaturas das duas espécies foi superior ao de *L. longipalpis*, que durou 29,5 dias (BRAZIL et al. 1997). A duração do ciclo completo realizado para a primeira geração de *N. intermedia* por RANGEL et al. (1985a) durou 37 dias, bem próximo ao do período desta espécie, neste

experimento, e um pouco mais prolongado que o encontrado por BRAZIL et al. (1997) que foi de 32,8 dias. O tempo de desenvolvimento nos estádios imaturos de *N. neivai* foi bem próximo ao de *E. lenti*, que durou 40,2 dias (BRAZIL et al. 1997).

As fases de desenvolvimento mais demoradas foram L4 e pupa, que correspondem às fases de maiores mudanças fisiológicas e formação de tecidos (Forattini 1973).

É importante ressaltar que os experimentos foram conduzidos a temperaturas oscilando entre 25-26° C e umidade relativa de aproximadamente 80%. Vários fatores físicos podem afetar o ciclo biológico dos flebotomíneos (RANGEL et al. 1987; NIEVES et al. 1997), além de fatores biológicos, como por exemplo, a ração oferecida às larvas (RANGEL et al. 1985a; WERMELINGER & ZANÚNCIO 2001).

Concomitantemente ao experimento anterior, no qual as fêmeas foram individualizadas, tentou-se manter uma colônia também de *N. intermedia* e *N. neivai* em potes maiores, porém sem sucesso, já que a maioria das fêmeas de F2 morria logo após o repasto sanguíneo. É provável que, na natureza, exista no trato intestinal destas espécies alguns protozoários ou bactérias simbiotes, adquiridas durante as fases imaturas ou na alimentação das fêmeas com açúcares, que facilite a digestão sanguínea das mesmas e que não estejam presentes na ração ou na fonte de açúcar oferecida em laboratório, o que provocaria sua morte. Desse modo, estudos da microbiota intestinal de *N. intermedia* e *N. neivai* devem ser realizados, como já feito para *L. longipalpis* (OLIVEIRA et al. 1999; OLIVEIRA et al. 2001) para se verificar o fundamento, ou não, desta hipótese.

6.4. Variação Interpopulacional, Interespecífica e Polimorfismo

6.4.1. Variação interespecífica

As duas espécies, *N. intermedia* e *N. neivai*, são sem dúvida, muito semelhantes, o que acarretará, ainda, em muitos erros na identificação específica de ambas. Isto poderá influenciar no peso que exercem sobre a transmissão das leishmanioses, pois podem ocorrer em simpatria entre elas e com outras possíveis vetoras.

A variação encontrada para *N. intermedia* foi superior àquela encontrada para *N. neivai*.

A variação existente parece se restringir ao nível das duas espécies, indicando não haver a existência de uma terceira. Segundo MARCONDES (1997) estas duas espécies se diferenciaram recentemente, há cerca de 250.000 anos, como resultado de uma especiação alopátrica.

Em *N. intermedia* há uma tendência ao aumento do número de anéis das espermatecas em relação ao de *N. neivai*, pois, enquanto nesta, o número de anéis máximo foi 11, o que parece ser o limite superior para a espécie, na primeira cerca de 48,18% das espermatecas analisadas apresentavam valor igual ou superior a 12 anéis, sendo 17 o limite superior encontrado até o momento. O limite inferior de anéis na espermateca para *N. neivai* foi de seis, e 16,44% dos exemplares estudados tinham entre seis e sete anéis, enquanto em *N. intermedia* o valor mínimo foi de oito anéis, um a menos do que o encontrado por MARCONDES (1996). Ocorre grande sobreposição de valores nesta estrutura quando o número de anéis está entre oito e 11, sendo que em 61,88% dos exemplares de *N. intermedia* e *N. neivai* este fato ocorreu.

A soma dos anéis das duas espermatecas variou grandemente, sendo este índice também maior para *N. intermedia*. Porém a sobreposição de valores neste aspecto é menor que quando analisada individualmente, sendo que 49,32% dos exemplares das duas espécies apresentaram valores entre 17 e 22 anéis.

Apesar da sobreposição de valores mostrada acima, estes dados podem ser úteis para separar as duas espécies, quando em seus extremos, porém insuficiente na maioria dos casos quando a espermateca é analisada individualmente, sendo mais eficaz quando somadas as duas espermatecas.

A cabeça da espermateca simples foi predominante em ambas as espécies, porém com valores bastante diferentes, 45,80% para *N. intermedia* e 89,27% para *N. neivai*. Quando esta estrutura se apresenta na forma bilobada, na maioria das vezes, se trata de *N. intermedia* (31,81%), sendo rara na outra espécie (3,39%).

MARCONDES (1996) e MARCONDES et al. (1998b) utilizaram o termo “assimétrica” ou “truncada/assimétrica”, para classificar a cabeça da espermateca, além deste termo estes autores usaram ainda simples, bilobada e trilobada. A assimetria não foi aqui considerada, pois existem vários níveis desta, tanto para a cabeça simples quanto para a bilobada.

A cabeça da espermateca de *N. intermedia* é mais robusta que a de *N. neivai*, que é bem mais delicada. Quando bilobada nesta última espécie, nunca é tão clara quanto em *N. intermedia*, sendo muitas vezes de difícil visualização, dependendo da posição em que o inseto foi montado. Um dado que pode ser utilizado na cabeça da espermateca para separação específica dessas espécies é a largura desta em sua base, ou seja, na inserção com o anel apical da espermateca, sendo mais largo em *N. intermedia* que em *N. neivai*.

Os dentes do cibário são ainda mais semelhantes entre as espécies. MARCONDES (1996) encontrou uma média de 10,18 dentes horizontais para *N. neivai* coletados na Bolívia e 8,22 para *N. intermedia* de Além Paraíba, porém nas populações aqui estudadas a média da primeira foi de 9,11 e da segunda 8,89, bastante próximas, o que indica que este número é variável de acordo com a população estudada de cada espécie, não sendo suficiente para separar as duas espécies.

A assimetria e ou anomalia em flebotomíneos já foram registradas para várias espécies (COUTINHO & BARRETTO 1940; SHERLOCK 1958; XIMENES et al. 2002). Essas geralmente ocorrem em estruturas pares, e o exame da região correspondente auxilia em sua correta identificação. Foram encontradas 14,63% em *N. intermedia* e 15,29% em *N. neivai* de fêmeas com nove dentes verticais no cibário. MARCONDES (1999) considerou este número como anomalia, porém, devido ao grande número de exemplares com este número de dentes horizontais, é provável que este fato seja uma variação natural existente dentro da espécie.

