

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

***Anopheles (Nyssorhynchus) lanei* e *Culex (Culex)*
dolosus (Diptera: Culicidae): duas espécies que
ocorrem na região de Campos do Jordão, Serra da
Mantiqueira, São Paulo, Brasil**

Luana Valente Senise

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Saúde Pública para obtenção do
título de Mestre em Saúde Pública.**

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientadora: Profa. Dra. Maria Anice Mureb Sallum

São Paulo

2007

***Anopheles (Nyssorhynchus) lanei* e *Culex (Culex)*
dolosus (Diptera: Culicidae): duas espécies que
ocorrem na região de Campos do Jordão, Serra da
Mantiqueira, São Paulo, Brasil**

Luana Valente Senise

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Saúde Pública para obtenção do
título de Mestre em Saúde Pública.**

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientadora: Profa. Dra. Maria Anice Mureb Sallum

São Paulo

2007

É expressamente proibida a comercialização deste documento tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Wladimir e Maria Helena, e ao meu
irmão Mauricio, com gratidão e
amor.*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. MARIA ANICE MUREB SALLUM, meus sinceros agradecimentos pelos valiosos ensinamentos, orientação e apoio no decorrer deste trabalho.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro (processo 472485/2006-7) e pela bolsa de estudo concedida (processo 135539/2005-6).

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro (processo 05/53973-0).

Aos membros da banca examinadora Dra. MONIQUE de ALBUQUERQUE MOTTA, Prof. Dr. CARLOS JOSÉ EINICKER LAMAS, Profa. Dra. EUNICE APARECIDA BIANCHI GALATI e Dra. MARCIA BICUDO de PAULA pela atenciosa leitura crítica do trabalho e pelas valiosas sugestões.

Aos membros da banca de qualificação, Prof. Dr. DÉLSIO NATAL e Dra. ELIANA COLLUCCI pelas contribuições e incentivo a este trabalho.

Aos meus professores da Faculdade de Saúde Pública, em especial ao Prof. Dr. JOSÉ MARIA SOARES BARATA e ao Prof. Dr. DÉLSIO NATAL pelos ensinamentos e pela confiança em mim depositada, desde os tempos de estágio.

Aos funcionários da Faculdade de Saúde Pública, com especial atenção as secretárias do Departamento de Epidemiologia, funcionários do Laboratório de Informática e funcionários da Biblioteca por todo auxílio despendido no decorrer do trabalho.

À SUCEN (Superintendência de Controle de Endemias) de Taubaté por viabilizar transporte e funcionários para coleta de campo.

Ao PAULO ROBERTO URBINATTI, WALTER CERETTI JR e ARISTIDES FERNANDES por guiarem meus primeiros passos pelo mundo da entomologia médica.

Às colegas de laboratório MAYSA TIEMI MOTOKI e SANDRA SAYURI NAGAKI pela amizade, carinho e companheirismo.

Aos colegas da Faculdade de Saúde Pública, meus companheiros de caminhada, que compartilharam comigo as dificuldades e as alegrias do cotidiano da Pós-Graduação, em especial AGDA M. OLIVEIRA, DANIELA CALADO, ELAINE C. VICENTIN, GABRIEL Z. LAPORTA, MARTHA ROJAS, PAULA A. OPROMOLLA, PEDRO PEDRO, ROBERTO C. RHOFFMANN, ROSSANA MENDOZA LOPES, SIRLEI A. de MORAES

Aos meus pais e meu irmão pelo amor, carinho e apoio incondicional.

Aos meus familiares e aos amigos de longa data, por me acompanharem ao longo dessa jornada, demonstrando seu carinho e seu apoio das mais diversas maneiras.

Ao JOSÉ, tão longe, mas sempre tão perto...

RESUMO

Senise LV. *Anopheles (Nyssorhynchus) lanei* e *Culex (Culex) dolosus* (Diptera: Culicidae): duas espécies que ocorrem na região de Campos do Jordão, Serra da Mantiqueira, São Paulo, Brasil [dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2007.

Introdução – *Anopheles (Nyssorhynchus) lanei* foi descrito por Galvão e Amaral em 1938, a partir de espécimes coletados em Campos do Jordão, na Serra da Mantiqueira, Estado de São Paulo, sendo provável espécie endêmica desta região. Linthicum (1988) redescreveu *An. lanei* baseando-se em um espécime adulto fêmea e duas genitálias masculinas de Campos do Jordão; porém, a ilustração de genitália masculina foi feita a partir de um espécime coletado na cidade de Estância, Estado de Sergipe, Brasil. Evidências morfológicas somadas a diferenças ambientais entre estas localidades indicam que os espécimes analisados por Linthicum não correspondem a *An. lanei*. *Culex (Culex) dolosus* foi descrito por Lynch Arribálzaga em 1891 com base em espécimes coletados na Província de Buenos Aires, Argentina. O último trabalho a tratar de aspectos da morfologia de *Cx. dolosus* é anterior à descrição de *Culex eduardoi* Casal & García, espécie similar a esta. Dados de literatura apontam para a existência de formas morfológicas diferenciadas em populações de *Cx. dolosus*, o que parece ser o caso dos espécimes que ocorrem na região de Campos do Jordão. **Objetivos** – Este estudo visa contribuir para o conhecimento taxonômico de espécies pertencentes aos subgêneros *Nyssorhynchus* e *Culex*, que ocorrem na Serra da Mantiqueira, por meio da redescrição de *An. lanei* e *Cx. dolosus*, e também da identificação de fauna de Culicidae associada. **Métodos** – As redescrções foram baseadas na análise de exemplares coletados na região de

Campos do Jordão e implicaram em etapas de quetotaxia das larvas e pupas, biometria dos adultos e formas imaturas e elaboração de ilustrações das estruturas anatômicas da morfologia externa. **Resultados** – Deste trabalho resultaram redescritões morfológicas detalhadas, tabelas de quetotaxia das formas imaturas e ilustrações das larvas, pupas e estruturas das genitálias masculinas. **Considerações finais** - Espera-se que os resultados alcançados possam ampliar e dar continuidade a estudos taxonômicos de Culicidae e também contribuir para a correta identificação de espécies de *Anopheles* e *Culex*.

Descritores: *Anopheles lanei*, *Nyssorhynchus*, *Culex dolosus*, *Culex*, Serra da Mantiqueira, Taxonomia, Sistemática.

ABSTRACT

Senise LV. *Anopheles (Nyssorhynchus) lanei* e *Culex (Culex) dolosus* (Diptera: Culicidae): duas espécies que ocorrem na região de Campos do Jordão, Serra da Mantiqueira, São Paulo, Brasil / *Anopheles (Nyssorhynchus) lanei* and *Culex (Culex) dolosus* (Diptera: Culicidae): two species that occur in Campos do Jordão region, Serra da Mantiqueira, São Paulo, Brazil [dissertation]. São Paulo (BR): Faculdade de Saúde Pública da USP; 2007.

Introduction – *Anopheles (Nyssorhynchus) lanei* was described by Galvão and Amaral in 1938, based on specimens collected in the Campos do Jordão, in Serra da Mantiqueira, State of São Paulo, being a probable endemic species from this region. Linthicum (1988) re-described *An. lanei* based on one adult female and two male genitalia from Campos do Jordão; however, the illustration of the male genitalia was generated from a specimen collected in Estância municipality, State of Sergipe, Brazil. Morphologic evidences, in addition to environmental differences between both localities, suggest that the specimens examined by Linthicum (1988) do not belong to *An. lanei*. *Culex (Culex) dolosus* was described by Lynch Arribálzaga in 1891 based in exemplars from the Buenos Aires Province, in Argentina. The last work to deal with morphologic aspects of *Cx. dolosus* precedes the description of *Culex eduardoi* Casal & García, a similar species to the former. Literature records point to the existence of differentiate morphologic forms of *Cx. dolosus*, what seems to be the case of the specimens that occur in Campos do Jordão region. **Objectives** – This study aim to contribute to the knowledge about species from the subgenera *Nyssorhynchus* and *Culex*, that occur in the Serra da Mantiqueira, by the re-description of *An. lanei* and *Cx. dolosus* and also by the identification of the

Culicidae associated fauna. **Methods** – The redescrptions were based in the analyzes specimens collected in the region of Campos do Jordão and implied in stages of chaetotaxy of the larvae and pupae, biometry of the adults and immature forms, and elaboration of illustrations of the anatomic structures of the external morphology. **Results** – This work resulted in detailed morphologic redescrptions, chaetotaxy tables of the immature forms and illustrations of the larvae, pupae and male genitalia structures. **Final considerations** – It is expected that the reached results might expand and continuity taxonomic studies on Culicidae and also contribute to the correct identification of *Anopheles* and *Culex*.

Descriptors: *Anopheles lanei*, *Nyssorhynchus*, *Culex dolosus*, *Culex*, Serra da Mantiqueira, Taxonomy, Systematics.

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 GÊNERO <i>ANOPHELES</i> Meigen	
SUBGÊNERO <i>NYSSORHYNCHUS</i> Blanchard	11
1.1.1 <i>Anopheles (Nyssorhynchus) lanei</i> Galvão & Amaral	14
1.2 GÊNERO <i>CULEX</i> Linnaeus	
SUBGÊNERO <i>CULEX</i> Linnaeus	16
1.2.1 <i>Culex (Culex) dolosus</i> (Lynch Arribálzaga)	18
2 JUSTIFICATIVA	23
3 OBJETIVOS	26
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 COLETAS	27
4.2 ANÁLISE DO MATERIAL	30
4.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE O LOCAL DE ESTUDO	31
4.3.1 O Parque Estadual de Campos do Jordão	34
5 RESULTADOS	36
5.1 MANUSCRITO 1. Systematics of <i>Anopheles lanei</i> Galvão & Amaral, a Species of the Subgenus <i>Nyssorhynchus</i> Blanchard (Diptera: Culicidae)	37
5.2 MANUSCRITO 2. Redescription of <i>Culex dolosus</i> (Lynch Arribálzaga), a species of the subgenus <i>Culex</i> Linnaeus (Diptera: Culicidae)	67
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	97
7 REFERÊNCIAS	102

1 INTRODUÇÃO

1.1 GÊNERO *ANOPHELES* Meigen

SUBGÊNERO *NYSSORHYNCHUS* Blanchard

O gênero *Anopheles* desperta grande interesse epidemiológico por incluir os vetores de plasmódios que causam a malária humana, vetores de filarias, em certas regiões da Ásia, e também espécies com competência para transmitir múltiplos arbovírus (FORATTINI, 2002).

De acordo com HARBACH (2004), *Anopheles* é cosmopolita e inclui 444 espécies nominais e 40 formas cromossômicas e/ou moleculares ainda não nomeadas e relativas a complexos de espécies. Estas se encontram distribuídas por seis subgêneros: *Anopheles*, *Cellia*, *Stethomyia*, *Nyssorhynchus*, *Kerteszia* e *Lophopodomyia*. O subgênero *Cellia* é o único que não possui representantes na região Neotropical (FORATTINI, 2002).

O que conhecemos hoje como subgênero *Nyssorhynchus* foi primeiramente descrito por Theobald, em 1902, como subgênero *Laverania*. Porém, este era nome pré-ocupado por *Laverania* Grassi & Feletti e ainda em 1902, Blanchard propôs o nome *Nyssorhynchus* em substituição (LINTHICUM, 1988). Posteriormente, *Laverania* entrou na sinonímia de *Nyssorhynchus* em trabalho de THEOBALD (1903).

FARAN (1980) dividiu o subgênero em duas seções, Albimanus e Argyritarsis, e reconheceu o grupo Myzorhynchella, que posteriormente foi definido como seção por PEYTON e col. (1992). Em trabalho de FARAN e LINTHICUM (1981), a seção Argyritarsis foi dividida em dois grupos, Argyritarsis e Albitarsis. O grupo Argyritarsis foi então subdividido em quatro subgrupos: Argyritarsis, composto pelas espécies *Anopheles argyritarsis* Robineau-Desvoidy e *Anopheles sawyeri* Causey, Deane, Deane & Sampaio, e os subgrupos monotípicos Pictipennis, Darlingi e Lanei. O grupo Albitarsis foi subdividido em dois subgrupos: subgrupo Albitarsis, composto pelas espécies *Anopheles albitarsis* Lynch Arribálzaga e *Anopheles marajoara* Galvão & Damasceno e o subgrupo monotípico Braziliensis (HARBACH, 1994). Na revisão da seção Argyritarsis feita por LINTHICUM (1988), o autor manteve a divisão das seções acima citadas.

Estudos atuais empregando caracteres morfológicos e moleculares demonstraram que *Nyssorhynchus* é grupo monofilético (SALLUM e col., 2000a, 2002; KRZYWINSKI e col., 2001), enquanto as seções Albimanus e Argyritarsis representariam grupos parafiléticos (CONN, 1998; SALLUM e col., 2000a). Deste modo, a divisão subgenérica em seções não deveria ser adotada até que seja feita nova proposta de classificação com base nos resultados de análise filogenética com marcadores morfológicos e moleculares.

O subgênero *Nyssorhynchus* inclui atualmente 33 espécies (HARBACH, 2004), estando à maioria restrita à região Neotropical, com exceção de *Anopheles albimanus* Wiedemann, cuja distribuição se estende até o sul da região Neártica (FARAN, 1980). As espécies deste subgênero são vetores de *Plasmodium Machiafava* & Celli e teriam implicação em parte dos 20 milhões de casos anuais de malária humana no

mundo (CONN, 1998). Como exemplo, vale citar o *Anopheles darlingi* Root, principal vetor no Brasil e na América Latina (LINTHICUM, 1988), *Anopheles albimanus* Wiedemann, principal vetor na América Central e em áreas da América do Sul situadas a oeste da Cordilheira dos Andes, *Anopheles nuneztovari* Gabaldón, epidemiologicamente significativa a oeste da Venezuela, Norte da Colômbia, Suriname e na Bacia Amazônica (FARAN, 1980) e *Anopheles aquasalis* Curry, importante na Venezuela, em Trinidad e Tobago, e também ao norte do Brasil (FORATTINI, 2002). Devemos considerar também o papel epidemiológico de *Anopheles deaneorum* Rosa-Freitas, *Anopheles oswaldoi* Peryassú e *Anopheles marajoara* Galvão & Damasceno, vetores locais de plasmódios humanos (CONN e col., 2002).

Sabe-se que vários táxons de *Nyssorhynchus* podem representar complexos de espécies crípticas (ROSA-FREITAS e col., 1998). Estudos comportamentais, morfológicos, isoenzimáticos, citogenéticos e com marcadores moleculares têm demonstrado que *An. albitarsis* representa complexo de pelo menos quatro espécies (WILKERSON e col., 1995). A descoberta de complexos de espécies crípticas, a descrição de novos táxons (NASCIMENTO e LOURENÇO DE OLIVEIRA, 2002) e o reconhecimento de polimorfismos morfológico e comportamental estão colaborando para a solução de problemas na identificação das espécies de *Anopheles*.

Mas, apesar dos múltiplos estudos morfológicos e moleculares envolvendo espécies deste subgênero, ainda existem problemas taxonômicos a serem resolvidos, bem como espécies pouco estudadas. Este é o caso do *Anopheles (Nyssorhynchus) lanei* Galvão & Amaral, espécie que será um dos objetos deste estudo.

1.1.1 *Anopheles (Nyssorhynchus) lanei* Galvão & Amaral

Entre os meses de fevereiro e março de 1938, Galvão e Amaral coletaram na Vila Emilio Ribas, município de Campos do Jordão, Estado de São Paulo, larvas e adultos de uma espécie de anofelíneo que não havia sido descrita. Esta recebeu o nome *Anopheles (Nyssorhynchus) lanei*, em homenagem ao renomado entomologista John Lane (GALVÃO e AMARAL, 1938), sendo posteriormente incluída na série *Argyritarsis* do subgênero *Nyssorhynchus* (GALVÃO, 1943).

Os espécimes foram depositados na Coleção Entomológica do Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), sob número de acesso 220 para o holótipo, fêmea, e 221 para seu alótipo. A série tipo contava ainda com 26 parátipos, dos quais um casal foi enviado ao Professor Costa Lima do Instituto Oswaldo Cruz e outro para o Dr. Shannon, da Rockefeller Foundation, no Rio de Janeiro (GALVÃO e AMARAL, 1938).

Aparentemente, *An. lanei* é espécie endêmica da região de Campos do Jordão, na Serra da Mantiqueira, Estado de São Paulo, Brasil. No entanto, existem registros publicados em literatura que indicam sua ocorrência na Argentina (DEL PONTE, 1941) e nos e nos Estados brasileiros de Sergipe (LINTHICUM, 1988), Espírito Santo (COUTINHO, 1947; ANDRADE e BRANDÃO, 1957), Rio de Janeiro (FERREIRA, 1964) e Bahia (FIGUEIREDO, 1940).

Desde sua descrição, poucos estudos foram feitos sobre o *An. lanei*. PINTO (1939) examinou dois parátipos, um adulto macho com a respectiva genitália e uma fêmea com a correspondente exúvia de larva e confirmou que as estruturas

anatômicas utilizadas por GALVÃO e AMARAL (1938) podiam distinguir *An. lanei* de outras espécies de *Anopheles*. Posteriormente, GALVÃO (1940) caracterizou morfológicamente e confirmou dados da descrição original e UNTI e RAMOS (1942), em trabalho sobre os anofelíneos encontrados em grandes altitudes, teceram considerações acerca da bionomia e distribuição da espécie. É interessante assinalar que nesta ocasião, exemplares de *An. lanei* só foram encontrados na região de Campos do Jordão, mais precisamente nas Vilas Emilio Ribas e Abernécia. UNTI (1943) analisou a quantidade de oxigênio dissolvido na água dos criadouros de alguns anofelíneos, entre eles *An. lanei*, e constatou que a espécie em questão se desenvolvia normalmente em águas límpidas e bem oxigenadas. FONSECA e UNTI (1943), em experimento sobre a infecção em anofelíneos de áreas indenes à malária, testaram dois espécimes de *An. lanei* provenientes de Campos do Jordão que resultaram negativos para as formas infectantes de *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum*.

O trabalho mais recente contendo informações detalhadas sobre a espécie data de 1988, quando Linthicum fez a revisão da seção *Argyritarsis* do subgênero *Nyssorhynchus*. Neste trabalho, o autor redescreve a espécie em questão com base na análise de três parátipos, sendo um espécime adulto fêmea e duas genitálias masculinas, procedentes de Campos do Jordão, Estado de São Paulo. No entanto, consta no trabalho em questão uma ilustração detalhada de genitália masculina de um espécime coletado na cidade de Estância, Estado de Sergipe, cuja indicação de procedência não figura na lista de material examinado. Evidências morfológicas sugerem que os espécimes analisados por LINTHICUM (1988) pertenceriam à outra

espécie de *Nyssorhynchus* que não *An. lanei* e, por conta disso, se faz necessária uma definição morfológica detalhada desta espécie.

1.2 GÊNERO *CULEX* Linnaeus

SUBGÊNERO *CULEX* Linnaeus

O gênero *Culex* é cosmopolita e inclui, até o momento, pouco mais de 750 espécies repartidas em 24 subgêneros (HARBACH e KITCHING, 1998).

A importância epidemiológica dos mosquitos deste gênero decorre de sua grande adaptação ao ambiente antrópico, principalmente em decorrência do processo de domiciliação. Esta característica, aliada a hematofagia das espécies, é considerável fator de incômodo para as populações humanas (FORATTINI, 2002). Além disso, representantes deste gênero teriam implicação vetora na transmissão da filariose bancroftiana (CALHEIROS e col., 1998), e também comprovado potencial de infecção e veiculação de diversos arbovírus (NATAL e UENO, 2004).

Dentro do gênero em questão se destaca o subgênero *Culex*, pelo elevado número de espécies existentes, e, sobretudo, pelo grande potencial vetor de parte dessas. Os representantes deste subgênero são mosquitos fundamentalmente noturnos, de porte médio, coloração amarronzada, destituídos de brilho metálico e com asas recobertas de escamas predominantemente escuras. A maioria apresenta hábito alimentar ornitofílico, podendo assumir comportamento oportunamente antropofílico, dependendo da oferta de alimento disponível. Porém, o inverso pode ocorrer e, sendo assim, o potencial vetor dos representantes do subgênero *Culex* é

evidenciado pelo comportamento predominantemente antropofílico de algumas de suas espécies. É o caso do *Culex quinquefasciatus* Say na região Neotropical, considerado o vetor primário e principal da filariose bancroftiana no Brasil, sendo também transmissor competente de diversos arbovírus, e de seu correspondente na região Neártica, o *Culex pipiens* Linnaeus (CONSOLI e LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002).

A literatura sobre taxonomia e sistemática do gênero e do subgênero *Culex* é relativamente escassa. Dentro dela destaca-se, até hoje, o trabalho de BRAM (1967), que designa e lista várias espécies pertencentes ao subgênero em questão. Recentemente, HARBACH e KITCHING (1998), com base em análises filogenéticas, examinaram as relações de parentesco entre os gêneros pertencentes à família Culicidae e, após observação de alguns caracteres polimórficos, levantaram a hipótese de que *Culex* possa ser gênero polifilético.

Além desses dois importantes estudos pouco há que se acrescente ao conhecimento mais aprofundado do gênero e subgênero *Culex*, daí subsistirem incongruências em sua classificação e erros recorrentes no processo de identificação. Estudos sobre espécies sem comprovada implicação vetorial também são escassos, o que se apresenta como uma dificuldade adicional para a correta identificação de espécies de importância epidemiológica.

Com o objetivo de contribuir para o conhecimento de *Culex*, trataremos a seguir de *Culex (Culex) dolosus* Lynch Arribálzaga, espécie que foi descrita, primeiramente, a partir de espécimes coletados em Buenos Aires, na Argentina e que também é encontrada no Brasil.

1.2.1 *Culex (Culex) dolosus* (Lynch Arribálzaga)

A partir de adultos capturados na Província de Buenos Aires LYNCH ARRIBÁLZAGA (1891) descreveu o gênero *Heteronycha* e a espécie *Heteronycha dolosa*. O lectótipo macho foi designado por Casal e se encontra depositado no Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”, em Buenos Aires (BELKIN e col., 1968; ROSSI e col., 2002). A localidade tipo do exemplar é incerta, pois na etiqueta de identificação não existem informações adicionais, além do nome da espécie e na descrição original faz-se menção a cinco localidades diferentes de Buenos Aires: Las Conchas, Zárate, Baradero, Navarro e Chacabuco (BELKIN e col., 1968).

De acordo com BRÉTHES (1916), Giles teria sinonimizado equivocadamente *Heteronycha dolosa* com *Culex fatigans* Wiedemann em trabalho de 1901. Consequentemente, esta sinonímia foi seguida por autores que posteriormente trataram de *Cx. fatigans*, como THEOBALD (1901). COQUILLET (1906) colocou o novo gênero na sinonímia de *Culex* e posteriormente BRÉTHES (1916) seguiu essa indicação referente ao gênero e manteve o nome da espécie dado por Lynch Arribálzaga. Sendo assim, *Heteronycha dolosa* passou a ser *Culex dolosus*.

HOWARD e col. (1917) levantaram suspeita de que as fêmeas de *Heteronycha* pertenceriam, na verdade, ao gênero *Aedes*. Consequentemente, os autores acabaram discordando do procedimento tomado por Coquillett, por contradizer os caracteres morfológicos indicados originalmente.

