

**UFRRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

DISSERTAÇÃO

**Aspectos bioecológicos de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) em
fragmento florestal urbano do Rio de Janeiro – RJ**

**Aline Tátilla Ferreira
Maio/2017**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

**Aspectos bioecológicos de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) em
fragmento florestal urbano do Rio de Janeiro – RJ**

Aline Tátilla Ferreira

Sob a orientação do professor

Dr. Jeronimo A. F. Alencar

Dissertação submetida ao programa de Pós Graduação em Biologia Animal da UFRRJ, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências - Biologia Animal**.

Seropédica, Rio de Janeiro
Maio/2017

- Fa Ferreira, Aline Tátilla, 1993-
 Aspectos bioecológicos de *Haemagogus leucocelaenus*
 (Diptera: Culicidae) em fragmento florestal urbano do
 Rio de Janeiro - RJ / Aline Tátilla Ferreira. - 2017.
 72 f.
- Orientador: Jeronimo A. Fonseca Alencar.
 Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
 do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em
 Biologia Animal, 2017.
1. Ovos de culicídeos. 2. Ecologia de mosquitos. 3.
 Febre Amarela. I. A. Fonseca Alencar, Jeronimo, 1967
 , orient. II Universidade Federal Rural do Rio de
 Janeiro. Programa de Pós Graduação em Biologia Animal
 III. Título.

UFRRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

ALINE TÁTILA FERREIRA

Dissertação submetida ao programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da UFRRJ, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências - Biologia Animal**.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM __/__/__

Dr. Jeronimo A. F. Alencar - IOC/Fiocruz
(Orientador)

Dr. José Mario D'Almeida - Departamento Biologia Geral/UFF

Dr^a. Julia dos Santos Silva - IOC/FIOCRUZ

*Aos meus alicerces,
Filipe, Gentil, Cácia e Alan.*

AGRADECIMENTOS

O meu sincero agradecimento à todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Jeronimo, por ter sido tão solícito e ter aceitado o desafio de me orientar, mesmo eu não tendo experiência com culicídeos e por ter aberto as portas do Laboratório de Diptera (LabDip/IOC) para mim. Ao ver tantas pessoas reclamarem de seus orientadores, me sinto sortuda por ser orientanda de alguém como você.

Às meninas do laboratório pelos ensinamentos, descontração, parceria e colaboração.

Thaiuana, obrigada por todas as vezes que me ajudou quando precisei (e não foram poucas), obrigada pelas cantorias e pelos snaps.

Cecília, obrigada por ter sempre prazer e paciência em ensinar o que sabe, obrigada por ser tão positiva e otimista. E obrigada por cuidar tão bem do laboratório, ele não seria o mesmo sem você.

Um agradecimento mais que especial à minha parceira de campo e laboratório: Dani. Tudo que eu escrever aqui é pouco diante da gratidão que tenho à você. Obrigada por me acompanhar em todas as coletas, se não fosse você, eu nem sei o seria deste trabalho. Obrigada por compartilhar comigo aprendizados, perrengues, quedas, sanduíches, bolos, segredos. Te agradeço por nunca me deixar desanimar e por ter paciência comigo. E, por fim, obrigada por ser a minha madrinha de casamento!

Juliana, Andressa, Jean, Shayenne e Thamiris, obrigada por todos os momentos compartilhados no laboratório.

Agradeço, também, ao pessoal do Laboratório de Transmissores de Hematozoários (Lathema/IOC) pelos momentos de descontração, pelas conversas na copa, comemorações e palavras de incentivo.

Ao Programa de Pós Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao coordenador, Prof. Gerson. Tenho muito orgulho de fazer parte deste programa.

À minha turma do mestrado, a qual tenho um imenso carinho. Torço muito por cada um.

À Capes, pela bolsa concedida. Estendo os agradecimentos ao grupo do Facebook "Bolsistas Capes", pela troca de conhecimentos e vivências.

À banca examinadora, por todas as contribuições e correções.

Agradeço imensamente aos meus amigos.

Geórgia, Jéssica, Andressa, por se fazerem presentes na minha vida mesmo estando a mais de mil quilômetros de distância e por me permitir compartilhar a vida com vocês, dividindo os meus anseios, aflições, perdas e ganhos.