6.4.2. Variação interpopulacional e polimorfismo

Segundo FUTUYMA (1993) polimorfismo é a existência, dentro de uma população, de dois ou mais genótipos para uma determinada característica, com a frequência da mais rara excedendo a 1%; podendo ainda, ser a variação fenotípica dentro de uma população; esta, sendo ou não, de base genética. Neste trabalho, foi possível verificar o alto grau de polimorfismo existente nas três estruturas estudadas em todas as populações, já que, para todas, houve mais de um valor com variação acima de 1%.

Em flebotomíneos ocorre grande variação genética e fenotípica em várias espécies, tanto nas Américas quanto na Europa e África (LANE & RAHMAN 1980; DIAS et al. 1999; AZEVEDO et al. 2000; MARTÍN-SÁNCHEZ et al. 2000). Em *N. intermedia* e *N. neivai* estas variações chegam também ao nível comportamental, já que ambas são encontradas em ambientes silvestres (DIAS et al. 1997; ANDRADE FILHO et al. 1998; DOMINGOS et al. 1998) ou podem apresentar alto grau de domiciliação, sendo capturadas também em áreas urbanas, em abrigos de animais domésticos e mesmo no intradomicílio (GOMES et al. 1978; MAYRINK et al. 1979; OLIVEIRA et al. 1995; ANDRADE FILHO et al. 1997). O polimorfismo e a variação morfológica observados aqui e por outros autores (MARCONDES et al. 1998b) podem contribuir para a adaptação dessas espécies a esses diversos ambientes, inclusive àqueles alterados pelo homem.

Apesar da taxa de dispersão de *N. neivai* ser baixa, cerca de 70 metros, podendo chegar a 120 (CASANOVA 2001), parece ser grande o fluxo gênico entre as populações, principalmente entre aquelas mais próximas geograficamente, dado que o grande polimorfismo visto aqui só pode ser obtido graças a cruzamentos interpopulacionais. Estudos com populações de *L. longipalpis* dos Estado de Minas Gerais, Bahia e Rio Grande do Norte têm mostrado que ocorre pequeno fluxo gênico entre as populações, o mesmo pode ser visto para *N. whitmani*.

Apesar do provável fluxo gênico entre as populações houve variação significativa entre algumas delas. A forma da cabeça da espermateca variou grandemente entre as populações de Minas Gerais e São Paulo, assim como o número de dentes horizontais do cibário, sendo que neste aspecto a população de Além Paraíba se aproximou mais das de São Paulo.

Das estruturas estudadas, aquelas que apresentaram maior polimorfismo intrapopulacional foram as espermatecas, e talvez por isso seja a que menos variou entre as populações, pois podem já estar exprimindo toda sua gama de variação. Parece haver um favorecimento natural às espécies com padrão de dez a 13 anéis em *N. intermedia* e de sete a dez em *N. neivai*, porém de difícil explicação.

Além do gênero *Nyssomyia* vários outros grupos de flebotomíneos apresentam as espermatecas formadas por anéis, porém, há que se dimensionar essa gama de variação.

A função e a vantagem adaptativa de cada forma da cabeça da espermateca frente a pressões seletivas do meio são desconhecidas. Em flebotomíneos são encontradas diversos tipos de cabeça da espermateca, sendo que apenas em *N. intermedia* e *N. neivai* ocorre tanta variação, sendo que não há registro, até o momento, de outras espécies que tenham a forma bilobada e trilobada.

A cabeça da espermateca foi altamente variável entre as populações de *N. intermedia*, mantendo um padrão mais uniforme entre as populações de *N. neivai*. As populações de São Paulo de *N. intermedia* apresentaram maior índice de formas bilobadas, estando de acordo com os dados de MARCONDES et al. (1998b) que encontrou esta forma dominando em insetos das Regiões Sudeste e Nordeste; fato não verificado neste estudo, para as populações de Minas Gerais, em que todas apresentaram mais da metade dos exemplares estudados com a forma simples da cabeça.

Em todas as populações das duas espécies houve predomínio bastante acentuado entre as formas com oito ou dez dentes horizontais no cibário. Este é a continuação da hipofaringe e o labro (FORATTINI 1973), estando envolvido no processo de digestão sanguínea, provavelmente iniciando a digestão de forma mecânica. Não se sabe ao certo qual seria a vantagem adaptativa obtida pela população com dez dentes horizontais e àquela

com oito dentes. Pode estar havendo uma pressão seletiva do meio, através dos mamíferos hospedeiros, que favoreçam a um determinado número de dentes horizontais, o que levaria esta forma a predominar em uma população.

Algumas espécies apresentam variação nos dentes horizontais do cibário, dentre elas *Pintomyia monticola* (Costa Lima, 1932), *Psathyromyia shannoni* (Dyar, 1929), porém essa variação é bastante rara, não atingindo 1,00% dos exemplares (Obs. pessoal).

A sazonalidade pode influir de forma significativa no número de variações. MARCONDES et al. (1999) estudaram material proveniente de Venda Nova do Imigrante, Estado do Espírito Santo, capturados nos meses de junho e dezembro, verificando existir pequenas diferenças nas estruturas medidas. Muitas das estruturas morfológicas aqui analisadas, tais como número de anéis na espermateca, forma da cabeça da espermateca e número de dentes horizontais no cibário, provavelmente, são independentes de fatores abióticos; para outras, como por exemplo, porte das estruturas, possivelmente, tais fatores possam ter influência mais expressiva. Neste trabalho não foi estudada a frequência da manifestação das estruturas, mas é bem provável que possa ocorrer diferenças entre as distintas populações, já que o clima pode interferir na manifestação do carácter e também na seleção natural das mesmas, e não se sabe qual o valor adaptativo de cada uma das estruturas estudadas. Assim, outras populações podem apresentar padrão diferente do observado.

7. CONCLUSÕES

Nyssomyia intermedia e *Nyssomyia neivai* são táxons distintos, passíveis de separação, sendo os machos diferenciados pela ponta do filamento genital, em forma de concha na primeira espécie e em forma de colher na segunda. As fêmeas podem ser separadas por um conjunto de características: número de anéis na espermateca, a soma do número de anéis das duas espermatecas, a forma e largura da cabeça da espermateca e pela relação duto individual/duto comum.

Nyssomyia intermedia ocorre no Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do Brasil, enquanto *N. neivai* ocorre no Brasil, na Região Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Norte, Argentina, Paraguai e Bolívia. *Nyssomyia intermedia* parece estar envolvida na veiculação de leishmanioses na Região Sudeste e Sul do Brasil e *Nyssomyia neivai*, além destas, na Argentina e Paraguai.

O ciclo biológico de *Nyssomyia intermedia* foi mais curto que o de *Nyssomyia neivai*, principalmente no segundo e terceiro estádios larvais. O fato de grande número de fêmeas ter sobrevivido à postura, principalmente para *Nyssomyia intermedia*, pode ser um forte indício da capacidade vetorial das mesmas.