De acordo com DYAR (1919), Lynch Arribálzaga teria feito a distinção entre *Culex* e *Heteronycha* valendo-se da presença de garras denteadas nas fêmeas deste último, pois esta seria a única diferença entre os dois gêneros. Entretanto, devido a uma associação errônea entre macho e fêmea, o autor acabou por descrever um macho de *Culex* e uma fêmea de *Aedes*, como se pertencessem ao mesmo gênero. Uma vez que a presença de garras denteadas não ocorre em fêmeas de *Culex*, Lynch Arribálzaga concluiu que se tratava de um novo gênero. Portanto, as fêmeas descritas como pertencentes ao gênero *Heteronycha* e a espécie *Heteronycha dolosa* estariam inseridas no gênero *Aedes*, antes da descrição de Lynch Arribálzaga. Sendo assim, a renomeação feita por Bréthes — como *Culex dolosus* — também seria inválida, uma vez que este autor se baseou no procedimento de Coquillett. Por exclusão, Dyar aponta *Aedes lynchii* Bréthes como sendo a provável espécie das fêmeas descritas por Lynch Arribálzaga, uma vez que no trabalho desse autor, todas as outras espécies comuns de *Aedes* são especificadas, menos esta.

Vale lembrar que *Aedes lynchii* foi descrito por Brethés em 1910 e posteriormente, entrou em sinonímia com *Aedes crinifer* Theobald (BELKIN e col., 1968).

Ainda em seu trabalho de 1919, Dyar coloca *Heteronycha* como subgênero de *Aedes* e mantém o nome da espécie dado por Lynch Arribálzaga denominando-a *Aedes (Heteronycha) dolosa* Lynch Arribálzaga.

Posteriormente, DYAR (1921) nomeia o macho descrito por Lynch Arribálzaga como *Culex dolosa (sic)* afirmando que, neste caso, o princípio da prioridade operou para restringir *dolosa* ao elemento *Culex*. O nome *Culex dolosus* seria referente ao

macho descrito inicialmente em 1891, enquanto a fêmea seria de *Aedes*, no caso, *Aedes dolosa*.

Mas, mesmo tendo feito a restrição de *Heteronycha* ao elemento *Aedes* em 1919, ocorreu a Dyar que *Heteronycha* já havia sido restringido ao *Culex* anteriormente e pelo princípio da primeira revisão, sua restrição não poderia ser citada. Este autor considera que a primeira revisão seria de THEOBALD (1901) e consistiria apenas na referência da sinonimização de *Heteronycha dolosa* com *Culex fatigans*. Porém, este procedimento incorreria em erro, pois a fêmea e o macho de *Heteronycha* não poderiam ser sinonimizados com *Cx. fatigans* por se tratarem de um *Aedes* e de outra espécie de *Culex*. Além disso, no trabalho de THEOBALD (1901) não constam explicações ou comentários sobre o seu procedimento de sinonimização e nem sobre o erro cometido por Lynch Arribálzaga em relação às fêmeas. Portanto, se a indicação de sinonímia errada for considerada como a primeira revisão, *Heteronycha* deveria ser considerado sinônimo de *Culex*. Se não, o uso do nome como subgênero de *Aedes* seria o mais indicado (DYAR, 1922). Por fim, o gênero *Heteronycha* foi restringido ao elemento *Culex*, o nome original da espécie dado por Lynch Arribálzaga foi mantido e essa passou a ser denominada *Culex (Culex) dolosus* (DYAR, 1928), designação que permanece até hoje.

Atualmente, duas espécies são consideradas sinônimas de *Cx. dolosus*: *Culex bilineatus* Theobald e *Culex bonariensis* Bréthes. *Cx. bilineatus* foi coletado na cidade de São Paulo, Brasil, por Lutz e descrito por THEOBALD (1903). PERYASSÚ (1908) fez uma redescrição da espécie e LANE (1951) colocou-a em sinonímia com *Cx. dolosus*.

Culex bonariensis foi coletado na localidade de San Isidro, em Buenos Aires, e descrito por BRÉTHES (1916). Em trabalho de DYAR (1919) consta citação referente a esta espécie como sendo membro do grupo *Salinarius*. Este autor suspeitava que *Cx. bonariensis* pudesse ser o *Culex* sinonimizado com *Culex fatigans* por Theobald (DYAR, 1922).

Não se sabe ao certo quem colocou *Cx. bonariensis* na sinonímia de *Cx. dolosus*. *Cx. bonariensis* integra lista de referência desta espécie pela primeira vez em DYAR (1928) e em trabalhos posteriores já aparece como sinônimo júnior de *Cx. dolosus*.

Uma espécie morfológicamente semelhante a *Cx. dolosus* é *Culex eduardoi* Casal & García. As duas espécies podem ser separadas por caracteres dos adultos e larvas de quarto estágio, porém são praticamente indistinguíveis pelas estruturas da genitália masculina. Por esse motivo, levanta-se a hipótese de que espécimes de *Cx. eduardoi* possam ter sido identificados como *Cx. dolosus* antes da descrição desta espécie por Casal e García, em 1968.

Os últimos trabalhos contendo dados sobre *Cx. dolosus* foram os de LANE (1953) e BRAM (1967), nos quais os autores fazem breves diagnoses das formas adultas, da larva, da pupa e da genitália masculina e apresentam ilustrações. Porém, é de se notar estes trabalhos são anteriores a descrição de *Cx. eduardoi* (CASAL e GARCÍA, 1968). Este fato, aliado a já ressaltada escassez de estudos sobre membros do subgênero *Culex*, reforça a hipótese acima levantada e, portanto, erros de identificação referentes às duas espécies podem perdurar até hoje.

O trabalho mais recente encontrado em literatura a tratar de aspectos da morfologia de *Cx. dolosus* é o de ROSSI (2006). Neste, o autor analisa a ocorrência

de uma cerda extra no oitavo segmento abdominal da pupa dessa espécie e aponta para a existência de possível complexo morfológico de espécies, denominado Complexo Dolosus.

DURET e BARRETO (1956) e FORATTINI e RABELLO (1965) analisaram espécimes de *Cx. dolosus* coletados no Estado de São Paulo, nos Municípios de Ribeirão Preto e Cotia, respectivamente, e verificaram grande variação na estrutura da genitália masculina, sobretudo em caracteres presentes no falossoma. Pequenas variações morfológicas também foram observadas em espécimes coletados na região de Pindamonhangaba, na Serra da Mantiqueira, identificados como *Cx. dolosus*. Estas variações não são suficientes para definir estes espécimes como uma nova espécie de *Culex*, mas podem ser indicativos da existência de formas morfológicas diferenciadas em populações de uma mesma espécie.

Sendo assim, se faz necessário estudo morfológico detalhado sobre a população de *Cx. dolosus* que ocorre nesta região da Serra da Mantiqueira.

2 JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos, diversos autores pesquisaram a fauna entomológica da região de Campos do Jordão, na Serra da Mantiqueira. Foram realizados estudos sobre espécies das ordens Hymenoptera (COELHO, 2002; GIMENES, 2003), Plecoptera (FROEHLICH, 1990, 2000), Coleoptera (MERLIM e col. 2006) e também sobre a comunidade bentônica (SCHROEDER-ARAÚJO e CIPÓLLI, 1986; OLIVEIRA e FROEHLICH, 1997; SURIANO e FONSECA-GESSNER, 2004). Porém, pouco se acrescentou ao conhecimento sobre membros da ordem Diptera, sobretudo os da família Culicidae. LANE e GUIMARÃES (1937) analisaram exemplares de culicídeos coletados na região em questão e descreveram uma espécie nova de *Wyeomyia*, a *Wyeomyia (Phoniomyia) antunesi*. Além deste estudo, mais recentemente foi feita a descrição morfológica dos ovos de *Anopheles antunesi* Galvão & Amaral e *Anopheles laneanus* Corrêa & Cerqueira por microscopia eletrônica de varredura (FORATTINI e col., 1997) e também a redescrição do adulto, da larva e a primeira descrição da pupa de *Anopheles laneanus* (SALLUM e col., 2000b).

Como foi mencionado anteriormente, *An. lanei* foi descrito a partir de espécimes coletados em Campos do Jordão, na Serra da Mantiqueira. Esta formação vegetal apresenta características próprias de climatologia, orografia, hidrografia, flora e fauna e a maior parte de sua extensão se encontra inserida no centro de endemismo Paulista (FEDAPAM, 1991; AGUIAR e col. 2003). Conseqüentemente espera-se que a região de Campos do Jordão comporte diversidade de espécies

endêmicas, nas quais se incluiria o *An. lanei*. Poucos estudos foram feitos sobre a espécie em questão, sendo o de LINTHICUM (1988) o mais recente. Neste trabalho, uma revisão da seção *Argyritarsis*, o autor analisa uma fêmea adulta e duas genitálias masculinas de *An. lanei*, procedentes de Campos do Jordão, e apresenta uma ilustração de genitália masculina baseada em um espécime coletado na cidade de Estância, Estado de Sergipe, Brasil. Porém, diferenças nas condições biológicas e ambientais das localidades de Campos do Jordão e Estância, somadas a discrepâncias morfológicas presentes no adulto e nas estruturas da genitália masculina sugerem que os espécimes analisados por Linthicum pertenceriam à outra espécie que não *An. lanei*. Obviamente, o uso das chaves propostas por LINTHICUM (1988) pode induzir o usuário a erros de identificação, ou seja, espécimes de outro táxon serão identificados como sendo de *An. lanei*.

Em relação ao *Cx. dolosus*, pode-se dizer que após sua descrição em 1891, poucas informações foram acrescentadas ao conhecimento sobre essa espécie. O último trabalho a adicionar dados sobre a morfologia dos adultos e formas imaturas foi o de BRAM (1967). Porém, é de se notar que este é anterior à descrição de *Cx. eduardoi* (CASAL e GARCÍA, 1968), espécie muito similar a *Cx. dolosus* e praticamente indistinguível dessa sob o aspecto de sua genitália masculina. Dados de literatura sobre taxonomia e sistemática do gênero e subgênero *Culex* são relativamente raros, bem como estudos de espécies sem comprovada implicação vetorial, como *Cx. dolosus*. Sendo assim, a correta identificação de espécies de *Culex*, sejam elas vetoras ou não, é dificultada e erros acabam se tornando recorrentes no decorrer desse processo.

Pouco se sabe do potencial vetor de *An. lanei* e *Cx. dolosus* e, por conta disso, estas são consideradas espécies de pouca importância para a Saúde Pública. De acordo com ROZEBOOM (1942), malariologistas devem ser capazes não só de reconhecer espécies de anofelíneos com implicação vetora, mas também aquelas que podem ser facilmente confundidas com os vetores potenciais de plasmódios. Portanto, mesmo que o *An. lanei* não seja considerado um vetor importante de malária humana, esta espécie faz parte do subgênero *Nyssorhynchus* que, como foi dito anteriormente, possui diversos táxons com potencial para transmitir plasmódios causadores da malária humana. Vale ressaltar que existe em literatura apenas um estudo sobre competência vetora em anofelíneos que efetivamente testou a infectividade de *An. lanei*, o de FONSECA e UNTI (1943) e, neste caso, o experimento foi feito com apenas dois indivíduos da espécie. Este mesmo conceito de Rozeboom também pode ser aplicado ao *Cx. dolosus* quando consideramos a implicação de membros do subgênero *Culex* na transmissão de arbovírus e filárias.

De acordo com MARTINS (1994) "... redescritões são extremamente desejáveis e incluem informações suplementares." uma vez que "As descrições originais, especialmente as antigas, omitem muitas vezes caracteres que agora são importantes para o conhecimento ou a classificação dos táxons".

Conseqüentemente, a problemática apresentada acerca da sistemática de *An. lanei* e de *Cx. dolosus* e a escassez de estudos sobre e sobre a fauna de Culicidae da região de Campos do Jordão vem reforçar a necessidade de pesquisas mais detalhadas sobre as populações de mosquitos que ocorrem da Serra da Mantiqueira. Dessa maneira, torna-se justificável uma definição morfológica detalhada das duas espécies em questão.

3 OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

- Contribuir para a sistemática de *Anopheles (Nyssorhynchus)* e de *Culex (Culex)*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Redescrever as formas adultas, macho e fêmea, e as formas imaturas de *Anopheles (Nys.) lanei*
- Redescrever as formas adultas, macho e fêmea, e as formas imaturas de *Culex (Cux.) dolosus*.
- Identificar as espécies de Culicidae que ocorrem no mesmo hábitat de *An. (Nys.) lanei* e *Cx. (Cux.) dolosus*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 COLETAS

Parte do material utilizado neste estudo é resultante de coleta realizada em fevereiro de 2001 no Pico do Itapeva, formação geográfica situada na divisa entre os municípios de Campos do Jordão e Pindamonhangaba (Fig.1). O ponto de coleta se encontra a aproximadamente 1800 metros de altitude, no lado pertencente ao município de Pindamonhangaba, nas adjacências do Parque Estadual de Campos do Jordão (PECJ), e suas coordenadas geográficas são: 22° 45.50' latitude Sul 45° 30.87' longitude Oeste de Greenwich. O desenvolvimento das formas imaturas coletadas foi acompanhado e, após a identificação, constatou-se que se tratava de *An. lanei* e de *Cx. dolosus*. Os adultos (machos e fêmeas) se encontram conservados a seco e as exúvias das larvas e pupas montadas em lâminas permanentes.

No primeiro semestre de 2006 foi realizada uma coleta adicional no mesmo local em questão. Nesta ocasião utilizaram-se conchas plásticas de 200 ml para obtenção das larvas e pupas e armadilha de Shannon para captura dos espécimes adultos. A coleta de adultos decorreu do crepúsculo vespertino ao período noturno, até aproximadamente 21 horas. Neste período, a temperatura do local baixou de 23 °C para 12 °C.

O material da coleta foi trazido ao laboratório da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP), onde se acompanhou o desenvolvimento

das larvas e pupas até a emergência dos adultos. Durante este procedimento, os imaturos foram mantidos individualmente, em frascos plásticos cobertos com tela e, após cada instar, as exúvias de larva e pupa eram recolhidas e conservadas em álcool 80%. Os adultos emergentes foram mortos com acetato de etila e posteriormente fixados em alfinetes entomológicos. Para auxiliar na identificação deste material foi feita a posterior retirada e dissecação das genitálias dos exemplares do sexo masculino. Após o procedimento de criação, foram confeccionadas lâminas em Bálsamo do Canadá das exúvias da larva de 4^o estágio e da pupa, correspondentes aos adultos, e das genitálias masculinas dissecadas.

O material resultante das duas coletas se encontra depositado na Coleção Entomológica da FSP-USP.

As técnicas de coleta bem como as de preparo e conservação de culicídeos estão descritas detalhadamente em FORATTINI (1962).

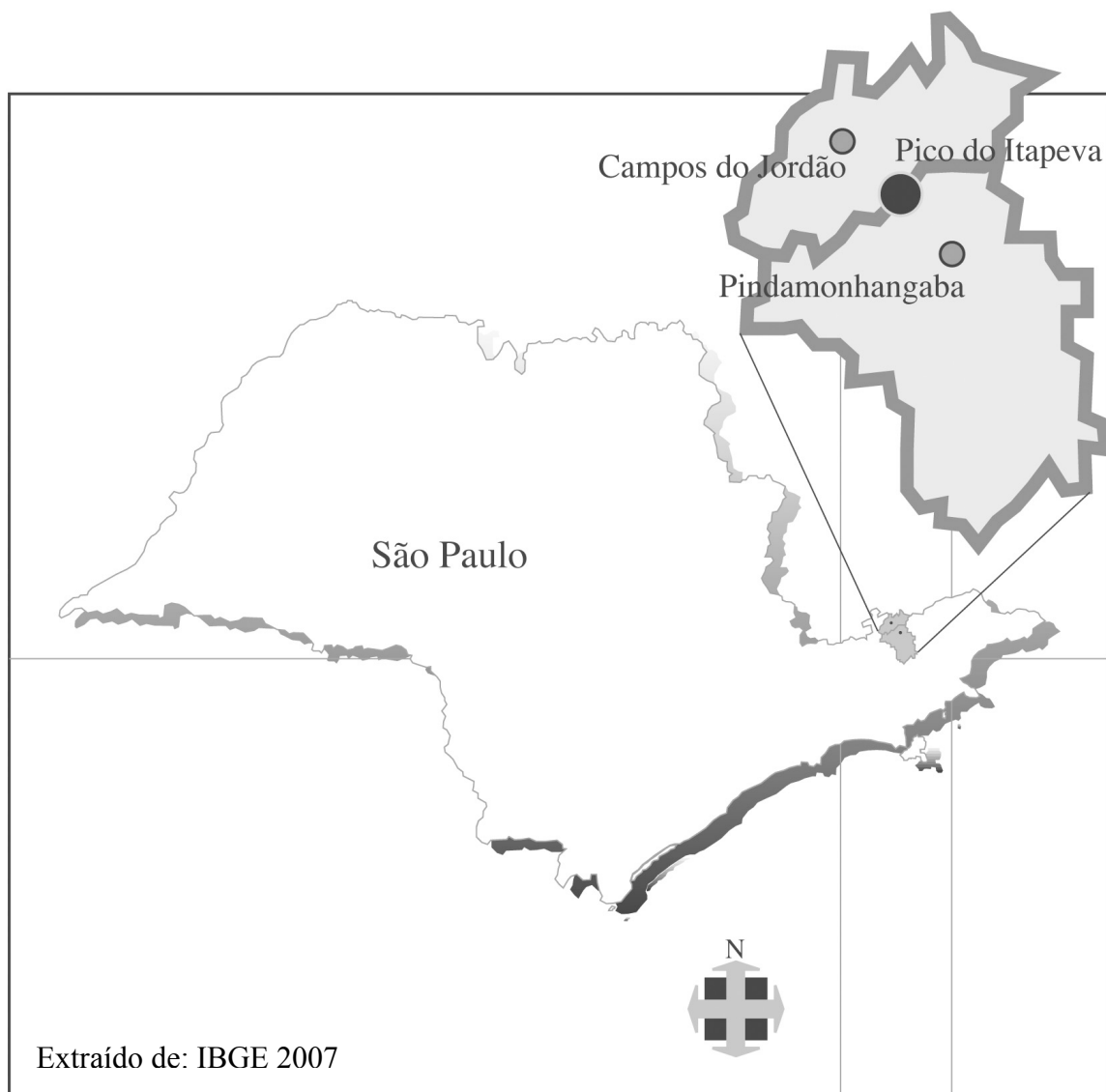


Figura 1. Mapa do Estado de São Paulo detalhando os municípios de Campos do Jordão e Pindamonhangaba e a localização do Pico do Itapeva.

4.2 ANÁLISE DO MATERIAL

Na etapa de quetotaxia das larvas e pupas foram analisados 12 indivíduos de cada espécie. Neste procedimento utilizou-se microscópio óptico modelo Diaplan, Leitz. Para verificar a disposição das cerdas seguiu-se HARBACH e KNIGHT (1980), com auxílio também de BELKIN (1962a, 1962b), KNIGHT (1971), KNIGHT e LAFFOON (1971) e FORATTINI (1996). Os resultados da quetotaxia são apresentados posteriormente em quatro tabelas, onde se observa a variação do número de filamentos de cada cerda e a moda, esta entre parênteses.

Na etapa de biometria de *An. lanei* foram analisados 7 machos adultos, 13 fêmeas adultas, 20 larvas e 20 pupas. A biometria da genitália masculina foi feita com apenas 4 indivíduos, devido ao escasso número de machos disponíveis. Na biometria de *Cx. dolosus* foram analisados 10 machos adultos, 7 fêmeas adultas, 17 larvas e 17 pupas. A biometria da genitália masculina foi feita com 10 indivíduos. A etapa de biometria dos adultos contou com o auxílio de um estereomicroscópio acoplado a uma ocular micrométrica digital, ambos da marca Wild Herrbrugg. Para medição das larvas e pupas utilizou-se ocular micrométrica da marca Leitz, adaptada ao microscópio óptico Diaplan, Leitz. As medidas de biometria dos adultos e das formas imaturas estão de acordo com BELKIN (1962a, 1962b).

No processo de redescrição das espécies foi examinado o maior número de espécimes disponíveis e a terminologia taxonômica empregada está de acordo com HARBACH e KNIGHT (1980) e FORATTINI (1996). A nomenclatura das manchas

claras e escuras das asas de *Anopheles* corresponde à WILKERSON e PEYTON (1990).

O trabalho inclui a elaboração de desenhos à traço das estruturas anatômicas das genitálias masculinas, larvas de 4^o estágio e pupas. As ilustrações foram feitas primeiramente à grafite e depois finalizadas com tinta nanquim. Neste processo utilizou-se câmara clara acoplada ao microscópio óptico Diaplan.

4.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE O LOCAL DE ESTUDO

Ao longo da costa leste Brasileira existem dois corredores de biodiversidade: o Corredor da Serra do Mar e o Corredor Central da Mata Atlântica. Estes incluem mosaico de usos do solo conectados a fragmentos de vegetação natural ao longo da paisagem e abrigam três dos quatro centros de endemismo existentes na Mata Atlântica. O Corredor da Serra do Mar é considerado um dos locais com maior índice de riqueza biológica deste bioma. Dentro de seus limites encontra-se o centro de endemismo Paulista, antigo centro Tupi, que abrange grande parte do noroeste do Estado de São Paulo e pequena porção do sul do Estado de Minas Gerais (AGUIAR e col. 2003). A formação vegetal da Serra da Mantiqueira está inserida nos limites do Corredor de biodiversidade da Serra do Mar (FEDAPAM, 1991).

A Serra da Mantiqueira se estende por três Estados da região sudeste do Brasil: Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro. Juntamente com a depressão do Vale do Paraíba, faz parte de um planalto cristalino que sofreu processos de flexão, fraturamento e erosão, resultando na formação de maciços, pontos isolados e vales

profundos. Ainda existem controvérsias em relação a sua formação geológica. De acordo com relatório da FEDAPAM (1991), esta dataria do Período Triássico da era Mesozóica. Já para AMORIM e PIRES (1996), este processo seria mais recente, uma vez que as atividades tectônicas teriam ocorrido na Era Cenozóica, durante o Oligoceno, e se seguiram até o Pleistoceno, coincidindo com a formação da Serra do Mar.

Esta formação vegetal é revestida por vários andares de vegetação remanescente de ecossistemas primitivos, embora exista certo grau de interferência ou degradação antrópica, mesmo nas áreas não ocupadas por agropecuária e núcleos urbanos. A flora é característica e diversificada, possuindo número considerável de espécies endêmicas, estando estas muitas vezes restritas ao topo de uma montanha isolada (FEDAPAM, 1991). Suas características climáticas dependem tanto das massas de ar que atuam em todo o sudeste, quanto do relevo montanhoso. Nas áreas de encostas da escarpa da Serra e no planalto sul de Minas, domina o clima mesotérmico brando úmido e mesotérmico brando semi-úmido, ambos com geadas esporádicas e temperaturas médias anuais entre 17 e 20°C. Nas altas encostas da Serra, o clima é mesotérmico brando superúmido, sem estação seca, com geadas frequentes e temperaturas médias anuais entre 10 e 15°C. Na região dos picos mais elevados, acima das cotas altimétricas de 1600 metros, o clima é mesotérmico mediano superúmido, também sem seca e com temperaturas médias anuais menores que 10°C. Nessas áreas, o constante resfriamento adiabático do ar não permite calor nem mesmo no verão (NIMER, 1989; FEDAPAM, 1991; IBGE, 2002).

A Serra da Mantiqueira exhibe seus aspectos mais característicos na região de Campos do Jordão, tanto pelo relevo quanto pela fitofisionomia do local. Esta região,

que exhibe grandes ondulações maciças entre 1700 e 2000 metros de altitude, desempenha importante papel na orografia do sudeste brasileiro e é considerada o principal ponto de irradiação e drenagem do sistema Mantiqueira. O próprio termo Mantiqueira tem significado em tupi-guarani de “local em que se originam as águas” ou “local de precipitações abundantes” (FEDAPAM, 1991).

