



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

Aspectos da biologia das formas imaturas de *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) em condições de laboratório

Letícia Moraes Ribeiro

Dissertação apresentada à Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.
Área de concentração: Morfofisiologia e Fisiopatologia Animal ou Sistemática e Bionomia Animal.

Orientadora: Alessandra Gutierrez de Oliveira

Campo Grande, MS

Março, 2014

RESOLUÇÃO Nº 91, DE 18 DE DEZEMBRO DE 2013.

O COLEGIADO DE CURSO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, no uso de suas atribuições, resolve:

Aprovar a composição da “Banca Examinadora de Dissertação” de **Letícia Moraes Ribeiro**, intitulada “**Biologia das formas imaturas de *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) em condições de laboratório**”, sob a orientação do Prof^a. Dra. Alessandra Gutierrez de Oliveira, conforme segue:

Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes (UFMS - Presidente)

Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati (USP)

Dr. Gustavo Graciolli (UFMS)

Dr. José Dilermando Andrade Filho (FIOCRUZ)

Dr. Reginaldo Peçanha Brazil (FIOCRUZ)

Vanda Lúcia Ferreira,

Presidente.

Dissertação apresentada à Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.
Área de concentração: Morfofisiologia e Fisiopatologia Animal ou Sistemática e Bionomia Animal.

Campo Grande, MS

Março, 2014

Agradecimentos

Agradecemos a CAPES pelo apoio financeiro, ao Programa de Pós- Graduação em Biologia Animal pelo apoio logístico, à Dra. Alessandra Gutierrez de Oliveira pela orientação, a veterinária Elisa Teruya Oshiro, e as técnicas Jucelei de Moura Infran e Lívia Garcia Bertolacci pelas sugestões e revisão do manuscrito, ao Sr. Adão proprietário do galinheiro, às alunas de Pós-graduação Magda Fernandes Freitas e Daiana Alovisi pelo auxílio nas coletas.

Resumo

A espécie *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho 1939) tem sido apontada como um complexo de espécies crípticas, com algumas de suas populações incriminadas na transmissão de *Leishmania* spp. (Ross 1903) no Brasil. Neste trabalho foram relatadas aspectos da biologia relativos à da produtividade dos ovos e do tempo de desenvolvimento dos descendentes de 944 fêmeas procedentes de Dourados no Estado de Mato Grosso do Sul. As fêmeas foram capturadas com aspirador elétrico modificado, e alimentadas em hamsters e posteriormente individualizadas em potes para criação. A temperatura e a umidade relativa do ar média foram mantidas a 24,5°C e 67,3%, respectivamente. Dos 3737 ovos, 748 (20,0%) evoluíram para o estágio de larvas e 93 (12,4%) destas chegaram à fase adulta. O ciclo de vida foi de 80,1 dias, sendo último instar larval o mais longo, provavelmente em função da diapausa que esta espécie apresenta. Com a introdução de uma dieta mais rica em proteína pode-se observar um aumento expressivo no desenvolvimento das larvas.

Abstract

The species *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho 1939) is involved in the transmission of *Leishmania* spp. (Ross de 1903) in Brazil. In this work, the detailed biology in relation to egg production and development of descendants of the 944 females captures in Dourados, state of Mato Grosso do Sul, were accessed. The females were captured using a modified electric aspirator and fed in hamsters and further individualized in rearing pots. The temperature and relative humidity of air were maintained at 24,5°C and 67,3%, respectively. Of the 3737 eggs, 748 (20,0%) evolved to the larvae stage, of which 93 (12,4%) reached adult age. Life cycle duration was 80,1 days, being longest for the last larval instar, probably by diapauses. With the change in diet can be observed allowed an expressive development of larvae.

INTRODUÇÃO

Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae)

Os flebotomíneos são dípteros pertencentes à família Psychodidae e subfamília Phlebotominae que apresentam pequenas dimensões, que variam de 2 a 4 mm, possuem corpo densamente piloso, asas de formas lanceoladas, antenas longas e segmentadas, sendo facilmente reconhecíveis pela atitude do pouso, pois suas asas permanecem entreabertas e ligeiramente levantadas. Deslocam-se por meio de voos curtos e a capacidade de voo destes dípteros é curta, do tipo saltitante e, normalmente, eles tendem a não se afastar muito dos seus criadouros ou locais de abrigo, embora possam ser capturados até cerca de um quilômetro do ponto de soltura, com a maioria não indo além dos 240m (CASANOVA; COSTA; NATAL, 2005; MORRISON *et al.*, 1993, OLIVEIRA *et al.*, 2013). São conhecidos por diferentes nomes populares como: birigui, mosquito-palha, tatuquira, asa branca, asa dura, cangalhinha, mosquito do rio, dentre outros, nas diversas regiões do Brasil (MARCONDES, 2001a).

Várias espécies desses dípteros podem transmitir patógenos de importância médica e veterinária por meio da picada das fêmeas durante a hematofagia. Dentre estes patógenos encontram-se vetores de algumas espécies de *Leishmania* (RANGEL & LAINSON, 2009), a bactéria *Bartonella bacilliformes*, agente etiológico da bartonelose, doença restrita às regiões andinas do Peru, Equador e Colômbia (FORATTINI, 1973; CÁCERES, 1993; HAMBUCH *et al.*, 2004; Gonzáles *et al.*, 2007) e também tem sido associado com *Phlebovirus* e outras arboviroses de importância médica (TESH, 1988; PINHEIRO, 1980).

No mundo são relatadas aproximadamente 920 espécies de flebotomíneos, das quais cerca de mais de 7% já foram incriminadas como vetores ou suspeitas de transmissão de *Leishmania* (SHIMABUKURU e GALATI, 2011; MARCONDES, 2001a). Cerca de 500 espécies estão distribuídas na Região Neotropical e nas Américas, sendo que 260 foram descritas no Brasil e destas 59 no Estado de Mato Grosso do Sul (SHIMABUKURU e GALATI, 2011; GALATI, 2013).

As fêmeas diferenciam-se morfológicamente dos machos pela presença e ausência de um par de mandíbulas desenvolvidas, respectivamente e pela terminália, que é externamente desenvolvida nos machos e dotada de apêndices desenvolvidos, enquanto que nas fêmeas apresentam-se discreta, com espermatecas quitinizadas internalizadas, de relevância taxonômica (GALATI, 2003).

O dimorfismo sexual se reflete também no hábito alimentar (BRAZIL & BRAZIL, 2003), uma vez que as fêmeas são hematófagas e utilizam o sangue como fonte proteica para o desenvolvimento ovariano e produção de ovos. Estudos relataram que fêmeas de alguns grupos alimentam-se de animais de sangue frio, enquanto a maioria das fêmeas tem

preferência por animais de sangue quente, tais como roedores, cães, aves, equinos, bovinos, suínos e humanos (MUNIZ et al., 2006, OLIVEIRA-PEREIRA, 2008 e OLIVEIRA et al., 2008). Tanto os machos quanto as fêmeas alimentam-se de secreções açucaradas, provenientes de seiva vegetal ou secreções de afídeos (BRAZIL & BRAZIL, 2003).

Estes dípteros são holometábolos com ciclo biológico que compreende a fase de ovo, quatro estádios larvais, pupa e de adulto (Figura 1a; 1b). As formas imaturas desenvolvem-se em ambiente terrestre ou saprófago, locais ricos em matéria orgânica em decomposição. A duração de cada fase varia conforme a espécie e as condições do ambiente, como temperatura, umidade do ar e disponibilidade de alimento. Geralmente a longevidade dos adultos tanto do macho quanto da fêmea, colonizados em laboratório, varia de 20 a 30 dias, pois esses dados são praticamente desconhecidos na natureza, variando de espécie para espécie (FORATTINI, 1973).

Para os flebotomíneos neotropicais da espécie *Nyssomyia neivai* foi relatada sobrevivência de 14 dias na natureza (CASANOVA; COSTA; NATAL, 2005). Chaniotis et al. (1974) recapturaram exemplares de *Lutzomyia shannoni* e *Lutzomyia trinidadensis* até 15 dias após a soltura. Para a espécie *Lutzomyia longipalpis*, Oliveira et al. (2013), demonstraram em estudo de captura-marcação-soltura que 71,69% dos insetos recapturados ocorreram até 14 dias após a liberação dos espécimes marcados, sendo que uma fêmea foi recapturada após 28 dias.

O período de atividade é predominantemente crepuscular matutino, crepuscular vespertino e noturno, ou seja, as fêmeas picam seus hospedeiros sanguíneos ao amanhecer e ao entardecer. Durante o dia encontram-se abrigados em lugares sombrios e úmidos, protegidos do vento, do sol e de predadores naturais (REBELO, 1999). No entanto, algumas espécies são ativas no período diurno, praticando a hematofagia em ambientes com pouca luminosidade como áreas florestais (REBELO et al., 1999) cavernas e grutas (GALATI et al., 2003a e CARVALHO et al., 2012).

Taxonomia

Em 1786 foi descrita a primeira espécie de Psychodidae por Scopoli denominada *Biblio papatasi* e, Latreille em 1797 descreveu o primeiro gênero, *Psychoda*. Posteriormente Rondani (1840) (citado por Lima 1932) reconheceu a importância sistemática desse psicodídeo e criou o gênero *Flebotomus* Rondani & Berté com a espécie-tipo: *Flebotomus papatasi* considerando-o da família Flebotomidae e da sub-família *Flebotominae*. Em 1846, Agassiz (citado por Barretto 1950) alterou a escrita de *Flebotomus* para *Phlebotomus* (Galati, 2003).

Coquillett (1907) descreveu as primeiras espécies de flebotomíneos americanos, *Flebotomus vexator* e *Flebotomus cruciatus*, e não acatou a grafia sugerida por Agassiz. No

entanto, em 1950 a Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica considerou a mudança do nome apropriada para *Phlebotomus* Rondani, 1840.

Em 1919, Carlos França fez a primeira tentativa de classificação de flebotomíneos através de um estudo detalhado da anatomia de machos destes dípteros dividindo o gênero *Phlebotomus* em dois subgêneros: *Phlebotomus* e *Newsteadia*. França (1920) dentro do gênero *Phlebotomus* considerou os subgêneros *Phlebotomus* e *Sergentomyia* e, criou para *Phlebotomus longipalpis* Lutz e Neiva 1912 o subgênero *Lutzia* e, em 1924, que por ser um nome pré ocupado, este mesmo autor o substituiu *Lutzia* por *Lutzomyia*.

Adler e Theodor (1926) observaram a importância morfológica dos caracteres das fêmeas, tais como o cibário, armadura faringeana e espermatecas para a classificação taxonômica. Theodor (1965) propôs uma nova classificação para os flebotomíneos do Novo Mundo, baseando-se nos cibários e na genitália das fêmeas e dos machos para divisão dos grupos. Portanto, tais caracteres foram base para a classificação em nível de gênero e subgênero dos flebotomos e, desde então a taxonomia dos flebotomíneos tem sido baseada em princípios monotéticos, apoiada por argumentos morfológicos (RISPAIL & LEGER, 1998).

Young e Duncan (1994) realizaram uma revisão do gênero *Lutzomyia*, e seguiram basicamente a proposta de Lewis et al. (1977), adotando três subgêneros, sendo eles: *Coromyia*, *Psathyromyia* e *Sciopemyia*, sendo que os dois primeiros foram incluídos anteriormente na classificação de Martins et al. (1978). Galati (1995) propôs uma nova classificação de Phlebotominae, com abordagem filogenética, dividindo Phlebotominae em duas tribos: Hertigiini e Phlebotomini, sendo a última, dividida em seis subtribos, das quais: Brumptomyiina, Sergentomyiina, Lutzomyiina e Psychodopygina agrupam as espécies americanas.

Lutz e Neiva (1912) escreveram o primeiro trabalho sobre flebotomíneos no Brasil e descreveram a espécie *Flebotomus intermedius* através de dois machos e uma fêmea coletados no município de Além Paraíba em Minas Gerais. Antunes e Coutinho (1939) descreveram a espécie *Flebotomus whitmani* através de holótipo macho, alótipo fêmea e parátipos de ambos os sexos advindos de Ilhéus na Bahia em 1934. *Flebotomus whitmani* é muito semelhante ao *Flebotomus intermedius* diferenciando-se através do comprimento dos filamentos genitais dos machos e a forma da espermateca das fêmeas.