Agostinho, por dividir os seus conhecimentos acerca dos culicídeos e de diversos outros temas. Obrigada por ser um ótimo "filho", por lavar tão bem as louças e por ser um ótimo amigo.

Isabelle, por, desde o nosso primeiro contato, ter se tornado uma grande amiga. Obrigada por ter me recebido no Rio de Janeiro, por dividir segredos e momentos comigo. A nossa amizade vai além da área acadêmica!

Aos cães, Caetano, Dédé e Fiote, por serem fiéis companheiros.

Um agradecimento mais que especial ao meu marido, Filipe, por ser um companheiro tão incrível e tornar a minha caminhada mais leve. Obrigada por todas as contribuições neste trabalho, pela paciência, pelo incentivo e torcida. Você, mais do que ninguém, sabe de todos as minhas metas, sonhos, limitações, angústias, ansiedades e anseios e me entende e apoia em tudo. Você é minha inspiração. Estendo os agradecimentos à sua família, que me acolheu como parte dela.

À toda a minha família, em especial aos meus pais, Gentil e Cácia, ao meu irmão, Alan, e à minha avó-madrinha, Dalícia, por serem a minha base. Com vocês e por vocês, eu sou mais forte. Obrigada, paim e mainha, por terem me dado tudo que não tiveram e por cada gota de suor derramada por mim. Quem me dera um dia ter metade da força e garra que vocês têm. Hoje vou atrás dos meus sonhos para, quando concretizá-los, desfrutar com vocês e a conclusão deste mestrado é um deles.

Ao café, pois sem ele teria sido muito mais difícil a realização deste trabalho.

À vida, que, mesmo com tantos percalços, ainda consegue ser maravilhosa!

E, finalmente, agradeço a Deus, meu grande parceiro.

Neste momento, o meu coração está repleto de gratidão à tudo e à todos! Divido com vocês a minha felicidade por estar dando mais um passo importante na minha vida.

"Sou daquelas pessoas que pensam que a ciência guarda uma grande beleza. Um cientista em seu laboratório não é apenas um técnico, é também uma criança posto ante fenômenos naturais que o impressionam como um conto de fadas."

Marie Curie

Primeira mulher a receber um Prêmio Nobel e a primeira pessoa e única mulher a ganhar o prêmio duas vezes. Saliento que, dentre os 851 prêmios Nobel já concedidos até hoje, apenas 44 foram destinados à mulheres.

Índice de Figuras

INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1.** Ciclo evolutivo dos Culicidae. Ovo, seguido de quatro estágios larvais (L1, L2, L3 e L4), pupa e adulto. 2
- Figura 2.** *Haemagogus leucocelaenus*. Fonte: Atlas de culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC. 5
- Figura 3.** Mapa com áreas de risco de transmissão de Febre Amarela no mundo. 8
- Figura 4.** Distribuição geográfica dos casos humanos confirmados e em investigação de febre amarela, por município do local de provável infecção e classificação. 8
- Figura 5.** Ciclos epidemiológicos (silvestre e urbano) da febre amarela. 9
- Figura 6.** Localização do Campus FIOCRUZ da Mata Atlântica no município do Rio de Janeiro/RJ. 11
- Figura 7.** Cobertura vegetal do Campus Fiocruz da Mata Atlântica e seu entorno 11
- Figura 8.** Conjunto arquitetônico e patrimônio cultural tombado do Campus Fiocruz da Mata Atlântica. 13
- Figura 9:** Substituição das palhetas na ovitrampa, realizada quinzenalmente. 15
- Figura 10.** Disposição das palhetas em campo e demonstração do procedimento de imersões para eclosão dos ovos em laboratório. 15

CAPÍTULO I - Ciclo biológico de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) em condições de laboratório

- Figura 1.** Efeito cumulativo de várias imersões do ovo de espécimes de *Hg. leucocelaenus*, coletados em armadilha Ovitampa, no *Campus* FIOCRUZ da Mata Atlântica, estado do Rio de Janeiro, Brasil. 26
- Figura 2.** Taxa de eclosão representada por imersão de ovos de *Hg. leucocelaenus* coletados em armadilha Ovitampa, no *Campus* FIOCRUZ da Mata Atlântica, estado do Rio de Janeiro, Brasil. 27