As duas espécies são altamente variáveis em sua morfologia, apresentando grande variação nas três estruturas estudadas, com exceção da cabeça da espermateca para *Nyssomyia neivai*. Este fato pode representar grande capacidade adaptativa frente aos diferentes nichos ecológicos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar GM, Soucasaux T. Aspectos da ecologia dos flebótomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. I – Frequência mensal em isca humana (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1984; 79: 197-209.
- Aguiar GM, Vilela ML, Schuback PA, Soucasaux T, Azevedo ACR. Aspectos da ecologia dos flebótomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. IV – Frequência mensal em armadilhas luminosas (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1985; 80: 465-482.
- Aguiar GM, Vilela ML, Soucasaux T. Aspectos da ecologia dos flebótomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. V – Preferências alimentares (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1986; 81: 477-479.
- Aguiar GM, Vilela ML, Lima RB. Ecology of the sandflies of Itaguaí, an area of cutaneous leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro. Food preferences (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1987; 82: 583-584.
- Aguiar GM, Vilela ML, Ferreira VA, Santos TG. Ecologia dos flebótomos em recente foco ativo de leishmaniose tegumentar no norte do Estado do Paraná (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1989; 84: 7-8.
- Aguiar GM, Medeiros WM, De Marco TS, Santos SC, Gambardella S. Ecologia dos flebotomíneos da Serra do Mar, Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I – a fauna flebotomínica e prevalência pelo local e tipo de captura (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Cad. Saúde Pública.** 1996; 12: 195-206.
- Alexander B. Sampling methods for phlebotomine sandflies. **Med. Vet. Entomol.** 2000; 14: 109-122.
- Alves JCM, Pedras, MJ, Andrade Filho JD, Brazil BG, Souza AA, Brazil RP. Biology of *Lutzomyia carmelinoi* Ryan, Fraiha, Lainson & Shaw (Diptera: Psychodidae) under laboratory conditions. **Entomol. Vect.** 2000; 7: 281:286.
- Alves JCM, Pacheco RFS, Brazil RP. Aspectos biológicos de *Lutzomyia renei* (Martins, Falcão & Silva, 1957) (Diptera, Psychodidae) em campo e em laboratório. **Rev. Bras. Entomol.** 2001; 45: 17-21.
- Andrade Filho JD, Lima MLN, Fonseca LL, Carneiro VL, Falcão AL, Brazil RP. Study of Phlebotomine sandfly fauna in the surroundings of Lapinha Cave, Lagoa Santa, Minas Gerais. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1994; 89 (suppl): 203.

- Andrade Filho JD, Carneiro APS, Lima MLN, Santiago RM, Gama MA, Santos CA, Falcão AL, Brazil RP. Flebotomíneos de Timóteo, estado de Minas Gerais, Brasil (Diptera: Psychodidae). **Cad. Saúde Pública**. 1997; 13: 767-770.
- Andrade Filho JD, Lima MLN, Falcão AL, Brazil RP. Sazonalidade dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) dos arredores da Gruta da Lapinha, município de Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil. **Rev. Bras. Ent.** 1998; 42: 93-95.
- Andrade Filho JD, Valente MB, Andrade WA, Brazil RP, Falcão AL. Flebotomíneos do Estado de Tocantins, Brasil (Diptera: Psychodidae). **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 2001a; 34: 323-329.
- Andrade Filho JD, Silva ACL, Falcão AL. Phlebotomine sand flies in the State of Piauí, Brazil (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 2001b; 96: 1085-1087.
- Ashford RW. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. **Inst. J. Parasitol.** 2000; 30: 1269-1281.
- Azevedo AC, Rangel EF. A study of sandfly species (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in a focus of cutaneous leishmaniasis in the municipality of Baturité, Ceará, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 1991; 86:405-410.
- Azevedo ACR, Vilela ML, Souza NA, Andrade-Coelho CA, Barbosa AF, Firmo ALS, Rangel EF. The sand fly fauna (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of a focus of Cutaneous Leishmaniasis in Ilhéus, State of Bahia, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 1996; 91: 75-79.
- Azevedo ACR, Monteiro FA, Cabello PH, Souza NA, Rosa-Freitas MG, Rangel EF. Studies on populations of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 2000; 95: 305-322.
- Azevedo ACR, Souza NA, Meneses CRV, Costa WA, Costa SM, Lima JB, Rangel EF. Ecology of sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the North of the State of Mato Grosso, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 2002; 97: 459-464.
- Barret TV, Freitas RA, Albuquerque MIC, Guerrero JCH. Report on a collection of *Lutzomyia* sand flies (Diptera: Psychodidae) from the Middle Solimões (Amazonas, Brazil). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 1996; 91: 27-35.
- Barretto MP. Sobre a sinonímia de flebotomos americanos (Diptera: Psychodidae). Primeira nota. **Rev. Bras. Entomol.** 1946; 6: 527-536.
- Barretto MP. Catálogo dos flebotomos americanos. **Arq. Zool. S. Paulo**. 1947; 5: 177-242.

Barretto MP. Subfamílias e gêneros neotropicais da família Psychodidae Big., 1854 (Diptera). **Pap. Av. Dep. Zool. S. Paulo.** 1961; 14: 211-225.

Barreto MP, Coutinho JO. Processos de captura, transporte, dissecação e montagem de flebotomos. **An. Faculd. Med. Univ. S. Paulo.** 1940; 16: 173-187.

Biancardi CMB, Castellón EG. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Estado do Mato Grosso, Município de Chapada dos Guimarães, Brasil. **Act. Amaz.** 2000; 30: 115-128.

Brandão Filho SP, Carvalho FG, Brito MEF, Almeida FA, Nascimento LA. American cutaneous leishmaniasis in Pernambuco, Brazil: eco-epidemiological aspects in “Zona da Mata” region. In: Research and Control of Leishmaniasis in Brazil. Proceedings of a National workshop, 1993; Ed. Sinval P. Brandão Filho, 51-57.

Brazil RP, Almeida DC, Brazil BG, Oliveira Mamede SM. Chicken house as a resting site of sandflies in Rio de Janeiro, Brazil. **Parassitol.** 1991; 33 (suppl): 113-114.

Brazil RP, Carneiro VL, Andrade Filho JD, Alves JCM, Falcão AL. Biology of *Lutzomyia lenti* (Mangabeira) (Diptera: Psychodidae). **An. Soc. Entomol. Bras.** 1997; 26: 191-193.

Brazil RP, Andrade Filho JD, Falcão AL. Notes on phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from Amapá State, North Brazil. **J. Am. Mosq. Cont. Assoc.** 2000; 16: 40-41.

Brito M, Casanova C, Mascarini LM, Wanderley DMV, Corrêa FMA. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) em área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana no litoral norte do Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2002; 35: 431-437.