Barretto (1962) propôs *Nyssomyia* como um subgênero de *Lutzomyia*. Theodor (1965) inseriu as espécies de *Nyssomyia* no grupo *Intermedia*. Artemiev (1991) elevou-o a gênero, que foi por Galati (2003). Deste modo *Flebotomus whitmani* é denominado atualmente como *Nyssomyia whitmani* (Antunes e Coutinho, 1939) por Galati (2003).

Marcondes (2001b) defende a correta identificação dos insetos com estudos taxonômicos detalhados, pois considera de extrema importância para a avaliação da

susceptibilidade a parasitas, a sensibilidade a substâncias tóxicas, a biologia e a eventual importância epidemiológica. Ainda relata que, a persistência em não considerar as diferenças taxonômicas pode desvalorizar o trabalho e seus resultados

Nyssomyia whitmani

Criadouros

As formas imaturas deste grupo habita geralmente ecótopos compostos por solos úmidos, ricos em matéria orgânica, tais como, os encontrados em florestas tropicais (FELICIANGELI, 2004). No entanto há uma grande dificuldade em encontrar seus criadouros naturais, tornando escassos os dados na literatura sobre as formas imaturas (ovo, larva e pupa) e o período entre estes estágios no ciclo de vida dos flebotomíneos.

Existem algumas técnicas que são utilizadas na busca direta (localização de imaturos) e indireta (busca por adultos recém-emergidos) de potenciais criadouros (FELICIANGELI, 2004). Dentre estas, destaca-se a armadilha de emergência. Durante um estudo realizado na Amazônia Central foram capturados com a referida armadilha, 300 espécimes, dos quais, oito (quatro machos e quatro fêmeas) foram identificados como *Lutzomyia (Nyssomyia) sp.*; com estes resultados pode-se estimar quantos flebotomos seriam produzidos por dia em determinado local (ARIAS e FREITAS, 1982). Com o auxílio desta armadilha modificada por Bettini *et al.*(1986), Casanova (2001) registrou o encontro de 73 exemplares de flebotomíneos, nos dos quais, sete eram machos e *Ny. whitmani* coletados no peridomicílio de uma área endêmica para leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo.

Devido à dificuldade em encontrar locais de reprodução de flebotomíneos, as medidas de controle têm sido orientadas apenas para a fase adulta do inseto. Porém, com os resultados destes trabalhos de investigação de criadouros criam-se novas perspectivas de estudos em relação à biologia e à ecologia das formas imaturas, com vistas à formulação de medidas de controle mais adequadas e eficazes (CASANOVA, 2001).

Ciclo biológico

Em consequência da complexidade dificuldade em encontrar seus criadouros naturais, as pesquisas relacionadas ao ciclo de vida têm sido desenvolvidas em laboratório, onde procura-se aproximar às condições naturais.

O estabelecimento de colônias é fundamental não só para abranger o conhecimento da biologia dos insetos, como também para o desenvolvimento de estudos moleculares e celulares de patógenos, transmitidos por eles (KILLICK-KENDRICK,1991). Várias espécies

de flebotomíneos foram colonizadas com sucesso, porém um grande número de insetos tem seu ciclo de vida ainda desconhecido.

Rangel e colaboradores (1987) realizaram estudos sobre a biologia de *Lu. longipalpis* e *Nyssomyia intermedia* em condições experimentais, verificando a influência de fatores ambientais no comportamento das formas imaturas e adultas dessas espécies, concluindo que a luminosidade e a umidade podem ser fatores importantes no desenvolvimento desses flebotomos em laboratório. A luz teve maior influência na duração do ciclo total de *Ny. intermedia*, sendo as fases imaturas as mais sensíveis a ela, e *Lu. longipalpis*, não sofreu interferência no ciclo biológico pela diferença de luminosidade. Em 1997 foi descrito em para uma colônia de *Lutzomyia lentí*, a duração média de 40,2 dias do ciclo biológico médio, observando a postura média de ovos (36,1 ovos por fêmea), o tempo entre os estágios larvais (média de 6,75 dias) e, as melhores condições de temperatura e umidade para a manutenção da colônia 26° - 28°C e UR 80 ± 5%. (BRAZIL *et al.*, 1997). A biologia da primeira geração de *Ny. intermedia* e *Ny. neivai* também foram descritas em condições de laboratório, verificando a porcentagem de ovos por fêmea (45,5) para *Ny. intermedia* e (48,5) *Ny. neivai*, a taxa de eclosão de larvas e emergência dos adultos, totalizando um ciclo biológico de 34,9 dias para *Ny. intermedia* e 45,1 dias para *Ny. neivai* em temperatura de 25 - 26°C e umidade relativa do ar de 80% (ANDRADE-FILHO *et al.*, 2004).

Quanto à biologia de *Ny. whitmani* um estudo realizado na década de 40 observou que para esta espécie, em condições laboratoriais, a duração do ciclo de vida foi de 29 a 72 dias sob temperatura entre 25 e 27°C (BARRETTO, 1941, 1942). No Maranhão, Fonteles (2009a) observou que o ciclo médio de vida foi de 39,3 dias e a razão entre machos e fêmeas de 1: 1,3, com variação de temperatura e umidade entre 26,2 a 27°C e 65 e 72%, respectivamente.

Devido às diferenças relacionadas com antropofilia e domiciliação de *Nyssomyia whitmani*, Lainson (1988) sugeriu que esta seria um complexo de espécies crípticas, o que foi confirmado por estudos de análise filogenética baseada em caracteres morfológicos e morfométricos, que identifica duas linhagens de *Ny. whitmani* no Brasil, uma no Amazonas e outra no Nordeste (RANGEL *et al.*, 1996). Posteriormente, foi encontrada uma terceira linhagem, denominada Norte-Sul (READY *et al.*, 1998). Com abordagem molecular de *Random Amplification of Polymorphic DNA - Polymerase Chain Reaction* (RAPD-PCR), Margonari e colaboradores (2004) forneceram evidências adicionais para apoiar a existência biogeográfica de populações distintas de *Ny. whitmani*. Portanto, reafirma-se a importância de novas investigações sobre a biologia dessa espécie para conhecimento do seu comportamento em cada região.

Hábito alimentar

Teodoro e colaboradores (1998; 2003) ao estudarem a fauna em perímetro urbano, no município de Maringá, Paraná verificaram uma forte atratividade de *Ny. whitmani* por animais silvestres (mão-pelada; gatos-do-mato, ave e quatis) e baixa preferência por primatas. Brazil et al.(1991), no Estado do Ceará, demonstraram o comportamento antropofílico desta espécie, quando identificaram que ao capturar 75% das fêmeas de flebotomíneos capturadas com isca humana eram da espécie *Ny. whitmani*.

Essa espécie também é encontrada no peridomicílio e em abrigos de animais domésticos (AZEVEDO et al., 1996; MASSAFERA et al., 2005; TEODORO et al., 2007; SAMPAIO et al., 2009; BARATA et al., 2011). Estudos sobre fontes alimentares sanguíneas de flebotomíneos têm sido de grande importância no esclarecimento da epidemiologia das leishmanioses, podendo auxiliar no controle e vigilância dessas doenças (DIAS, et al., 2003). Portanto, estudos do conteúdo estomacal de insetos hematófagos têm relevância ecológica e epidemiológica, pois além de possibilitar o conhecimento em que hospedeiros e as fêmeas destes dípteros, pode se alimentar, eles geraram também subsídios para a indicação de reservatórios de *Leishmania* (FONTELES et al., 2009b).

Em 2007, no Paraná, foi avaliada a preferência alimentar de *Ny. whitmani* utilizando alguns animais como isca (galinha, cão, suíno e coelho). Os resultados demonstraram maior atratividade por suínos, seguida por galinhas, coelhos e cães, no segundo período de coletas, as galinhas apresentaram maior atratividade do que os suínos (DIAS-SVERSUTT et al., 2007), o que corroborou com resultados encontrados em área rural no município de Mandaguari, no Sul do Brasil, com os mesmos animais expostos, revelando nos dois primeiros meses de coleta, as seguintes preferências: suínos (70,67%), galinhas (68,64%), cachorros (66,94%) e coelhos (51,75%) nos primeiros dois meses de coleta. No segundo bimestre deste estudo, a atratividade por coelhos (65,68%) foi mais elevada (MUNIZ et al., 2006). Podendo então, inferir que as fêmeas de *Ny. whitmani* ajustaram o seu padrão alimentar ao coelho, sugerindo um caráter oportunista dessa espécie.

Oliveira-Pereira et al., (2008) relataram a preferência alimentar de *Ny. whitmani* no município de Buriticupu, na Amazônia do Maranhão, por roedores (44,4%) equinos (22,2%), e humanos (11,1%). No município de Axixá/MA, área endêmica para leishmaniose tegumentar americana, verificou-se a predominância de antisoros para galinhas (22,2%), roedores (14,3%) e humanos (12,7%), e, nas reações duplas, as combinações galinha/humano foram de 6,3% e galinha/gambá de 4,8% (FONTELES et al., 2009b). Na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul em 2008, houve a preferência dessa espécie por sangue humano, e também foi detectada as combinações de sangue: humano + ave + cão + suíno e humano + suíno (OLIVEIRA et al., 2008).

Esses estudos fornecem subsídios para inferir que as fêmeas desta espécie ajustam seu padrão alimentar conforme a disponibilidade de fontes alimentares, pois sugam uma variedade de vertebrados, sugerindo o comportamento eclético e oportunista desses insetos (VELO, 2005).

Variação sazonal (Sazonalidade)

Os fatores climáticos podem influenciar a densidade de flebotomíneos, dependendo da região estudada. *Ny. whitmani* tem sido encontrada durante todo o ano (REBELO *et al.*, 1999; MARTIN & REBELO, 2006; SARAIVA *et al.*, 2011), com abundância durante os meses mais secos e frios (junho, julho, agosto e setembro) (Mayo *et al.*, 1998) e Souza *et al.* (2002) e com alta prevalência no mês de outubro no município de Buriticupu/MA (REBELO *et al.*, 2001). Comportamento similar foi observado por Galati *et al.* (1996; 2003b) no Estado de Mato Grosso do Sul. Teodoro e colaboradores (2003) no município de Maringá/PR utilizaram armadilhas do tipo Falcão e Shannon para a coleta dos flebotomíneos e constataram que a maior prevalência desta espécie com a armadilha Shannon, ocorreu no mês de agosto, período de pouca chuva e baixas temperaturas e, para a armadilha do tipo Falcão os meses de março, abril e novembro, quando as temperaturas e a precipitações foram elevadas, a frequência foi maior; dados semelhantes aos encontrados por Massafra *et al.* (2005). Essas observações demonstram que a flutuação sazonal na frequência de indivíduos dessa espécie pode variar e deve ser considerada na elaboração de estratégias de controle das leishmanioses.

Em relação ao horário de atividade de *Ny. whitmani*, estudos relatam maior frequência no crepúsculo vespertino (Martin & Rebelo, 2006) com prevalência na primeira metade da noite, com pico entre 20h e 21h (MASSAFERA *et al.*, 2005) em acordo com o observado para a população dessa espécie no município de Corguinho, Estado de Mato Grosso do Sul, onde a atividade predominante foi das 17h as 21h (GALATI *et al.*, 1996). Horário de confluência com os humanos, que neste período saem no peridomicílio, expondo-se a possível picada dos flebotomíneos.

Distribuição Geográfica

Nyssomyia whitmani compõe a fauna flebotomínica de alguns países da América do Sul, tais como, Brasil, Guiana Francesa, Argentina, Paraguai e Peru (COSTA *et al.*, 2007; RAWLINS *et al.*, 2001; QUINTANA; FERNANDEZ; SALOMON, 2012; INCHAUSTI; HASHIGUCHI; ARIAS, 1990; HASHIGUCHI *et al.*, 1992; CACERES, 1993). No Brasil foi registrada em 720 municípios e está distribuída ao longo de 26 estados, com exceção de Santa Catarina; estando associada a uma variedade de biomas como florestas, cerrado e

caatinga. Os Estados de Roraima, Acre, Tocantins e Mato Grosso do Sul apresentam muitos municípios com relatos desta espécie (COSTA et al., 2007).