CAPÍTULO II - Comportamento de oviposição de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) vetor silvestre do vírus da febre amarela no Brasil

Figura 1. Matriz de dispersão de dados das alturas de voo, com seus respectivos valores de correlação de Pearson. 40

Figura 2. Matriz de escala de cores e valores das correlações de Pearson das alturas de voo. 41

Figura 3. Mapa de cores, com agrupamento de cluster, permitindo verificar as correlações entre as alturas de voo e entre os meses de observação. 42

Índice de Tabelas

CAPÍTULO II - Comportamento de oviposição de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) vetor silvestre do vírus da febre amarela no Brasil

Tabela 1. Análise de variância (ANOVA) considerando as alturas de oviposição como tratamentos e os meses como repetição.

39

Tabela 2. Análise de variância (ANOVA) considerando os meses estudados como tratamentos e alturas de oviposição como repetições para cada mês.

42

Lista de Abreviaturas e Siglas

<i>Ae.</i>	Gênero <i>Aedes</i>
Capes	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CFMA	Campus Fiocruz da Mata Atlântica
CHIKV	Vírus Chikungunya
CJM	Colônia Juliano Moreira
DENV	Vírus Dengue
FA	Febre amarela
FAS	Febre amarela silvestre
FAU	Febre amarela urbana
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
<i>Hg.</i>	Gênero <i>Haemagogus</i>
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
M	Metros
PNH	Primatas não humanos
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação Sobre Biodiversidade
Teste F	Teste Fisher
VFA	Vírus da Febre Amarela
VORO	Vírus Oropouche
VROC	Vírus Rocio
Vs.	Versus
ZIKV	Zika Vírus

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	xiv
GENERAL ABSTRACT	xvi
INTRODUÇÃO GERAL	1
Bioecologia dos culicídeos	2
Características taxonômicas do gênero <i>Haemagogus</i> Williston, 1896	3
Importância médica e ecológica	6
Febre Amarela	7
MATERIAL E MÉTODOS	10
Área de estudo	10
Coleta dos espécimes	14
Identificação dos espécimes	16
Capítulo I - Ciclo biológico de <i>Haemagogus leucocelaenus</i> (Diptera: Culicidae) em condições de laboratório	
RESUMO	24
ABSTRACT	25
INTRODUÇÃO	26
MATERIAIS E MÉTODOS	27
Descrição da área de estudo	27
Coleta e processamento dos ovos	27
RESULTADOS	28
DISCUSSÃO	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

Capítulo II - Comportamento de oviposição de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) vetor silvestre do vírus da febre amarela no Brasil

RESUMO	37
ABSTRACT	38
INTRODUÇÃO	39
MATERIAIS E MÉTODOS	40
Declaração de ética	40
Área de estudo	40
Coleta dos espécimes	40
Criação e identificação em laboratório	41
Análises estatísticas	41
RESULTADOS	42
DISCUSSÃO	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
CONCLUSÃO GERAL	54

RESUMO GERAL

FERREIRA, Aline Tátilla. **Aspectos bioecológicos de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) em fragmento florestal urbano do Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro, Brasil.** 2017. 66 p. Dissertação (Mestrado em Biologia, Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2017.