As elevadas altitudes somadas as médias anuais de temperatura, fazem com que Campos do Jordão, juntamente com Itatiaia no Rio de Janeiro, seja considerado um dos locais mais frios do Brasil. A média anual de temperatura gira em torno de 13,6 °C e no inverno, as mínimas diárias são normalmente inferiores a 4,0 °C, chegando a 1,8 °C no solstício de julho. De abril a outubro, já foram registradas temperaturas inferiores a 0 °C, tendo chegado à 7,2 °C abaixo de zero no ano de 1948 (NIMER, 1989).

O município de Campos do Jordão está situado a nordeste do Estado de São Paulo e faz limite com os municípios de São Bento do Sapucaí, Santo Antônio do Pinhal, Pindamonhangaba e Guaratinguetá, no lado do Estado de São Paulo, e Wenceslau Braz, no lado do Estado de Minas Gerais. Ao norte, no que poderia se chamar planalto de Campos do Jordão, está localizado o Parque Estadual de Campos do Jordão (PECJ).

Com o auxílio do Instituto Florestal, SEIBERT e col. (1975) elaboram um plano de manejo para este Parque. Considerando que o Pico do Itapeva se encontra nas proximidades do PECJ, são feitas a seguir considerações sobre o local de estudo com base no plano de manejo acima citado.

4.3.1 O Parque Estadual de Campos do Jordão

Em março 1941, o então governador do Estado de São Paulo Adhemar de Barros, assinou decreto que desapropriou as terras da antiga fazenda da Guarda, criando assim o Parque Estadual de Campos do Jordão (PECJ), cujas coordenadas geográficas são: 22° 30' a 22° 41' latitude Sul e 45° 30' a 45° 31' longitude Oeste de Greenwich.

O ponto mais alto do parque está a aproximadamente 2.007 metros de altitude, correspondendo ao topo da Serra da Mantiqueira, enquanto o ponto mais baixo está a 1.030 metros, no vale do rio Sapucaí-Guaçú.

Este rio nasce a uma altitude média de 1700 metros e juntamente com os córregos Canhambora, Campo do Meio, Galharada e os ribeirões Casquilho e Coxim, forma a bacia que compõem o sistema de água do PECJ. Por serem rios de montanha, estes apresentam muitas corredeiras e leitos pedregosos, são pouco profundos, com águas frias, límpidas e muito oxigenadas.

Os índices pluviométricos anuais da região são bastante irregulares e podem variar de 1500 milímetros a mais de 2000 milímetros, em regiões localizadas acima dos 1800 metros. Esta inconstância ocorre principalmente devido ao efeito orográfico que acaba influenciando na distribuição das chuvas anuais. Por estar localizado na face interna da Serra da Mantiqueira, o Parque sofre pouca influência das chuvas provocadas por correntes de procedência marítima. A umidade relativa se mantém elevada durante o ano inteiro, oscilando ao redor de 70%.

A vegetação da região pode ser dividida primeiramente em dois grandes tipos: vegetação de mata e vegetação campestre. Em ambos os casos, estas ainda podem ser subdivididas em: vegetação natural e vegetação antropogênica, isto é, aquela que sofre modificação pela influência do homem. No PECJ, a formação vegetal natural que se sobressai é a floresta de *Araucaria-Podocarpus* (*Araucaria angustifolia* e *Podocarpus lambertii*), enquanto na formação vegetal antropogênica, se sobressai os reflorestamentos de coníferas. A floresta de *Araucaria-Podocarpus* é estruturalmente uma comunidade muito densa, pluriestratificada, com grande riqueza associada de epífitas, musgos, líquens, pteridófitos, bromeliáceas, orquidáceas, piperáceas, entre outros. Dentre as influências modificadoras que atuam na vegetação antropogênica, podemos destacar a exploração madeireira com corte seletivo, introdução de pastoreio extensivo, manejo dos campos pelo fogo e o impacto do processo desordenado de urbanização. Com relação aos campos do PECJ, pode-se dizer que estes se situam na parte superior dos espigões, ao longo de toda área do parque e adjacências, ocasionando um verdadeiro mosaico com as regiões de mata.

5 RESULTADOS

Deste trabalho resultaram os seguintes manuscritos:

MANUSCRITO 1. “Systematics of *Anopheles lanei* Galvão & Amaral, a Species of the Subgenus *Nyssorhynchus* Blanchard (Diptera: Culicidae)”, encaminhado para publicação no periódico Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.

MANUSCRITO 2. “Redescription of *Culex dolosus* (Lynch Arribálzaga), a species of the subgenus *Culex* Linnaeus (Diptera: Culicidae)”, a ser encaminhado para publicação no periódico Zootaxa.

5.1 MANUSCRITO 1

Systematics of *Anopheles lanei* Galvão & Amaral, a Species of the Subgenus

Nyssorhynchus Blanchard (Diptera: Culicidae).

**Systematics of *Anopheles lanei* Galvão & Amaral, a Species of the Subgenus
Nyssorhynchus Blanchard (Diptera: Culicidae).**

LUANA VALENTE SENISE ¹; MARIA ANICE MUREB SALLUM ¹

¹*Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de
São Paulo, Avenida Dr. Arnaldo 715, CEP 01246-904, São Paulo, Brazil.*

Email address: luasenise@usp.br; masallum@usp.br

Corresponding author

Maria Anice Mureb Sallum, Avenida Dr. Arnaldo, 715, Cep 01246-904, São Paulo,
Brazil. Email: *masallum@usp.br*

Summary

Anopheles (Nyssorhynchus) lanei Galvão & Amaral was described from specimens collected in Campos do Jordão, Serra da Mantiqueira, São Paulo State, Brazil. Few studies were conducted on the species. Linthicum (1988) re-described *An. lanei* based on one adult female and two male genitalia. On the male genitalia illustration is the indication that the specimen is from Estância municipality, Sergipe State, Brazil. However, in the list of examined specimens, there is no individual from that municipality. Morphological evidence of male and female adults and male genitalia, in addition to ecological differences between Campos do Jordão and Estância suggest that the specimens examined by Linthicum (1988) do not belong to *An. lanei*. To solve this taxonomic problem, *An. lanei* is here re-described using morphological characteristics of adult, male and female, fourth instar larva and pupa. The specimens were collected in Pico do Itapeva, Pindamonhangaba municipality, São Paulo State. The larva, pupa, and male genitalia are illustrated. Diagnostic morphological characters of adults, male genitalia, fourth instar larva and pupa are provided to distinguish *An. lanei* from other species of the *Argyritarsis* section. Species distribution data are based on the published literature records and bionomics data are based on both literature records and field data.

KEYWORDS: Culicidae, *Anopheles lanei*, *Nyssorhynchus*, Systematics, Serra da Mantiqueira, Brazil.

Introduction

Anopheles Meigen includes 444 formally named species and 40 unnamed members of species complexes, divided in six subgenera (Harbach 2004). The subgenus *Nyssorhynchus* Blanchard includes some of the most important vectors of human malaria parasites in Central and South America (Sallum & Wilkerson 1997).

Galvão and Amaral (1938) captured larvae and male and female adults of a species of *Nyssorhynchus* they described and named *Anopheles lanei* Galvão & Amaral. The type locality is Campos do Jordão municipality, in Serra da Mantiqueira, State of São Paulo, Brazil. The holotype and 22 paratypes were deposited in the Entomological Collection of Departamento de Parasitologia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (FMUSP).

Since its original description, few studies have been carried out on *An. lanei*. Pinto (1939) examined two paratypes, one male adult with associated genitalia slide and one female adult with associated larval skin, and confirmed that the anatomical characteristics defined by Galvão and Amaral (1938) could distinguish *An. lanei* from the remaining *Anopheles* species. Linthicum (1988) revised the systematics and internal classification of the *Argyritarsis* section and included a re-description of all life stages of *An. lanei* and an illustration of male genitalia. Linthicum listed the individuals he used to re-describe *An. lanei*, indicating that the specimens were from Campos do Jordão; however, the illustration of the male genitalia was generated from a specimen collected in Estância municipality, State of Sergipe, Brazil. Morphologic evidence, in addition to ecological differences between Campos do Jordão and Estância, suggests that the specimens examined by Linthicum (1988) belonged to any other species of *Nyssorhynchus* but not *An. lanei*. The objective of

this study is to re-describe *An. lanei* using morphological characteristics of all life stages, except eggs, of specimens collected in the Pico do Itapeva, Pindamonhagaba municipality, in the ecoregion of the type-locality.

Materials and Methods

Morphological characters of the adult male and female and the male genitalia were examined and measured. Pupal and larval chaetotaxy were examined, measured and counted for the descriptions. Nomenclature adopted for the descriptions of the adults male and female, larva and pupa follows Harbach and Knight (1980) and Forattini (1996), except for the wing spots and veins, which is that of Wilkerson and Peyton (1990) and Faran (1980). Measurements of the adults and immatures follow Belkin (1962).

Morphological characters of seven male adults, 13 female adults, 20 larvae, 20 pupae and 4 male genitalia were measured. Immature stages mounted in microscope slides were measured using an ocular micrometer adapted to an optical microscope; the adults were measured with a digital ocular micrometer adapted to a stereomicroscope. Setae on figures 2 and 3 do not represent the mode of branches showed in tables 1 and 2. Abbreviations for the life stages are: F, adult female; M, adult male; G, male genitalia; L, larva; Le, larval exuviae; Pe, pupal exuviae; E, egg. All the specimens are deposited in the Entomological Collection of Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

Taxonomic treatment

Anopheles (Nyssorhynchus) lanei Galvão & Amaral, 1938. Holotype female. Vila Emilio Ribas, Campos do Jordão, São Paulo, Brazil (FMUSP, 86-1, ACC N° 220, not found, possible lost).

Anopheles (Nyssorhynchus) lanei of Pinto 1939: 355, 387, 388 (paratype info.). Lane 1939: 25 (description info.). Galvão 1940: 474-475 (systematics and bionomics info.). Unti and Ramos 1942: 95-97, 101, 103 (distribution and bionomics info.). Unti 1943: 96-97, 99 (bionomics info.). Fonseca and Unti 1943: 45, 49-50 (infectivity info.). Russel et al. 1943: 37, 41, 46 (taxonomy, distribution and bionomics info.). Levi-Castillo 1949: 11, 16, 29, 54-58, 73, 77, 82, 87, 93, 96, 99, 102 (taxonomy, distribution, bionomics, L*, G*, F*, E*). Lane 1953: 249-251 (taxonomy, L*, G*, E*). Forattini 1962: 325, 407, 419-420, 475, 483, 489 (taxonomy, distribution, F*, L*, G*).

Female. *Head.* Integument dark brown; interocular space width 0.09-0.14 mm (mean = 0.12 mm), with 10-15 long pale setae and tuft of shorter, narrow pale scales; vertex with semi-erect spatulate pale scales; occiput with forked and long semi-erect pale scales medially and spatulate and broad dark scales laterally; ocular setae long, pale anteriorly and dark laterally, ocular scales broad and pale; gena, palpifer and clypeus bare, postgenal setae erected and dark. Antenna length 1.45-1.80 mm (mean = 1.60 mm); pedicel and flagellum integument dark brown, pedicel with small, broad pale scales dorsally, flagellomere whorls with long dark setae, flagellomere 1 with a tuft of narrow, long, curved, spatulate pale scales, mostly on dorsal surface, flagellomeres 1-13 covered with minute whitish setae, flagellomere 1 1.05-1.30

(mean = 1.15) length of flagellomere 2, antenna 0.60-0.70 (mean = 0.65) proboscis length. Maxillary palpus length 2.15-2.60 mm (mean = 2.40 mm); ratio of length of palpomeres 1-5 to total length of palpus, 1 = 0.05-0.07; 2 = 0.25-0.28; 3 = 0.34-0.38; 4 = 0.16-0.19; 5 = 0.12-0.14; palpomere 2 0.70-0.85 (mean = 0.75) length of palpomere 3; palpomere 4 1.20-1.5 (mean = 1.30) length of palpomere 5; maxillary palpus 1.20-1.35 (mean = 1.30) length of forefemur, 0.95-1.05 (mean = 1.00) length of proboscis. Palpomere 1 and basal 0.3 of palpomere 2 with erect dark scales, distal 0.6 of palpomere 2 with semi-erect dark scales, palpomeres 3 with decumbent dark scales, joint of palpomeres 2-3 and apex of palpomere 3 with bands of pale scales dorsally, palpomere 4 with decumbent dark scales, palpomere 5 pale scaled, with long, whitish setae at apex. Proboscis length 2.05-2.70 mm (mean = 2.40 mm), labial scales dark with golden sheen, labial basal setae long and dark. *Thorax*. Scutal integument pruinose, with dark brown, not pruinose, longitudinal stripes as follows: a median stripe along acrostichal area extending from anterior promontory to prescutellar area, a pair of broad, subdorsal stripes extending posteriorly from prescutal suture to scutellum, a pair of spots posterior to prescutal suture. Acrostichal, anterior dorsocentral, posterior dorsocentral, antealar, anterior scutal fossal, lateral scutal fossal, median scutal fossal, posterior medial scutal, posterior scutal fossal, prescutellar and supraalar setae strongly developed, long, dark brown; median anterior promontory setae long, whitish, silver; acrostichal, anterior dorsocentral, antealar, posterior dorsocentral, posterior scutal fossal, lateral scutal fossal, median scutal fossal, lateral prescutellar, median prescutellar and supraalar scales spatulate, white. Scutellum integument grayish, with a median dark spot, 13-16 long, dark setae, 6-11 shorter, whitish setae, white spatulate scales along posterior

margin. Mesopostnotum bare, dark brown with yellowish sparse areas. Pleural integument dark brown with pollinosity; metepisternum whitish; postprocoxal membrane, anepisternal cleft, lower anterior and medial mesokatepisternum, medial proepisternum and postpronotum, medial and anterior mesanepimeron and above prealar knob grayish. Antepronotum with 2-6 (mode = 4) ventral setae, 4-7 (mode = 6) dorsal setae, a tuft of dorsal dark scales. Setae on pleural areas as follow: postspiracular setae absent; reduced and few pale prespiracular; few, moderately developed upper proepisternal; few, moderately developed upper and lower mesokatepisternal, numerous, moderately developed upper mesepimeral and prealar; most pleural setae dark brown, prespiracular setae pale yellow. Scales on pleural areas as follow: few lower prealar, lower mesokatepisternal, upper mesepimeral scales. Basalare with few dark setae and patch of pale scales. *Halter*. Integument yellowish, scabellum bare, pedicel with some pale scales distally, capitellum proximal surface bare, dorsal and distal surfaces covered with pale yellow scales.

Abdomen. Integument dark brown, with grayish pollinosity, abdominal scales spatulate, broad spatulate in sterna; length 3.50-4.0 mm (mean = 3.70); tergum I without scales, with sparse dark setae, short pale setae medially, terga II-VII with pearly scales medially, mainly posteriorly, with a pair of dark scales spot posteriorly, long dark brown setae sparse on surface, mostly laterally, posterolateral tufts of dark scales present on terga IV-VII, rarely on III, always absent on II; sternum I with sparse dark setae, sterna II-VII with sparse dark setae and pale scales medially.

Segment VIII. Tergum covered with golden yellow scales, sternum with dark scales medially and pale scales laterally, sparse dark setae on ventral and dorsal surfaces.

Legs. Integument and pattern of dark and pale scales and setae on coxae, trochanters,

femora and tibiae similar to *Argyritarsis* Section (see Linthicum 1988 for details); foretarsomeres 1, 2 and 3 dark, with apical pale ring, foretarsomeres 4 and 5 entirely dark; anterior and posterior surfaces of midtarsomere 1 dark, with apical pale ring, a midlongitudinal pale stripe on ventral and dorsal surfaces; midtarsomeres 2 and 3 dark, with apical pale ring, midtarsomere 4 and 5 entirely dark, with some lighter dark scales at apex of midtarsomere 5; hindtarsomere 1 dark, with evident apical pale ring and midlongitudinal pale stripe on ventral and dorsal surfaces, hindtarsomere 2 dark-scaled at basal 0.30-0.52 (mean = 0.45), hindtarsomeres 3, 4 and 5 entirely white scaled. *Wing*. Dark scales dark brown to black, pale scales white, length 3.70-4.70 mm (mean= 4.5 mm); basal dark, sector pale, accessory sector pale and preapical pale spots absent, humeral dark spot either absent or present, subcostal pale and prehumeral dark present, basal pale and prehumeral pale fused into a single basal pale spot, presector dark and sector dark fused into a single medial dark spot, preapical dark and apical dark fused into a single apical dark spot. Veins SC, R₁ and parts of R₅ and R₂+R₃ with similar pattern of dark and pale spots.

Male. Similar to female, except for the following sexual differences. Maxillary palpus length 2.80-3.0 mm (mean = 2.90); ratio of length of palpomeres 1-5 to maxillary palpus length, 1 = 0.042-0.046, 2 = 0.26-0.30, 3 = 0.36-0.38, 4 = 0.12-0.15, 5 = 0.15-0.18, palpomere 2 0.70-0.80 (mean = 0.77) length of palpomere 3, palpomere 4 0.70-0.90 (mean = 0.80) length of palpomere 5, maxillary palpus length 1.50-1.55 (mean = 1.53) forefemur length, maxillary palpus length 0.95-1.05 (mean = 1.00) proboscis length; palpomere 1 with erected dark scales, palpomere 2 with semi-erected dark scales at basal 0.3, distal 0.7 with decumbent dark scales, a faint

dorsal line of pale scales, apex with band of white scales, palpomere 3 dark scaled, with white band at base, with midlongitudinal dorsal line of white scales and white patch at apex, inner surface with tuft of dark brown setae at apex, palpomere 4 dark scaled, dorsally with pale spots at apex and base, inner surface bare, long dark and pale setae at dorsal and ventral margins, palpomere 5 dark scaled, dorsal surface covered with white scales from base to apex, dark and pale setae at outer surface. Antennal length 2.05-2.20 mm (mean = 2.14 mm), pedicel bare with diameter approximately 1.5 of female pedicel; flagellum integument whitish, whorls brown, tufts of long dark setae progressively shorter toward distal segments, flagellomere 1 with tuft of long, narrow white scales dorsally, flagellomeres 13 and 14 integument brown, covered with minute whitish setae. *Segment VIII*. Tergum mostly covered with golden yellow, white and dark scales laterally; sternum dark scaled. *Legs*. Hindtarsomere 2 dark at basal 0.40-0.60 (mean = 0.50). *Genitalia* (Figs. 1A-D). Ninth tergal not developed, membranous; sternum rectangular, about 0.20 length of gonocoxite laterally. *Gonocoxite* (Fig. 1A). Length about 3.20 maximum width; with five tergomedial setae, a long, slender apicomedial seta. Parabasal seta apically hooked, moderately short, about 3.20 length of its tubercle. Accessory setae hooked at apex, ventral seta about 0.80 length of dorsal seta, about 0.30 length of gonocoxite, dorsal seta about 0.40 length of gonocoxite. Internal seta slender, about 1.05 length of accessory ventral, 0.80 length of accessory dorsal setae. Dorsomedial rim about 0.15 length of gonocoxite. *Gonostylus* (Fig. 1A). About 0.85 length of gonocoxite, gonostylar claw about 0.45 length of setae *b*, stout, moderately sclerotized. *Dorsal claspette* (Fig. 1A). About 0.45 length of gonocoxite; apex with 3 setae; setae about 0.40 length of dorsal claspette, curved mesad, dorsal seta with prominent basomesal

projection. *Ventral claspette* (Fig. 1C). About 0.35 length of gonocoxite, without spicules. In ventral aspect, apex wide, laterally produced into two well developed, striated, rounded anterolateral lobes; apically with deep, broad, sclerotized median sulcus between lobes. Preapical plate absent. Basal lobules expanded; refringent structure absent. *Phallosome* (Fig. 1B). About 0.50 length of gonocoxite and 1.40 length of ventral claspette; aedeagus long, narrow, moderately sclerotized, with hyaline apex, 1.40 wider than long, ventromesal subtriangular projections absent, subapical leaflets moderately sclerotized, slightly serrate, about 0.35 length of phallosome. *Proctiger* (Fig. 1D). Apex hyaline, with wrinkles and sclerotized bars laterally.

Fourth instar larva (Fig. 2A-D). Position and development of setae as figured; range and modal number of branches in Table 1. *Head* (Fig. 2A). Length 0.70-0.80 mm (mean = 0.75) (n = 4), width 0.65-0.75 mm (mean = 0.70) (n = 4), length about 1.10 of width, somewhat ovoid in shape; integument moderately pigmented, yellowish, with dark brown spots and bands (Fig. 2A); collar strongly pigmented dark brown, dorsomentum and ventromentum strongly sclerotized; antenna length 0.35-0.45 mm (mean = 0.40 mm), width 0.05-0.06 mm (mean = 0.06), 6.00-7.80 (mean = 7.00) longer than wide; seta 1-A inserted 0.10-0.15 mm (mean = 0.12) distant from base of antenna, ratio of distance 1-A to base / antenna length 0.25-0.35 (mean = 0.30), ratio of distance 1-A to base / antenna width 1.75-2.35 (mean = 2.05), 4-A 1.20-1.55 (mean = 1.40) length of 2-A, 4-A 1.40-2.10 (mean = 1.80) length of 3-A; distance between bases of 1-C 0.06-0.09 mm (mean = 0.07 mm), length of 2-C 0.25-0.35 mm (mean = 0.30), distance between bases of 2-C 0.03-0.04 mm (mean =

0.04), width of 2-C at base 0.006-0.007 mm (mean = 0.006), 2-C 1.15-1.70 (mean = 1.40) length of 3-C, 3-C dendritic, strongly sclerotized, length 0.20-0.26 mm (mean = 0.24), clypeal index 1.35-2.00 (mean = 1.60), length of 4-C 0.07-0.12 mm (mean = 0.09), distance between bases of 4-C and 2-C 0.09-0.13 mm (mean = 0.12), distance between bases of 4-C and 3-C 0.08-0.13 mm (mean = 0.11). *Thorax* (Fig. 2B). Pro-, meso- and metathorax with continuous midlongitudinal pale stripe, pale yellow to cream; outer to this, a green, a pale brown and a dark brown longitudinal stripes; setae 1-P multi-branched, with secondary filiform branches, 11, 12, 14-P acicular and long; 2-M forked, 14-M asymmetric and long; 1-T forked, usually double, 9-T acicular. *Abdomen* (Figs. 2B, D). Abdominal segments also with midlongitudinal pale stripe, segments I-VII with four tergal plates: a large anteromesal, dark brown, progressively pale brown posteriorly, a small, dark brown posterior plate, and two anterior, very small, rounded, dark brown plates; segment VIII somewhat green in color, with a single anteromesal, dark brown plate, progressively pale brown posteriorly, tergal plate of segment VIII 1.40-1.85 (mean= 1.65) length (from anterior to posterior margin) of tergal plate of segment VII; seta 1-I filiform, symmetric, seta 1-II-VII palmate, leaflets lanceolate, with smooth margins and an irregular, truncate apex. *Spiracular apparatus* (Fig. 2D). Pecten with a dorsoventral dark pigmented line, with 18-23 (mode = 19) alternate, long and short teeth, 3-5 long (mode = 4) and 15-19 (mode = 15) short spines, long spines 2.0-2.80 (mean = 2.30) length of short spines.

Pupa (Fig. 3A-B). Position and development of setae as figured; range and modal number of branches in Table 2. Integument lightly tanned, light yellow.