No Estado do Acre, município de Acrelândia, *Ny. whitmani* foi observada em peridomicílio, intradomicílio e regiões de bordas de mata (SILVA-NUNES et al., 2008) e considerada a espécie mais abundante nos municípios de Bujari e Rio Branco (AZEVEDO et al., 2008) assim como no Tocantins, foi a espécie mais encontrada no peridomicílio (ANDRADE-FILHO et al., 2001). Em Rondônia no município de Monte Negro, região predominantemente rural, a presença desse flebotomíneo também foi a mais frequente (TELES et al., 2013). Na região Nordeste os municípios de Baturité/CE, Ilhéus/BA, Dom Pedro/MA, Refrigério e Tranquilidade, ambos em Pernambuco e 35 municípios do Estado do Maranhão registraram a presença de *Ny. whitmani* (BRAZIL; MORTON & WARD, 1991; AZEVEDO et al., 1990; AZEVEDO et al., 1996; LEONARDO & REBELO, 2004; BRANDÃO-FILHO et al., 1994; REBELO et al., 2009). Essa espécie esteve presente entre as mais coletadas, principalmente em ambiente domiciliar (peridomicílio) nos municípios de Itupeva, região sudeste do Estado de São Paulo, Petrópolis no Rio de Janeiro, Alfenas e na capital Belo Horizonte/MG (Mayo et al., 1998; SOUZA et al., 2002; LOIOLA, SILVA & GALATI, 2007; SARAIVA et al., 2011).

Em Mato Grosso, *Ny. whitmani* foi registrada em 70 dos 84 municípios estudados por Missawa (2008). Em estudo realizado por Zeilhofer et al., (2008), também nesse Estado, foi verificado um maior número de indivíduos por armadilha por noite em áreas urbanizadas e regiões de agricultura intensa, demonstrando a expansão e domiciliação contínua desse inseto, concluindo que a distribuição espacial desta espécie está diretamente relacionada à taxas de desmatamento e inversamente com o desenvolvimento socioeconômico. No Distrito Federal, *Ny. whitmani* predominou em áreas rurais (CARVALHO et al., 2010); assim como no Estado de Mato Grosso do Sul, nas cidades de Corguinho, Bodoquena, Bela Vista, Antônio João e Dourados onde houve registros desta espécie em áreas de mata e caverna (GALATI et al., 1996, 2003a; 2003b; DORVAL et al., 2009; NASCIMENTO et al., 2007 e SANTOS 2010). Na área urbana de 19 municípios, dentre estes a capital do estado, Campo Grande, relataram esta espécie (OLIVEIRA et al., 2003; NUNES et al., 2008; ALMEIDA et al., 2010a,b).

Em relação à região Sul do país, o Estado do Paraná é o local onde está concentrado o maior número de casos de LTA desde 1990 (SINAN, 2012). Em estudo realizado nas 53 localidades de 19 municípios da mesorregião do Norte Pioneiro Paranaense, *Ny. whitmani* predominou em 27 delas, principalmente em pocilgas (22,3%), matas (13,9%) e galinheiros (11,8%) (TEODORO et al., 2010). Estes dados corroboram com os relatos de Massafera et al. (2005), no município de Bandeirantes, Norte do Paraná, que

capturaram 2.154 exemplares de *Ny. whitmani* de um total de 3.655 flebotomíneos, sendo que a maior parte deles em pocilga.

Considera-se que essa espécie pode apresentar caráter altamente antropofílico, uma vez que é frequentemente capturada no peridomicílio próximo a abrigos de animais e plantações de bananeiras (BRAZIL *et al.*, 1991; SOUZA *et al.*, 2001; 2002 e BARATA *et al.*, 2011).

Importância médica

Nas Américas, um grande número de espécies de flebotomíneos está relacionado à transmissão de *Leishmania* spp. responsáveis pelas diferentes formas clínicas da leishmaniose tegumentar americana (LTA), havendo uma grande associação específica entre vetor e patógeno (KILLICK KENDRICK, 1990). A LTA é uma enfermidade causada por várias espécies do protozoário da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e do gênero *Leishmania* (ROSS, 1903). A morbidade não é contagiosa, é de evolução crônica, podendo ocasionar lesões cutâneas, mucocutâneas e difusa (GONTIJO & CARVALHO, 2003).

No Brasil, a LTA está associada a seis espécies de *Leishmania* dos subgêneros *Viannia* e *Leishmania*. Sendo que a espécie *Leishmania (Viannia) braziliensis* tem se destacado por estar distribuída em todas as zonas endêmicas, do norte ao sul do país, geralmente relacionada à presença de animais domésticos (COSTA, 2005). Na transmissão de LTA estão envolvidas diferentes espécies de flebotomíneos, tais como: *Psychodopygus wellcomei*, *Migonemyia migonei*, *Ny. whitmani* e *Ny. intermedia* (RANGEL, 1995; RANGEL & LAINSON, 2003 e LAINSON & SHAW, 2005).

Na Amazônia, a infecção por *L. braziliensis* é encontrada em áreas de terra firme da selva, onde, somente *Psychodopygus wellcomei* era conhecido como vetor (COSTA, 2005). No entanto, estudo realizado no Maranhão demonstrou a capacidade da população de *Ny. whitmani* do município de Buriticupu de se infectar com o agente, indicando o seu provável papel como vetor na região (OLIVEIRA-PEREIRA, 2006).

A região Centro-Oeste ocupa o terceiro lugar no ranking nacional de casos registrados em 2010 (SINAN, 2012). Em Mato Grosso do Sul a LTA foi relatada em todos os municípios e a espécie *Ny. whitmani* tem sido encontrada em grande parte do estado (GALATI *et al.*, 1996 e ALMEIDA *et al.*, 2010a). Em Campo Grande, um espécime de *Ny. whitmani* coletado no peridomicílio foi encontrado naturalmente infectado por *Leishmania (Viannia) braziliensis* (PAIVA *et al.*, 2010), corroborando com dados descritos na Bahia, Ceará, Paraná e Minas Gerais onde esta espécie também foi relatada com flagelados de *L. braziliensis* (HOCH *et al.*, 1986; AZEVEDO *et al.*, 1990; LUZ *et al.*, 2000 e CARVALHO *et al.*, 2010), locais estes com elevado número de casos de LTA (SINAN, 2012). Acredita-se,

portanto, que *Ny. whitmani* esteja envolvida na transmissão de agentes da LTA sendo considerada um dos vetores mais importante dessa patologia em grande parte do Brasil.



Figura1a: Microfotografias das formas imaturas de *Ny. whitmani*. (40X). Ovos, Larva 1 (L1), Larva 2 (L2), Larva 3 (L3), Larva 4 (L4) e Pupa.



Figura 1b: Flebotomíneo adulto de *Nyssomyia whitmani* na mata remanescente do tipo Floresta Estacional Semidecidual (Fazenda Coqueiro, sentido Rodovia Dourados-Itahum). Fonte: Magda Fernandes.

Referências

- ADLER, S.; THEODOR, O. On the minutus group of the genus *Phlebotomus* in Palestine. **Bulletin of Entomological Research**, v.16, n.4, p. 399- 405, 1926.
- ALMEIDA, P. S.; MINZÃO, E. R.; MINZÃO, L. D.; DA SILVA, S. R.; FERREIRA, A. D.; FACCENDA, O.; ANDRADE FILHO, J. D. Ecological aspects of Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in the urban area of Ponta Porã municipality, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 6, p. 723-727, 2010a.
- ALMEIDA, P. S.; NASCIMENTO, J. C.; FERREIRA, A. D.; MINZÃO, L. D.; PORTES, F.; MIRANDA, A. M.; FACCENDA, O. E ANDRADE FILHO, J. D. Espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em municípios com transmissão de Leishmaniose Visceral do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, n. 2, p. 304–310, 2010b.
- ANDRADE-FILHO, J. D.; GALATI, E. A. B.; FALCAO, A. L. Biology of the first generation of a laboratory colony of *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 6, 2004.
- ANDRADE-FILHO, J. D.; VALENTE, M. B.; ANDRADE, W. A. DE, BRAZIL, R. P. & FALCÃO, A. L. Flebotomíneos do Estado de Tocantins, Brasil (Diptera: Psychodidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n.4, p. 323-329, 2001.
- ANTUNES, P. C. A.; COUTINHO, J. O. Notas sobre flebotomos sul-americanos. II. Descrição de *Flebotomus whitmani* n. sp. e da armadura bucal de algumas espécies. **Boletim biológico**, v. IV, n. 3, p. 448-453, 1939.
- ARIAS, J. R.; FREITAS, R. A.. On the vectors of cutaneous leishmaniasis in the Central Amazon of Brazil. 4. Sand fly emergence from a “terra firme” forest floor. **Acta Amazonica**, v. 12, n. 3 p. 609-611, 1982.
- ARTEMIEV, M. M. A classification of the subfamily Phlebotominae. **Parassitologia** 33 (suppl. 1), p. 69-77, 1991.
- AZEVEDO, A. C. R.; COSTA, S. M.; PINTO, M. C. G.; SOUZA, J. L.; CRUZ, H. C.; VIDAL, J. & RANGEL, E. F. Studies on the sandfly fauna (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from transmission areas of American Cutaneous Leishmaniasis in state of Acre, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.103, n. 8, p. 760-766, 2008.
- AZEVEDO, A. C. R.; RANGEL, E. F.; COSTA, E. M.; DAVID, J.; VASCONCELOS, A. W.; LOPES, U. G. Natural infection of *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) by *Leishmania* of Complex *braziliensis* in Baturité, Ceará State, Northeast Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 85, n. 2, p. 251, 1990.
- AZEVEDO, A. C.; VILELA, M. L.; SOUZA, N. A.; ANDRADE-COELHO, C. A.; BARBOSA, A. F.; FIRMO, A. L. & RANGEL, E. F. The sand fly fauna (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of a focus of cutaneous leishmaniasis in Ilhéus, state of Bahia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 1, p. 75-79, 1996.

BARATA, R. A. G. F. P.; BASTOS, M. C.; ANDRADE, R. C. O.; BARROS, D. C. M.; SILVA, F. O. L.; MICHALSKY, E. M.; PINHEIRO, A. C.; DIAS, E. S. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em Governador Valadares, área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana, no Estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 136-139, 2011.

BARRETTO, M. P. **Contribuição para o estudo da Biologia dos flebotomos em condições experimentais (Diptera, Psychodidae)**. Tese, 1942 - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BARRETTO, M. P. Novos subgêneros de *Lutzomyia* França, 1924 (Psychodidae, Subfamília Phlebotominae). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 4, n. 2, p. 91-100, 1962.

BARRETTO, M. P. Observações sobre a biologia do *Phlebotomus whitmani* Antunes e Coutinho, 1939 (Diptera, Psychodidae) em condições experimentais. **Papéis avulsos de zoologia**, v.1, n. 13, p.87-100, 1941.

BARRETTO, M. P. Uma questão de nomenclatura: *Phlebotomus* ou *Flebotomus*? **Fol Clin Biol**, v. 16, n. 2, p. 199-202, 1950.

BETTINI, S.; CONTINI, C.; ATZENI, M. C.; TOCCO, G. Leishmaniasis in Sardinia. I. Observations on a larval breeding site of *Phlebotomus perniciosus*, *Phlebotomus perfiliewi* and *Sergentomyia minuta* (Diptera: Psychodidae) in the canine leishmaniasis focus of Soleminis (Cagliari). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 80, n. 3, p. 307-315, 1986.

BRANDÃO-FILHO, S. P.; CARVALHO, F. G. DE; BRITO, M. E. F. DE; ALMEIDA, F. A.; NASCIMENTO, L. A. American cutaneous leishmaniasis in Pernambuco, Brazil: eco-epidemiological aspects in "Zona da Mata" region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 3, p. 445-449, 1994.