O conhecimento da estrutura biocenótica das comunidades de mosquitos é de fundamental importância em áreas nas quais o ambiente vem sofrendo ruptura dos equilíbrios naturais. Tais interferências podem se tornar perigosas, principalmente quando ocorre o contato direto entre esses culicídeos e a população humana local. Desta forma, entender os aspectos envolvidos em todas as fases do ciclo biológico deste grupo torna-se de extrema relevância, para melhor entendimento da sua bioecologia. *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar, 1925) é um culicídeo considerado vetor de febre amarela silvestre e possui uma grande capacidade de adaptação a ambientes modificados, quando comparado com outras espécies do mesmo gênero. Esse culicídeo é comumente encontrado no Brasil e sua importância epidemiológica relaciona-se à atuação na transmissão de arboviroses. O presente trabalho teve o objetivo de contribuir com os conhecimentos sobre o ciclo biológico e taxa de eclosão dos ovos de *Haemagogus leucocelaenus*, além de investigar a altura preferencial de oviposição desta espécie, em uma área urbana de Mata Atlântica do Rio de Janeiro. Os ovos foram coletados com auxílio da armadilha de oviposição “ovitrampa”. No total, foram coletados 4.553 unidades distribuídos em todos os meses do ano. Os meses que obtiveram o maior número de ovos foram outubro (16,87%) e maio (15,13%) e os meses com menor número de ovos foram dezembro (1,36%) e julho (1,56%). Todos os ovos pertenciam à mesma espécie de mosquito: *Haemagogus leucocelaenus*. Os resultados mostraram, ainda, que as armadilhas instaladas em diferentes alturas, desde o nível do solo até 8 metros de altura, receberam quantidades similares de ovos. Isso mostra que esta espécie explora os diferentes níveis do estrato arbóreo, o que pode favorecer a transmissão de patógenos entre animais arborícolas e o homem. Para avaliar a taxa de eclosão dos ovos ao longo de sucessivas imersões feitas em condições de laboratório, utilizou-se 875 unidades, coletados nos meses de outubro e novembro, das quais 323 (36,9%) eclodiram. A 1ª imersão a qual os ovos foram submetidos apresentou a maior

taxa de eclodibilidade, para ambos os meses, decaindo abruptamente após a 5ª e 7ª imersão. O estudo fornece informações relevantes sobre aspectos bioecológicos da espécie e salienta sua importância epidemiológica.

Palavras chave: Ovos de culicídeos; Ecologia de mosquitos; Febre Amarela.

GENERAL ABSTRACT

FERREIRA, Aline Tátilla. **Bioecological aspects of *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) in an urban forest fragment of Rio de Janeiro, State of Rio de Janeiro, Brazil.** 2017. 66 p. Dissertation (Master Science in Biology, Animal Biology). Institute of Biology, Department of Animal Biology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2017.

Knowledge of the biocenotic structure of mosquito communities is of fundamental importance in areas where the environment has been suffering from a rupture of natural equilibria. Such interference may become dangerous, especially when direct contact occurs between these Culicidae and the local human population. In this way, understanding the aspects involved in all phases of the biological cycle of this group becomes of extreme relevance, to better understand its bioecology. *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar, 1925) is a Culicidae considered to be a vector of wild yellow fever and is highly adaptable to modified environments when compared to other species of the same genus. This culicid is commonly found in Brazil and its epidemiological importance is related to arbovirus transmission. The main goal of the present work is contributing to the knowledge about the biological cycle and hatching rate of *Haemagogus leucocelaenus* eggs, besides investigating the preferential height of oviposition of this species, in an urban area of the Atlantic Forest of Rio de Janeiro. The eggs were collected with an oviposition trap. In total, 4,553 units were collected in all months of the year. The months that obtained the highest number of eggs were October (16.87%) and May (15.13%), and the months with the lowest number of eggs were December (1.36%) and July (1.56%). All the eggs belonged to the same species of mosquito: *Haemagogus leucocelaenus*. The results also showed that traps installed at different heights, from ground level up to 8 meters high, received similar amounts of eggs. This shows that this species explores different levels of the arboreal extract, which can favor the transmission of pathogens between arboreal animals and man. To evaluate the hatching rate of eggs during successive immersions under laboratory conditions, 875 units were collected, collected in October and November, of which 323 (36.9%) hatched. The first dipping to which the eggs were submitted presented the highest hatchability, for both months, decreasing abruptly after the 5th and 7th immersion. The study provides relevant information on the bioecological aspects of the species and emphasizes its epidemiological importance.

Keywords: Culicidae eggs; Ecology of mosquitoes; Yellow fever.

INTRODUÇÃO GERAL

A família Culicidae pertence à ordem Diptera (do grego: di = dois; ptera = asa) e é um grupo abundante que ocorre em todas as regiões temperadas e tropicais do mundo, incluindo o Círculo Ártico.

Reconhece-se a existência de cerca de 3549 espécies de mosquitos distribuídas em aproximadamente 112 gêneros (Harbach, 2007) ou 42 gêneros de acordo com classificação tradicional de Wilkerson et al. (2015), sendo a Região Neotropical a que detém o maior nível de endemidade, uma vez que 27% desses grupos são restritos a essa região biogeográfica (Ward, 1984). Estudos confirmam a ocorrência de cerca de 470 espécies de culicídeos no Brasil. Dentre essas, muitas possuem uma grande importância epidemiológica, das quais 5% fazem parte de ciclos de transmissão de agentes etiológicos ao homem (Forattini, 2002; Guedes, 2012).