Cephalothorax (Fig. 3A). Head shield and wing, mouthparts and antennal cases weakly pigmented, light yellow; leg cases moderately pigmented; antennal cases with dark areas at flagellomere joints; posterolateral region, above wing cases and lateral portion of metanotum, lateral to setae 12-CT, with dark yellow areas; metanotum moderately pigmented medially; 12-CT 1.15-1.60 (mean = 1.35) length of 10-CT and 1.35-1.95 (mean = 1.70) length of 11-CT, 11-CT 0.70-0.95 (mean = 0.80) length of 10-CT. Trumpet angusticorn, pinna moderately pigmented, yellowish to light brown, 3.10-4.70 (mean = 3.90) length of meatus. *Abdomen* (Fig. 3B). Abdominal terga and lateral margins of segments I-VIII weakly pigmented, pale yellow; abdominal sterna usually weakly pigmented; anteromesal region of segments II and III moderately pigmented; abdomen length (including segment IX) 2.75-3.75 mm (mean = 3.30 mm); ratio of length of seta 9-III / 9-II 1.30, 9-IV / 9-III 2.40, 9-V / 9-IV 2.20, 9-VI / 9-V 1.90, 9-VII / 9-VI 1.40 and 9-VIII / 9-VII 1.05; ratio of length of 9-II / II 0.035, 9-III / III 0.04, 9-IV / IV 0.10, 9-V / V 0.20, 9-VI / VI 0.5, 9-VII / VII 0.40 and 9-VIII / VIII 0.40; ratio of length of segment VII / VI 1.01-1.15 (mean = 1.05), VIII / VI 0.90-1.05 (mean = 0.95), VIII / VII 0.80-0.95 (mean = 0.90); width / length ratio (width at posterior margin) of segment VI 2.05-2.30 (mean = 2.20), VII 1.85-2.10 (mean = 1.95), VIII 1.90-2.20 (mean = 2.05); seta 7-II / 6-II ratio about 0.55. *Genital lobe* (Fig. 3B). Lightly tanned in female, slightly darker in male, male genital lobe approximately 1.70 length of female genital lobe. *Paddle* (Fig. 3B). Weakly pigmented, pale yellow, base of paddle, external buttress and midrib darker than rest of paddle, presence of serration externally at midlateral margin, length of marginal spicules 0.02-0.03 mm (mean = 0.025 mm), paddle length

0.90-1.05 mm (mean = 0.95 mm), width 0.60-0.75 mm (mean = 0.65 mm), width / length ratio 0.65-0.75 (mean = 0.70).

Material examined

Type specimens. Paratypes. BRAZIL: SÃO PAULO, Serra da Mantiqueira, Campos do Jordão, Vila Capivari, A.D. F do Amaral, coll.; III-1938, A.L.A Galvão and A.D.F do Amaral det. IV-1938. Deposited in Faculdade de Saúde Pública collection, Universidade de São Paulo, São Paulo (FSP-USP ACC N° E-1894, E-1895, E-1896). Not type specimens. Thirty one specimens were examined, as follows. Brazil, State of São Paulo, Campos do Jordão and Pindamonhangaba, Pico do Itapeva (22° 45.50' S 45° 30.87' W), Sallum and Wilkerson coll.; 20-XI-2001, Sallum det.: E-12344 F LePe, E-12345 F LePe, E-12346 F LePe, E-12347 F, E-12348 F, E-12349 F LePe, E-12350 M LePe G, E-12351 M LePe G, E-12352 M LePe G, E-12353 F LePe, E-13354 F LePe, E-12355 F LePe, E-12356 F, E-12357 M Pe, E-12358 F LePe, E-12359 F, E-12360 M LePe G, E-12361 F LePe G, E-12362 M LePe, E-12363 M LePe, E-12364 LePe, E-12366 LePe, E-12368 Pe, E-12441 LePe, E-12444 Le, E-12445 Le; Sallum et al. coll., 17-II-2006, Senise det.: E- 12917 L, E-12918 L, E-12919 L, E-12920 L; Barreto et al. coll., XI-1938: 5859 G.

Distribution

An. lanei is probable an endemic species of Serra da Mantiqueira (SM), southeast Brazil. SM is inserted in an endemism center, inside the limits of the biodiversity corridor of Serra do Mar (Aguiar et al. 2003). *An. lanei* is known from the type locality, Campos do Jordão and Pico do Itapeva, Pindamonhangaba

municipality, both situated in SM. Additionally, this species was reported in San Pedro, Argentina, (Del Ponte 1941) and in the States of Bahia (Figueiredo 1940), Rio de Janeiro (Ferreira 1964) and Espírito Santo (Andrade & Brandão 1957). Del Ponte (1941) captured one adult that was identified as *An. lanei*, in San Pedro municipality, Argentina. Since then, this species has not been reported in Argentina. Ecological differences among the type locality of *An. lanei* and the localities in the states of Bahia and Espírito Santo, from where *An. lanei* was reported, suggest that the specimens may belong to another *Nyssorhynchus* species. Ferreira (1964) reported *An. lanei* in Rio de Janeiro State; however, there were no details about where the specimens were collected.

Bionomics

Immatures of *An. lanei* were taken from permanent fresh water habitats, springs and lagoons and also in ditches and ponds connected to streams and rivers (Galvão & Amaral 1938; Pinto 1939; Galvão 1940; Unti 1943). The water is cold, about 15°C, and well oxygenated, with a small amount of decomposing organic matter and emergent aquatic vegetation, on the shade, partial or full sun. The species seems to be restricted to high altitudes (Unti & Ramos 1942; Unti 1943; Ramos 1943). Female adults are zoophilic and exophilic (Galvão & Amaral 1938; Russel et al. 1943; Unti 1943). In a field collection carried out in Pico do Itapeva, Pindamonhangaba municipality, at approximately 1800 meters above sea level, immatures of *An. lanei* were found in a ground pool among emergent vegetation. The pool was connected to a fast running, fresh water stream. *Anopheles lanei* was the only Culicidae found in that larval habitat.

Results of an infectivity experiment with *Plasmodium* sp. employing two specimens of *An. lanei*, showed that neither was infected (Fonseca & Unti 1943). However, considering the small sample size, it is more plausible to consider that medical importance of the species is unknown.

Discussion

The subgenus *Nyssorhynchus* includes three sections, Albimanus, Argyritarsis and Myzorhynchella. The Argyritarsis section is divided in the Albitarsis and Argyritarsis Groups. The latter can be distinguished from the former by the absence of a pair of submedial stripes of white scales on sternum I (Linthicum 1988). The Argyritarsis group is subdivided in four subgroups: Argyritarsis composed of *Anopheles argyritarsis* Robineau-Desvoidy; *Anopheles sawyeri* Causey, Deane, Deane & Sampaio; and three monotypic subgroups, i.e., Pictipennis, Darlingi and Lanei. The adult female of Argyritarsis, Darlingi and Lanei can be separated from those of the Pictipennis subgroup by having palpomere 5 entirely pale scaled; flagellomere 1 with pale scales; scutal scales small; foretarsomere 1 without basal pale spot, hindtarsomere 2 dark scaled in less than basal 0.65; wing costal vein with presector pale spot present, and posterolateral scale tufts present on abdominal terga III-VII. The subgroups Argyritarsis and Lanei can be distinguished from Darlingi by the prehumeral dark spot of the costal vein not greatly enlarged, at most equal to humeral pale spot; palpomere 4 without a patch of white scales, upper mesepimeral scales present and anterior mesepimeral scales absent (Linthicum 1988).

According to Linthicum (1988), female adults of subgroup Lanei can be distinguished from those of subgroup Argyritarsis by possessing hindtarsomere 2

dark scaled on basal 0.55, humeral and presector pale spots fused, more than 10.0 length of prehumeral dark spot, posterolateral scales tuft present on terga II-VII. However, it is noteworthy that the specimens Linthicum (1988) used to redescribe and illustrate *An. lanei* may belong to another species of the *Nyssorhynchus*, for reasons which we will explain in the following paragraphs.

When using Linthicum's (1988) adult identification key, it is not possible to key out either specimen of *An. lanei* collected in the type locality or the type specimens deposited in the FSP-USP collection. The diagnostic characters of Linthicum, contrast with those of Galvão and Amaral (1938) and Forattini (1962) because in *An. lanei*, the posterolateral scales tuft is always absent on tergum II. However, Linthicum used the presence of posterolateral scales tuft on tergum II to separate *An. lanei* from *An. sawyeri* and *An. argyritarsis*. Within the *Argyritarsis* section only *Anopheles braziliensis* (Chagas) and *Anopheles darlingi* Root possess posterolateral scale tufts on tergum II. Moreover, Linthicum's specimen differs from *An. braziliensis* by the absence of submedial stripes of white scales on sternum I, and from *An. darlingi* by not possessing prehumeral dark spot greatly enlarged and anterior mesepimeral scales always absent. More importantly, male genitalia characteristics of the specimen illustrated by Linthicum (1988) are distinct from those of Galvão and Amaral (1938). Also, when using Forattini's (1962) male genitalia identification key, Linthicum's specimen was keyed out as a species that is morphologically similar to *An. argyritarsis*, whereas it is impossible to identify the adult as any species of the *Argyritarsis* section. In examining the material examined by Linthicum, we noted that three paratypes, one female adult and two male genitalia, were the only specimens examined, and all of them were collected in

Campos do Jordão. However, the illustration on page 261 shows the male genitalia of a specimen collected in Estância, Sergipe State, Brazil. This specimen is not included in Linthicum's list. Consequently, we believe that the illustration was incorrectly labeled as *An. lanei*. Additionally, ecological differences between Estância and Campos do Jordão area support the hypothesis that the male genitalia of the specimen from Estância may belong to a species of the *Argyritarsis* section that is morphologically similar to *An. argyritarsis*, perhaps an undescribed species of this section, while the adult female may belong to a species of the *Albimanus* section, which was mislabeled as *An. lanei*. The region of Campos do Jordão is situated in Serra da Mantiqueira, 1500 meters above sea level with a low annual mean temperature, below 15°C, while Estância is situated in a restinga vegetation area, near the coast, 30 meters above sea level and annual mean temperature above 18°C (Müller 1974; Nimer 1989). Finally, comparing specimens which were recently collected in Pico do Itapeva, Pindamonhangaba, Campos do Jordão area, with the type specimens, it is possible to identify them with confidence as *An. lanei* of Galvão and Amaral. These specimens include male and female adults with associated immatures.

Anopheles lanei can be separated from *An. darlingi*, *An. argyritarsis* and *An. sawyeri* by a small prehumeral dark and a minute humeral dark spots on costal vein, which can be sometimes absent; in the male genitalia, by having the aedeagus with a hyaline apex, wider than long, slightly serrate subapical leaflets, and by the characteristic shape of ventral claspette. Additionally, *An. lanei* can be separated from *An. darlingi* by the absence of anterior mesepimeral pale scales and posterolateral tuft of scales absent on tergum II; from *An. argyritarsis* by the

presence of a distinct pale ring at apex of hindtarsomere 1, whereas it is usually absent in the latter and, when present, is very small; abdominal terga scales mostly white, while in *An. argyritarsis* scales are predominantly yellow; in the male genitalia, by the presence of basomesal projections on setae of dorsal claspette. *An. lanei* can be separated from *An. sawyeri* by the presence of apical pale rings in midtarsomeres 1 and 2, and absence of a triangular dark spot on prescutellar area; ratio of palpus length and proboscis length of *An. lanei* is approximately 1, while in *An. sawyeri* it is about 0.85; apex of the aedeagus of *An. lanei* is hyaline and conical, without ventromesal subtriangular projection, whereas in *An. sawyeri* the apex of the aedeagus is somewhat round, as wide as long, and ventromesal subtriangular projection is present.

Because there were no immature specimens of *An. lanei* available to Linthicum (1988), the diagnostic characteristics of the fourth instar larva and pupa refer to those of Galvão and Amaral (1938), Galvão (1940, 1943) and Lane (1953). Consequently, the fourth instar larva identification key allows a correct identification of specimens of *An. lanei*. Similar to other members of the *Nyssorhynchus*, fourth instar larva of *An. lanei* (Fig. 2A-D) have abdominal setae 1-III-VII palmate, with smooth-margined lanceolate leaflets, and setae 5-7-C plumose. Generally, it is not possible to separate both *Argyritarsis* and *Albimanus* sections by the fourth instar larval characteristics as can be observed in Faran and Linthicum's (1981) and Linthicum's (1988) identification keys. Comparing fourth instar larva of *An. lanei* with those of other species of the *Argyritarsis* section, it is evident that it is morphologically similar to *An. argyritarsis*, *An. sawyeri* and *An. darlingi* by possessing seta 1-P never palmate; however, it can be distinguished from these

species by having a small clypeal index and seta 3-C strongly sclerotized and dendritic. Additionally, fourth instar larva of *A. lanei* can be easily distinguished from that of *An. darlingi* in having seta 13-S poorly developed.

In the pupal stage, *An. lanei* (Figs. 3A-B) is similar to *An. argyritarsis*, *An. sawyeri*, *An. pictipennis* and *An. darlingi* of the *Argyritarsis* group. It separates from *An. darlingi* by having an angusticorn trumpet, whereas in *An. darlingi* the trumpet is laticorn and from *An. argyritarsis* and *An. sawyeri* by having seta 3-CT (Fig. 3A) shorter than that in the other two species. To confirm the importance of seta 3-CT to separate *An. lanei* from *An. argyritarsis* and *An. sawyeri*, a careful evaluation of this character will be necessary.

Acknowledgments

This investigation received financial support from the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP (Grant 05/53973-0). We are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Técnico e Científico (CNPq Grant 472485/2006-7). LVS is a master fellow from the CNPq (Grant 135539/2005-6). We thank Henry R. Rupp who kindly reviewed the English. LVS draw Figures 1, 2 and 3 and G. Marconato inked the illustrations.

References

- Aguiar AP, Chiarello AG, Mendes SL, de Matos EN 2003. The Central and Serra do Mar Corridors in the Brazilian Atlantic Forest. In C Galindo-Leal, IG Câmara (Eds), *The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats and outlook*, Island Press, Washington, p. 118-132.
- Andrade RM de, Brandão H 1957. Contribuição para o conhecimento da fauna de anofelinos do Estado do Espírito Santo. Área de distribuição e incidência de espécies por cidades, vilas e povoados (Diptera, Culicidae). *Rev Bras Malariol Doencas Trop* 9: 391-416.
- Belkin JN 1962. *The mosquitoes of South Pacific (Diptera: Culicidae)*, University of California Press, Berkley, 608 pp.
- Del Ponte E 1941. *Revision the las espécies argentinas del genero Anopheles*, Facultad de Ciencias Medicas, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires. 113 pp.
- Faran ME 1980. Mosquito Studies (Diptera: Culicidae) XXXIV - A revision of the Albimanus section of the subgenus *Nyssorhynchus* of *Anopheles*. *Contrib Amer Ent Inst* 15: 1-215.
- Faran ME, Linthicum KJ 1981. A handbook of the Amazonian species of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera: Culicidae). *Mosq Syst* 13: 1-81.
- Ferreira E 1964. Distribuição geográfica dos anofelíneos no Brasil e sua relação com o estado atual da erradicação da malária. *Rev Bras Malariol Doencas Trop* 16: 329-348.

- Figueiredo B 1940. Uma inspeção de malária em Jitaúna. In Sociedade de medicina da Bahia, *Anais da Sociedade de Medicina da Bahia - Jornadas Médicas*, Imprensa Vitória, Bahia, p. 110-129.
- Fonseca JAB, Unti O 1943. Infecção experimental de anofelinos de regiões indenes à malária. *Folia Clin Biol* (São Paulo) 15: 43-52.
- Forattini OP 1962. *Entomologia Médica: Parte geral, Diptera, Anophelini*, Faculdade de Higiene e Saúde Pública, Departamento de Parasitologia, São Paulo, 662 pp.
- Forattini OP 1996. *Culicidologia Médica*, Edusp - Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 548 pp.
- Galvão ALA, do Amaral ADF 1938. Sobre um novo anofelino de Campos do Jordão, Estado de São Paulo, *Anopheles (Nyssorhynchus) lanei* n.sp. (Diptera, Culicidae). *Rev Biol Hyg* (São Paulo) 9: 8-16.
- Galvão ALA 1940. Contribuição ao conhecimento dos anofelinos do grupo *Nyssorhynchus* de São Paulo e regiões vizinhas (Diptera: Culicidae). *Arq Zool S Paulo* 1: 399-484.
- Galvão ALA 1943. Chaves para determinação das espécies do subgênero *Nyssorhynchus* do Brasil. *Arq Hig Saude Publica* 8: 141-162.
- Harbach RE, Knight KL 1980. *Taxonomist's glossary of mosquito anatomy*, Plexus Publishing, Marlton, New Jersey, 415 pp.
- Harbach RE 2004. The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): A working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull Entomol Res* 94: 537-553.
- Lane J 1939. *Catálogo dos mosquitos Neotropicos. Boletim Biológico. Série Monográfica nº 1*, Clube Zoológico do Brasil, São Paulo, 218 pp.

- Lane J 1953. *Neotropical Culicidae*, Universidade de São Paulo, São Paulo, 548 pp.
- Levi-Castillo R 1949. *Atlas de los anofelinos Sudamericanos*, Tipografia de la Sociedad Filantrópica del Guayas, Guayaquil, 206 pp.
- Linthicum KJ 1988. A revision of the *Argyritarsis* section of the subgenus *Nyssorhynchus* of *Anopheles*. *Mosq Syst* 20: 98-271.
- Müller P 1974. *Aspects of Zoogeography*, Dr. W. Junk B.V. Publishers, The Hague, 208 pp.
- Nimer E 1989. *Climatologia do Brasil*, IBGE - Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, Rio de Janeiro, 421 pp.
- Pinto C 1939. Disseminação da malária pela aviação: Biologia do *Anopheles gambiae* e outros anofelíneos do Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 34: 293-430.
- Ramos AS 1943. Observações sobre os anofelinos do litoral Paulista. *Arq Hig Saude Publica* 8: 23-31.
- Russel PF, Rozeboom LE, Stone A 1943. *Keys to the Anopheline mosquitoes of the world: with notes on their identification, distribution and relation to malaria*, The American Entomological Society, The Academy of Natural Sciences, Philadelphia, 152 pp.
- Sallum MAM, Wilkerson RC 1997. Description of the immature stages of *Anopheles (Nyssorhynchus) rondoni* (Neiva & Pinto) (Diptera: Culicidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92: 365-372.
- Unti O, Ramos AS 1942. Anofelismo das Alturas no Brasil Meridional. *Arq Hig Saude Publica* 7: 91-106.

Unti O 1943. Oxiênio dos focos de anofeles de São Paulo. *Arq Hig Saude Publica* 8: 85-102.

Wilkerson RC, Peyton EL 1990. Standardized nomenclature for the costal wing spots of the genus *Anopheles* and other spotted-wing mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 27: 207-224.

Table 1. Number of branches for setae of the larva of *Anopheles (Nys.) lanei* : range, (mode) based on counts made on 20 to 24 setae.

Seta N ^o	Head	Thorax			Abdominal segments								
	C	P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	X
0	1	1	-	-	-	7 - 12 (9)	7 - 12 (9)	1 - 11 (9)	2 - 9 (6)	3 - 7 (5)	2 - 4 (3)	2 - 4 (3)	-
1	1	5 - 13 (10)	25 - 38 (27)	1 - 2 (2)	11 - 17 (12)	14 - 35 (20)	24 - 47 (40)	28 - 55 (48)	32 - 52 (49)	27 - 46 (40)	25 - 51 (38)	1 - 2 (1)	1
2	1	12 - 24 (18)	1 - 5 (3)	1	3 - 4 (3)	4 - 7 (5)	3 - 4 (3)	1 - 2 (1)	1 - 2 (1)	3 - 6 (4)	4 - 8 (6)	4 - 6 (4)	13 - 22 (18)
3	19 - 26 (22)	1	1	6 - 11 (8)	1	1	1	1 - 3 (3)	1	1	2 - 4 (3)	6 - 10 (8)	5 - 10 (9)
4	2 - 7 (4)	13 - 27 (19)	2 - 5 (4)	3 - 5 (4)	2 - 4 (3)	3 - 5 (4)	2 - 4 (3)	2 - 4 (3)	1 - 3 (3)	1	1	1 - 2 (2)	8 - 9 (8) ^a
5	14 - 21 (20)	13 - 37 (32)	1 - 3 (1)	23 - 38 (33)	3 - 5 (3)	6 - 11 (8)	5 - 9 (8)	3 - 6 (4)	4 - 8 (5)	6 - 11 (6)	6 - 10 (7)	4 - 9 (8)	-
6	16 - 23 (21)	1	3 - 6 (3)	1 - 2 (2)	21 - 33 (26)	25 - 33 (28)	14 - 24 (18)	1	1	1	4 - 8 (5)	1-S	6 - 9 (6)
7	17 - 23 (21)	15 - 35 (24)	1 - 4 (3)	26 - 35 (30)	16 - 34 (30)	17 - 33 (29)	2 - 4 (3)	3 - 4 (3)	1 - 4 (3)	1 - 3 (2)	4 - 6 (5)	2-S	5 - 7 (6)
8	3 - 6 (5)	15 - 34 (29)	15 - 34 (27)	19 - 41 (30)	-	2 - 6 (4)	3 - 6 (4)	2 - 5 (3)	2 - 5 (3)	3 - 4 (3)	3 - 6 (5)	6-S	1 - 6 (2)
9	4 - 8 (7)	1 - 2 (1)	1	3 - 9 (5)	4 - 7 (5)	3 - 8 (7)	3 - 7 (6)	5 - 9 (6)	4 - 7 (6)	3 - 9 (6)	4 - 8 (6)	7-S	1 - 2 (1)
10	2 - 4 (3)	1	1 - 2 (1)	1	1	1	1 - 2 (1)	1 - 2 (1)	1	2 - 3 (2)	2 - 4 (3)	8-S	4 - 7 (6)
11	30	2 - 10 (4)	1	1	3 - 5 (3)	1	1 - 2 (1)	1 - 3 (1)	1 - 3 (2)	1 - 2 (2)	1 - 2 (1)	9-S	3 - 6 (5)
12	3 - 7 (5)	2 - 9 (5)	1	1 - 2 (1)	1 - 3 (2)	1	1 - 3 (2)	1 - 3 (2)	1 - 3 (1)	1	1 - 2 (1)	-	-
13	2 - 6 (5)	5 - 9 (6)	4 - 6 (4)	2 - 5 (3)	2 - 5 (4)	5 - 10 (7)	2 - 8 (3)	3	3	6 - 10 (8)	3 - 4 (3)	-	-
14	n.c.	4 - 13 (10)	4 - 12 (8)	-	-	-	1	1	1	1	1	1 - 3 (1)	-
15	1 - 5 (3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

n.c.= not counted; ^a Number of pairs.