Cabanillas MRS, Castellón EG. Distribution of sandflies (Diptera: Psychodidae) on tree-trunks in a non-flooded area of the Ducke Forest Reserve, Manaus, AM, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1999; 94: 289-296.

Camargo-Neves VLF, Gomes AC, Antunes JLF. Correlação da presença de espécies de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) com registros de casos da leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2002; 35: 299-306.

Carvalho MES, Lustosa ES, Naves HAM. Contribuição ao conhecimento as fauna flebotomínica no Estado de Goiás e Distrito Federal. II. 1986-1987. Rev. Pat. Trop. 1989; 18: 7-14.

Casanova C. Avaliação do potencial biológico de Lutzomyia intermedia s.l. como vetor da leishmaniose tegumentar americana na zona rural do Município de Conchal, Estado de São Paulo. São Paulo; 2001. (Tese de Doutorado – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo).

Casanova C, Mayo RC, Rangel O, Mascarini LM, Pignatti MG, Galati EAB, Gomes AC. Natural *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva) infection in the valley of the Mogi Guaçu River, State of São Paulo, Brazil. Bol. Dir. Malariol. San. Amb. 1995; 35 (Supl 1): 77-84.

Castellón EG, Araújo Filho NA, Fé NF, Alves JMC. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Estado de Roraima, Brasil. II. Espécies coletadas na região. **Ac. Amaz.** 1991a; 21: 45-50.

Castellón EG, Araújo Filho NA, Fé NF, Alves JMC. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Estado de Roraima, Brasil. III. Listagem das espécies no Estado. **Ac. Amaz.** 1991b; 21: 51-54.

CENEPI (Centro Nacional de Epidemiologia)/FUNASA (Fundação Nacional de Saúde). Boletim Epidemiológico, Ministério da Saúde. 2002; ano V, Nº 1.

Cerqueira NC. Novo meio para a montagem de pequenos insetos em Lâminas. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1943; 39:37-41.

Chagas AW. Criação de flebotomos e criação experimental da leishmaniose visceral americana. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1940; 35: 327-333.

Chaniotis BN, Anderson JR. Notes on the morphology and laboratory rearing of *P. v. occidentis*. **Pan-Pacif. Entomol.** 1964; 40: 27-32.

Cipa Group. H Bermudes, Dedet JP, Falcão AL, Feliciangeli D, Ferro C, Galati EAB, Gomes EL, Herrero MV, Hervas D, Lebbe J, Morales A, Oguzuku E, Perez E, Rangel EF, Sherlock IA, Torres M, Vignes R, Wolff M. Proposition of a standart description for Phlebotomine sand flies. **Parassitol.** 1991; 33 (Suppl.): 127-135.

Cipa Group. H Bermudes, Dedet JP, Falcão AL, Feliciangeli D, Ferro C, Galati EAB, Gomes EL, Herrero MV, Hervas D, Lebbe J, Morales A, Oguzuku E, Perez E, Rangel EF, Sherlock IA, Torres M, Vignes R, Wolff M. (<http://cipa.snv.jussieu.fr/accueil.html>). 1999.

Coelho MV. Suscetibilidade de *Phlebotomus longipalpis* e *P. renei* à infecção por *Leishmania braziliensis*. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.** 1962; 4: 101-104.

Coelho MV, Falcão AR, Falcão AL. Desenvolvimento de espécies do gênero *Leishmania* em espécies brasileiras do gênero *Lutzomyia* França, 1924. I – Evolução de *L. braziliensis* em flebotomos. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.** 1967a; 9: 177-191.

Coelho MV, Falcão AR, Falcão AL. Desenvolvimento de espécies do gênero *Leishmania* em espécies brasileiras do gênero *Lutzomyia* França, 1924. V – Infectividade de leptomonas evoluindo no flebotomo e experiências de transmissão de leishmanioses. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.** 1967b; 9: 367-373.

Condino MLF, Sampaio SMP, Henriques LF, Galati EAB, Wanderley DMV, Corrêa FMA. **Leishmaniose tegumentar americana: flebotomíneos de área de transmissão no município de Teodoro Sampaio, região sudoeste do estado de São Paulo, Brasil.** *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 1998; 31: 355-360.

Costa FSO. **Deteção de DNA de *Leishmania* spp em roedores silvestres e sinantrópicos em área de transmissão das leishmanioses no Município de Araçuaí, Minas Gerais, Brasil: o uso da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) e suas implicações epidemiológicas.** Rio de Janeiro; 2002. (Dissertação de Mestrado – Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz).

Costa Lima A. **Sobre os *Phlebotomus* americanos (Diptera: Psychodidae).** Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1932; 26: 15-69.

Coutinho JO, Barretto MP. **Contribuição para o conhecimento do flebotomos de São Paulo. III. Descrição do macho de *Phlebotomus alphabeticus* Fonseca, 1936 e de *Phlebotomus pascalei* n.sp. (Diptera: Psychodidae).** Ann. Faculd. Med. Univ. S. Paulo. 1940; 16: 193-206.

Dedet JP. ***Leishmania* et leishmanioses du continent américain.** Ann. L'Inst. Past. Act. 1993; 4: 3-25.

Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2001; 95: 239-243.

Dia-Eldin AE, Morton J, Brazil RP, Ward RD. Field and laboratory evidence for multiple bloodfeeding by *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). Med. Vet. Entomol. 1992; 6: 173-174.

Dias ES, Falcão AL. Phlebotomine sand flies in endemic areas of leishmaniasis in Brazil: a taxonomic survey in the municipality of Alta Floresta, State of Mato Grosso. In: 3rd International Symposium on Phlebotomine Sandflies. 1999; 26 p.

Dias ES, Falcão AL, Silva JE. Notes on the sand fly (Diptera: Psychodidae) in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1997; 92: 329-332.

Dias ES, Barata RA, Fortes-Dias CL, Brazil RP, Miranda JC, Brandão Filho S, Linardi PM. Morphometric and phenetic studies of five geographical populations of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) in Brazil. J. Med. Entomol. 1999; 36: 846-850.

Domingos MF, Carreri-Bruno GC, Ciaravolo RMC, Galati EAB, Wandelely DMV, Corrêa FMA 1998. Leishmaniose tegumentar americana: flebotomíneos de área de transmissão, no município de Pedro de Toledo, região sul do estado de São Paulo, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 1998; 31: 425-432.