Além de características em comum com os dípteros nematóceros, os mosquitos possuem geralmente: 1) escamas eretas na cabeça – com várias reduções e perdas; 2) peças bucais longas, desenvolvidas em uma probóscide; 3) presença de cerda pré-alar – com reversão em *Hodgesia* Theobald, 1904, *Malaya* Leicester, 1908 e *Sabethes* Robineau - Desvoidy, 1827, nos quais a mesma está ausente (Harbach & Kitching, 1998). Uma qualidade importante para a caracterização dos culicídeos é a peculiaridade de sua dinâmica evolutiva, que pode apresentar-se em curtos intervalos de tempo. Fatores como temperatura, pluviosidade e outras condições ambientais influenciam incisivamente no ciclo de vida desses insetos. Unindo isso ao fato de reproduzirem-se rapidamente, observa-se, muitas vezes, uma acelerada evolução de suas populações (Forattini, 2002; Moratori, 2009). Guedes (2012) relatou que o principal motivo que garante o sucesso evolutivo da família Culicidae é a sua capacidade de adaptação ao meio antrópico. Segundo o mesmo autor, a viabilidade de agentes veiculados por mosquitos dá-se pelo fato dos mesmos apresentarem contínuas adaptações.

O conhecimento da biodiversidade de mosquitos é de suma importância para análise do grau de alterações ocorridas em determinada região, onde espécies podem atuar como bioindicadores (Dorvillé, 1996; Forattini & Massad, 1998). Segundo Forattini (2004), para que possa alcançar a compreensão de epidemiologia, torna-se imprescindível a fundamentação em ecologia, tendo em vista que a epidemiologia tem caráter essencialmente ecológico, assim como na sociedade humana. A determinação do estado de saúde e qualidade de vida do homem depende das condições do ambiente. Ao passo que o homem, em busca de

proteção de danos naturais, criou um ambiente para viver que, de forma incongruente, tornou-se degradável, resultando no desafio à humanidade de moderar o declínio ambiental provocada por ela mesma. Desta forma, compete ao estudo epidemiológico considerar fatores tanto naturais como artificiais, consequentes da atividade antrópica.

Embora outrora não fossem frequentes os surtos de doenças causadas por agentes infecciosos disseminados por mosquitos, a globalização veio modificar esse fato. Com todos os avanços que surgiram neste processo, possibilitou-se a expansão para novas áreas e o seu estabelecimento em uma velocidade ainda maior, bem como dos agentes patogênicos a elas associados (Bonney et al., 2008). Neste sentido, o fato de diversas espécies de mosquitos serem vetores de diversos agentes etiológicos, evidencia a necessidade do levantamento de informações sobre a biologia, ecologia, comportamento e demais fatores acerca das espécies que apresentam riscos para a sociedade.

Bioecologia dos culicídeos

Os mosquitos são insetos que apresentam desenvolvimento holometabólico, com ciclo biológico compreendendo as fases de ovo, quatro estágios larvais (L1, L2, L3 e L4), pupa e adulto (Fig. 1). Os adultos são alados, possuem pernas e antenas longas enquanto as fases imaturas são aquáticas (Consoli & Lourenço-De-Oliveira, 1994).