Table 2. Number of branches for setae of the pupa of *Anopheles (Nys.) lanei* : range, (mode) based on counts made on 20 to 24 setae

N°	Cephalothorax	Abdominal segments									Padle
	CT	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	P
0	-	-	3 - 7 (4)	2 - 5 (4)	3 - 5 (4)	2 - 5 (3)	2 - 4 (3)	2 - 4 (3)	1 - 2 (1)	-	-
1	1 - 3 (2)	n.c.	3 - 8 (6)	2 - 6 (5)	1 - 2 (1)	1 (1)	1 - 2 (1)	1 - 2 (1)	-	2 - 6 (3)	1
2	1 - 3 (2)	1 - 5 (3)	1 - 7 (5)	2 - 5 (4)	1 - 4 (3)	1 - 3 (3)	1 - 3 (2)	2 - 3 (2)	-	-	1 - 2 (1)
3	2 - 3 (3)	1 - 3 (1)	1 - 3 (1)	1 - 2 (1)	1 - 5 (2)	1 - 4 (3)	1 - 4 (2)	2 - 4 (2)	-	-	-
4	1 - 5 (3)	1 - 5 (4)	1 - 6 (2)	1 - 3 (2)	1 - 3 (3)	1 - 4 (3)	1 - 3 (2)	1 - 3 (2)	2 - 4 (3)	-	-
5	2 - 5 (4)	1 - 3 (2)	3 - 6 (4)	2 - 6 (4)	1	1	1	1	-	-	-
6	1 - 3 (1)	1 - 2 (2)	2 - 5 (2)	1 - 6 (2)	1 - 2 (2)	1 - 2 (1)	1 - 2 (1)	1 - 2 (1)	-	-	-
7	2 - 3 (3)	2 - 5 (3)	2 - 6 (4)	1 - 5 (2)	1 - 4 (3)	2 - 4 (3)	1 - 2 (1)	1 - 2 (1)	-	-	-
8	1	-	-	1 - 4 (3)	1 - 3 (2)	1 - 3 (3)	1 - 4 (2)	1 - 4 (3)	-	-	-
9	1 - 3 (2)	1 - 2 (1)	1	1	1	1	1	1	1	-	-
10	1	-	-	1 - 3 (2)	1	1	-	1 - 2 (1)	-	-	-
11	2 - 3 (3)	-	-	1	1	1	1	1 - 3 (2)	-	-	-
12	1 - 4 (3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	1	1	1	1	1	-	-

n.c. = not counted.

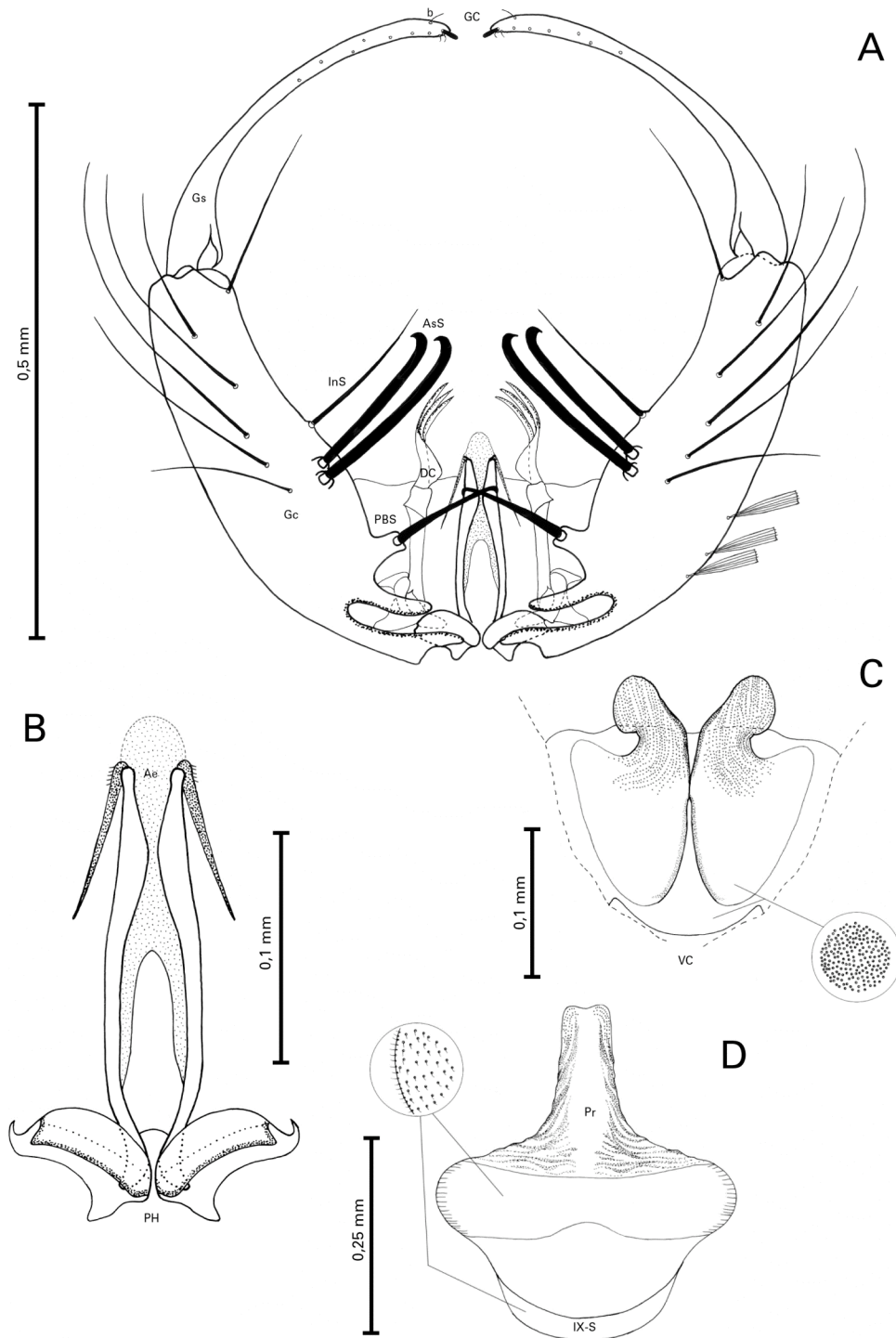


Figure 1. *An. lanei*, male genitalia. (A) Dorsal view: gonocoxite (Gc), gonostylus (Gs), gonostylar claw (GC), seta *b* (*b*), internal seta (InS), accessory seta (AsS), parabasal seta (PBS), dorsal claspette (DC). (B) Phallosome (PH), aedeagus (Ae). (C) Ventral claspette (VC). (D) Proctiger (Pr), Sternum IX (IX-S). Scales are in mm.

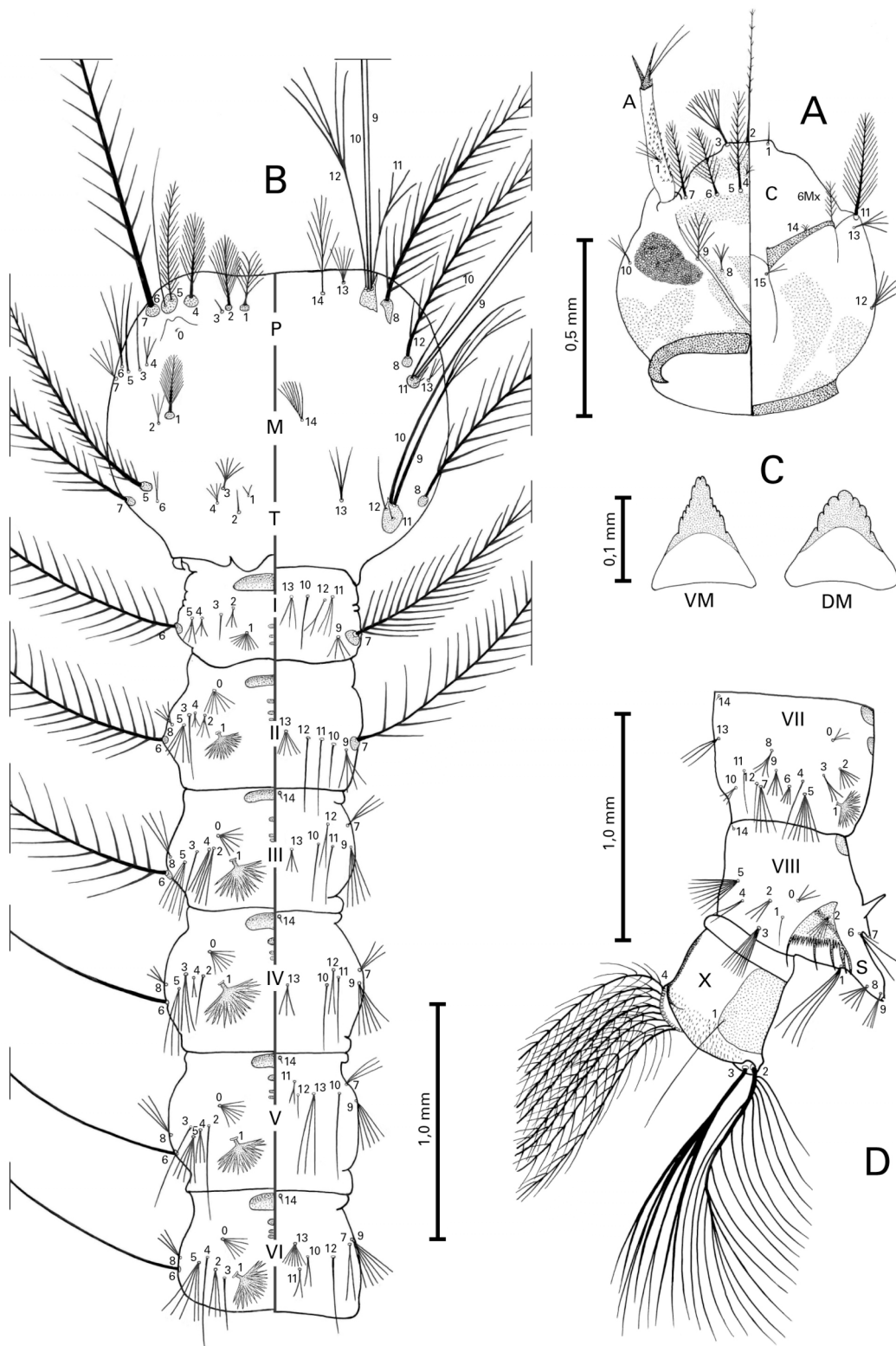


Figure 2. *An. lanei*, fourth-instar larva. (A) Head, left side dorsal, right side ventral. (B) Thorax and Abdominal segments I-VI, left side dorsal, right side ventral. (C) Dorsomentum (DM) and ventromentum (VM). (D) Abdominal segments VII-X side view, saddle and spiracular apparatus. Scales are in mm.

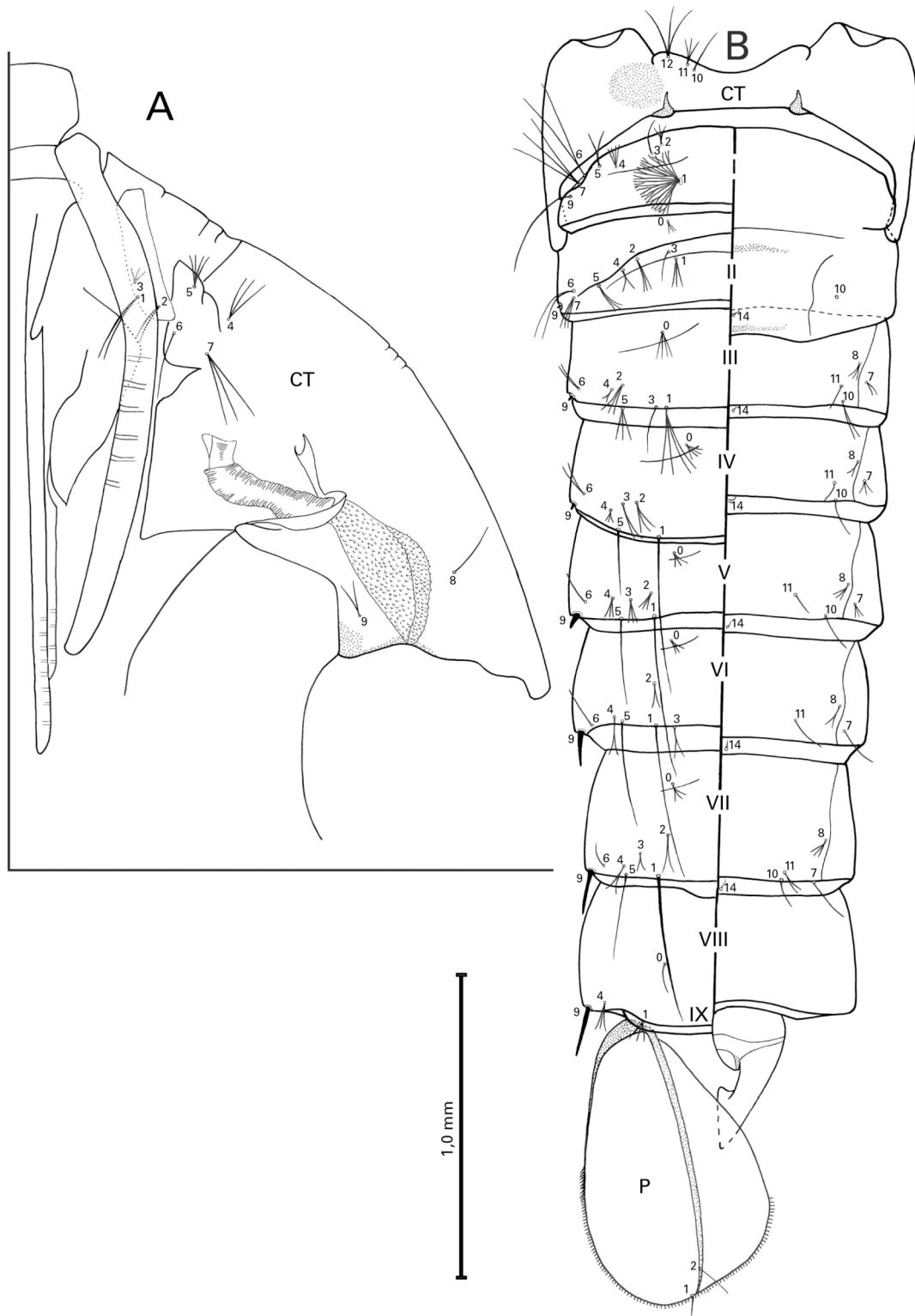


Figure 3. *An. lanei*, pupa. (A) Cephalothorax. (B) Metathorax, abdominal segments I-IX, left side dorsal, right side ventral, paddle. Scales are in mm.

5.2 MANUSCRITO 2

Redescription of *Culex dolosus* (Lynch Arribálzaga), a species of the subgenus *Culex* Linnaeus (Diptera: Culicidae)

**Redescription of *Culex dolosus* (Lynch Arribálzaga), a species of the subgenus
Culex Linnaeus (Diptera: Culicidae)**

LUANA VALENTE SENISE¹; MARIA ANICE MUREB SALLUM¹

¹ *Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, Avenida Dr. Arnaldo 715, CEP 01246-904, São Paulo, Brazil.*

Email address: luasenise@usp.br; masallum@usp.br

Corresponding author

Maria Anice Mureb Sallum, Avenida Dr. Arnaldo, 715, Cep 01246-904, São Paulo, Brazil. Email: masallum@usp.br

Abstract

Lynch Arribálzaga (1891) described *Culex (Culex) dolosus* as a species of the genus *Heteronychia*. Since then, there were many controversies relative to the classification and nomenclature of the taxon. Casal and García (1968) described *Culex eduardoi*, a species morphologically similar to *Cx. dolosus*. Consequently, *Cx. eduardoi* has been largely misidentified as *Cx. dolosus*. Aiming to contribute to the systematics of the subgenus *Culex* and to morphological studies on *Cx. dolosus*, this species is re-described based on morphological characteristics of adults, male and female, fourth instar larva and pupa of specimens collected in Pindamonhangaba, State of São Paulo, Brazil. Male genitalia, larva and pupa are illustrated. Species geographical distribution data are based on the published literature records, and bionomics data are based on both literature records and field data.

KEYWORDS: Culicidae, *Culex dolosus*, systematics, Serra da Mantiqueira.

Introduction

Culex (Culex) dolosus (Lynch Arribálzaga) was described from adults collected in Buenos Aires, Argentina, as a species of the genus *Heteronycha*. Howard, *et al.* (1917) hypothesized that the female adult used in the description of *Heteronycha dolosa* (Lynch Arribálzaga 1891) belonged to the genus *Aedes* Meigen. Later, Dyar (1919) observed that Lynch Arribálzaga (1891) distinguished *Culex* Linnaeus from *Heteronycha* based on the presence of toothed tarsal claws in the females of the latter. By mistake, Lynch Arribálzaga used in the description an adult male of *Culex* and an adult female of *Aedes*. Because of the wrong sex association, he named the genus *Heteronycha*. In addition, Dyar (1919) considered that the adult female used by Lynch Arribálzaga (1891) belonged to *Aedes lynchii* Bréthes, which is in the synonymy of *Aedes crinifer* (Theobald). Consequently, the type of *Heteronycha dolosa* is an adult male. Because *Heteronycha* is currently in the synonymy of *Culex*, the name of the taxon is *Culex dolosus*. According to Belkin *et al.* (1968) the lectotype of *Cx. dolosus* is an adult male and was designated by Casal. That is deposited in the collection of the Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (MACN), in Buenos Aires (Belkin *et al.* 1968; Rossi *et al.* 2002).

Bionomics, ecology and geographical distribution of *Cx. dolosus* are poorly known. This may be a consequence of the fact that for several years, *Cx. dolosus* has been misidentified as *Culex eduardoi* Casal & García. Because of this, in Lane (1953), Forattini (1965) and Bram (1967), *Cx. dolosus* and *Cx. eduardoi* were considered as a single taxon. Consequently, it is possible that when using those

identification keys, one can misidentify these two taxon if not considering the possibility of the two species.

Some morphological variation in the male genitalia of specimens from Ribeirão Preto and Cotia municipalities, São Paulo State, identified as *Cx. dolosus*, were reported by Duret and Barreto (1956) and Forattini and Rabello (1965). These variations were observed mostly on the structures of phallosome, being related, for example, to the size and shape of the dorsal process and size of the teeth of the lateral arm.

The most recent study on *Cx. dolosus* is that of Rossi (2006), in which it is registered the presence of anomalous setae on pupal abdominal segment VIII. Furthermore, Rossi suggested that *Cx. dolosus* comprises the Dolosus complex.

Considering that *Cx. dolosus* has been largely misidentified as *Cx. eduardoi* and may be a species complex, it is important to establish morphological characteristics to distinguish both species. Moreover, samples of *Cx. dolosus* were collected in Pindamonhangaba municipality, in the Serra da Mantiqueira, southern Brazil. Considering that this population may comprise an isolate population of *Cx. dolosus*, because of the climate and high altitude, it is important to examine the possibility of morphological variation that may suggest that it is a distinct species of the Dolosus Complex. Additionally, we objective to define morphological characters to separate the population of *Cx. dolosus* from Serra da Mantiqueira from *Cx. eduardoi*.

Materials and Methods

Morphological characters of the adult, male and female, and the male genitalia (Fig. 1A-D) were examined and measured. The terminology utilized is that of Harbach and Knight (1980) and Forattini (1996), except for the wing veins, which is that of Belkin (1962). Pupal (Table 2; Fig. 3A-B) and larval chaetotaxy (Table 1; Fig. 2A-C) were examined, measured and counted for the description.

Morphological characters of 10 adult male, seven adult female, 17 fourth instar larvae, 17 pupae and 10 male genitalia were measured. Characters of the immature stages, which were mounted in microscope slides, were measured using an ocular micrometer adapted to an optical microscope. Characters of the adults were measured with a digital ocular micrometer adapted to a stereomicroscope. Setae on figures 2 and 3 do not represent the mode of branches showed in tables 1 and 2. Abbreviations for the life stages are: M, adult male; F, adult female; G, male genitalia; L, larva; Le, larval exuviae; Pe, pupal exuviae. All the specimens are deposited in the Entomological Collection of Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

Taxonomic treatment

Culex (Culex) dolosus (Lynch Arribáizaga 1891). Lectotype, adult male, deposited in MACN. Type locality: Buenos Aires Province, Argentina.

Culex (Culex) dolosus of Dyar 1922: 3 (*Heteronycha* as synonym of *Culex*). Dyar 1928: 374, 375 (M, F, L, G). Lane 1953: 362-364 (M, F, P*, L*, G*). Bram 1967: 59, 60, 61, 117 (L, G*). Casal *in* Belkin *et al.* 1968: 15 (lectotype design.).

Heteronycha dolosa of Lynch Arribálzaga 1891: 156.

Culex (Culex) bilineatus Theobald, 1903: 196-198. Lectotype adult male, deposited in the NHM. Type locality: Sao Paulo municipality, São Paulo, Brazil. Lane 1951: 334 (syn. design.). Peryassú 1908: 190,191 (M, F). Belkin 1968: 13 (lectotype design.).

Culex (Culex) bonariensis Bréthes, 1916: 213, 214 (M, F, G*). Lectotype adult male, deposited in the MACN. Type locality: San Isidro municipality, Buenos Aires Province, Argentina. Casal *in* Belkin *et al.* 1968: 15 (lectotype design.).

Female. Pale scales, white to yellow and pearly, dark scales, dark yellow to dark brown with golden or blue sheen; setae mainly dark brown with golden sheen, except when indicated. *Head.* Integument dark brown; interocular space width 0.06-0.09 mm (mean = 0.08 mm); vertex with narrow, decumbent pale scales, erected forked dark brown scales, and long dark brown setae; occiput with erected forked dark brown scales, medially with erected pale forked scales, and narrow decumbent pale scales; broad appressed white scales above ocular suture extending to postgena; ocular setae dark brown; postgenal setae golden yellow; gena, palpifer and clypeus bare. Antenna length 1.85-2.15 mm (mean = 1.95 mm); pedicel bare, integument dark yellow with brownish areas; flagellum integument dark brown, flagellomeres 1-13 covered with minute whitish setae, flagellomere whorls, with long dark setae, flagellomere 1 1.02-1.15 (mean = 1.10) length of flagellomere 2. Maxillary palpus length 0.40-0.46 mm (mean = 0.42 mm), ratio of length of palpomeres 1-4 to total length of palpus, 1 = 0.12-0.18, 2 = 0.10-0.11, 3 = 0.19-0.23, 4 = 0.49-0.56, palpomere 2 0.44-0.57 (mean= 0.50) length of palpomere 3, palpomere 3 0.33-0.48

(mean= 0.37) length of palpomere 4, maxillary palpus 0.22-0.25 (mean = 0.23) forefemur length, 0.19-0.24 (mean = 0.22) proboscis length, palpomeres dark scaled with few small dark setae, palpomeres 2 and 3 with a pair of long dark brown setae on each side. Proboscis dark scaled, length 1.9-2.2 mm (mean = 2.1mm), labial basal setae dark brown. *Thorax*. Scutal integument brownish along acrostichal area, dorsocentral area, transversal suture and lateral area of scutal fossa; with a pair of slightly darker stripes between acrostichal and dorsocentral areas and slightly darker spots at middle of scutal fossa, anterolateral area of scutum, prescutelar area, between the antealar/supraalar areas and at posterior dorsocentral area; paratergite, antealar and supraalar areas light yellow to light brown; scutal setae: acrostichal, anterior dorsocentral, anterior scutal fossal, lateral scutal fossal, posterior dorsocentral, posterior medial scutal, posterior scutal fossal, prescutellar, median anterior promontory, antealar and supraalar setae all dark brown with golden sheen; median scutal fossal setae absent; scutal scales: acrostichal, anterior dorsocentral, posterior dorsocentral, posterior scutal fossal, lateral scutal fossal, median scutal fossal and median prescutellar narrow, small and yellowish, with golden sheen; prescutellar, antealar, supraalar, anterior dorsocentral and posterior scutal fossal scales slightly more developed, narrow, pale yellow to whitish; center of prescutellar area bare. Scutellar integument light brown, lighter at midlobe, 5-7 (mode = 6) lateral scutellar setae and 2-5 (mode = 4) median scutellar setae, very long and dark brown, lateral and median scutellar scale whitish narrow and long. Mesopostnotum bare, integument dark brown medially and light brown laterally. Pleural integument yellowish at middle and lower posterior mesokatepisternum and slightly lighter at anepisternal cleft; whitish at postprocoxal membrane, proepimeron, medial

proepisternum, upper anterior of mesokatepisternum, medial and lower posterior of mesanepimeron, mesomeron, metepisternum, metepimeron and metameron; dark yellow to pale brown with medial whitish at subspiracular and hypostigmal areas; darker areas, dark to light brown, at antepronotum, postpronotum, upper and lower proepisternum, upper posterior and lower anterior of mesokatepisternum and upper and lower of mesanepimeron; postpronotal setae dark brown, usually fourth and very long, and following groups of pale setae: antepronotal, postpronotal, proepisternal, upper and lower meskatepisternal, basalare, several upper mesepimeral and one lower mesepimeral; white and broad spatulate scales: lower prealar, upper and lower meskatepisternal, upper and anterior mesepimeral; white and narrow spatulate scales at antepronotum; mesokatepimeron, mesomeron, metameron, metepisternum, metepimeron and subspiracular area bare, pre and postspiracular scales and prespiracular setae absent. *Halter*. Capitellum, scabellum and pedicel integument pale yellow with brownish areas; capitellum apex and outer surface with pale pearly spatulate scales, inner surface bare. *Abdomen*. Integument pale yellow with some brownish areas at tergum, tergum I dark brown; pale scales pearly and dark scales with blue sheen; length 3.10-3.80 mm (mean= 3.40 mm); tergum and sternum I without scales, only with dark setae; terga II-VII dark scaled with broad basal white bands, smaller on tergum VII, and dark yellow setae; sterna II-VII also with dark setae, scale pattern similar to terga, sternum V-VI with broader basal white bands, sternum VII almost all white scaled; presence of midlongitudinal band of dark scales apically, progressively broader until the apex of sternum VII. *Segment VIII*. Tergum white scaled with slender apical dark band, sternum white scaled. *Legs*. Coxal and thochanter integument mostly whitish with pale scales and long and short dark setae,

yellow to brown, along surface; pale to dark brown regions at anterior forecoxa and foretrochanter; femoral bases with pale spots, sometimes as a ring, apex pale; forefemur dorsal, anterior and anteroventral surfaces dark, posterior and posteroventral pale; midfemur dorsal, upper anterior and upper posterior surfaces dark, ventral, lower anterior and lower posterior pale; hindfemur similar to midfemur, anteriorly also with dark band distally; fore-, mid- and hindtibia dark scaled, posteriorly pale, apex with pale ring; foretarsomeres 1-5 dark with pale scales, mostly at joints, that might or not form band at apex and base of tarsomeres, midtarsomeres 1-5 dark, apex of 1, apex and base of 2, 3 and 4 and joints 1-2, 2-3, 3-4 and 4-5 with evident pale scale bands, hindtarsomeres similar to midtarsomeres, with pale scales bands more apparent on base of hindtarsomere 1. *Wing.* With dark spatulate scales, dark brown to black, length 3.30-3.85 mm (mean= 3.60 mm); veins C, SC and CuA covered with broad scales veins, R₁ and CuA₂ mostly with broad scales and with some narrow scales; veins CuA₁, RS and M mostly with narrow scales and some broad scales; A₁, R₂, R₃, R₄₊₅, M₁₊₂ and M₃₊₄ with narrow scales.