BRASIL. Ministério da saúde. Casos de Leishmaniose Tegumentar Americana, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas, 1990 a 2011. Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, 2012. Sinan/SVS/MS - Acessado: 09 de Novembro de 2013 http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2012_11_casos_de_lta_entre_1990_e_2011.pdf

BRAZIL R. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotomíneos Neotropicais. In: RANGEL, E. F.; LAINSON R. (Org.). **Flebotomíneos do Brasil**, Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. p. 257-270, 2003.

BRAZIL, R. P.; CARNEIRO, V. L.; ANDRADE FILHO, J. D.; ALVES, JEANE C. M.; FALCÃO, A. L. Biology of *Lutzomyia lenti* (Mangabeira) (Diptera: Psychodidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 1, p. 191-193, 1997.

BRAZIL, R. P.; MORTON, E.; WARD, R. D. Notes of the feeding habits of *Lutzomyia* (*Nyssomyia whitmani*) (Diptera Psychodidae) in Ceara state, northeast Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, n.4, p. 497-498, 1991.

CACERES, A. L. Distribution geográfica de *Lutzomyia verrucarum* (Townsend 1913) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae), vector de la bartonellosis humana en el Peru. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 35, p. 485-490, 1993.

CARVALHO, G. M. L; BRAZIL, R. P.; SARAIVA, L.; QUARESMA, P. F.; BOTELHO, H. A.; RAMOS, M. C. D. N. F.; ZENÓBIO, A. P. L; MEIRA, P. C. L. S. SANGUINETTE, C. C.;

ANDRADE FILHO, J. D. Hourly Activity and Natural Infection of Sandflies (Diptera: Psychodidae) Captured from the Aphotic Zone of a Cave, Minas Gerais State, Brazil. **PloS one**, n. 7, v. 12, 2012.

CARVALHO, M. S. L.; BREDT, A.; MENEGHIN, E. R. S.; OLIVEIRA, C. Phlebotominae fauna (Diptera: Psychodidae) in areas of transmission of american cutaneous leishmaniasis in the Federal District, Brazil, from 2006 to 2008. **Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 19, n. 3, p. 227-237, 2010.

CASANOVA, C. A Soil Emergence Trap for Collections of Phlebotomine Sand Flies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 2, p. 273-275, 2001.

CASANOVA, C.; COSTA, A. I. P.; NATAL, D. Dispersal pattern of the sand fly *Lutzomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis endemic rural area in Southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 7, p. 719-724, 2005.

CHANIOTIS, B. N.; CORREA, M. A.; TESH, R. B.; JOHNSON, K. M. Horizontal and vertical movements of phlebotomine sandflies in a Panamanian rain forest. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 2, n. 3, p. 369-375, 1974.

COQUILLET, D. W. Discovery of blood-sucking Psychodidae in America. **Entomological News**, v.18, p.101–102, 1907.

COSTA, J. M. L. Epidemiology of the Leishmaniasis in Brazil. **Gazeta Médica da Bahia**. v. 75, n. 1, p. 3-17, 2005.

COSTA, S. M.; CECHINEL M.; BANDEIRA, V.; ZANNUNCIO, J. C.; LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* s.l. (Antunes & Coutinho, 1939) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): geographical distribution and the epidemiology of American cutaneous leishmaniasis in Brazil – Mini-review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 2, p. 149-153, 2007.

DIAS, F. O. P.; LOROSA, E. S.; REBELO, J. M. M. Fonte alimentar sangüínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). **Caderno de Saúde Pública**, v. 19, p. 1373-1380, 2003.

DIAS-SVERSUTTI, A. C.; SCODRO, R. B. L.; REINHOLD-CASTRO, K. R.; NEITZKE, H. C.; TEODORO, U. Estudo preliminar da preferência alimentar de *Nyssomyia neivai* (Pinto) e *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho) (Diptera: Psychodidae) em área rural do Paraná. **Neotropical Entomology**, v. 36, p. 953-959, 2007.

DORVAL, M. E. C.; CRISTALDO, G.; DA ROCHA, H. C. S.; ALVES, T. P.; ALVES, M. A.; OSHIRO, E. T.; OLIVEIRA, A. G., BRAZIL, R. P.; GALATI, E. A. B.; CUNHA, R. V. Phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae) of an American cutaneous leishmaniasis endemic area in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 5, p. 695-702, 2009.

FELICIANGELI, M. D. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, p. 71-80, 2004.

FORTELES, R. S. **Estudo do ciclo de vida, fonte alimentar e capacidade vetorial de *Lutzomyia whitmani* no Maranhão, Brasil**. 69f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e conservação) - Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, Maranhão, 2009a.

FONTELES, R. S.; VASCONCELOS, G. C. E.; AZEVÊDO, P.; CASTELO, B.; LOPES, G. N.; MORAES, J. L. P.; LOROSA, E. S.; KUPPINGER, O.; REBÊLO, J. M. M. Blood feeding preference of *Lutzomyia whitmani* (Diptera, Psychodidae) in a transmission area for American cutaneous leishmaniasis in the State of Maranhão, Brazil **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 6, p. 647-650, 2009b.

FORATTINI, O. P. Subfamília Phlebotominae - Biologia In: FORATTINI, O. P. **Entomologia Médica**. São Paulo: Edgar Blücher Ltda. v. 4, 1973, p.120–197.

FRANÇA, C. Notes de zoologie médicale. Observations sur le genre *Phlebotomus*. **Revista Broteria, Série Zoológica**, v. 17, p. 102-160, 1919.

FRANÇA, C. Notes parasitologiques. **Jornal de ciencias mathematicas, physicas, e naturais**, v. 5, n. 17, p.15-24, 1924.

FRANÇA, C. Observations sur le genre Phlebotomus. II. Phébotomes du Nouveau Monde (Phlébotomus du Brésil et du Paraguay). **Bulletin de la Société Portugaise des Sciences Naturelles**, v. 8, p. 215-236, 1920.

GALATI E. A. B. Morfologia e Taxonomia. In: EF RANGEL & R LAINSON. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2003, p. 23- 175.

GALATI E. A. B. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) Classificação, morfologia, terminologia, e identificação de adultos. **Apostila Bioecologia e Identificação de Phlebotominae**. São Paulo. Departamento de Epidemiologia. Faculdade de Saúde Pública/USP. p. 8-25. 2013.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; BOGGIANI, P. C.; DORVAL, M. E. C.; CRISTALDO G.; ROCHA, H. C.; OSHIRO, E. T.; ANDRADE, R. M. G.; NAUFEL, G. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in caves of the Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, p. 283-296. 2003a.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; CRISTALDO, G. Ecology of phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in a visceral and cutaneous leishmaniosis focus in the Serra da Bodoquena and in na adjacent área of the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista de Patologia tropical**. v. 32, n. 2, p. 235-261, 2003b.

GALATI, E. A. B.; NUNES, V. L. B.; DORVAL M. E. C.; OSHIRO, E. T.; CRISTALDO, G.; CRISTALDO, M. A. E., DA ROCHA, H. C.; GARCIA, W. B. Study of the phlebotomines (Diptera, Psychodidae), in area of cutaneous leishmaniasis in the Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 30, n. 2, p. 115-28, 1996.

GALATI, E.A.B. Phylogenetic systematics of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) with emphasis on American groups. **Boletín De La Dirección De Malariología. Y Saneamiento Ambiental**, v. 35, n. 1, p. 133-142, 1995.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. L. R. American cutaneous leishmaniasis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, p. 71-80, 2003.

GONZÁLES, C.; MAGUIÑA, C.; HERAS, M, F.; CONDE-SALAZAR, G. L, Bartonellosis (fiebre de la Oroya o verruga peruana) Enfermedad ocupacional? **Medicina y Seguridad del Trabajo** v. 53, n. 209 p.35-41, 2007.

HAMBUCH, T. M., HANDLEY, S. A., ELLIS, B., CHAMBERLIN, J., ROMERO, S., & REGNERY, R. Population genetic analysis of Bartonella bacilliformis isolates from areas of

Peru where Carrion's disease is endemic and epidemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 8, p. 3675-3680, 2004.

HASHIGUCHI, Y.; CHILLER, T.; INCHAUSTI, A.; DE ARIAS, A.; KAWABATA, M.; ALEXANDER, J. B. Phlebotomine sandfly species in Paraguay and their infection with Leishmania. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 86, n. 2, p. 175-180, 1992.

HOCH, A.; RYAN, L.; VEXENAT, J. A.; ROSA, A. C.; BARRETTO, A. C., Isolation of *Leishmania braziliensis braziliensis* and other trypanosomatids from phlebotomines in a mucocutaneous leishmaniasis endemic area Bahia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, suplemento 63, 1986.

INCHAUSTI, A.; HASHIGUCHI, Y.; ARIAS, A. Phlebotomes of Paraguay species identification in 3 endemic areas: dipterid, Psychodidae and Phlebotominae. **Annual reports: proceedings of research on Chagas' disease and other infectious diseases. s.I. EFACIM**, p. 33-128, 1990.

KILLICK-KENDRICK, R. Biology of phlebotomine sandflies: key factor in the transmission of the leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 19, n. 1, 1991.

KILLICK-KENDRICK, R. Phlebotomine vectors of the Leishmaniasis: a review. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 4, n. 1 p. 24, 1990.

LAINSON, R. Ecological Interactions in the Transmission of the Leishmaniasis. **Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences**, v. 321, n. 1207, p. 389-404, 1988.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. New World Leishmaniasis. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. **Parasitology**, 10th ed., London, p. 313-349, 2005.

LATREILLE, P. A. Classe septieme dipteres. In: P. A. LATREILLE. **Précis des caractères génériques des insectes disposés dans un ordre naturel**, 201 p. Paris 1797.

LEONARDO, F. S.; REBELO, J. M. M. A periurbanização de *Lutzomyia whitmani* em área de foco de leishmaniose cutânea, no Estado do Maranhão, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 37, n. 3, p. 282-284, 2004.

LEWIS, D. J.; YOUNG, D. G.; FAIRCHILD, G. B.; MINTER, D. M. Proposals for a stable classification of the phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). **Systematic Entomology**, v. 2, p. 319-332, 1977.

LIMA, A. Sobre os phlebotomos americanos (Diptera: Psychodidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n. 26, v. 1, p. 15-69, 1932.

LOIOLA, C. F.; SILVA, D. A. DA; GALATI, E. A. B. Phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae) and species abundance in an endemic area of American cutaneous leishmaniasis in southeastern Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 5, p. 581-585, 2007.

LUTZ, A.; NEIVA, A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 4, n. 1, p. 84-95, 1912.

LUZ, E.; MEMBRIVE, N.; CASTRO, E. A.; DEREURE, J.; PRATLONG, F.; DEDET, J. A.; PANDEY, A.; THOMAZ-SOCCOL, V. *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as vector

of *Leishmania (V.) braziliensis* in Paraná state, southern Brazil. **Annals of tropical medicine and parasitology**, v. 94, p. 623-631, 2000.

MARCONDES, C. B. Flebotomíneos: In: MARCONDES, C. B. **Entomologia médica e veterinária**. São Paulo: Editora Atheneu, 2001a. cap. 3 p. 13-30.

MARCONDES, C. B. O descuido com a taxonomia pode desvalorizar um trabalho científico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.6, p.599-600, 2001b.

MARGONARI, C. S.; FORTES-DIAS C. L.; DIAS, E. S. Genetic Variability in Geographical Populations of *Lutzomyia whitmani* Elucidated by RAPD-PCR **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 2, p. 187-192, 2004.

MARTIN, A. M. C. B.; REBELO, J. M. M. Dinâmica espaço-temporal de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) do município de Santa Quitéria, área de cerrado do estado do Maranhão, Brasil. **Iheringia, Série Zoológica**, v. 96, n. 3. p. 283-288, 2006.

MARTINS, A. V.; WILLIAMS, P.; FALCÃO, A. L. **American sand flies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae)**, Academia Brasileira de Ciência, Rio de Janeiro, p. 195, 1978.

MASSAFERA, R.; SILVA, A. M.; CARVALHO, A. P.; SANTOS, D. R.; GALATI, E. A. B.; TEODORO, U. Phlebotomine sandflies of Southern Brazil. **Revista de Saúde Pública**. v. 39, n. 4, p. 7- 571, 2005.