- Falcão AL, Falcão AR, Pinto CT, Gontijo CM, Falqueto A. Effect of deltamethrin spraying on the sandfly populations in a focus of American cutaneous leishmaniasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1991; 86: 399-404.
- Falcão AR. Um novo modelo de armadilha luminosa de sucção para pequenos insetos. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1981; 76: 303-305.
- Falqueto A. **Especificidade alimentar de flebotomíneos em duas áreas endêmicas de leishmaniose tegumentar no Estado do Espírito Santo.** Rio de Janeiro; 1995. (Tese de Doutorado – Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz).
- Ferreira AL, Sessa PA, Varejão JBM, Falqueto A. Distribution of sand flies (Diptera: Psychodidae) at different altitudes in an endemic region of american cutaneous leishmaniasis in the State of Espírito Santo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 2001; 96: 1061-1067.
- Ferro C, Cardenas E, Corredor D, Morales A, Munstermann LE. Life cycle and fecundity analysis of *Lutzomyia shannoni* (Dyar) (Diptera: Psychodidae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1998; 93: 195-199.
- Follador I, Araujo C, Cardoso MA, Tavares-Neto J, Barral A, Miranda JC, Bittencourt A, Carvalho EM. Surto de leishmaniose tegumentar americana em canos, Santo Amaro, Bahia, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 1999; 32: 497-503.
- Forattini OP. Sobre os flebotomos do Território do Amapá, Brasil. **Arq. Hig. S. Paulo.** 1959; 24: 358-368.
- Forattini OP. Nota sobre *Phlebotomus* do Território do Amapá, Brasil (Diptera: Psychodidae). **Stud. Entomol.** 1960; 3: 467-480.
- Forattini OP. **Entomologia Médica.** 4ª edição (Ed. Edgard Blucher). São Paulo, 1973; 658 pp.
- Forattini OP, Santos MR. Nota sobre infecção natural de *Phlebotomus intermedius* Lutz & Neiva, 1912, por formas leptomonas, em um foco ativo de leishmaniose tegumentar americana. **Arq. Hig. S. Paulo.** 1952; 17: 171-174.
- Forattini OP, Pattoli DBG, Rebello EX, Ferreira AO. Infecção natural de flebotomíneos em foco enzootico de leishmaniose no estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública.** 1972; 6: 431-433.
- França C. Observations sur le genre *Phlebotomus*. II. *Phlebotomus* du Nouveau Monde (Phlébotomes du Bresil et du Paraguay). **Bull. Soc. Portug.** 1920; 8: 215-236.
- Freire-Maia N.** Teoria da Evolução: De Darwin à teoria sintética. **2rd ed. Itatiaia. Belo Horizonte; 1998 415 pp.**

Freitas RA, Barrett TV. *Lutzomyia delericta* (Diptera: Psychodidae) a singular new phlebotomine sand fly from na inselberg in Northeastern Amazônia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1999; 94: 629-633.

Freitas RA, Naiff RD, Barrett TV. Species diversity and flagellate infections in the sand fly fauna near Porto Grande, State of Amapá, Brazil (Diptera: Psychodidae. Kinetoplastidae: Trypanosomatidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2002; 97: 53-59.

Futuyma DJ. Biologia Evolutiva. 2ª edição (Ed. Sociedade Brasileira de Genética), Ribeirão Preto, 1993; 631 pp.

Galati EAB. Phylogenetic systematic of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) with emphasis on American groups. Bol. Dir. Malariol. San. Amb. 1995; 35 (Supl 1): 133-142.

Galati EAB, Nunes VLB, Dorval MEC, Oshiro ET, Cristaldo G, Espíndola MA, Rocha HC, Garcia WB. Estudo dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae), em área de leishmaniose tegumentar, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev. Saúde. Pública. 1996; 30: 115-128.

Galati EAB, Nunes VLB, Rego Júnior FA, Oshiro ET, Chang MR. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae), em foco de leishmaniose visceral, no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev. Saúde Pública. 1997; 31: 378-390.

Galati EAB, Nunes VL, Dorval ME, Cristaldo G, Rocha HC, Gonçalves-Andrade RM, Naufel G. Attractiveness of black Shannon trap for phlebotomines. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2001; 96:641-647.

Galati EAB, Marassá AM, Andrade RMG, Pinto PLS, Consales CA, Karmann I, Bueno EFM. Phlebotomines from speleological province of Ribeira Valley, São Paulo State, Brasil. Entomol. Vect. 2002; (supl 1): 38-39.

Gnaspini Netto P, Trajano E. Brazilian cave invertebrates, with a checklist of troglomorphic taxa. Rev. Bras. Ent. 1994; 38: 549-584.

Gomes AC, Galati EAB. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 5. Estratificação da atividade especial e estacional de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) em áreas de cultura agrícolas da região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1987; 82: 467-473.

Gomes AC, Galati EAB. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 7. Capacidade vetorial flebotomínea em ambiente florestal primário do sistema da Serra do Mar, região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Saúde Pública. 1989; 23: 136-142.

Gomes AC, Rabello EX, Galati EAB. Flebotomíneos encontrados em galinheiros experimentais nos estado de São Paulo e Minas Gerais (Brasil) e algumas observações ecológicas. Rev. Saúde Pública. 1978; 12: 403-407.

Gomes AC, Rabello EX, Santos JLF, Galati EAB. Estudo experimental da frequência de flebotomíneos a ecótopos artificiais com referência especial a *Psychodopygus intermedius*. Rev. Saúde Pública. 1980; 14: 540-556.

Gomes AC, Rabello EX, Santos JLF, Galati EAB. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 2. Ecótopos artificiais como abrigo de *Psychodopygus intermedius* e observações sobre alimentação e reprodução sob influência de fatores físicos naturais. Rev. Saúde Pública. 1982; 16: 149-159.

Gomes AC, Rabello EX, Santos JLF, Galati EAB. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 3. Observações naturais sobre o ritmo diário da atividade de *Psychodopygus intermedius* em ambiente florestal e extraflorestal. Rev. Saúde Pública. 1983; 17: 23-30.

Gomes AC, Barata JMS, Rocha e Silva EO, Galati EAB. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 6. Fauna flebotomínea antropofílica de matas residuais situadas na região centro-nordeste do estado de São Paulo. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo. 1989; 31: 32-39.

Gomes AC, Galati EAB, Classer CM. Nota sobre o encontro de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) no litoral sul do Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Saúde Pública. 1990; 24: 319-320.

Gomes AC, Galati EAB, Casanova C, Domingos MF, Marques GRAM, Neves VLF. Analysis of the geographical distribution of leishmaniasis vectors in the state of São Paulo Brazil. Bol. Dir. Malariol. San. Amb. 1995; 35 (Supl 1): 143-146.

Gontijo CMF, Silva ES, Fuccio MB, Sousa MCA, Pacheco RS, Dias ES; Andrade Filho JD, Brazil RP, Melo MN. Epidemiological studies of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in the Rio Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil. **Ac. Trop.** 2002; 81: 143-150.

Grimaldi Júnior G, Momen H, Naiff RD, McMahon-Pratt D, Barrett TV. Characterization o fclassification of leishmanial parasites from human, wild mammals, and sand flies in the Amazon Region of Brazil. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1991; 44: 645-661.