Male. As in female, except for the following sexual differences. *Head.* Palpomere 3 all dark brown, with broad apex and long dark setae, from middle to apex, at ventral and outer surfaces, joint of 3-4 with tuft of white scales, more evident at inner surface, palpomere 4 covered for dark long setae, dorsal, ventral and outer surfaces dark, inner surface dark with pale longitudinal stripe, broader near base, joint 4-5 with tuft of white scales, palpomere 5 dorsal, ventral and outer surfaces dark, inner surface dark with pale spot near base. Antenna length 1.43 -1.65 mm (mean= 1.55 mm), male pedicel diameter approximately 1.3 female pedicel diameter, filament

integument pale, flagellar whorl dark brown, with tufts of very long dark setae, shorter on apex, flagellomere 14 longer than 12 and 13 and covered with minute white setae, antenna apex with pair of long dark setae. Proboscis with a ventromedial pale band, usually forming a ring. *Abdomen*. Terga II-VII with dark setae mostly at apex and margin, scale arrangement similar to female terga; sterna integument lighter and greenish, sternum I with few long setae, II and III bare, IV-VII white scaled with mid-longitudinal dark stripe and long dark setae along surface. *Legs*. Foretibia apex with pale spot dorsally, anteriorly and posteriorly; foretarsomere 5 with claved shape, apex with dichotomized claw, with spine near each base; midtarsomere 5 also claved and with a slightly rounded apicoventral lobe, claw single, with dichotomized spine near base; hindtarsomeres 1-5 all dark with evident pale band at joints, more evident in 5, claws simple. *Genitalia* (Figs. 1A-D). *Gonocoxite* (Fig. 1A). Covering of short spicules and long setae, two setae near gonostylus base; subapical lobe prominent and undivided with set of small setae on base and three longer setae above that; setae *a-c*, *f* and *h* as a rod, *a-c* stout, *a* slightly rounded at apex, *b* and *c* with hooked apex, *f* and *h* slender, *f* hooked at apex, *h* pointed at apex and bending medially, *g* leaf form, with lanceolate shape. Gonostylus with two small and slender setae on dorsal surface, gonostylar claw small, with sides folding toward medial surface, acquiring the shape of a tent. Gonocoxite length (dorsally, from acetabulum to gonostylus base) 0.28-0.33 mm (mean= 0.30 mm), gonostylus length (dorsally, from base to base of gonostylar claw) 0.15-0.17 mm (mean= 0.16 mm), gonostylar claw length 0.011-0.015 mm (mean= 0.013 mm). *Segment IX* (Fig. 1B). Ninth tergal lobe narrow, rounded laterally, with spiculed integument and 5-9 (mean= 5) long setae arranged in a single straight row, that might be unevenly-spaced when in bigger number,

medially with lowered hyaline region, similar to a membrane; rectangular sternal lobe, with spicules arranged in horizontal lines. *Proctiger* (Fig. 1C). Paraproct with basal lateral arm long and curved and prominent acetabulum as small lobe, both strongly sclerotized; crow with row of 4-6 (5) stout and sharply pointed spines, moderately sclerotized, remainder spines slender, longer, heavily sclerotized and also sharply pointed; cercal sclerite elongated; presence of 3-4 (mean= 3) cercal setae; X-T slightly rectangular. *Phallosome* (Fig. 1D). Lateral plate with 3-6 (4) large and 1-2 (1) smaller, strongly sclerotized teeth, and a flat lateral lobe, base of lobe continuous with base of dorsal process, lateral lobe similar in shape to lateral teeth, less sclerotized, directed laterally; dorsal process a strong hook, projected dorsomedially, broad at base, tapering to apex and ending in a sharp point, strongly sclerotized; ventral arm bend dorsomesad forming a somewhat right angle on dorsal surface, connected with a ventral projection, forming a somewhat triangular, moderately sclerotized ventrolateral lobe; dorsal arm flattened, large, tapered distally, moderately sclerotized, extending beyond ventral arm; aedeagal sclerite and paramere strongly sclerotized, basal piece moderately sclerotized.

Larva (Figs. 2A-C). Position and development of setae as figured; range and modal number of branches in table 1. *Head* (Fig. 2A). Wider than long, length and width not measured, moderately pigmented, yellowish, darker on median labral plate and posterior area of lateralia, dark yellow; collar heavily tanned; dorsomentum with large median tooth and 5-10 (mean= 6) smaller on either side; seta 4-C extending beyond insertion of 7-C, setae 5, 6, 7-C with aciculate branches. Antenna weakly pigmented, pale yellow, darker mesally, above 1A insertion and on antennal base;

length 0.60-0.77 mm (mean = 0.71 mm), width 0.06-0.08 mm (mean = 0.07 mm), 8.70-12.40 (mean = 10.40) longer than wide; 1-A inserted 0.44-0.54 mm (mean = 0.50 mm) from base with 20-30 strongly aciculate branches, ratio of distance 1-A to base/ antennal length 0.63-0.73 (mean = 0.70). *Thorax* (Fig. 2B). Integument hyaline with tiny spicules, more evident dorsally and laterally; 0-P symmetric and long, 1-8,10-P with aciculate branches, 5-10,12-M with aciculate branches, 4-M long; 1-T symmetric and long, 4-T forked and long, 7,9,10,12-T with aciculate branches.

Abdomen (Figs. 2B-C). Integument hyaline, spiculation finer than on thorax, more distinct on segment VIII; setae 1-I and 1-II long. *Segment VIII* (Fig. 2C). Comb with 32-57 short scales, fringed on sides and apex, apical fringe more distinct. *Siphon* (Fig. 2C). Index 5.40-7.90 (mean = 6.10), moderately pigmented, brownish, strongly darker on acus, base, spiracular apparatus, spiracular apodeme and apex; spiracular apodeme ratio approximately 0.25; pecten on base 0.25-0.40 (mean = 0.33) of siphon, with 10-15 pair of spines, usually with two teeth; seta 1-S laterally inserted near most distal pecten spine, length of setae exceeding the width of siphon at its insertion. *Segment X* (Fig. 2C). Saddle complete, spiculed, moderately tanned, slightly darker on base and apex; length 0.36-0.52 mm (mean = 0.43 mm), siphon/saddle index 3.30-5.30 (mean = 4.0).

Pupa (Figs. 3A-B). Position and development of setae as figured; range and modal number of branches in table 2. *Cephalothorax* (Fig. 3A) Wing cases, antennal cases, head shield and middorsal ridge weakly pigmented, pale yellow, mouthparts cases and metanotum slightly darker than the former, posterolateral region, above wing cases, with yellowish spot; trumpet laticorn, weakly pigmented medially and darker,

at tracheoid area and apex, apex shape as a calyx. Trumpet index 7.0-10.0 (mean = 8.60), pinna 0.15-0.22 (mean = 0.18) length of meatus, tracheoid length 0.27-0.37 mm (mean = 0.31 mm); 1-CT very long, 12-CT longer than 10, 11-CT, 10-CT usually simple, rarely with aciculate branches. *Abdomen* (Fig. 3B). weakly pigmented, pale, yellow, segment I, between setae 1-I insertion darker; anteromedial portion of tergum and sternum strongly sclerotized and strongly pigmented, brownish, particularly sternum II-V; abdomen length 2.5-3.30 mm (mean = 2.90 mm), ratio of length of segment III/II 1.05-1.35 (mean=1.17), IV/III 1.05-1.25 (mean=1.10), V/IV 1.01-1.20 (mean=1.10), VI/V 1.00-1.15 (mean= 1.10), VII/VI 1.00-1.15 (mean= 1.10), VIII/VII 0.70-0.80 (mean= 0.75), VIII/VI 0.70-0.85 (mean= 0.80), VIII/II 1.00-1.30 (mean= 1.20); seta 1-I dendritic and well developed, 5-IV-VI very long, exceeding the inferior margin of segment, 5-VII shorter than the other, 6-I,II very long, 6-VII usually simple but occasionally with aciculate branches, 9-II very small, inserted close to 6-II, 9-VIII long, well developed and moderately pigmented, with aciculate branches. *Genital lobe* (Fig. 3B). Lightly tanned in female, slightly darker in male, male genital lobe approximately 1.60 length of female genital lobe. *Paddle* (Fig. 3B). Almost hyaline, except for external buttress, midrib and base, lightly tanned; length 0.70-0.90 mm (mean = 0.80mm), width 0.50-0.65 mm (mean = 0.60 mm), paddle index 0.60-0.75 (mean = 0.70)

Material examined

Twenty four specimens of *Cx. dolosus* were examined, as follow. BRAZIL, State of São Paulo, Campos do Jordão and Pindamonhangaba, Pico do Itapeva (22°45.50'S 45° 30.87'W), Sallum and Wilkerson coll. 20-XI-2001, Sallum det.

2002: E-12375 M LePe G, E-12376 M Pe G, E-12377 F LePe, E-12378 F LePe, E-12381 M Le G, E-12382 F LePe, E-12383 M LePe G, E-12385 M LePe G, E-12390 M LePe G, E-13391 M LePe G, E-12394 F LePe, E-12395 M LePe G, E-12396 F, E-12397 M LePe G, E-12398 M LePe G, E-12405 F Pe, E-12408 F Pe, E-12414 Pe; Sallum et al. coll. 17-II-2006, Senise det. 2006: E-12924 Le, E-12925 Le, E-12926 Le, E-12927 LePe; Lane coll. XII-1936, Lane det.: N° 4779 G, N° 4780 G. Other material examined: *Cx. (Cux.) eduardoi*, BRAZIL, State of São Paulo, Bairro do Limão, Susan coll.; VI-1973, Sallum det. 2007: E-5021 LePe G, E-5022 LePe G; Pariquera-Açú, Sítio Galiléia, Gomes and Kakitani coll. 1985, Sallum det. 2007: E-7651 LePe G, E-7653 G; Iguape, Sítio Palmeiras, Gomes coll. 22-II-1989, Lab. Ent. FSP-USP det.: E-8183 PeLe G, E-8080 LePe; State of Paraná, Cerro Azul, Natal coll. 16-VI-1991, Natal det. 1991: E-9050 L; 17-VI-1991, Sallum det. 1992: E-9060 L.

Distribution

Cx. dolosus is known from Bolivia, Brazil, Chile, Ecuador, Paraguay, Uruguay and Argentina (Bram 1967; Knight & Stone 1977).

Bionomics

Immature of *Cx. dolosus* were found in natural and artificial habitats, as cans, in permanent or temporary ponds, usually with clear or turbid, stagnant water, and either associated or not associated with aquatic vegetation. In urban areas of Argentina, immatures were taken from non polluted water (Almirón & Brewer 1996; Maciá 1997; Fischer & Schweigmann 2004).

Pindamonhangaba municipality is situated in high altitude and upland forest vegetation. In a field collection carried out in 2006, immatures of *Cx. dolosus* were found in a car track, temporary ground pool. The water was fresh, stagnant, not polluted, with emergent grass and some green algae, with shade or in full sun. Immature of *Cx. dolosus* were found associated with *Culex (Culex) coronator* Dyar & Knab, *Culex (Melanoconion) pilosus* (Dyar & Knab), and *Aedes (Ochlerotatus) crinifer* (Theobald).

Lourenço de Oliveira *et al.* (2004) collected adult female of *Cx. dolosus* in peridomicile area. Despite that, medical importance and feeding behavior of the species is unknown.

Discussion

Adult female of *Cx. dolosus* from Pindamonhangaba is a member of the subgenus *Culex* in having one lower mesepimeral setae, femur not conspicuously speckled with dark and pale scales, acrostichal setae well developed, mesokatepisternum with upper and lower patches of scales, hindtarsomere 1 longer than the correspondent tibia.

Additionally, those specimens were identified as *Cx. dolosus* by having wing entirely dark-scaled, postspiracular scales absent, scutum with antearlar spots of yellowish scales and basal white bands on abdominal tergites. Morphological differences between *Cx. dolosus* and *Cx. dolosus* from Pindamonhangaba, are relative mainly to the presence of pale scales in the fore-, mid- and hindtarsomeres. Darsie (1985) and Forattini (2002) indicated that the pale scales were either absent or present but restrict to very narrow bands or patches in *Cx. dolosus*, while the

specimens from Pindamonhangaba possess evident pale bands on the joints of the hindtarsomeres. Additionally, specimens from Pindamonhangaba, possess spots of yellowish scales at antealar, supraalar, prescutellar and scutal fossal areas

Regarding the male genitalia, specimens from Pindamonhangaba can be easily recognized as a species morphologically similar to *Cx. dolosus* and *Cx. eduardoi* by possessing the ventral arm of the lateral plate distinct from the teeth of the lateral arm, with pointed apex and bending laterally in a right angle; the dorsal process is strong at base, tapering to apex, ending in a point apex, this process is noticeable bend dorsoposteriorly, forming a strong pointed hook like structure. Individuals from Pindamonhangaba can be distinguished from those of *Cx. dolosus* and *Cx. eduardoi* by the noticeable short size and broad shape of the ventral arm and also the size and shape of the teeth of the lateral arm of the lateral plate of the aedeagus.

Dyar (1928) registered the presence of four pairs of multibranching seta 1-S and that the length of the siphon of the fourth instar larva is approximately six times as long as wide. Later, Darsie (1985) and Forattini (2002) used the siphon index, above 5.0 as a characteristic to separate *Cx. dolosus* from other *Culex* species, in addition to the number of seta 1-S, always four in *Cx. dolosus*. In individuals from Pindamonhangaba, the siphonal index is approximately 6.10 and usually the number of 1-S setae varies from 4 to 5 pairs, the length of the most basal seta exceeds the siphon width at the seta insertion.

Detailed literature records about the morphology of the pupa of *Cx. dolosus* are uncommon, what brings an additional difficulty to separate this from other *Culex* species. The pupa of the Pindamonhangaba specimens seems to be very similar to that of the other members of *Culex*. Additionally, it is noticed that the setae 1-CT, 5-

IV-VI and 6-I, II are very long, the trumpet is dark pigmented at apex and tracheoid and weakly pigmented medially and the apex of this structure also shows a calyx shape

According to Bram (1967), *Cx. dolosus* is morphologically similar to *Culex spinosus* Lutz and *Culex salinarius* Coquillett. *Culex dolosus* differs from *Cx. salinarius* and *Cx. spinosus* in the adults by the presence of broad basal white bands in the abdominal terga, and in the fourth instar larva by the shape and longer siphon. In the male genitalia, by the size and shape of the dorsal process, of the lateral plate, of the aedeagus and the apex of the ventral arm (Bram 1967; Forattini 2002). In addition, in *Cx. spinosus* the mid and hindtarsomere joints are entirely dark-scaled (Forattini 1964), and in *Cx. salinarius*, the scutal scales are dark. It is noteworthy to say that the geographical distribution of *Cx. salinarius* is restricted to Nearctic Region (Bram 1967; Knight & Stone 1977; Forattini 2002)

Theobald (1901) synonymized *Cx. dolosus* with *Culex fatigans* Wiedemann, currently in the synonymy of *Culex quinquefasciatus* Say. This species differs from *Cx. dolosus* in the male genitalia by the aspect of *f* setae of the subapical lobe of the gonocoxite, the absence of teeth on the lateral plate of the aedeagus and the position of the dorsal arm. In the male and female adults, by the scutal scales entirely pale whitish, without a pattern of pale and dark scales and, in the fourth larva, by possessing seta 1-S spatulate.

Culex bilineatus was described by Theobald. Currently this species is in the synonymy of *Cx. dolosus*, however, we noticed some differences when compared to this species. The major differences are related to the abdominal terga of the female, with dark scales with violet reflection (Peryassú 1908) and basal white bands of the

last two posterior segments that spread out laterally, becoming basolateral white spots, and second, to the male proboscis, without pale ring (Theobald 1903).

Culex bonariensis, described by Bréthes and also in the synonymy of *Cx. dolosus*, seems to be morphologically identical to the latter species.

Cx. eduardoi was described by Casal and García (1968) based on specimens collected in Buenos Aires, Argentina, and is very similar to *Cx. dolosus*. This species can be separated from the former in the adult male stage by the presence of a pale ring on proboscis; in the adult female stage by the presence of basal white bands on abdominal tergites and by the pleural integument with dark areas. Additionally, the presence of antearlar spots of yellowish scales is usually used to separate *Cx. dolosus* from the other species of *Culex* subgenus, including *Cx. eduardoi*. According to the original description of *Cx. eduardoi* (Casal & García 1968) the scutal scales are mostly brown with reddish sheen and there is no mention to the presence of yellowish scales in the antearlar area of scutum. Casal and García (1968) also reported the presence or absence of postspiracular scales in the male of *Cx. dolosus*, while in *Cx. eduardoi*, these would be always absent. These scales were always absent in the specimens of *Cx. dolosus* from Pindamonhangaba, and so, if one use only this characteristic as a key character it might be possible to confound them either as *Cx. eduardoi* or *Cx. dolosus*.

Both species are practically undistinguishable by the male genitalia characters. As was cited above, were noticed minor differences in the male genitalia structures of the specimens from Pindamonhangaba. Unfortunately, these are insufficient to separate *Cx. dolosus* from *Cx. eduardoi*.

Regarding the fourth instar larva, *Cx. dolosus* are separated from *Cx. eduardoi* by the longer 1-T and 1-I setae, the narrower dorsomentum plate with more developed teeth, and the thoracic and abdominal integument with spicules. According to Knight and Laffoon (1971), some *Culex* species possess one pair of small setae, 16-C and 17-C, inserted close to the postocciput, in the fourth instar larva. These pair of setae was reported to be present in the fourth instar larva of *Cx. dolosus* and it was used as a character to separate this from *Cx. eduardoi* (Casal & Garcia 1968), however, in none of the specimen of *Cx. dolosus* examined for this study, these pair of setae was observed. Casal and García (1968) also registered the absence of spicules in the integument of the fourth instar larva of *Cx. eduardoi*, while in *Cx. dolosus* the thoracic integument is spiculate. In contrast with what was observed by Casal and Garcia, in the specimens of *Cx. eduardoi* examined for this study, we noticed the presence of sparse spicules, although this was minute when compared to those of the specimens of *Cx. dolosus* from Pindamonhangaba. Additionally, setae 0-P, 4-M, 1-T, 4-T and 1-II are longer in *Cx. dolosus* from Pindamonhangaba than that of *Cx. eduardoi*.

According to Casal and García (1968), *Cx. dolosus* and *Cx. eduardoi* can't be separated by the pupal characters. When comparing *Cx. eduardoi* with the specimens of *Cx. dolosus* from Pindamonhangaba were noticed differences mainly on the shape and pigmentation pattern of the trumpet.

However, the importance of the aspect of the pupal trumpet and also of the former larval setae to separate both species needs to be better evaluated with further studies.

Acknowledgments

This investigation received financial support from the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP (Grant 05/53973-0), and Conselho Nacional de Desenvolvimento Técnico e Científico (CNPq Grant 472485/2006-7). LVS is a master fellow from the CNPq (Grant 135539/2005-6). LSV drew Figures 1, 2 and 3 and G. Marconato inked the illustrations.

References

- Almirón, W.R. & Brewer, M.E. (1996) Classification of immature stages habitats of Culicidae (Diptera) collected in Córdoba, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 91, 1-9.
- Belkin, J.N. (1962) *The mosquitoes of South Pacific (Diptera: Culicidae)*. University of California Press, Berkley, 608 pp.
- Belkin, J.N. (1968) Mosquito studies (Diptera: Culicidae). IX. The type specimens of New World mosquitoes in European museums. *Contributions of the American Entomological Institute*, 3, 1-69.
- Belkin, J.N., Schick, R. X. & Heinemann, S. J. (1968) Mosquitoes originally described from Argentina, Bolivia, Chile, Paraguay, Peru and Uruguay. *Contributions of the American Entomological Institute*, 4, 9-29.
- Bram, R.A. (1967) Classification of *Culex* subgenus *Culex* in the New World (Diptera: Culicidae). *Proceedings of the United States National Museum*, 120, 1-122.
- Bréthes, J. (1916) Algunas notas sobre mosquitos Argentinos. *Anales del Museo Nacional, Buenos Aires*, 28, 193-218.
- Casal, O.H. & García, M. (1968) *Culex (Culex) eduardoi*, una nueva especie de la Republica Argentina (Diptera: Culicidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 30, 105-111.
- Darsie, R.F.Jr. (1985) Mosquitoes of Argentina. *Mosquito Systematics*, 17, 153-253.
- Duret, J.P. & Barreto, M.P. (1956) Notas sobre culicidas do Estado de São Paulo, Brasil, com descrições de três novas espécies de *Culex* (Diptera: Culicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 5, 81-99.