MAYO, R. C.; CASANOVA, C.; MASCARINI, L. M.; PIGNATTI, M. G.; RANGEL, O.; GALATI, E. A. B.; WANDERLEY, D. M. V.; CORRÊA, F. M. D. A. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de área de transmissão de leishmaniose tegumentar americana, no município de Itupeva, região sudeste do estado de São Paulo, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 4, p. 339-345,1998 .

MORRISON, A. C.; FERRO, C.; MORALES, A.; TESH, R.; WILSON, M. L. Dispersal of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. **Journal of Medical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 427-35, 1993.

MUNIZ, L.H.G., ROSSI, R. M., NEITZKE, H. C., MONTEIRO, M.W., TEODORO, U. Estudo dos hábitos alimentares de flebotomíneos em área rural no sul do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, n. 6, p. 1087–1093, 2006.

NASCIMENTO, J. C. B. R. P.; MALAFRONTA, R. S.; FERNANDES, W. D.; GALATI, E. A. B. Natural infection of phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in a visceral-leishmaniasis focus in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina tropical de São Paulo**, v. 49, n. 2, 2007.

NUNES, V. L. B.; GALATI, E. A. B.; CARDOZO, C.; ROCCA, M. E. G.; ANDRADE, A. R. O.; SANTOS, M. F. C.; AQUINO, R. B.; ROSA, D. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área urbana do município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, n. 3, p. 446-451, 2008.

OLIVEIRA A. G.; ANDRADE FILHO, J. D.; FALCÃO, A. L.; BRAZIL, R. P. Study of sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul State, Brazil, from 1999 to 2000. **Caderno de Saúde Pública**, v. 19, n. 4, p. 933-944, 2003.

OLIVEIRA, A. G.; MARASSÁ, A. M.; CONSALES, C. A.; DORVAL, M. E. C.; FERNANDES, C. E.; OLIVEIRA, G. R. D.; BRAZIL, R. P.; GALATI, E. A. B. Observations on the feeding habits of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Campo Grande, an endemic area of visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Tropica**, v. 107, n. 3, p. 238–241, 2008.

OLIVEIRA, E. F.; SILVA, E. A., CASARIL, A. E.; FERNANDES, C. E. S., PARANHOS FILHO, A. C.; GAMARRA, R. M.; RIBEIRO, A. A.; BRAZIL, R. P.; OLIVEIRA, A. G. Behavioral Aspects of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Urban Area Endemic for Visceral Leishmaniasis. **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 2, p. 277-284, 2013

OLIVEIRA-PEREIRA, Y. N.; MORAES, J. L. P.; LOROSA, E. L.; RÊBELO, J. M. M. Preferência alimentar sanguínea de flebotomíneos da Amazônia do Maranhão, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 24, n. 9, p. 2183-2186, 2008.

OLIVEIRA-PEREIRA, Y. N.; REBELO, J. M. M.; MORAES, J. L. P.; PEREIRA, S. R. F. Molecular diagnosis of the natural infection rate due to *Leishmania* sp in sandflies (Psychodidae, *Lutzomyia*) in the Amazon region of Maranhão, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 39, n. 6, p. 540-543, 2006.

PAIVA, B. R.; OLIVEIRA, A. G.; DORVAL, M. E. M. C; GALATI, E. A. B.; MALAFRONTTE, R. S. Species-specific identification of *Leishmania* in naturally infected sand flies captured in Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Acta Tropica**, v. 115, p. 126–130, 2010.

PINHEIRO, F. P. Situação das arboviroses na região amazônica. **Revista da Fundação Serviços de Saúde Pública**, v. 15, n. 2, p. 37 -58, 1980.

QUINTANA, M. G.; FERNÁNDEZ, M. S.; SALOMÓN, O. D. Distribution and abundance of phlebotominae, vectors of leishmaniasis, in Argentina: spatial and temporal analysis at different scales. **Journal of Tropical Medicine**. 16 p. 2012.

RANGEL, E. F. Epidemiology of American Cutaneous Leishmaniasis in Brazil. **Tropical Diseases, Society and the Environment**, p. 103-110, 1995.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Ecologia das leishmanioses: transmissores de leishmaniose tegumentar americana. In: EF Rangel, R Lainson (Org.).. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 2003. p. 291-310.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 104, n. 7. p. 937-954, 2009.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R.; SOUZA, A. A.; READY, P.; AZEVEDO, A. C. R. Variation between geographical populations of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) sensu lato (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 1, p. 43-50, 1996.

RANGEL, E. F.; SOUZA, N. A.; WERMELINGER, E. D.; BARBOSA, A. F. Biology of *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae) in experimental conditions. II. Influence of environmental factors on the behaviour of immature stages and adults. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, n. 3, p. 385-394, 1987.

RAWLINS S. C.; TIWARI T.; CHADEE D. D.; VALIDUM L.; ALEXANDER H.; NAZEER R.; RAWLINS S. R. S. American cutaneous leishmaniasis in Guyana, South America. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 95, n. 3, p. 245-251, 2001.

READY, P. D.; de SOUZA, A. A.; REBELO, J. M. M.; DAY, J. C.; SILVEIRA F. T.; CAMPBELL-LENDUM, D.; DAVIES, C. R.; COSTA, J. M. L. Phylogenetic species and domesticity of *Lutzomyia whitmani* at the south-east boundary of Amazonian Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, v. 87, p. 187-195, 1998.

REBELO, J. M. M. **Flebótomos vetores das leishmanioses**: Manual para técnicos e profissionais de saúde. São Luis: Universidade Federal do Maranhão/Ministério da Saúde; 1999.

REBELO, J. M. M.; LEONARDO, F. S.; COSTA, J. M. L.; PEREIRA, Y. N. O.; SILVA, F. S. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área endêmica de leishmaniose da região dos cerrados, Estado do Maranhão, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 15, n. 3, p. 623-630, 1999.

REBELO, J. M. M.; OLIVEIRA, S. T.; SILVA, F. S. Flutuação sazonal dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área de colonização recente do município de Buriticupu, Amazônia maranhense, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 45, n.1, p.11-16. 2001.

REBELO, J. M. M.; ROCHA, R. V.; MORAES, J. L. P.; ALVES, G. A.; LEONARDO, F. S. Distribuição de *Lutzomyia whitmani* em fitorregiões do estado do Maranhão, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 6, p. 1070-1074, 2009.

RISPAIL, P.; LÉGER, N. Numerical Taxonomy of Old World Phlebotominae (Diptera: Psychodidae): 2. Restatement of Classification upon Subgeneric Morphological Characters. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 6, p. 787-793, 1998.

RONDANI, C. Sopra una Specie di Insetto Dittem. **Memoria prima per servire alla ditterologia italiana**, n.1, p.1-16, 1840.

ROSS R. Further Notes on Leishmania's bodies. **British Medical Journal**, v. 2, n. 2239, p.1401, 1903.

SAMPAIO, R. N. R.; GONÇALVES, M. D. C.; LEITE, V. A.; FRANÇA, B. V.; SANTOS, G. M. D.; CARVALHO, M. S.; TAUIL, P. L. Estudo da transmissão da leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 6, p. 686-690, 2009.

SANTOS, K. M. **Biodiversidade de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) na aldeia indígena Jaguapiru, Dourados, Mato Grosso do Sul, 2008 – 2009: Implicações epidemiológicas**. 2010. 85 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2010.

SARAIVA, L.; ANDRADE FILHO, J. D.; FALCÃO, A. L.; DE CARVALHO, D. A. A.; DE SOUZA, C. M.; FREITAS, C. R.; LOPES, C. R. G.; MORENO, E. C.; MELO, M. N. Phlebotominae fauna (Diptera: Psychodidae) in an urban district of Belo Horizonte, Brazil, endemic for visceral leishmaniasis: characterization of favored locations as determined by spatial analysis. **Acta tropica**, v. 117, n. 2, p.137-145, 2011.

SCOPOLI, I. A. **Deliciae florae et faunae insubricae, seu novae, aut minus cognitae species plantarum et animalium quas** In: Insubrica austriaca tam spontaneas, quam exoticas vidit. v. 2, 87 pp. 1786.

SHIMABUKURU, P. H. F.; GALATI E. A. B, Lista de espécies de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. **Biota Neotropical**, v. 11, n. 1a, p. 1-20, 2011.

SILVA-NUNES, M. DA; CAVASINI, C. E.; SILVA, N. S. DA; GALATI, E. A. B. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar e descrição das populações de flebotomíneos no município de Acrelândia, Acre, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v.11, n. 2, p. 241-251, 2008.

SOUZA, N. A.; ANDRADE-COELHO, C. A.; VILELA M. L.; PEIXOTO, A. A.; RANGEL, E. F. Seasonality of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), Occurring Sympatrically in Area of Cutaneous Leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 6, p. 759-765, 2002.

SOUZA, N. A.; ANDRADE-COELHO, C. A.; VILELA, M. L.; RANGEL, E. F. The Phlebotominae Sand Fly (Diptera: Psychodidae) Fauna of Two Atlantic Rain Forest Reserves in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 3, p. 319-324, 2001.

TELES, C. B. G.; BASANO, S. A.; ZAGONEL-OLIVEIRA, M.; CAMPOS, J. J.; OLIVEIRA, A. F. J. DE; FREITAS, R. A. DE; MEDEIROS, J. F.; PESSOA, F. A. C.; BARRAL, A.; CAMARGO, L. M. A. Epidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis and phlebotomine sandfly population, in the municipality of Monte Negro, State of Rondônia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 1, p. 60-66, 2013.

TEODORO, U.; ALBERTON, D.; KÜHL, J. B.; DOS SANTOS, E. S.; DOS, SANTOS, D. R.; DOS SANTOS, A. R. Ecologia de *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* em área urbana do município de Maringá, Paraná. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 5, p. 651-656, 2003.

TEODORO, U.; LONARDONI, M. V. C.; SILVEIRA, T. G. V.; DIAS, A. DE C.; ABBAS, M.; ALBERTON D.; SANTOS, D. R. DOS. Luz e galinhas como fatores de atração de *Nyssomyia whitmani* em ambiente rural, Paraná, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 3, p. 383-388, 2007.

TEODORO, U.; KÜHL, J. B.; RODRIGUES, M.; SANTOS, E. S.; SANTOS, D. R.; MARÓSTICA, L. M. F. Flebotomíneos coletados em matas remanescentes e abrigos de animais silvestres de zoológico no perímetro urbano de Maringá, Sul do Brasil: estudo preliminar. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 6, p. 517-522, 1998.

TEODORO, U.; SANTOS, D. R.; SILVA, A. M.; MASSAFERA, R.; IMAZU, L. E.; MONTEIRO, W. M.; NEITZKE-ABREU, H. C. Fauna de flebotomíneos em municípios do Norte Pioneiro do Estado do Paraná, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 39, n. 4, p. 322-330, 2010.

TESH, R. B. The genus *Phlebovirus* and its vectors. **Annual Review of Entomology**, v. 33, p.169–181, 1988.

THEODOR, O. On the classification of American Phlebotominae. **Journal of Medical Entomology**, v. 2, n. 2 ,p. 171-197, 1965.

VELO, E.; PAPARISTO, A.; BONGIORNO, G.; MUCCIO, T.; KHOURY, C.; BINO, S.; GRAMICCIA, M. Sandflies in central and northern Albania. **Parasite**, v. 12, n.1 p. 45-49, 2005.

YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. **Guide to the Identification and Geographic Distribution of *Lutzomyia* Sand Flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae)**. n. 54. Florida: Memoirs of the American Entomological Institute, 1994.

ZEILHOFER, P.; KUMMER, O. P.; SANTOS, E. S.; RIBEIRO, A. L. M.; MISSAWA, N. A. Spatial modelling of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* s.l. (Antunes & Coutinho, 1939) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) habitat suitability in the state of Mato Grosso, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 7, p. 653-660, 2008.

Biologia dos imaturos *Nyssomyia whitmani*

Aspectos da biologia das formas imaturas de *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) em condições de laboratório.