International Commission on Zoological Nomenclature. **International Code of Zoological Nomenclature.** (Ed. Ride WDL, Cogger HG, Dupuis C, Kraus O, Minelli A, Thompson FC, Tubbs PK). 1999; 306p.

Karmann I, Ferrari JÁ. Carste e cavernas do Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (PETAR), sul do Estado de São Paulo (www.unb.br/sigep). 1999; sigep 43.

Katz G. **Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado de São Paulo, período de 1986 a 1995.** São Paulo; 1997. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo).

Killick-Kendrick R. **Studies and criteria for the incrimination of vector and reservoir hosts of the leishmaniasis.** In: Proceeding of the International Workshop on Control Strategies for the Leishmaniasis. Ottawa: International Development Reserch Center. 1988; 272-280.

Killick-Kendrick R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. **Med. Vet. Entomol.** 1990; 4: 1-24.

Killick-Kendrick R, Leaney AJ, Ready PD. The establishment, maintenance and productivity of a laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **J. Med. Entomol.** 1977; 13: 429-440.

Killick-Kendrick R, Maroli M, Killick-Kendrick M. Bibliography on the colonization of Phlebotomine sandflies. **Parassitol.** 1991; 33 (Suppl): 321-333.

Killick-Kendrick R, Tang Y, Killick-Kendrick M. Phlebotomine sandflies of Kenya (Diptera: Psychodidae). IV. The armature in the genital atrium of female *Larrousius* as a means of identification. **Ann. Trop. Med. Parasitol.** 1994; 88: 433-437.

Lane RP. Geographic variation in Old World phlebotomine sandflies, p.77-90. In:
Biosystematics of Haematophagous insects. (Ed. M.W. Service). Oxford. 1988; 77-90.

Lane RP, Rahman SJ. Variation in the ascóides of the sandfly *Phlebotomus argentipes* in a population from Patna, Northern India. J. Com. Dis. 1980; 12: 216-218.

Lima JWO. Epidemiology of American cutaneous leishmaniasis in Serra do Baturité, Ceará, Brazil: domestic populations of sandflies. In: Research and Control of Leishmaniasis in Brazil. Proceedings of a National workshop. (Ed. Sinval P. Brandão Filho); 1993; 45-50.

Luitgards-Moura JF, Castellón-Bermúdez EG, Rosa-Freitas MG. Aspects related to productivity for four generations of a *Lutzomyia longipalpis* laboratory colony. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 2000; 95: 251-257.

Lutz A, Neiva A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1912; 4: 84-95.

- Marcondes CB. A redescription of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), and resurrection of *L. neivai* (Pinto, 1926) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1996; 91: 457-462.
- Marcondes CB. **Morfometria e DNA mitocondrial de populações sul americanas de *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae).** Curitiba; 1997. Tese (Doutoramento, Entomologia) – Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- Marcondes CB. An improved technique for the dissection of female genitalia of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae), with an improvement in the handling of insects. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1998; 93: 109.
- Marcondes CB. Anomalia of *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1999; 94: 365-366.
- Marcondes CB, Borges PSS. Distinction of males of the *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) species complex by ratios between dimensions and by an artificial neural network (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 2000; 95: 685-688.
- Marcondes CB, Lozovei AL, Vilela JH. Distribuição geográfica de flebotomíneos do complexo *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae). **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 1998a; 31: 51-58.
- Marcondes CB, Lozovei AL, Galati EAB. Variações regionais e interespecíficas na morfologia de insetos do complexo *Lutzomyia intermedia* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Rev. Saúde Pública.** 1998b; 32: 519-525.
- Marcondes CB, Le Pont F, Lozovei AL. *Lutzomyia neivai* (Pinto, 1926) in Bolivia (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1998c; 93: 203-204.
- Marcondes CB, Lozovei AL, Falqueto A, Brazil RP, EAB Galati, Aguiar GM, Souza NA. Influence of Altitude, Latitude and Season of collection (Bergmann's Rule) on the dimension of *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neivai, 1912) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1999; 94: 693-700.
- Marcondes CB, Santos-Neto LG, Lozovei AL. Ecology of Phlebotomine sandflies (Diptera, Psychodidae) in brazilian Atlantic Forest. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 2001; 34: 255-260.
- Martín-Sanches J, Gramiccia M, Pesson B, Morillas-Marquez F. Genetic polymorphism in sympatric of the genus *Phlebotomus*, with special reference to *Phlebotomus perniciosus* and *Phlebotomus longicuspis* (Diptera, Phlebotominae). **Parasite.** 2000, 7:-247-254.

- Martins AV, Silva JE. Notas sobre os flebotomos do Estado do Acre, com a descrição de duas espécies novas (Diptera, Psychodidae). **Rev. Brasil. Biol.** 1964; 24: 127-138.
- Martins AV, Falcão AL, Silva JE. Notas sobre os flebotomos do Território de Roraima, com a descrição de três novas espécies (Diptera, Psychodidae). **Rev. Brasil. Biol.** 1963; 23: 333-348.
- Martins AV, Falcão AL, Silva JE. Notas sobre os flebotomos do Território de Rondônia, com a descrição de seis espécies novas (Diptera, Psychodidae). **Rev. Brasil. Biol.** 1965; 25: 1-20.
- Martins, A.V., P. Williams & A.L. Falcão. **American Sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae)**. (Ed. Acad. Bras. Ciências), Rio de Janeiro, 1978; 195 p.
- Mayo RC, Casanova C, Mascarini LM, Pignatti MG, Rangel O, Galati EAB, Wanderley DMV, Corrêa MA. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana no Município de Itupeva, região sudeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 1998; 31: 339-345.
- Mayrink W, Williams P, Coelho MV, Dias M, Martins AV, Magalhães PA, Costa CA, Falcão AR, Melo MN, Falcão AL. Epidemiology of dermal leishmaniasis in the Rio Doce Valley, State of Minas Gerais, Brazil. Ann. Trop. Med. Parasitol. 1979; 73: 123-137.**
- Montoya-Lerma J, Caldena-Peña H, Jaramillo-Salazar C. Rearing and Colonisation of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae), a vector of visceral leishmaniasis in Colombia. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1998; 93: 263-268.
- Morrison AC, Ferro C, Morales A, Tesh RB, Wilson ML. Dispersal of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. **Ann. Entomol. Soc. Am.** 1993; 30: 427-435.
- Natal D, Marucci D, Reis IM, Galati EAB. Modificação da armadilha CDC com testes para coletas de flebotomíneos (Diptera). **Rev. Bras. Ent.** 1991; 35: 697-700.
- Naves HAM, Carvalho MESD, Lustosa ES. Ocorrência de *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae) em Goiânia, Goiás, Brasil. **Rev. Pat. Trop.** 1991; 20: 207-210.
- Neves DP, Silva JE. **Entomologia Médica: comportamento, captura e montagem**. (Ed. Coopmed) Belo Horizonte, 1989; 112 p.