- Dyar, H.G. (1919) A note on Argentine mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Insecutor Inscitize Menstruus*, 7, 85-89.
- Dyar, H.G. (1922) The Mosquitoes of the United States. *Proceedings of the United States National Museum*, 62, 1-119.
- Dyar, H.G. (1928) *The mosquitoes of the Americas*. Carnegie Institution of Washington, Washington D.C., Publishers N° 387, 616 pp.
- Fischer, S. & Schweigmann, N. (2004) *Culex* mosquitoes in temporary urban rain pools: Seasonal dynamics and relation with environmental variables. *Journal of Vector Ecology*, 29, 365-373.
- Forattini O.P. (1964) Notas sobre Culicidae (Diptera) 8 – A respeito de *Culex* (*Culex*) *spinus* Lutz, 1905. *Revista Brasileira de Entomologia*, 11, 57-62.
- Forattini, O.P. (1965) *Entomologia Médica – Culicini: Culex, Aedes e Psorophora*. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 506 pp.
- Forattini, O.P. & Rabello, E. X. (1965) Notas sobre Culicidae (Diptera). 6. Novos dados sobre algumas espécies do subgênero *Culex*. *Papéis Avulsos do Departamento de Zoologia*, 17, 27-34.
- Forattini OP 1996. *Culicidologia Médica*, Edusp - Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 548 pp.
- Forattini, O.P. (2002) *Culicidologia Médica*. Edusp - Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 860 pp.
- Harbach, R.E. & Knight, K.L. (1980) *Taxonomist's glossary of mosquito anatomy*. Plexus Publishing, Marlton, New Jersey, 415 pp.

- Howard, L.O., Dyar, H. G & Knab, F. (1917) *The mosquitoes of North and Central America and West Indies, Systematic description, part II*. Carnegie Institution of Washington Washington, D.C, Publishers N° 159, pp. 525-1064.
- Knight, K.L. & Laffoon, J.L. (1971) A mosquito taxonomic glossary. VIII. The larval chaetotaxy. *Mosquito Systematics Newsletter*, 3, 169-194.
- Knight, K.L. & Stone, A. (1977) *A catalog of the mosquitoes of the world (Diptera: Culicidae)*. Thomas Say Foundation, Entomological Society of America, Maryland, 611 pp.
- Lane, J. (1951) Synonymy of Neotropical Culicidae (Diptera). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 53, 333-336.
- Lane, J. (1953) *Neotropical Culicidae*. Universidade de São Paulo, São Paulo, 548 pp.
- Lourenço de Oliveira, R., Castro, M.G., Braks, M.A.H. & Lounibus, L.P. (2004) The invasion of urban forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. *Journal of Vector Ecology*, 29, 94-100.
- Lynch Arribáizaga, F. (1891). Dipterologia argentina. *Revista del Museo de La Plata*, 2, 131-174.
- Maciá, A. (1997) Age Structure of adult mosquito (Diptera: Culicidae) populations from Buenos Aires province, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92, 143-149.
- Peryassú, A.G. (1908) *Os culicídeos do Brasil*. Tipografia Leuzinger, Rio de Janeiro, 407 pp.

- Rossi, G.C., Mariluis, J.C., Schnack, J.A., Spinelli, G.R. (2002) *Dipteros vectores (Culicidae y Calliphoridae) de la Provincia de Buenos Aires*. Impresiones PublicArt, La Plata, 45 pp.
- Rossi, G.C. (2006) Occurrence of extra and anomalous setae on pupal abdominal segment VIII of the Dolosus Complex of *Culex* (Diptera: Culicidae). *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22, 1-4.
- Theobald, F.V. (1901) *A monograph of the Culicidae of the world*. The British Museum (Natural History), London, 391 pp.
- Theobald, F.V. (1903) *A monograph of the Culicidae of the world*. The British Museum (Natural History), London, 359 pp.

Table 1. Number of branches for setae of the larva of *Cx.(Cux.) dolosus* : range, (mode) based on counts made on 20 to 24 setae

Seta N°	Head	Thorax				Abdominal segments								
	C	P	M	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	X	
0	1	5 - 18 (11)	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	
1	1	1	2 - 5 (4)	2 - 5 (4)	2 - 7 (4)	2 - 4 (3)	2 - 9 (4)	1 - 5 (4)	3 - 5 (4)	3 - 5 (4)	3 - 7 (6)	4 - 7 (5)	2 - 3 (2)	
2	-	1	2 - 4 (3)	2	1 - 3 (2)	1 - 2 (1)	1	1	1	1	1	1	3 - 4 (3)	
3	1	1 - 2 (1)	1	2 - 5 (3)	2	1 - 3 (2)	1 - 3 (2)	2	1	1	1 - 3 (2)	7 - 10 (8)	1	
4	1 - 2 (1)	2	1 - 2 (2)	2 - 6 (4)	6 - 12 (9)	2 - 7 (6)	1 - 2 (1)	1 - 2 (1)	4 - 6 (5)	2 - 4 (2)	1	1	5 - 6 (6) a	
5	3 - 5 (3)	1	1	1 - 3 (1)	3 - 6 (5)	2 - 5 (3)	2 - 4 (3)	2 - 3 (3)	1 - 3 (2)	2 - 4 (3)	2 - 5 (3)	3 - 5 (4)	-	
6	2 - 3 (3)	1	1	1 - 2 (1)	3 - 4 (3)	2 - 4 (3)	2	1 - 2 (2)	2	2	5 - 15 (12)	1a-S	1 - 6 (3)	
7	6 - 10 (8)	2	1	3 - 7 (6)	1 - 2 (2)	2 - 6 (4)	4 - 10 (8)	4 - 9 (8)	3 - 8 (7)	1	1	1b-S	2 - 5 (4)	
8	3 - 7 (5)	2	2 - 7 (4)	8 - 17 (11)	-	1	1 - 2 (2)	1 - 3 (2)	2 - 3 (2)	2 - 5 (3)	2 - 5 (3)	1c-S	1 - 5 (3)	
9	3 - 11 (6)	1	1 - 5 (4)	4 - 7 (5)	2 - 4 (3)	1	1	1	1	1	1 - 5 (3)	1d-S	1 - 5 (4)	
10	2 - 4 (2)	1	1	1	1 - 3 (1)	1	1	1	1	1	1	1e-S	1 - 4 (3)	
11	1 - 5 (1)	4 - 7 (4)	1 - 4 (1)	1 - 2 (1)	3 - 10 (4)	2 - 4 (3)	1 - 3 (2)	1 - 3 (2)	1 - 3 (2)	1 - 3 (3)	2 - 3 (2)	1f-S	1 - 4 (3)	
12	2 - 6 (3)	1	1	1	1 - 3 (2)	1 - 3 (2)	1 - 2 (2)	1 - 2 (1)	1	1	1	2-S	1	
13	2 - 4 (2)	-	14 - 34 (17)	5 - 9 (7)	2 - 4 (3)	11 - 24 (17)	3 - 7 (5)	4 - 7 (5)	3 - 7 (5)	24 - 43 (38)	3 - 8 (4)	-	-	
14	1 - 3 (2)	1	13 - 31 (23)	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	
15	3 - 7 (4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

^a Number of pairs.

Table 2. Number of branches for setae of the pupa of *Cx. (Cux.) dolosus* : range, (mode) based on counts made on 20 to 24 setae

Seta N°	Cephalothorax	Abdominal segments									Paddle
	CT	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	P
0	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	-
1	3 - 5 (4)	n.c.	3 - 17 (5)	6 - 11 (7)	5 - 8 (5)	4 - 6 (6)	2 - 5 (4)	2 - 5 (3)	-	1	1
2	2 - 5 (3)	1	1	1	1	1	1	1	-	-	1
3	2 - 5 (4)	2	2 - 3 (2)	2 - 3 (2)	4 - 7 (4)	2	1 - 4 (2)	2 - 3 (3)	-	-	-
4	2 - 4 (3)	1 - 5 (3)	3 - 7 (5)	2 - 7 (5)	2 - 3 (2)	3 - 5 (4)	3 - 5 (4)	2	2	-	-
5	3 - 6 (5)	2 - 5 (5)	2 - 6 (4)	4 - 7 (6)	2 - 3 (3)	2	2	2	-	-	-
6	2 - 6 (3)	1	1	3 - 4 (4)	3 - 4 (3)	2 - 4 (3)	2 - 5 (4)	3 - 6 (4)	-	-	-
7	2	1 - 2 (2)	1 - 2 (2)	2 - 6 (5)	2 - 4 (2)	3 - 6 (4)	1	1	-	-	-
8	3 - 8 (5)	-	-	2 - 5 (4)	2 - 4 (3)	2 - 4 (2)	2 - 4 (4)	2 - 4 (3)	-	-	-
9	2	1 - 2 (1)	1	1	1	1	1	2 - 6 (4)	6 - 9 (6)	-	-
10	3 - 6 (3)	-	-	2	2	1	1	1	-	-	-
11	2 - 4 (2)	-	-	1	1	1	1	2 - 3 (2)	-	-	-
12	1 - 3 (3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	-

n.c. = not counted.

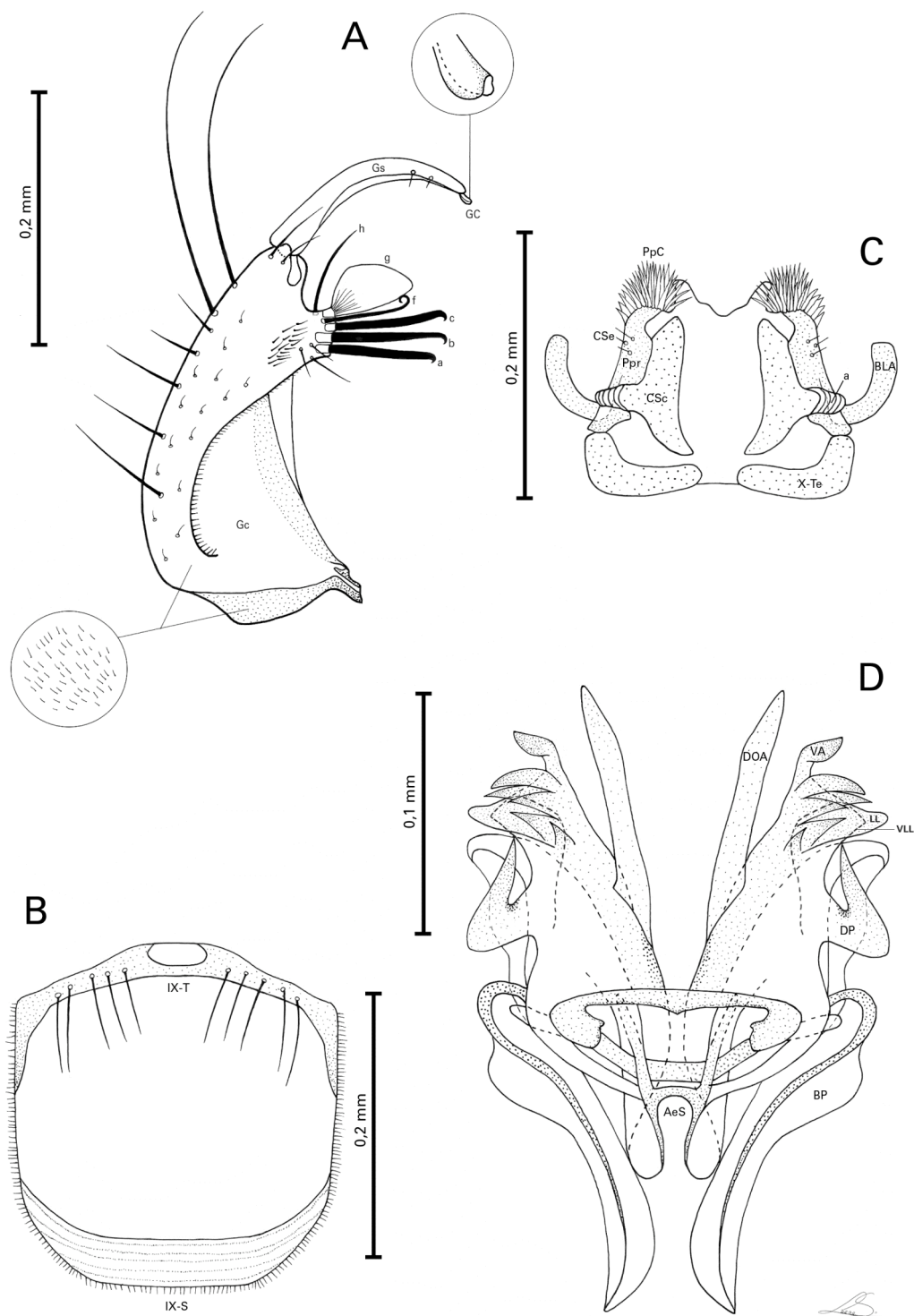


Figure 1. *Cx. dolosus*, male genitalia. (A) Gonocoxite (Gc), gonostylus (Gs), gonostylar claw (GC), setae *a-c* and *f-h*. (B) Sternum IX (IX-S), tergum IX (IX-T). (C) Paraproct (Ppr), paraproct crown (PpC), cercal seta (CSe), cercal sclerite (CSc), basal lateral arm (BLA), Tergum X (X-Te), acetabulum (*a*). (D) Phallosome: aedeagal sclerite (AeS), dorsal arm (DOA), ventral arm (VA), lateral lobe (LL), ventrolateral lobe (VLL), dorsal process (DP), basal piece (BP). Scales are in mm.

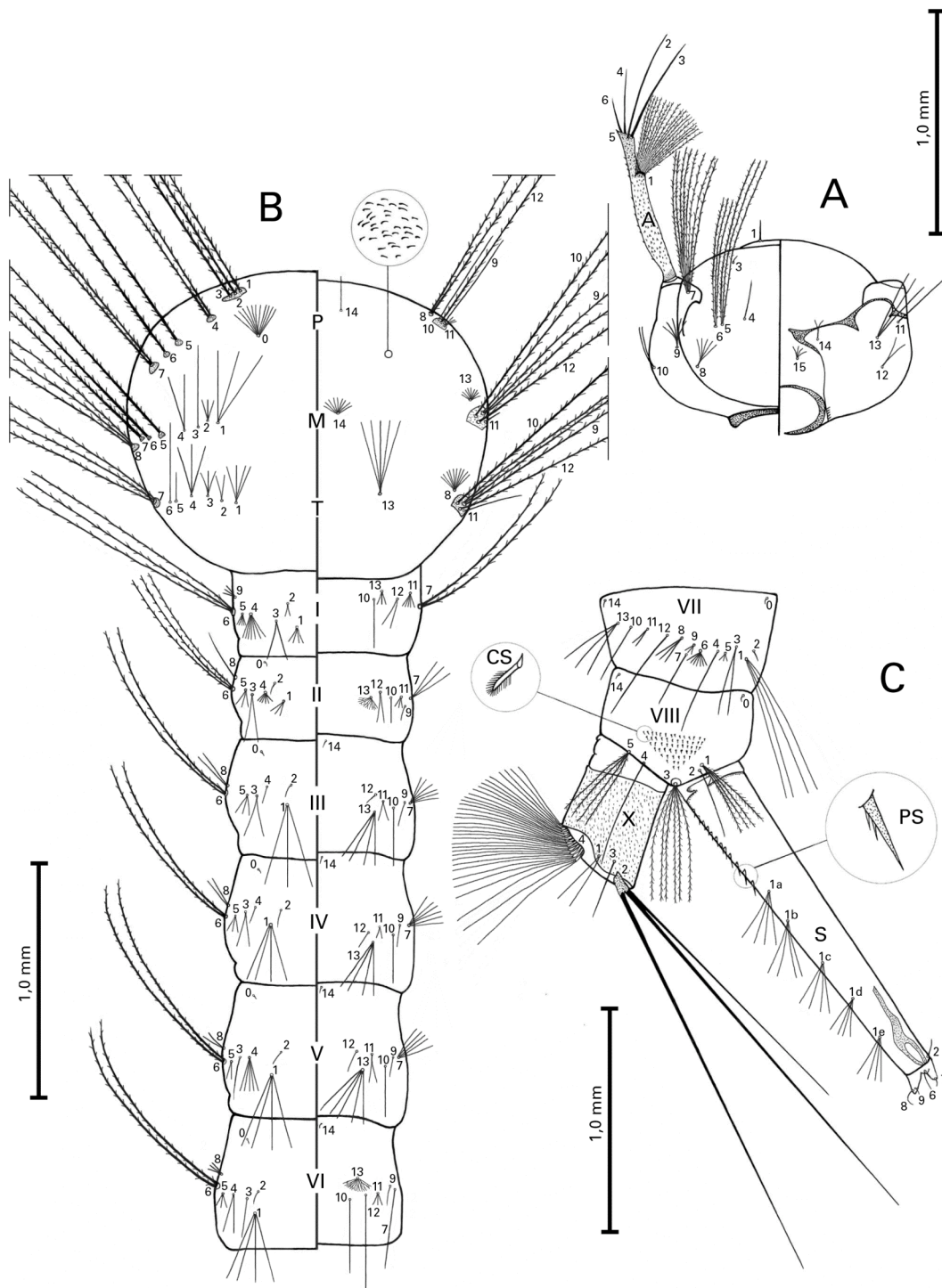


Figure 2. *Cx. dolosus*, fourth instar larva. (A) Head, left side dorsal, right side ventral. (B) Thorax and Abdominal segments I-VI, left side dorsal, right side ventral. (C) Abdominal segments VII-X side view, saddle and spiracular apparatus. Scales are in mm.

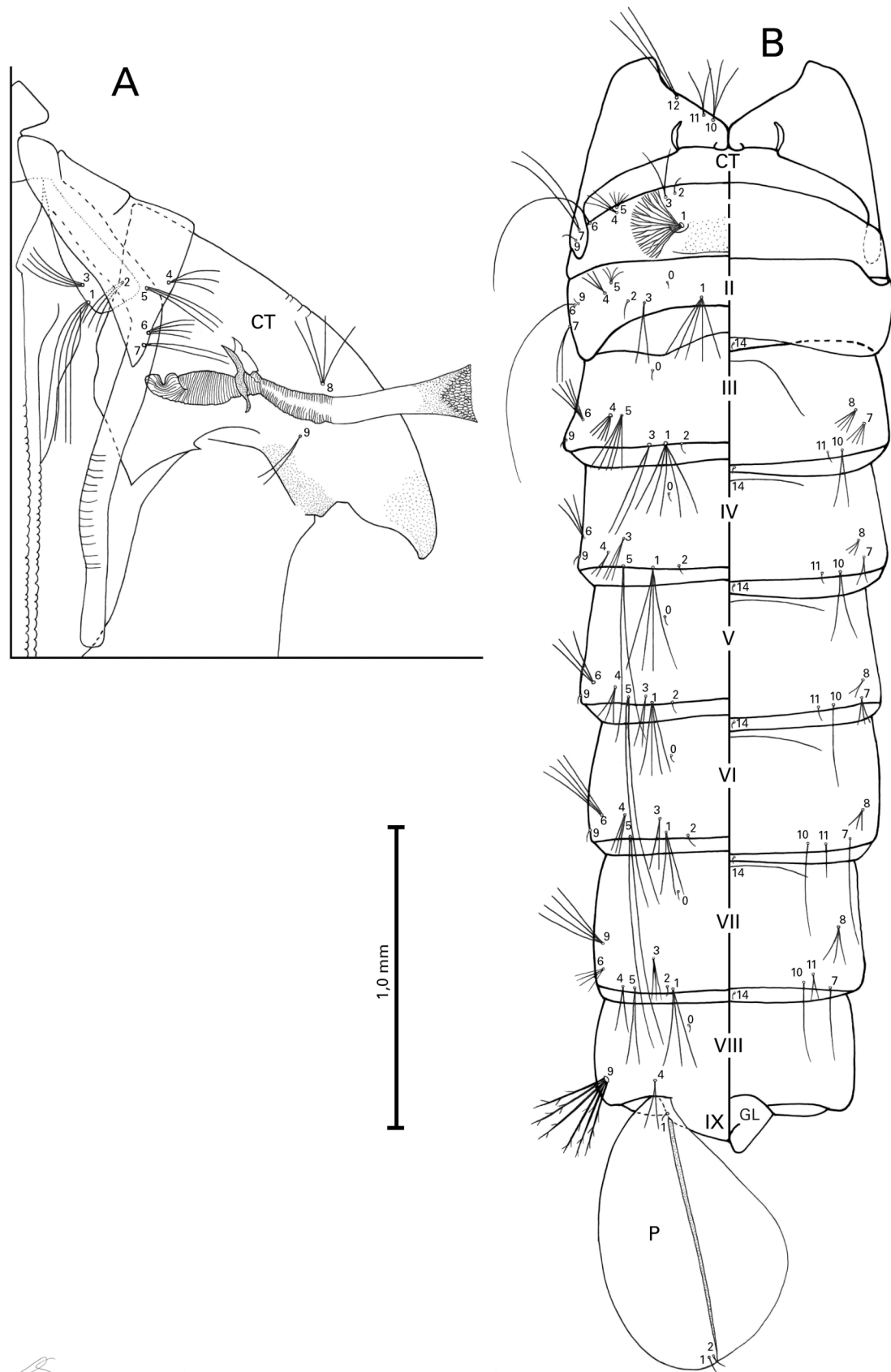


Figure 3. *Cx. dolosus*, pupa. (A) Cephalothorax. (B) Metathorax, abdominal segments I-IX, left side dorsal, right side ventral, paddle. Scales are in mm.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo teve como objetivos solucionar problema de identificação de *An. lanei* e acrescentar informações ao conhecimento dessa espécie.

Linthicum (1988) apresentou a ilustração de genitália masculina elaborada a partir de um espécime coletado em Estância, Estado de Sergipe. No entanto, as evidências sugerem que o exemplar ilustrado pertence a outro táxon que não *An. lanei*. De acordo com MAYR e ASHLOCK (1991), se duas formas diferem entre si em um caractere e acabam por diferir também em outros caracteres, funcionalmente não relacionados e inconspícuos em relação ao primeiro, é muito provável que se trate de espécies diferentes. É possível que Linthicum tenha examinado espécimes identificados erroneamente como *An. lanei*. Contudo, a hipótese de que se trate de uma espécie ainda não descrita não pode ser descartada. Pelos caracteres presentes na descrição e pela ilustração da genitália masculina pode-se dizer que o espécime de Estância seria morfologicamente semelhante à *An. argyritarsis*. Entretanto, não foi possível identificar o exemplar de fêmea adulta como nenhuma das espécies pertencentes ao grupo *Argyritarsis* tendo como base somente os caracteres indicados por LINTHICUM (1988). As suspeitas acima atentam para a necessidade de estudos futuros na região de Estância, a fim de confirmar a existência de uma espécie de *Anopheles* do subgênero *Nyssorhynchus* possivelmente ainda não descrita.

Em relação à distribuição geográfica de *An. lanei* é importante mencionar que, além da região de Campos do Jordão, no Estado de São Paulo, alguns dados em

literatura indicam a presença da espécie na Argentina (DEL PONTE, 1941) e nos Estados da Bahia (FIGUEIREDO, 1940), Espírito Santo (COUTINHO, 1947) e Rio de Janeiro (FERREIRA, 1964).

Em 1940, Del Ponte capturou um anofelíneo adulto na Cidade de San Pedro, Província de Misiones, Argentina e, baseando-se na descrição de GALVÃO e AMARAL (1938) identificou-o como *An. lanei*. O autor ressalta que o local onde o espécime foi encontrado tem características climáticas e faunísticas semelhantes a Campos do Jordão (DEL PONTE, 1941). Esta ocorrência é citada em trabalhos de BEJARANO (1957), GARCIA e RONDEROS (1962), FORATTINI (1962) e GORHAM (1967). Porém, fora esta ocasião, nunca mais se noticiou o encontro de *An. lanei* na Argentina.