Letícia Moraes Ribeiro¹, Elisa Teruya Oshiro², Magda Freitas Fernandes³, Daiana Alovisi¹, Reginaldo Peçanha Brazil⁴, Alessandra Gutierrez de Oliveira^{1,2}

1. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS. 2. Laboratório de Parasitologia Humana, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS. 3. Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS. 4. Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos, Depto. de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, RJ

Endereço: Dra. Alessandra Gutierrez de Oliveira. Lab. Parasitologia Humana/CCBS/UFMS. Cidade Universitária s/n, 79070-900 Campo Grande, MS, Brasil.

Telefone: 55 67 3345-7390. E-mail: alessandra.oliveira@ufms.br

Resumo

A espécie *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho 1939) tem sido apontada como um complexo de espécies crípticas, com algumas de suas populações incriminadas na transmissão de *Leishmania* spp. (Ross 1903) no Brasil. Neste trabalho foram relatadas aspectos da biologia relativos à da produtividade dos ovos e do tempo de desenvolvimento dos descendentes de 944 fêmeas procedentes de

Dourados no Estado de Mato Grosso do Sul. As fêmeas foram capturadas com aspirador elétrico modificado, e alimentadas em hamsters e posteriormente individualizadas em potes para criação. A temperatura e a umidade relativa do ar média foram mantidas a 24,5°C e 67,3%, respectivamente. Dos 3737 ovos, 748 (20,0%) evoluíram para o estágio de larvas e 93 (12,4%) destas chegaram à fase adulta. O ciclo de vida foi de 80,1 dias, sendo último instar larval o mais longo, provavelmente em função da diapausa que esta espécie apresenta. Com a introdução de uma dieta mais rica em proteína pode-se observar um aumento expressivo no desenvolvimento das larvas.

Palavras-chaves: *Nyssomyia whitmani*, flebotomíneos, biologia, imaturos.

Fonte de financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior/ CAPES

Introdução

Nyssomyia whitmani é incriminado vetor da *Leishmania (Viannia) braziliensis* nas regiões Nordeste, Sudeste e Central e na região Norte da *Leishmania (V.) shawi* (Costa et al., 2007)

Em 1939, Antunes e Coutinho descreveram a espécie *Ny. whitmani*, na época denominaram de *Phlebotomus whitmani*. A nova espécie foi descrita a partir de estudos realizados com espécimes machos e fêmeas capturados em Ilhéus, estado da Bahia/BA.

Ny. whitmani foi registrada em 720 municípios brasileiros e está distribuída ao longo de 26 estados, com exceção de Santa Catarina (Membrive et al. 2004, Teodoro et al. 2006, Fonteles 2007, Queiroz et al. 1994). Em Mato Grosso do Sul foi registrada em vários municípios (Almeida et al. 2010a 2010b; Braga-Miranda et al. 2006, Galati et al. 1996, Galati et al. 2006, Nascimento et al. 2007, Nunes et al. 2008, Oliveira et al. 2003, Oliveira et al. 2006). Essa espécie foi encontrada

naturalmente infectada com *Leishmania (Viannia) braziliensis* em alguns estados, tais como no Ceará, Maranhão, São Paulo, Paraná, Mato Grosso do Sul (Azevedo et al. 1990, Queiroz et al. 1994, Oliveira-Pereira et al. 2006, Pessoa & Coutinho 1941; Luz et al. 2000, Paiva et al. 2010, Santos et al. 2010) sendo assim, incriminada como provável vetor desse parasito nos locais estudados.

As primeiras informações sobre o seu ciclo de vida foram obtidas por Barreto em (1943) a partir de espécimes procedentes da região Sudeste do Brasil. Entretanto ainda hoje se fazem necessários mais estudos sobre a dinâmica populacional e a biologia dos estágios imaturos deste flebotomíneos, pois são informações importantes para compreender o padrão de abundância desse inseto e a relação com o meio ambiente.

Devido à dificuldade em encontrar seus criadouros naturais, ainda são escassos os relatos na literatura sobre as formas imaturas (larva e pupa) bem como o período desses estágios. Assim, o objetivo deste estudo foi obter informações sobre postura e o ciclo de vida compreendendo as fases de ovo, larvas e pupa da espécie em questão de modo a auxiliar no entendimento da ecologia da espécie.

Material e Métodos

Adultos de flebotomíneos foram capturados em oito coletas entre os anos de 2012 e 2013 das 18:00h às 21:00h com aspirador elétrico acoplado a uma bateria de 6V, em um galinheiro localizado na Fazenda Coqueiro, município de Dourados/MS, Rodovia MS162, Km 10 Dourados-Ithaum, nas coordenadas geográficas 22° 12'S e 54° 54'W. Os espécimes capturados foram transportados em armações de ferro 25 cm³ com gaiola de tecido voal acoplada, dentro de caixa de isopor forrada com

gesso e pano umedecido com água até o insetário do Laboratório de Parasitologia Humana da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul/UFMS, em Campo Grande/MS, segundo a metodologia de Rangel et al. (1985, 1986).

Pedaços de maçã foram colocados no interior da gaiola para alimentação das fêmeas e dos machos até a chegada ao laboratório e, ao entardecer, um hamster (*Mesocricetus auratus*) sadio, previamente anestesiado via intramuscular (Ketamina 75 mg/kg e Xilazina 10mg/kg IM na proporção 2:1) foi introduzido na gaiola para as fêmeas realizarem o repasto sanguíneo. Após 48h, as fêmeas foram individualizadas em pote plástico de 2,5 cm de diâmetro e 3,5 cm de altura, tendo uma camada de gesso com 0,5 cm de gesso na base e tampado com tecido voal. Em cima do tecido era colocada mel sem diluir.

Os potes foram mantidos em caixa de plástico (34,0 cm x 24,5 cm x 9,0 cm) com tampa e papel filtro na base, ou em caixas de isopor (31,0 cm x 20,0cm x 22,0 cm) com gesso nas paredes e na base a fim de conservar a umidade do microambiente e a temperatura. Esses parâmetros foram controlados com auxílio do termo-higrômetro digital sob temperatura média de 24,5^o e umidade relativa do ar de 67,3%. Após à morte, as fêmeas foram dissecadas para a identificação da espécie, através da observação em microscópio óptico, dos aspectos morfológicos das espermatecas (Galati 2003). Uma vez identificada as fêmeas de *Ny. whitmani*, os seus ovos foram agrupados, contados e transferidos com pincéis de ponta fina para placas de Petri (com 8,5 cm diâmetro e 1,5 cm de altura), forradas com uma camada de gesso de 0,5 cm na base (Rangel et al. 1985). Em seguida adicionou-se terra coletada no galinheiro, onde foram capturados os espécimes. Após a eclosão das larvas fígado liofilizado (OXOID – fígado fresco desidratado) foi introduzido para

alimentação das mesmas. Foram feitas observações diárias até a emergência dos alados.

As larvas em todos os estádios (L1, L2, L3 e L4) e as pupas foram contadas. A eclosão das larvas e as ecdises foram anotadas para a verificação do ciclo biológico desta espécie.

Para a estimativa da duração do ciclo de vida de *Ny. whitmani* como período de incubação, duração dos estádios larvais e do período pupal até a emergência dos adultos foram calculados: duração mínima (tempo mínimo em dias consecutivos entre a observação do primeiro indivíduo do período larval até a observação do primeiro indivíduo do segundo estágio e assim sucessivamente; duração máxima (tempo em dias consecutivos entre o primeiro indivíduo do estágio até a observação do último indivíduo do mesmo estágio em questão), média e mediana.

Ética

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Uso Animal da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul sob o protocolo nº CEUA 442/2012. Além disso o grupo de estudo possui Licença permanente para coleta de material zoológico emitido pelo IBAMA (25952-1).

Resultados

Das 944 fêmeas individualizadas foram obtidos 3.737 ovos, oriundos da oviposição de 165 fêmeas. Os tempos mínimo e máximo de desenvolvimento das formas imaturas foram de 54,3e 106,9 dias, respectivamente.

Do total de fêmeas alimentadas, 17,48% ovipuseram, com o menor percentual ocorrendo na segunda coleta (5,3%) e o maior na sétima (52,7%). O número médio de ovos por fêmea foi de 6,1 (Tabela I). Os ovos eram elípticos de tonalidade escura, postos isoladamente ou em pequenos aglomerados, com período médio de incubação de 9,45 dias e mediana de 12 dias. Ao eclodir, as larvas de primeiro estágio (L1) apresentavam um par de cerdas na porção final do abdômen e coloração esbranquiçada no corpo e na cabeça, tornando-se a porção cefálica mais escura após algumas horas. Nessa fase, que durou no mínimo de 7,0 e máximo de 11,2 com mediana de 5 dias (Tabela II).

As larvas L2 apresentavam dois pares de cerdas caudais e se alimentavam com mais avidéz da terra do galinheiro colocada nos potes do que as larvas L1. O tempo mínimo e máximo foi de 5,0 e 9,4 dias, respectivamente (mediana de 7 dias) (Tabela II).

As larvas de terceiro estágio tornaram-se maiores e mantiveram a presença de dois pares de cerdas caudais. Nesse estágio a duração mínima foi de 6,1 dias e a máxima de 18,0 dias com mediana de 10 dias (Tabela II).

O quarto e último estágio larval (L4) caracterizou-se pela presença de uma mancha no último tergito. Foi o período mais longo entre as formas imaturas com mediana de 21 dias (intervalo 16,1 – 29,8), após esse longo período, as larvas sofreram a última ecdise. No início do estágio pupal, apresentaram coloração amarelada e olhos castanho claros e à medida que se aproximava o término desta fase, a coloração do corpo se modificava para um tom enegrecido até a emergência dos adultos. Esse período apresentou um intervalo entre mínima de 10,7 dias e máxima de 22,7 dias com mediana de 28 dias. O ciclo biológico foi em média de

80,1 dias e mediana de 83 dias (Tabela II). Não houve diferença entre machos e fêmeas emergidos.

Tabela I. Análise das fêmeas coletadas, total de fêmeas que ovipuseram, total de ovos postos, total de larvas eclodidas, total de adultos emergidos e média da temperatura (°C) e umidade relativa do ar (UR%) em relação aos oito períodos de coleta entre os anos de 2012 e 2013.

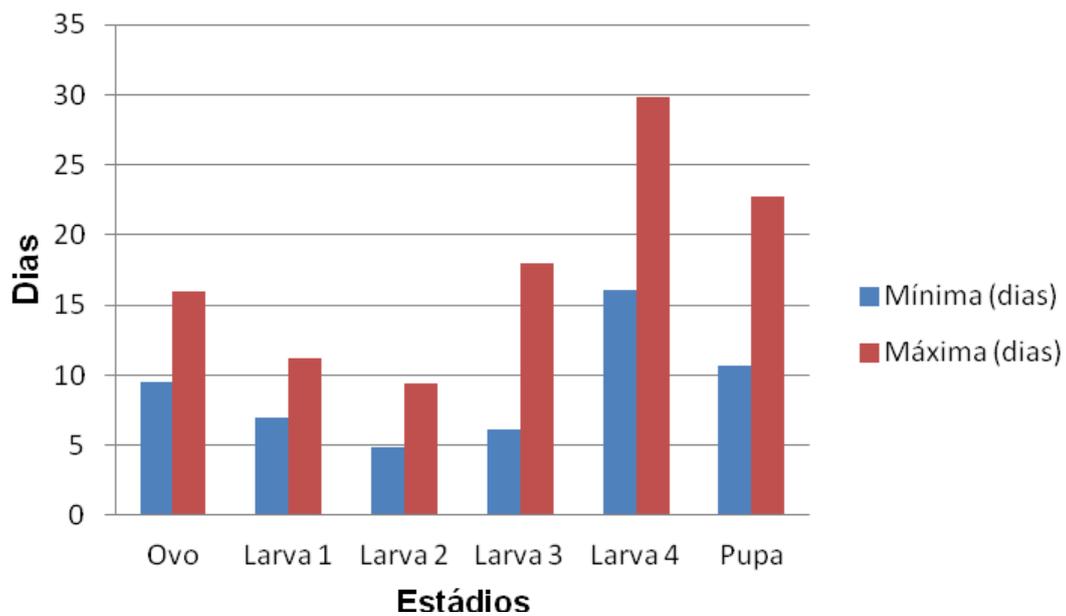
Coleta mês/ano (2012 - 2013)	Fêmeas	Fêmeas que ovipuseram (%)	Nº Ovos (ovos/fêmea)	Larvas (%)	Adultos (%)	Temp.(°C) e Umidade (UR%)
Coleta 1	215	13 (6,0)	390 (30)	52 (13,3)	0	24,7° / 63,9%
Coleta 2	151	8 (5,3)	324 (40,5)	104 (32,1)	0	25,6° / 65,7%
Coleta 3	187	18 (9,6)	448 (25)	102 (22,7)	0	25,4° / 64%
Coleta 4	10	4 (40,0)	84 (21)	6 (7,1)	0	24,2° / 63%
Coleta 5	90	6 (6,7)	86 (14,3)	0	0	23,9° / 68,3%
• Coleta 6	5	5 (100,0)	88 (17,6)	41 (46,6)	13 (31,7)	23,7° / 71,7%
Coleta 7	148	78 (52,7)	1640 (21,0)	431 (26,3)	78 (18,1)	24,1° / 69,3%
Coleta 8	138	33 (23,9)	677 (20,5)	18 (2,7)	2 (11,1)	24,6° / 72,7%
Total	944	165 (17,48)	3737 (22,6)	748 (20,02)	93 (12,43)	24,5° / 67,3%

• Início de nova dieta larval

Tabela II. Duração do período (dias) do desenvolvimento do ovo, estádios larvais e pupa de *Ny. whitmani* em condições de laboratório à temperatura de 24,5° C (+- 1°C) e UR ~ 67% em relação aos oito períodos de coleta entre os anos de 2012 e 2013.