- Nieves E, Ribeiro A, Brazil RP. Physical factors influencing the oviposition of *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae) in laboratory conditions. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1997; 92: 733-737.
- Nitzulescu V. Contribution a l'étude de la femelle du *Phlebotomus intermedius*. **Ann. Parasitol.** 1930; 8: 523-529.
- Oliveira AG, Andrade Filho JD, Falcão AL, Brazil RP. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) na zona urbana da cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 1999-2000. **Cad. Saúde Pública.** 2003; in press.
- Oliveira SMP, Afonso RCH, Dias CMG, Brazil RP. Estudo da fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em Santa Cruz, município do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Brasil. Entomol.** 1995; 39: 547-551.
- Oliveira SMP, Loureiro MM, Leandro MJF, Giordano-Dias CM, Brazil RP, Almeida JM, Asensi MD, Mello RP. Caracterização da microbiota do trato digestivo em fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae) alimentadas com frutose. **Entomol. Vect.** 1999; 6: 166-179.
- Oliveira SMP, Morais BA, Gonçalves CA, Giordano-Dias CM, Vilela ML, Brazil RP, Almeida JM, Asensi MD, Mello RP. Microbiota do trato digestivo de fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae) provenientes de colônias alimentadas com sangue e com sangue e sacarose. **Cad. Saúde Pública.** 2001; 17: 229-232.
- Oliveira Neto MP, Pirmey C, Rangel EF, Schubach A, Grimaldi G. An outbreak american cutaneous leishmaniasis (*Leishmania braziliensis braziliensis*) in a periurban area of Rio de Janeiro City, Brazil: clinical and epidemiological studies. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1988; 83: 427-435.
- Organização Mundial da Saúde. **Expert Committee on the control of the Leishmaniases. Report.** Geneva. 1990; (WHO – Technical Report Series, 793).
- Paterson GC. Sobre otra nueva especie del género *Phlebotomus* encontrado en la provincia de Jujuy. **Clin. Quirúr.** 1926; 2: 305-309.
- Pereira IR, Hoch A. *Lutzomyia intermedia* as a suspected vector of *Leishmania viannia braziliensis* in Bahia State, Brazil **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 1990; 23: 235.
- Pessoa, SB, Barreto MP. **Leishmaniose Tegumentar Americana.** (Ed. Imprensa Nacional). Rio de Janeiro. 1948; 527 p.
- Pinto C. "Phlebotomus neivai" e "Phl. fischeri" N. SP. SP – Sobre o aparelho espicular dos Phlebotomos e seu valor específico. **Sc. Med.** 1926; 4: 369-375.

- Pinto C. **Arthropodos parasitos e transmissores de doenças**. Tomo II (Biblioteca Científica Brasileira); Phlebotomos. 1930; 491-538.
- Queiroz RG, Vasconcelos AW, Vasconcelos IAB, Sousa RN, Pessoa FAC, Alencar JE, David JR. Phlebotomine sandfly (Diptera: Psychodidae) fauna survey in an american cutaneous leishmaniasis (ACL) focus in Baturité, Ceará State, Northeast Brazil. **Parassitol.** 1991; 33 (Suppl 1): 159-167.
- Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Barbosa AF. Infecção natural de *Lutzomyia intermedia* Lutz & Neiva, 1912 em área endêmica de leishmaniose tegumentar no estado do Rio de Janeiro. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1984; 79: 395-396.
- Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Barbosa AF. Estabelecimento de colônia, em laboratório, de *Lutzomyia intermedia* Lutz & Neiva, 1912 (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1985a; 80: 219-226.
- Rangel EF, Ryan L, Lainson R, Shaw JJ. Observations on the sandfly (Diptera: Psychodidae) fauna of Além Paraíba, State of Minas Gerais, Brazil, and the isolation of a parasite of the *Leishmania braziliensis* complex from *Psychodopygus hirsuta hirsuta*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1985b; 80: 373-374.
- Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Azevedo ACR, Barbosa AF, Andrade CA. Flebotomos de Vargem Grande, foco de leishmaniose tegumentar no Estado do Rio de Janeiro. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1986a; 81: 347-349.
- Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Barbosa AF, Andrade CA. Biologia de *Lutzomyia intermedia* Lutz & Neiva, 1912 e *Lutzomyia longipalpis* Lutz & Neiva, 1912 (Diptera, Psychodidae), em condições experimentais. I Aspectos da alimentação de larvas e adultos. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1986b; 81: 431-438.
- Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Barbosa AF. Biologia de *Lutzomyia intermedia* Lutz & Neiva, 1912 e *Lutzomyia longipalpis* Lutz & Neiva, 1912 (Diptera, Psychodidae), em condições experimentais. II. Influência de fatores ambientais no comportamento das formas imaturas e adultas. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1987; 83: 385-394.
- Rangel EF, Azevedo ACR, Andrade CA, Souza NA, Wermelinger ED. Studies on sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in a focus of cutaneous leishmaniasis in Mesquita, Rio de Janeiro State, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1990; 85: 39-45.
- Rangel EF, Barbosa AF, Andrade CA, Souza NA, Wermelinger ED. Development of *Leishmania (viannia) braziliensis* Vianna, 1911 in *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) under experimental conditions. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1992; 87: 235-238.

- Rangel EF, Travi BL, Barosa AF, Montoya J. Development of Colombian isolates of *Leishmania (Viannia) panamensis*, *Le (V.) guyanensis* and *Le (V.) braziliensis* in the sandfly *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) under experimental conditions. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1993; 88: 313-315.
- Ready PD, Lainson R, Shaw JJ, Souza AA. DNA probes for distinguishing *Psychodopygus wellcomei* from *Psychodopygus complexus* (Diptera: Psychodidae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1991; 86: 41-49.
- Rebêlo JMM, Mendes WA, Costa JML, Cavaleiro N. Lista preliminar das espécies do gênero *Lutzomyia* França, 1924 (Psychodidae, Phlebotominae) do Estado do Maranhã, Brasil. **Cad. Saúde Pública.** 1996; 12: 545-549.
- Rebêlo JMM, Araújo JAC, Carvalho ML, Barros VLL, Silva FSS, Oliveira ST. Flebotomos (Diptera, Phlebotominae) da Ilha de São Luis, zona do Golfão Maranhense, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 1997; 32: 247-253.
- Rebêlo JMM, Oliveira ST, Barros VLL, Silva FS. Flutuação sazonal dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área de colonização recente do município de Buriticupu, Amazônia maranhense, *Brasil*. **Rev. Bras. Entomol.** 2001; 45: 11-16.
- Ryan L **Flebotomos do Estado do Pará, Brasil.** Doc. técnico N° 1. Instituto Evandro Chagas, 1986; 154 p.
- Ryan L, Phillips A, Milligan P, Lainson R, Molyneux DH, Shaw JJ. Separation of female *Psychodopygus wellcomei* and *P. complexus* (Diptera, Psychodidae) by cuticular hydrocarbons. **Acta. Trop.** 1986; 43: 85-89.
- Salomon OD, Zaidenberg M, Burgos R, Heredia VI, Caropresi SL. American cutaneous leishmaniasis outbreak, Tartagal city, province of Salta, Argentina, 1993. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.** 2001; 43: 105-108.
- Santos De Marco T, Gaia MCM, Brazil RP. Influence of the lunar cycle on the activity of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). **J. Am. Mosq. Control. Assoc.** 2002; 18: 114-118.
- Santos SO, Arias JÁ, Ribeiro AA, Hoffmann MP, Freitas RA, Malacco MAF. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. **Med. Vet. Entomol.** 1998; 12: 315-317.
- Santos SO, Andrade Filho JD, Honer MR. *Lutzomyia aldafalcaoae* sp. n. a new species of Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) from Mato Grosso do Sul, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 2001; 96: 791-794.
- São Thiago PT, Guida V. Leishmaniose tegumentar no oeste do Estado de Santa Catarina, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 1990; 23: 201-203.