FERREIRA (1964), em estudo feito sobre a distribuição geográfica dos anofelíneos no Brasil, faz menção à ocorrência de *An. lanei* no Estado do Rio de Janeiro. Porém, somente pelas referências citadas no artigo, não foi possível saber a fonte desta informação. O único trabalho que consta das referências sobre anofelíneos no Rio de Janeiro, após a data de descrição de *An. lanei*, é o de CARVALHO e RACHOU (1951), mas neste não é mencionada a ocorrência da espécie nesse Estado.

Em inspeção de malária realizada no Município de Jitaúna, sudoeste do Estado da Bahia, FIGUEIREDO (1940) coletou algumas larvas de anofelíneos e, dentre estas, quatro que foram identificadas com *An. lanei*. COUTINHO (1947), com o intuito de analisar a distribuição de anofelíneos no Brasil, realizou várias coletas pelo país, mas não encontrou a espécie. Neste trabalho, ao se referir a *An. lanei*, o autor

remete ao encontro de Jitaúna e também ao encontro da espécie no Estado do Espírito Santo por Pinotti em 1947.

Em trabalho sobre a zoogeografia dos anofelíneos da Venezuela, GABALDÓN e COVA-GARCIA (1952) fizeram algumas observações sobre as espécies de região Neotropical e, ao se referirem à distribuição de *An. lanei* remetem à COUTINHO (1947) sobre o encontro na Bahia e no Espírito Santo.

Baseando-se inicialmente na lista de espécies encontradas no Espírito Santo que consta do trabalho de COUTINHO (1947) e objetivando aprofundar o estudo sobre os anofelíneos que ali ocorrem, ANDRADE e BRANDÃO (1957) realizaram coletas em 27 municípios do Estado. Espécimes identificados como *An. lanei* foram encontrados nos municípios de Serra, Cariacica e em Vitória.

Diferenças nas condições ambientais entre Campos do Jordão e as localidades de Jitaúna, Serra, Cariacica e Vitória nos fazem suspeitar se estas ocorrências seriam realmente de *An. lanei*. Assim como foi dito anteriormente, a formação vegetal da Serra da Mantiqueira faz parte do Bioma da Mata Atlântica, sendo considerada uma floresta de altitude (MÜLLER, 1974). A maior parte do Estado do Espírito Santo e o Sul do Estado da Bahia também estão contidos neste Bioma, mas em regiões de baixas altitudes (IBGE 2002).

As cidades de Serra, Cariacica e Vitória estão localizadas em zonas de vegetação tropical pluvial e também de restinga. Estas apresentam altitudes médias menores que 100 metros e clima quente semi-úmido. A cidade de Jitaúna se encontra em uma zona de aluvial, próxima à transição entre os Biomas da Mata Atlântica e da Caatinga e, conseqüentemente, entre a transição do clima quente semi-úmido para o quente semi-árido. A altitude média nesta localidade é de 200 metros (IBGE 2002).

Apesar destas diferenças ambientais, não podemos afirmar com certeza se estas ocorrências não seriam de *An. lanei*. Apenas no caso da ocorrência de Jitaúna, uma possível explicação seria um erro na identificação das larvas, que podem ter sido confundidas com espécies pertencentes ao subgênero *Anopheles*, já que algumas espécies desse subgênero apresentam a cerda 3-C de aspecto semelhante à encontrada em *An. lanei*.

Para confirmar a veracidade destas ocorrências deveriam ser feitas coletas nos locais em questão.

Apesar das ocorrências acima citadas, a grande maioria dos dados de literatura referentes à *An. lanei* indicam que a espécie teria sua distribuição restrita a região de Campos do Jordão. Mesmo assim, não se descarta a possibilidade desta ser encontrada em outras regiões da Serra da Mantiqueira e circunvizinhanças que apresentem características climatológicas, orográficas e biológicas adequadas ao seu desenvolvimento, como foi constatado nas coletas realizadas em 2001 e 2006, quando *An. lanei* foi encontrado no Pico do Itapeva, município de Pindamonhangaba.

Em relação a *Cx. dolosus*, este trabalho buscou redescrever a espécie com base em população que ocorre na região de Pindamonhangaba, na Serra da Mantiqueira, Estado de São Paulo. Existem indícios de que se trata de forma morfológica diferenciada em relação à população que ocorre na Argentina, descrita por Lynch Arribálzaga em 1891, sendo estes reforçados pelas diferenças ecológicas e ambientais entre a região de Pindamonhangaba e a localidade tipo de *Cx. dolosus*, em Buenos Aires. Para confirmar estas suspeitas, seria necessário examinar material da localidade tipo de *Cx. dolosus*, o que não foi possível até o momento. Mesmo assim,

espera-se que este trabalho possa auxiliar em futuros estudos sobre *Cx. dolosus*, bem como na confirmação da existência de formas morfológicas diferenciadas da espécie em questão.

Tendo em vista que *Cx. dolosus* é similar a *Cx. eduardoi*, este trabalho buscou acrescentar dados que possam facilitar a distinção entre as duas espécies. Embora tenhamos conseguido diferenciar *Cx. dolosus* de *Cx. eduardoi* por meio das formas adultas e das larvas de quarto-estádio, em relação à genitália masculina não foram encontrados caracteres que as separem.

A problemática em torno da identificação correta de *Cx. dolosus* e *Cx. eduardoi* torna-se mais complexa na medida em que se tenta definir corretamente a área de distribuição dessas espécies. Enquanto não houver uma caracterização morfológica precisa do que seja *Cx. dolosus* e *Cx. eduardoi* não será possível estabelecer com certeza a área de distribuição dessas espécies. Sabe-se que muito do material referente à *Cx. dolosus* e *Cx. eduardoi* depositado em coleções entomológicas pode apresentar erros de identificação. Portanto, julgamos necessário rever essas identificações a fim de confirmar sua veracidade e assim, fornecer os meios para uma melhor definição da área de distribuição de cada uma das espécies.

7 REFERÊNCIAS

Aguiar AP, Chiarello AG, Mendes S L, Matos EN de. The Central and Serra do Mar Corridors in the Brazilian Atlantic Forest. In: Galindo-Leal C, Câmara IG, editores. The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats and outlook. Washington: Island Press; 2003. p. 118-132.

Almirón WR, Brewer ME. Classification of immature stage habitats of Culicidae (Diptera) collected in Córdoba, Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1996; 91: 1-9.

Amorim DS, Pires MRS. Neotropical biogeography and a method for maximum biodiversity estimation. In: Bicudo CEM, Menezes NA, editores. Biodiversity in Brazil, a first approach. São Paulo: CNPq; 1996. P.183-219.

Andrade RM de, Brandão H. Contribuição para o conhecimento da fauna de anofelinos do Estado do Espírito Santo. Área de distribuição e incidência das espécies por cidades, vilas, e povoados (Diptera: Culicidae). Rev Bras Malariol Doencas Trop. 1957; 9: 391-416.

Bejarano JFR. Distribucion geografica de “Anophelini” de la Republica Argentina. Rev Sanid Milit Argent. 1957; 56: 307-348.

Belkin JN. The mosquitoes of South Pacific (Diptera: Culicidae). Berkeley: University of California Press; 1962a. v.1.

Belkin JN. The mosquitoes of South Pacific (Diptera: Culicidae). Berkeley: University of California Press; 1962b. v.2.

Belkin JN. Mosquito studies (Diptera: Culicidae). IX. The type specimens of New World mosquitoes in European museums. Contrib Amer Ent Inst. 1968; 3: 1-69.

Belkin JN, Schick RX, Heinemann SJ. Mosquitoes originally described from Argentina, Bolivia, Chile, Paraguay, Peru and Uruguay. *Contrib Amer Ent Inst.* 1968; 4: 9-29.

Belkin JN, Schick RX, Heinemann SJ. Mosquito Studies (Diptera, Culicidae). XXV. Mosquitoes originally described from Brazil. *Contrib Amer Ent Inst.* 1971; 7: 1-64.

Bram RA. Classification of *Culex* subgenus *Culex* in the New World (Diptera: Culicidae). *Proc US Nat Mus.* 1967; 120: 1-122.

Bréthes J. Algumas notas sobre mosquitos Argentinos. *An Mus Nac, Buenos Aires.* 1916; 28: 193-218.

Calheiros CML, Fontes G, Williams P, Rocha EMM. Experimental infection of *Culex (Culex) quinquefasciatus* and *Aedes (Stegomyia) aegypti* with *Wuchereria bancrofti*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1998; 93: 855-860.

Carvalho FF de, Rachou RG. Considerações sobre a malária no Estado do Rio de Janeiro, com especial referência ao Vale do rio Pirai. *Rev Bras Malariol Doencas Trop.* 1951; 3: 473-485.

Casal OH, García M. *Culex (Culex) eduardoi*, una nueva especie de la Republica Argentina (Diptera: Culicidae). *Rev Soc Ent Arg.* 1968; 30: 105-111.

Coelho BWT. The biology of the primitively eusocial *Augochloropsis iris* (Schrottky, 1902) (Hymenoptera: Halictidae). *Insectes Soc.* 2002; 49: 181-190.

Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1994.

Conn JE. Systematics and Population level analysis of *Anopheles darlingi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1998; 93: 647-650.

Conn JE, Wilkerson RC, Segura MNO, De Souza RTL de, Schlichting CD, Wirtz RA, Póvoa MM. Emergence of a new Neotropical malaria vector facilitated by human migration and changes in land use. *Am J Trop Med Hyg.* 2002; 66: 18-22.

Coquillett DW. On the breaking-up of the old genus *Culex*. *Science N S.* 1906; 23: 312-314.

Coutinho J de O. Contribuição para o estudo da distribuição geográfica dos anofelinos no Brasil: sua importância na transmissão da malária [Livre Docência]. São Paulo: Faculdade de Medicina da USP; 1947.

Darsie RF Jr. Mosquitoes of Argentina. *Mosq Syst.* 1985; 17: 153-253.

Del Ponte E. Revision the las espécies argentinas del gênero *Anopheles*. Buenos Aires: Facultad de Ciencias Medicas, Universidad de Buenos Aires; 1941.

Duret JP, Barreto MP. Notas sobre culicidas do Estado de São Paulo, Brasil, com descrições de três novas espécies de *Culex* (Diptera: Culicidae). *Rev Bras Entomol.* 1956; 5: 81-99.

Dyar HG. A note on Argentine mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Insect Inscit Menst.* 1919; 7: 85-89.

Dyar HG. The mosquitoes of Argentina. *Insect Inscit Menst.* 1921; 9: 148-150.

Dyar HG. The Mosquitoes of the United States. *Proc US Nat Mus.* 1922; 62: 1-119.

Dyar HG. The mosquitoes of the Americas. Washington, D.C: Carnegie Institution of Washington, Publishers N° 387; 1928.

Faran ME. Mosquito Studies (Diptera: Culicidae) XXXIV - A revision of the Albimanus section of the subgenus *Nyssorhynchus* of *Anopheles*. Contrib Amer Ent Inst. 1980; 15: 1-215.

Faran ME, Linthicum KJ. A handbook of the Amazonian species of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera: Culicidae). Mosq Syst 1981; 13: 1-81.

FEDAPAM - Frente de Defesa da Mantiqueira. Relatório Mantiqueira. São Paulo; 1991.

Ferreira E. Distribuição geográfica dos anofelinos no Brasil e sua relação com o estado atual da erradicação da malária. Rev Bras Malariol Doencas Trop. 1964; 16: 329-348.

Figueiredo B. Uma inspeção de malária em Jitaúna. In: Sociedade de medicina da Bahia, Anais da Sociedade de Medicina da Bahia - Jornadas Médicas. Bahia: Imprensa Vitória; 1940. p. 110-129.

Fischer S, Schweigmann N. *Culex* mosquitoes in temporary urban rain pools: Seasonal dynamics and relation with environmental variables. J Vector Ecol. 2004; 29: 365-373.

Fonseca JAB, Unti O. Infecção experimental de anofelinos de regiões indenes à malária. Folia Clin Biol. 1943; 15: 43-52.

Forattini OP. Entomologia Médica - Parte geral: Diptera, Anophelini. São Paulo: Faculdade de Higiene e Saúde Pública, Departamento de Parasitologia; 1962.

Forattini OP. Notas sobre Culicidae (Diptera) 8 – A respeito de *Culex* (*Culex*) *spinatus* Lutz, 1905. Rev Bras Entomol. 1964; 11: 57-62.

- Forattini OP. Entomologia Médica – Culicini: *Culex*, *Aedes* e *Psorophora*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo; 1965.
- Forattini OP, Rabello EX. Notas sobre Culicidae (Diptera). 6. Novos dados sobre algumas espécies do subgênero *Culex*. Pap Avulsos Dep Zool. 1965; 17: 27-34.
- Forattini OP. Culicidologia Médica. São Paulo: Edusp - Editora da Universidade de São Paulo; 1996. v.1.
- Forattini OP. Culicidologia Médica. São Paulo: Edusp - Editora da Universidade de São Paulo; 2002. v.2.
- Forattini OP, Sallum MAM, Marques GRAM, Flores DC. Description of the eggs of *Anopheles (Kerteszia) laneanus* and *Anopheles (Nyssorhynchus) antunesi* (Diptera: Culicidae) by scanning electron microscopy. J Am Mosq Control Assoc. 1997; 13: 368-374.
- Froehlich CG. Brazilian Plecoptera 6 - *Gripopteryx* from Campos do Jordão, State of São Paulo (Gripopterygidae). Stud Neotrop Fauna Environ. 1990; 25: 235-247.
- Froehlich CG. Biological observations on *Tupiperla* (Plecoptera: Gripopterygidae). Rev Brasil Biol. 2000; 60: 447-450.
- Gabaldón A, Cova-Garcia P. Zoogeografia de los Anofelinos em Venezuela: IV. Su posición em la región Neotrópica y observaciones sobre las especies de esta región. Rev Sanid Asist Soc. 1952; 17: 171-209.
- Galvão ALA, Amaral ADF do. Sobre um novo anofelino de Campos do Jordão, Estado de São Paulo, *Anopheles (Nyssorhynchus) lanei* n.sp. (Diptera, Culicidae). Rev Biol Hyg. 1938; 9: 8-16.

Galvão ALA. Contribuição ao conhecimento dos anofelinos do grupo *Nyssorhynchus* de São Paulo e regiões vizinhas (Diptera: Culicidae). Arq Zool S Paulo 1940; 1: 399-484.

Galvão ALA. Chaves para determinação das espécies do subgênero *Nyssorhynchus* do Brasil. Arq Hig Saude Publica. 1943; 8: 141-162.

Garcia M, Ronderos RA. Mosquitoes de la Republica Argentina. Tribu Anophelini (Diptera: Culicidae: Culicinae). An Com Cient Prov Bs As. 1962; 3: 103-212.

Gimenes M. Interaction between visiting bees (Hymenoptera, Apoidea) and flowers of *Ludwigia elegans* (Camb.) Hara (Onagraceae) during the year in two different areas in São Paulo, Brazil. Braz J Biol. 2003; 63: 617-625.

Gorhan JR, Stojanovich CJ, Scott HG. Chave ilustrada para los mosquitos anofelinos de Sudamerica Oriental: Illustrated key to the anopheline mosquitoes of Eastern South America. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health, Education and Welfare, Bureau of Disease Prevention and Environmental Control; 1967.

Harbach RE, Knight KL. Taxonomist's glossary of mosquito anatomy. Marlton, New Jersey: Plexus Publishing. 1980.

Harbach RE. Review of the internal classification of the genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): the foundation for comparative systematics and phylogenetic research. Bull Entomol Res. 1994; 84: 331-342.

Harbach RE, Kitching IJ. Phylogeny and classification of Culicidae (Diptera). Syst Entomol. 1998; 23: 327-370.

Harbach RE. The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): A working hypothesis of phylogenetic relationships. Bull Entomol Res. 2004; 94: 537-553.

Howard LO, Dyar HG, Knab F. The mosquitoes of North and Central America and West Indies, Systematic description, part II. Washington D.C: Carnegie Institution of Washington, Publishers N° 159: 525-1064. 1917. v.4.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Mapa de clima do Brasil [mapa]. Rio de Janeiro; 2002.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Mapa Cidades [mapa eletrônico]; 2007. <http://www.ibge.gov.br> (acesso em 15 de julho de 2007).

Knight KL. A mosquito taxonomic glossary. VII. The pupa. *Mosq Syst.* 1971; 3: 42-65.

Knight KL, Laffoon JL. A mosquito taxonomic glossary. VIII. The larval chaetotaxy. *Mosq Syst.* 1971; 3: 169-194.

Knight KL, Stone A. A catalog of the mosquitoes of the world (Diptera: Culicidae). 2 ed. Maryland: Thomas Say Foundation, Entomological Society of America; 1977. v.6.

Krzywinski J, Wilkerson RC, Besansky NJ. Toward understanding Anophelinae (Diptera, Culicidae) phylogeny: Insights from nuclear single copy genes and the weight of evidence. *Syst Biol.* 2001; 50: 540-556.

Lane J, Guimarães LR. Notas sobre culicídeos de Campos do Jordão. *Ann Paulist Med Cir.* 1937; 22: 211-217.

Lane J. Catálogo dos mosquitos Neotropicos. São Paulo: Boletim Biológico, Série Monográfica n° 1; 1939.

Lane J. Synonymy of Neotropical Culicidae (Diptera). *Proc Entomol Soc Wash.* 1951; 53: 333-336.

- Lane J. Neotropical Culicidae. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1953.
- Levi-Castillo R. Atlas de los anofelinos Sudamericanos. Guayaquil, Ecuador: Tipografía de la Sociedad Filantrópica del Guayas; 1949.
- Linthicum KJ. 1988. A revision of the *Argyritarsis* section of the subgenus *Nyssorhynchus* of *Anopheles*. Mosq Syst 20: 99-271.
- Lourenço de Oliveira R, Castro M G, Braks MAH, Lounibus LP. The invasion of urban forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. J Vector Ecol. 2004; 29: 94-100.
- Lynch Arribáizaga F. Dipterología argentina. Rev Mus La Plata. 1891; 2: 131-174.
- Maciá, A. Age Structure of adult mosquito (Diptera: Culicidae) populations from Buenos Aires province, Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1997; 92: 143-149.
- Martins UR. Tipos de publicações zoológicas In: Papavero N. Fundamentos práticos de taxonomia zoológica. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista; 1994. p.62.
- Mayr E, Ashlock PD. Principles of systematic zoology. 2 ed. New york: McGraw-Hill, Inc; 1991.
- Merlim A de O, Aquino AM de, Cardoso EJBN. Larvas de Coleoptera em ecossistemas de araucária no Parque Estadual de Campos do Jordão, SP. Ciência Rural. 2006; 36: 1303-1306.
- Müller, P. Aspects of zoogeography. Netherlands: The Hague, Dr. W. Junk B.V., Publishers; 1974.

Nascimento TFS do, Lourenço de Oliveira R. *Anopheles halophylus*, a new species of the subgenus *Nyssorhynchus* (Diptera: Culicidae) from Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002; 97: 801-811.

Natal D, Ueno HM. Vírus do Nilo Ocidental: características da transmissão e implicações vetoras. Entomol vect. 2004; 11: 417-433.

Nimer E. Climatologia do Brasil. 2 ed. Rio de Janeiro: IBGE - Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais; 1989.

Oliveira LG, Froehlich CG. Diversity and community structure of aquatic insects (Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera) in a mountain stream in southeastern Brazil. Acta Limnol Brasil. 1997; 9: 139-148.

Peryassú AG. Os culicídeos do Brasil. Rio de Janeiro: Tipografia Leuzinger; 1908.

Peyton EL, Wilkerson RC, Harbach RE. Comparative analysis of the subgenera *Kerteszia* and *Nyssorhynchus* of *Anopheles* (Diptera: Culicidae). Mosq System. 1992; 24: 51-69.

Pinto C. Disseminação da malária pela aviação: Biologia do *Anopheles gambiae* e outros anofelíneos do Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1939; 34: 295-430.

Ramos AS. Observações sobre os anofelinos do litoral Paulista. Arq Hig Saude Publica. 1943; 8: 23-31.

Rosa-Freitas MG, Lourenço de Oliveira R, Carvalho-Pinto CJ de, Flores-Mendoza C, Silva-do-Nascimento TF. Anopheline species complexes in Brazil. Current Knowledge of those related to malaria transmission. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998; 93: 651-655.

Rossi GC, Mariluis JC, Schnack JA, Spinelli GR. Dipteros vectores (Culicidae y Calliphoridae) de la Provincia de Buenos Aires. La Plata: Impresiones PublicArt; 2002.

Rossi GC. Occurrence of extra and anomalous setae on pupal abdominal segment VIII of the Dolosus Complex of *Culex* (Diptera: Culicidae). J Am Mosq Control Assoc. 2006; 22: 1-4.

Rozeboom LE. Subspecific variations among Neotropical *Anopheles* mosquitoes, and their importance in the transmission of malaria. Am J Trop Med. 1942; 3: 235-255.

Russel PF, Rozeboom LE, Stone A. Keys to the Anopheline mosquitoes of the world: with notes on their identification, distribution and relation to malaria. Philadelphia: The American Entomological Society, The Academy of Natural Sciences; 1943.

Sallum MAM, Wilkerson RC. Description of the immature stages of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *rondoni* (Neiva & Pinto) (Diptera: Culicidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1997; 92: 365-372.

Sallum MAM, Schultz TR, Wilkerson RC. Phylogeny of Anophelinae (Diptera: Culicidae) based on morphological characters. Ann Entomol Soc Am. 2000a, 93: 745-775.

Sallum MAM, Forattini OP, Wilkerson RC. Redescription of the adult and larva and first description of the pupa of *Anopheles* (*Kerteszia*) *laneanus*. J Am Mosq Control Assoc. 2000b; 16: 86-92.

Sallum MAM, Schultz TR, Foster PG, Aronstein K, Wirtz RA, Wilkerson RC. Phylogeny of Anophelinae (Diptera: Culicidae) based on ribosomal and mitochondrial DNA sequences. Syst Entomol. 2002; 27: 361-382.

Schroeder-Araújo LT, Cipólli MN. Organismos bentônicos como indicadores da qualidade da água de rios do Parque Estadual de Campos do Jordão, SP. Bol Inst Pesca. 1986; 13: 77-83.

Seibert P, Negreiros OC de, Bueno RE, Netto BV de M, Marcondes MAP, César SF, e colaboradores. Plano de Manejo do Parque Estadual de Campos do Jordão. Bol Tec I F. 1975; 19: 1-153.

Suriano MT, Fonseca-Gessner AA. Chironomidae (Diptera) larvae in streams of Parque Estadual de Campos do Jordão, São Paulo State, Brazil. Acta Limnol Bras. 2004; 16:129-136.

Theobald FV. A monograph of the Culicidae of the world. London: The British Museum (Natural History); 1901. v. 2.

Theobald FV. A monograph of the Culicidae of the world. London: The British Museum (Natural History); 1903. v. 3.

Unti O, Ramos AS. Anofelismo das Alturas do Brasil Meridional. Arq Hig Saude Publica. 1942; 7 : 91-106.

Unti O. Oxigênio dos focos de anofeles de São Paulo. Arq de Hig Saude Publica. 1943; 8: 85-102.

Wilkerson RC Peyton EL. Standardized nomenclature for the costal wing spots of the genus *Anopheles* and other spotted-wing mosquitoes (Diptera: Culicidae). J Med Entomol. 1990; 27: 207-224.

Wilkerson RC, Parsons TJ, Klein TA, Gaffigan TV, Bergo E, Consolim J. Diagnosis by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction of four cryptic species related to *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *albitarsis* (Diptera: Culicidae) from Paraguay, Argentina and Brazil. J Med Entomol. 1995; 32: 697-704.