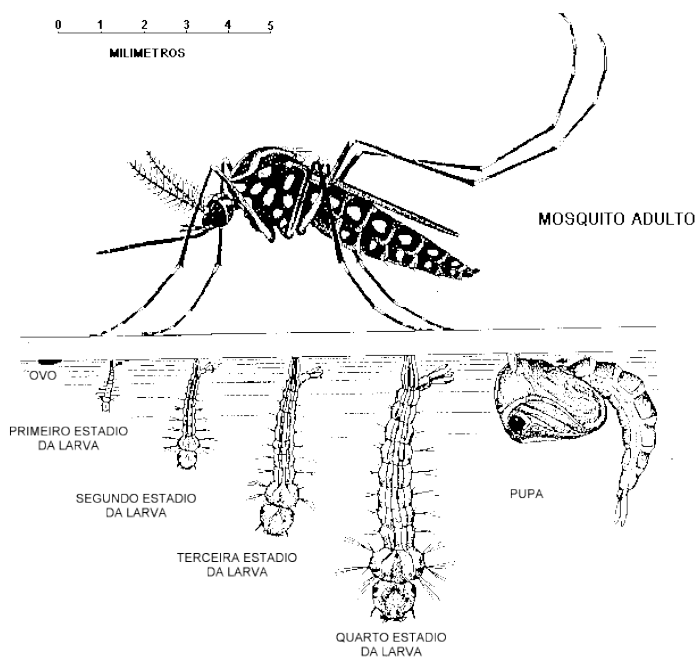


Figura 1. Ciclo evolutivo dos Culicidae . Ovo, seguido de quatro estágios larvais (L1, L2, L3 e L4), pupa e adulto. Fonte: Unicamp (2001).

As formas imaturas desenvolvem-se em ambiente aquático e são representadas por quatro estágios larvais e um estágio de pupa. O corpo da larva, assim como o do adulto, apresenta metameria, isto é, possui segmentação, própria de diversos grupos animais, numa série de metâmeros mais ou menos idênticos, sendo dividido em 3 partes: cabeça, tórax e abdômen. Este último possui oito segmentos, sendo que o segmento posterior e anal do abdômen possui quatro brânquias lobuladas para regulação osmótica e um sifão para a respiração na superfície da água (Service, 1996).

Algumas larvas de culicídeos são predadoras obrigatórias ou facultativas e outras são filtradoras, as quais alimentam-se principalmente de matéria orgânica acumulada nas paredes e no fundo dos criadouros alagados. A duração da fase larval é bastante variável, pois depende de fatores como temperatura, competição e disponibilidade de alimento no local onde vivem (Foster & Walker, 2002).

Passados os quatro estágios larvais, a larva se desenvolve em pupa. Nas pupas, o corpo é formado pelo cefalotórax e o abdômen, apresentando o formato de uma vírgula. Nessa fase do desenvolvimento, os indivíduos não se alimentam e tendem a ficar flutuando na superfície da água, o que facilita a saída do inseto adulto, que ocorre em torno de três dias, em algumas espécies (Clements, 1992). Uma vez que passam a maior parte de seu ciclo de vida na água, considera-se que os mosquitos são essencialmente aquáticos, pois ganham o ambiente terrestre somente na fase adulta, quando se reproduzem e dispersam (Borror & DeLong, 1988; Forattini, 1996).

O adulto representa a fase reprodutiva do mosquito. O macho se distingue essencialmente da fêmea por possuir antenas plumosas e palpos mais longos (Harbach & Knight, 1980; Consoli & Lourenço de Oliveira, 1994; Forattini, 1962, 1996). Na grande maioria das espécies, somente as fêmeas são hematófagas (têm o sangue como alimento), enquanto os machos são fitófagos (alimentam-se da seiva de plantas) (Consoli & Lourenço-De-Oliveira, 1994).

Características taxonômicas do gênero *Haemagogus* Williston, 1896

Os adultos do gênero *Haemagogus* são representados por mosquitos brilhantemente coloridos, assemelhando-se aos Sabethini e dos quais se distinguem pela ausência de cerdas pré-espíraculares. De uma maneira geral, as espécies do subgênero *Haemagogus* diferenciam-se dos demais Aedini neotropicais pela intensa cobertura do tórax por escamas de reflexos

metálicos com tonalidades azulada, violácea, esverdeada ou prateada (Forattini, 2002; Arnell, 1973).

O gênero *Haemagogus* foi criado para descrever uma espécie de Saint Vincent, no Caribe (*Hg. splendens*, Williston, 1896). *Conopostegus*, Dyar, 1925 foi proposto como subgênero de *Aedes* (Dyar, 1925), tendo sido posteriormente considerado sinônimo júnior de *Finlaya* (Edwards 1932). Em uma revisão de *Aedes* (*Finlaya*) (Zavortink, 1972), foi proposta a transferência de oito espécies (quatro formalmente reconhecidas e nomeadas e quatro que não foram descritas formalmente) para o gênero *Haemagogus*, como subgênero *Conopostegus*, o que foi aceito (Zavortink, 1972) e, até então, incontestado. Sobre a etimologia do nome proposto para o gênero, sabe-se que *Haemagogus* é derivado de αἷμα (=AIMA, haema; “fluido viscoso, morno, incandescente, claro e brilhante e vivo”). *Conopostegus*, possivelmente, é derivado do grego “κῶνωψ” (=conops, mosquito) e “tegos” (lagarto).