Estádio	Mínima (dias)	Máxima (dias)	Mediana (dias)
Ovo	9,5	15,97	12,0
Larva 1	7,0	11,2	5,0
Larva 2	4,9	9,4	7,0
Larva 3	6,1	18,0	10,0
Larva 4	16,1	29,8	21,0
Pupa	10,7	22,7	28,0
Total	54,3	106,9	83,0

Figura 1. Período de desenvolvimento (dias) em relação as fases imaturas de *Ny. whitmani* em condições de laboratório



Discussão

Em condições laboratoriais a espécie *Ny. whitmani* apresentou um ciclo de vida médio de 80 dias (intervalo 53,91 – 106,11) e mediana de 86 dias. Barretto (1941, 1942) e Fonteles (2009), descreveram valores mais altos ao estudarem populações da região Sudeste e Nordeste do Brasil, respectivamente, e encontraram uma média de 50,5 e 39,3 dias. Fonteles (2009) manteve os estágios imaturos em temperatura média de 26,2°C e umidade relativa em 69,2%. Barretto (1941, 1942) ao estudar a biologia de *Nyssomyia intermedia* e *Ny. whitmani* verificou o desenvolvimento rápido e gradativo dos ovos quando a temperatura esteve entre 25° e 27°C. Rangel et al. (1985), ao acompanharem o ciclo evolutivo de *Ny. intermedia* em temperatura de 25°C e 86% de umidade, relataram uma variação de 26 e 56 dias (média 41 dias). Andrade- Filho et al. (2004) ao estudarem a mesma espécie observaram o ciclo de vida de 34,9 dias em temperaturas que variaram entre 25° e 26°C e umidade de 80%.

Brazil et al. (1997) estudaram a biologia de *Lutzomyia lenti* e verificaram que o ciclo de vida durou 40,2 dias com temperaturas que variaram entre 26° e 28°C e umidade relativa de 80%, e ao comparar o ciclo desta espécie com *Lu. longipalpis* e *Ny. intermedia*, constataram que *Lu. lenti* apresentou o ciclo mais longo, seguido por *Ny. intermedia* (32,8 dias) e *Lu. longipalpis* (29,5 dias).

Evandromyia carmelinoi, espécie colonizada por Alves e colaboradores (2000) apresentou uma média de desenvolvimento de ovo até adulto de 42 dias, em temperatura média de 25°-26°C e umidade de 80%.

Guzmán & Tesh (2000) ao observarem o tempo de desenvolvimento em relação à temperatura para *Phlebotomus papatasi*, *Ph. perniciosus* e *Lutzomyia longipalpis*, perceberam para esta última espécie, que em temperaturas abaixo de

18°C a maioria das larvas morreu, ao contrário do que ocorreu com *Ph. papatasi* e *Ph. perniciosus* que tiveram seus ciclos prolongados (150 a 412 dias, respectivamente), porém ao elevar a temperatura para 28°C o período dos ciclos diminuiu consideravelmente.,

No presente trabalho, nas cinco primeiras coletas a temperatura manteve-se entre 23° e 25°C e a média da umidade não ultrapassou 65% e nos últimos meses a umidade esteve acima de 70% e a temperatura entre 23° e 24°C, sendo este último período, melhor para o desenvolvimento das larvas e emergência dos adultos. Portanto, é possível que a temperatura e a umidade possam ter influenciado no tempo de desenvolvimento dos estádios imaturos, podendo inclusive ter ocasionado uma diapausa.

Barretto (1942) ao estudar o ciclo biológico de *Ny. whitmani* com espécimes coletados na região sudeste, observou a ocorrência de diapausa nas larvas, pois o ciclo de vida durou até 176 dias. No entanto, Brazil (comunicação pessoal) ao trabalhar com esta mesma espécie, advinda do Ceará, não encontrou aparentemente o fenômeno de diapausa com duração do ciclo de 37 dias. Estas diferenças quanto à biologia aliados aos estudos morfométricos sustentam a possibilidade de *Ny. whitmani* ser um complexo de espécies crípticas (Dias *et al.*, 1999)

Ready & Croset (1980) ao estudar *Ph. perniciosus* e *Phlebotomus ariasi* observaram que estímulos ambientais podem induzir a diapausa, principalmente para larvas de terceiro e quarto instar em temperatura abaixo de 21°C. Segundo Chaniotis (1967), a diapausa é o período de adaptação às condições ambientais.

Carvalho et al. (2011) sugeriram que a diapausa seja um mecanismo evolutivo dos flebotomíneos para sobreviver à baixas temperaturas e condições adversas, retomando as atividades metabólicas quando as condições se tornam favoráveis.

Outro fator importante para que as larvas atinjam a fase adulta é a alimentação. Neste trabalho inicialmente foi utilizado mistura de fezes de coelho com ração para peixe (1:1), resultando na proliferação de uma grande quantidade de fungos e considerável mortalidade, principalmente das larvas de primeiro estágio. Diante disso foi testada uma alternativa de dieta, composta de fígado liofilizado e terra, o que proporcionou melhor desenvolvimento da fase larval e emergência dos alados. O acréscimo de solo do local de captura foi experimentado, pois acreditava-se que além de estimular a memória existente (Kelly & Dye 1997), este material poderia conter grande quantidade de matéria orgânica, devido às fezes de galinhas servindo assim de alimento para as formas imaturas (Forattini et al. 1976).

Rangel et al. (1985) ao estudarem o estabelecimento de colônia para *Ny. intermedia* utilizaram ração comercializada para peixe de aquários e obtiveram uma proporção de 46,6% de adultos em relação as larvas eclodidas. Rangel et al. (1986) acompanharam o desenvolvimento das larvas de *Ny. intermedia* e *Lu. longipalpis* com dieta a base de rações de origem animal e vegetal. A ração comercializada para peixes foi bem aceita por ambas espécies e não favoreceu a proliferação de fungos. Gemetchu (1971), ao estudar a dieta larval de *Phlebotomus longipes* observou a preferência por fígado liofilizado ao invés de fezes de coelho, carne ou sangue. Guzmán e Tesh (2000) analisaram o efeito de duas dietas diferentes para *Lu. longipalpis* (fezes misturadas ao pó de fígado e folhas em decomposição) e observaram que as larvas alimentadas com fezes e pó de fígado tinham o desenvolvimento mais rápido e sincrônico do que aquelas alimentadas com folhas,

corroborando com o trabalho de Chaniotis (1975), o qual alimentou larvas de *Lutzomyia trapidoi* com fígado liofilizado e também observou este mesmo comportamento no desenvolvimento larval do que quando alimentadas com alface cozida.

Além da alimentação, da temperatura e da umidade, outro fator favorável para o sucesso na postura e emergência de adultos foi o agrupamento de fêmeas pós-repasto sanguíneo e anterior à oviposição das mesmas. Dez grupos de 35 fêmeas em média, foram colocadas juntas em potes de vidro com diâmetro de 10 cm e gesso na base. Através desse experimento observou-se que as fêmeas agrupadas colocaram em média mais ovos (6,1) do que quando individualizadas (3,9). Contudo, não foram utilizados estes dados, pois das 30 fêmeas emergidas (F1) sete eram da espécie *Psathyromyia shannoni*.

Tal fato pode estar associado a sinais químicos liberados por flebotomíneos para localizar hospedeiros e sítios de oviposição, conforme já comprovado em estudo realizado por Hamilton (2008) com a espécie *Lu. longipalpis*. É importante salientar que no momento da postura as fêmeas depositam ácido dodecanóico em seus ovos através das glândulas acessórias atraindo assim outras fêmeas grávidas para fazer a postura (Dougherty et al. 1994, Dougherty & Hamilton 1997). Alves et al. (2003) ao estudarem *Lutzomyia renei* observaram que as fêmeas depositam ácidos graxos em seus ovos e é provável que eles também atuem como feromônios de ovoposição.

Ainda, segundo Ward (1977) o ciclo de vida dos flebotomíneos pode ser influenciado também pelas diferentes populações e métodos de criação, pois é sabido que as espécies necessitam de uma adaptação ao ambiente de laboratório. E, ainda, os adultos de certas espécies tem preferência alimentar diferente de outras

(Mutinga et al. 1989). Portanto, se faz necessário mais estudos sobre a biologia de flebotomíneos para compreender melhor o comportamento, hábito alimentar e ciclo evolutivo de cada espécie.

Agradecimentos

Agradecemos a CAPES pelo apoio financeiro, ao Programa de Pós- Graduação em Biologia Animal pela cedência do carro, à Dra. Alessandra Gutierrez de Oliveira pela orientação, as técnicas Elisa Teruya Oshiro, Jucelei de Moura Infran e Lívia Garcia Bertolacci pelas sugestões e revisão do manuscrito, ao Sr. Adão proprietário do galinheiro, às alunas de Pós-graduação Magda Fernandes Freitas e Daiana Alovise pelo auxílio nas coletas.

Referências

Almeida OS, Minzão ER, Minzão LD, da Silva, SR, Ferreira AD, Faccenda O, Andrade-Filho JD 2010a. Ecological aspects of Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in the urban area of Ponta Porã municipality, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 43: 723-727.

Almeida OS, Nascimento JC, Ferreira AD, Minzão LD, Portes F, Miranda AM, Faccenda O, Andrade-Filho JD 2010b. Espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em municípios com transmissão de Leishmaniose Visceral do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Bras Entomol* 54: 304–310.

Alves JCM, Hamilton JGC, Brazil RP 2003. Oviposition response of *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *renei* (Martins, Falcão & Silva) (Diptera: Psychodidae) to extracts of conspecific eggs in laboratory bioassays. *Entomotropica*, 18: 121-126.

Alves JCM, Pedras MJ, Andrade Filho JD, Brazil BG, Souza AA, Brazil RP 2000. Biology of *Lutzomyia carmelinoi* Ryan, Fraiha, Lainson & Shaw (Diptera: Psychodidae) under laboratory conditions. *Entomol Vect* 7: 281:286.

Andrade-Filho JD, Galati EAB, Falcão AL 2004. Biology of the first generation of a laboratory colony of *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 597-601.

Antunes PCA, Coutinho JO 1939. Notas sobre flebótomos sul-americanos. II. Descrição de *Flebotomus whitmani* n. sp. e da armadura bucal de algumas espécies. *Bol Biológico IV* 4: 448-453.

Azevedo ACR, Rangel EF, Costa EM, David J, Vasconcelos AW, Lopes UG 1990. Natural infection of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) by *Leishmania* of the *braziliensis* complex in Baturité, Ceará state, northeast Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85: 251.