Saraiva L, Lopes JS, Andrade Filho JD, Oliveira GBM, Batista FA, Falcão AL. Study of phlebotomine sand flies in the Alto Caparaó and Caparaó Towns – MG – Brazil. Entomol. Vect. 2002; (supl 1): 125.

Shannon RC. Methods for collecting and feeding mosquitoes in jungle yellow fever studies. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 1939; 19: 131-148.

Shaw JJ. Taxonomy of the genus *Leishmania*: present and future trends and their implications **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1994; 89: 471-478.

Sherlock IA. Anomalias de “*Phlebotomus longipapis*” Lutz & Neiva, 1912 (Diptera, Psychodidae). **Rev. Brasil. Biol.** 1958; 18: 433-437.

Sherlock IA, Pessoa SB. Métodos práticos para a captura de flebótomos. **Rev. Bras. Biol.** 1964; 24: 331-340.

Sherlock IA, Maia H, Dias-Lima AG. Resultados preliminares de um projeto sobre a ecologia dos flebotomíneos vetores de leishmanioses tegumentar no Estado da Bahia. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 1996; 29: 207-214.

Silva AC, Gomes AC. Estudo da Competência vetorial de *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) para *Leishmania (Viannia) braziliensis*, Vianna, 1911. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 2001; 34: 187-191.

Silva OS, Grunewald J. Contribution to the sandfly fauna (Diptera: Phlebotominae) of Rio Grande do Sul, Brazil and *Leishmania (Viannia)* infections. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1999; 94: 579-582.

Silveira FT, Ishikawa EAY, Souza AAA, Lainson R. Na outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belém, Pará State, Brazil, caused by *Leishmania (Viannia) lindenbergi* n. sp. a new leishmanial parasite of man in the Amazon Region. **Parasite.** 2002; 9: 43-50.

Souza NA, Andrade Coelho CA, Barbosa AF, Vilela ML, Rangel EF, Deane MP. The influence of sugar and amino acids on the blood-feeding behaviour, oviposition and longevity of laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1995; 90: 751-757.

Souza NA, Andrade Coelho CA, Vilela ML, Rangel EF. The Phlebotominae sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna of two Atlantic Forest reserves in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 2001; 96: 319-324.

- Souza NA, Andrade Coelho CA, Vilela ML, Peixoto AA, Rangel EF. Seasonality of *Lutzomyia intermedia* e *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), occurring sympatrically in area of leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 2002; 97: 759-765.
- Sudia WD, Chamberlain W. Battery operated light trap, an improved model. **Mosq. News.** 1962; 22: 126-129.
- Teodoro U, La Salvia Filho V, Lima EM, Spinosa RP, Barbosa OC, Ferreira ME, Lonardon MV. Observações sobre o comportamento de flebotomíneos em ecótopos florestais e extraflorestais, em área endêmica de leishmaniose tegumentar americana, no norte do Estado do Paraná, Sul do Brasil. **Rev. Saúde Pública.** 1993; 27: 242-249.
- Teodoro U, Kühl JB, Santos DR, Santos ES. Impacto das alterações ambientais na ecologia de flebotomíneos no sul do Brasil. **Cad. Saúde Pública.** 1999; 15: 901-906.
- Teodoro U, Kühl JB, Abbas M, Dias AC. Luz e aves como atrativos de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae), no sul do Brasil. **Rev. Bras. Entomol.** 2001; 45: 162-172.
- Theodor O. On the structure of the bucal cavity, pharynx and spermatheca in South American *Phlebotomus*. **Bul. Entomol. Res.** 1932; 23: 17-23.
- Tibayrenc M, Carriou ML, Corneau B, Pajot FF. Etude allozymique chez *Lutzomyia umbratilis* (Diptera, Psychodidae) vecteur de leishmaniose en Guyane Française. **Ent. Med. Parasit.** 1980; 18: 67-70.
- Vasconcelos IA, Vasconcelos AW, Fe Filho NM, Queiroz RG, Santana EW, Bozza M, Sallenave SM, Valim C, David JR, Lopes UG. The identity of *Leishmania* isolated from sand flies and vertebrate hosts in a major focus of cutaneous leishmaniasis in Baturite, northeastern Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 1994; 50: 158-64.
- Vexenat JA, Barretto AC, Cuba CC, Marsden PD. Características epidemiológicas da leishmaniose americana em uma região endêmica do estado da Bahia. III. Fauna flebotomínica. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1986; 81: 293-301.
- Ximenes MF, Souza MF, Castellón EG. Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of visceral Leishmaniasis in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1999; 94: 427-432.
- Ximenes MF, Castellón EG, Freitas RA. Morphological genitalic anomaly in *Lutzomyia longipalpis* sensu lato (Lutz & Neivai, 1912) collected in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. **Entomotr.** 2002; 17: 183-184.
- Ward RD, Bettini S, Maroli M, McGarry, JW Draper A. Phosphoglucomutase polymorphism in *Phlebotomus perfiliewi perfiliewi* Parrot (Diptera: Psychodidae) from central and northern Italy. **Ann. Trop. Med. Parasit.** 1981; 75: 653-661.

Wermelinger ED, Zanuncio JC. Development of *Lutzomyia intermedia* e *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) larvae in different diets. **Braz. J. Biol.** 2002; 61: 405-408.

Young DG, Duncan MA **Guide to the Identification and Geographic Distribution of Lutzomyia Sand Flies in the Mexico, the West Indies, Central and the South America (Diptera: Psychodidae)**. Mem. Am. Entomol. Inst. 54, Associated Publishers. 1994; 881 p