Os mosquitos do gênero *Haemagogus* podem ser diferenciados dos demais pela ausência, no mesonoto, de cerdas acrosticais, dorsocentrais e pré-escutelares. Há a presença de escamas prateadas nas pleuras, estendendo-se do escudo até as coxas, além de possuírem o mesomeron moderadamente grande e com a margem superior na mesma altura ou um pouco acima da margem superior da coxa posterior, isto os diferencia de outros mosquitos Aedini e outras tribos (Marcondes & Alencar, 2010).

Em *Haemagogus* atualmente incluem-se 28 espécies e mais quatro formas não descritas e nominadas formalmente. Dentre elas, várias possuem grande importância na transmissão do vírus da Febre Amarela (VFA) e outros patógenos. Os mosquitos deste gênero estão distribuídos principalmente na América Central e norte da América do Sul, mas algumas espécies foram encontradas nos Estados Unidos e norte do México e Argentina (Marcondes & Alencar, 2010). Este gênero é bem distribuído no Brasil e apresenta uma grande diversidade de espécies vetoras em potencial, incluindo as seguintes espécies incriminadas, *Hg. janthinomys* Dyar, 1921, *Hg. albomaculatus* Theobald, 1903, *Hg. tropicalis* Cerqueira & Antunes, 1938 e *Hg. leucocelaenus* Dyar & Shannon, 1924 (Vasconcelos et al., 1997; Cardoso et al., 2010).

Com a descoberta da ocorrência de Febre Amarela (FA) na ausência de *Ae. aegypti*, espécies dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* Robineau-Desvoidy, 1827 começaram a ser investigadas e foram incriminadas como sendo possíveis vetores entre primatas não-humanos

e humanos em ambiente silvestre (Soper, 1933). No continente americano, espécies destes dois gêneros são capazes de se infectar e transmitir o VFA e, conseqüentemente, de agir como vetores biológicos nas áreas florestais. Com essa descoberta de novos vetores do VFA, fez-se necessário que a Fundação Rockefeller reconsiderasse os conceitos em vigor sobre a epidemiologia da doença, tendo em vista que os métodos de combate ao vetor urbano não poderiam ser utilizados no combate aos vetores silvestres (Hervé et al. 1983; Soper et al. 1932).

Haemagogus (Conosptegus) leucocelaenus (Fig. 2), assim como os demais culicídeos pertencentes ao gênero *Haemagogus*, é essencialmente diurno e acrodendrófilo, no entanto, são habitualmente encontrados atacando indivíduos que se encontram em solo (Gomes et al., 2010; Pinto et al., 2009; Vasconcelos et al., 2003). Segundo Pinheiro et al. (1981), o fato de serem encontrados no nível do solo é relacionado com o tipo de cobertura vegetal. Espécimes de *Hg. leucocelaenus* têm sido comumente encontrados em residências habitadas por humanos, evidenciando uma forte tendência à domiciliação (Camargo-Neves et al., 2005; Cardoso et al. 2010; Gomes et al., 2010).



Figura 2. *Haemagogus leucocelaenus*. Fonte: Atlas de Culicídeos na Amazônia Brasileira, IEC.

Na região sul do Brasil, foi registrada a infecção natural de *Hg. leucocelaenus* com o VFA, com a sua conseqüente incriminação como vetor primário (Cardoso et al., 2010; Vasconcelos et al., 2003). Espécimes de *Hg. leucocelaenus* são encontrados no Brasil de norte a sul, diferindo do *Hg. janthinomys* que é encontrado da Amazônia à região sudeste do país (Forattini, 2002). Desta forma, a susceptibilidade humana ao VFA está garantida pela capacidade vetorial por extensas áreas do território brasileiro e pela antropofilia (Gomes et al., 2010).