Barretto MP 1941. Observações sobre a biologia do *Phlebotomus whitmani* Antunes e Coutinho, 1939 (Diptera, Psychodidae) em condições experimentais. *Pap. Avulsos Zool* 1: 87-100.

Barretto MP 1942. Observações sobre a biologia em condições naturais dos flebotomos do Estado de São Paulo (Diptera: Psychodidae), Tese de Livre-Docência, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 162 pp.

Braga-Miranda LC, Miranda M, Galati EAB 2006. Phlebotomine fauna in a rural area of the Brazilian Pantanal. *Rev Saude Publica* 40: 324-326.

Brazil RP, Brazil BG 2003. Biologia de flebotomíneos Neotropicais. In EF Rangel, R Lainson (eds.). *Flebotomíneos do Brasil*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro p. 257-270.

Brazil RP, Carneiro VL, Andrade Filho JD, Alves JCM, Falcão, AL 1997. Biology of *Lutzomyia lenti* (Mangabeira) (Diptera: Psychodidae). *An. Soc. Entomol. Bras* 26:1.

Cáceres GA 1993. Distribución geográfica de *Lutzomyia verrucarum* (Townsend, 1913) (Dyptera: Psychodidae, Phlebotominae), Vector de la Bartonelosis Humana em el Perú. *Ver Inst Med Trop S Paulo* 35: 485-490.

Carvalho GDL, Vasconcelos FD, Silva DD, Botelho HA, Andrade-Filho JD 2011. Diversity of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Ibitipoca State Park, Minas Gerais, Brazil. *J Med Entomol* 48: 764-769

Chaniotis BN 1967. The biology of California Phlebotomus (Diptera: Psychodidae) under laboratory conditions. *J Med Entomol* 4: 221-233.

Chaniotis BN 1975. A new method for rearing *Lutzomyia trapidoi* (Diptera: Psychodidae), with observations on its development and behavior in the laboratory. *J Med Entomol* 12: 183-188.

Chelbi I, Zhioua E 2007. Biology of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in the laboratory. *J Med Entomol* 44: 597-600.

Depaquit J, Grandadam M, Fouque F, Andry P., Peyrefitte C 2010. Arthropod-borne viruses transmitted by Phlebotomine sandflies in Europe: a review. *Euro Surveill* 15: e19507.

Desjeux P 2004. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 27: 305-318.

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

Dougherty MJ, Hamilton JGC 1997. Dodecanoic Acid Is the Oviposition Pheromone of *Lutzomyia longipalpis*. *J Chem Ecol* 23: 2657-2671.

Dougherty MJ, Hamilton JGC, Ward RD 1994. Isolation of oviposition pheromone from the eggs of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Med Vet Entomol* 8: 119-124.

Elnaiem DEA, Ward RD 1991. Response of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* to an oviposition pheromone associated with conspecific eggs. *Med Vet Entomol* 5: 87-91.

Federal do Maranhão, Maranhão, 69pp.

Feliciangeli MD 2004. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. *Med Vet Entomol* 18: 71-80.

Fonteles RS 2007. Ecologia de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) e infecção natural de *Lutzomyia whitmani* por *Leishmania* no município de Axixá – Maranhão, Brasil. Monografia. Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Maranhão, Maranhão, 39pp.

Fonteles RS 2009. *Estudo do ciclo de vida, fonte alimentar e capacidade vetorial de Lutzomyia whitmani no Maranhão, Brasil*, Dissertação, Universidade

Forattini O P 1973. Subfamília Phlebotominae - Biologia In: OP FORATTINI (eds.). *Entomologia Médica*. Editora Edgar Blücher Ltda, São Paulo p.120-197.

Forattini OP, Rabello EX, Galati EAB 1976. Novos encontros de flebotomíneos no Estado de São Paulo, Brasil, com especial referência a *Lutzomyia longipalpis*. *Rev saude publica* 10: 125-128.

Galati EA, Nunes VL, Boggiani PC, Dorval MEC, Cristaldo G, Rocha HC, Oshiro ET, Damasceno-Júnior GA 2006. Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in forested

areas of the Serra da Bodoquena, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 175-193.

Galati EAB 2003. Morfologia e Taxonomia. In: EF RANGEL & R LAINSON (eds.). *Flebotomíneos do Brasil*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro p. 23-175.

Galati EAB 2013. *Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) Classificação, morfologia, terminologia, e identificação de adultos*. Apostila Bioecologia e Identificação de Phlebotominae, volume I, São Paulo, São Paulo, 130pp.

Galati EAB, Nunes VLB, Dorval MEC, Oshiro ET, Cristaldo G, Cristaldo MAE, da Rocha HC, Garcia WB 1996. Study of the phlebotomines (Diptera, Psychodidae), in area of cutaneous leishmaniasis in the Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Rev Saude Publica* 30: 115-28.

Gemetchu T 1971. Liver and yeast as larval diets in colonization of a sandfly (*Phlebotomus longipes*) *Trans R Soc Trop Med Hyg* 65: 682-684.

Gontijo B, Carvalho MLR 2003. American cutaneous leishmaniasis. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 71-80.

Guzmán H, Tesh RB 2000. Effects of temperature and diet on the growth and longevity of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *Biomed* 20: 190-199.

Hambuch TM, Handley SA, Ellis B, Chamberlin J, Romero S, Regnery R 2004. Population genetic analysis of *Bartonella bacilliformis* isolates from areas of Peru where Carrion's disease is endemic and epidemic. *J Clin Microbiol* 42: 3675–3680.

Hamilton JGC 2008. Sandfly pheromones: Their biology and potential for use in control programs. *Parasite* 15: 252-256.

Kelly DW., & Dye C 1997. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Anim Behav* 53: 721-731.

Legriffon CMO, Lonardonni MVC, Oliveira DM, Reinhold-castro KR, Teodoro U,

Silveira TGV 2011. Natural infection of *Nyssomyia neivai* by *Leishmania* (*Viannia*) spp. in the State of Parana, Southern Brazil, detected By multiplex polymerase chain reaction. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 11: 137 -43.

Luz E, Membrive N; Castro EA, Dereure J, Pratlong F, Dedet JA, Pandey A, Thomaz-Soccol V 2000. *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as vector of *Leishmania* (*V.*) *braziliensis* in Paraná state, southern Brazil. *Ann Trop Med Parasitol* 94: 623-631.

Marcondes CB 2001. Flebotomíneos: In: CB MARCONDES (eds.). *Entomologia médica e veterinária*. Editora Atheneu, São Paulo p. 13-30.

Membrive NA, Rodrigues G, Membrive U, Monteiro W M, Neitzke HC, Lonardoni MVC, Silveira TGV, Teodoro U 2004. Flebotomíneos de municípios do Norte do Estado do Paraná, sul do Brasil. *Entomol Vectores* 11: 673-80.

Munstermann LE 2004. The Psychodidae. In Marquardt, WC, Black WC, Freier J, Hagedorn, H, Hemingway J, Higgs S, James AA, Kondratieff, B (eds.) Phlebotomine sand flies, *Biol Dis Vector*, San Diego, California, p.141-151.

Mutinga MJ, Kamau CC, Kaddu JB, Kyai FM, Omogo DM, Mwandandu J, Ndambuki J 1989. The biology and colonization of some kenyan phlebotomine sandfly species (Diptera, Psychodidae). *Intern J Trop Insect Sci* 10: 677-683.

Nascimento JCGRP, Malafrente RS, Fernandes WD, Galati EAB 2007. Natural infection of phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in a visceral-leishmaniasis focus in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 49: 119-122.

Nunes VLB, Galati EAB, Cardozo C, Rocca MEG, Andrade ARO, Santos MFC, Aquino RB, Rosa D 2008. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área urbana do município de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Bras Entomol* 52: 446-451.

Oliveira AG, Andrade filho JD, Falcão AL, Brazil RP 2003. Study of sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul State, Brazil, from 1999 to 2000. *Cad saude publica* 19: 933-944.

Oliveira AGD, Galati EAB, Oliveira OD, Oliveira GRD, Espindola IAC, Dorval, MEC, Brazil RP (2006). Abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and urban transmission of visceral leishmaniasis in Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 869-874.

Oliveira-Pereira YNO, Rebêlo JMM, Moraes JLP, Pereira SRF 2006. Diagnóstico molecular da taxa de infecção natural de flebotomíneos (Psychodidae, *Lutzomyia*) por *Leishmania* sp. na Amazônia maranhense. *Rev Soc Bras Med Trop* 39: 540-543.

Paiva BR, Oliveira AG, Dorval MEMC, Galati EAB, Malafrente RS 2010. Species-specific identification of *Leishmania* in naturally infected sand flies captured in Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Acta Trop* 115: 126–130.

Pessoa SB, Coutinho JO 1941. Infecção natural e experimental do flebótomo pela *Leishmania braziliensis* no Estado de São Paulo. *Hosp* 20: 25-35.

Queiroz RG, Alencar I, Vasconcelos B, Vasconcelos AW, Pessoa FAC, Sousa RN, David DR 1994. Cutaneous Leishmaniasis in Ceara State in Northeastern Brazil: Incrimination of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) as a vector of *Leishmania braziliensis* in Baturite Municipality. *Am J Trop Med Hyg* 50: 693-698.

Rangel EF, Lainson R 2009. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 104: 937-54.

Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Barbosa AF 1985. Estabelecimento de colônia, em laboratório, de *Lutzomyia intermedia* Lutz & Neiva, 1912 (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 80: 219-226.

Rangel EF, Souza NA, Wermelinger ED, Barbosa AF, Andrade CA (1986). Biologia de *Lutzomyia intermedia* Lutz & Neiva, 1912 e *Lutzomyia longypalpis* Lutz & Neiva, 1912 (Diptera, Phychodidae), em condições experimentais. I. aspectos da alimentação de larvas e adultos. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 81: 431-438.

Ready PD, Croset H 1980. Diapause and laboratory breeding of *Phlebotomus perniciosus* Newstead and *Phlebotomus ariasi* Tonnoir (Diptera: Psychodidae) from southern France. *Bull Ent Res* 70: 511-523.

Ready PD, Ribeiro AL, Lainson R, Alencar JE, Shaw JJ 1983. Presence of *Psychodopygus wellcomei* (Diptera: Psychodidae), a proven vector of *Leishmania braziliensis braziliensis*, in Ceara State. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 78: 235-236.

Santos KM 2010. *Biodiversidade de Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) na aldeia indígena Jaguapiru, Dourados, Mato Grosso do Sul, 2008 – 2009: Implicações epidemiológicas*, Dissertação, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 85pp.

Seccombe AK, Ready PD, Huddleston LM 1993. A catalogue of Old World phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) In Lane RP, Barnard PC (eds.), *The Natural History Museum, Occas Pap Syst Ent*, p.1-57.

Sharma U, Sarman S 2008. Insect vectors of *Leishmania*: Distribution, Physiology and their control. *J Vector Borne Dis* 45: 255.

Shimabukuru PHF, Galati EAB 2011. Lista de espécies de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. *Biota Neotrop* 11: 1-20.

Silveira FT, Souza AAA, Lainson R, Shaw JJ, Braga RR, Ishikawa EEA 1991. Cutaneous leishmaniasis in the Amazon region: natural infection of the sandfly *Lutzomyia ubiquitalis* (Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania* (*Viannia*) *Lainsoni* in Pará state, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86: 127-130.

Teodoro U, Santos DR, Santos AR, de Oliveira O, Poiani LP, Silva AM, Neitzke HC, Monteiro WM, Lonardon MVC, Silveira TGV 2006. Informações preliminares sobre flebotomíneos do norte do Paraná. *Rev Saude Publica* 40: 327-30.

Ward RD 1977. The colonization of *Lutzomyia flaviscutellata* (Diptera: Psychodidae), a vector of *Leishmania Mexicana Amazonensis* in Brazil. *J Med Ent* 14: 469-476.

Young DG, Duncan MA 1994. *Guide to the Identification and Geographic Distribution of Lutzomyia Sand Flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae)*, número 44, Gainesville, Florida, 881 pp.