Importância médica e ecológica

Há pouco mais de cem anos, pesquisadores se atentaram para a possibilidade dos insetos agirem como vetores biológicos de patógenos. O termo "vetor biológico" refere-se ao hospedeiro onde o parasito desenvolve parte de seu ciclo evolutivo, permitindo-lhe o acesso ao novo hospedeiro (Consoli & Lourenço-De-Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

Sob a ótica da entomologia médica, os culicídeos são os artrópodes mais importantes que afetam a saúde humana, pois além do incômodo gerado por suas picadas, os mesmos são vetores de diversos agentes etiológicos de doenças humanas e animais, incluindo protozoários, vírus e filárias (Gould & Higgs, 2009). A emergência ou reemergências de arboviroses, além de ser uma conseqüência das alterações climáticas, também decorrem de outros fatores, tais como ocupação urbana desordenada, desenvolvimento socioeconômico local, desmatamento, aumento das populações e as atividades políticas e militares que conduzem à evacuação em massa de seres humanos (*ibidem*, 2009).

As arboviroses são infecções causadas por um grupo de vírus bem definidos ecologicamente, os arbovírus. A palavra arbovírus tem origem na expressão inglesa *arthropod-borne-viruses* que significa vírus transmitidos por artrópodes. São microparasitos que circulam entre vertebrados e invertebrados, integrando um ciclo de transmissão que, frequentemente acometem áreas antrópicas, ocasionando problemas de importância em saúde pública em todos os continentes (Gubler & Vasilakis, 2016). Tais agentes podem ser transmitidos por mosquitos, principalmente dos gêneros *Aedes* Meigen, 1818, *Culex* Linnaeus, 1758, *Haemagogus* Williston, 1896, *Coquillettidia* Dyar, 1905, *Psorophora* Robineau-Desvoidy, 1827, *Trichoprosopon* Theobald, 1901 e *Sabethes* Robineau - Desvoidy, 1827 que estão envolvidos indiretamente com a morbidez e mortalidade entre humanos. Em alguns casos, o homem está incluído diretamente no ciclo do patógeno, enquanto, em outros,

ele pode participar do ciclo de modo acidental (Forattini, 2002; Fé et al., 2003; Guedes, 2012).

Algumas arboviroses ocorrem naturalmente em áreas silvestres. A biodiversidade brasileira aliada às condições ambientais, favorece a manutenção dos ciclos silvestres entre animais e vetores, que interagem de forma homogênea, restritos a pequenos ecótopos ou nichos ecológicos (Vasconcelos et al., 1991; Forattini et al., 2002).

Alterações ambientais e a capacidade de adaptação das espécies a novos ambientes possibilitam ciclos de transmissão, que incluem o homem como hospedeiro de alguns vírus em áreas urbanas, e a emergência ou reemergência de enfermidades (Johnson et al., 2002; Sardelis et al., 2002).

No Brasil já foram isolados mais de 200 diferentes arbovírus, onde, aproximadamente, 40 são patogênicos ao homem (Figueiredo, 2007). Entre eles, há cinco que se destacam para a saúde pública, por causarem doenças severas ou levarem a óbito - Vírus da Dengue DENV, Febre Amarela (VFA), Zika Vírus (ZIKV), Vírus Chikungunya (CHIKV), Vírus Rocio (VROC) e Vírus Oropouche (VORO) (Vasconcelos, 2010).

Febre Amarela

A Febre Amarela (FA) é uma doença infecciosa febril, aguda e hemorrágica não contagiosa que desde o século XVII é responsável por acometer populações na América do Sul e África (Fig. 3), continentes onde permanece endêmica, causando surtos ou epidemias de impacto em saúde pública (Monath, 2001; Reiter, 2010; OMS, 2008). Embora haja inúmeras campanhas de vacinação nestes continentes, o cenário epidemiológico que vem surgindo nos últimos 20 anos adverte que a doença vem reaparecendo e alastrando por locais do mundo, onde não era encontrada (Mascheretti, 2013; Briand, et al., 2009; Johansson, et al., 2012). Neste ano (2017), foram notificados casos humanos e epizootias confirmados em estados, até então, livres da doença, como Espírito Santo e Rio de Janeiro, onde não se observava surtos há mais de 50 anos (Fig. 4) (SVS, 2017).

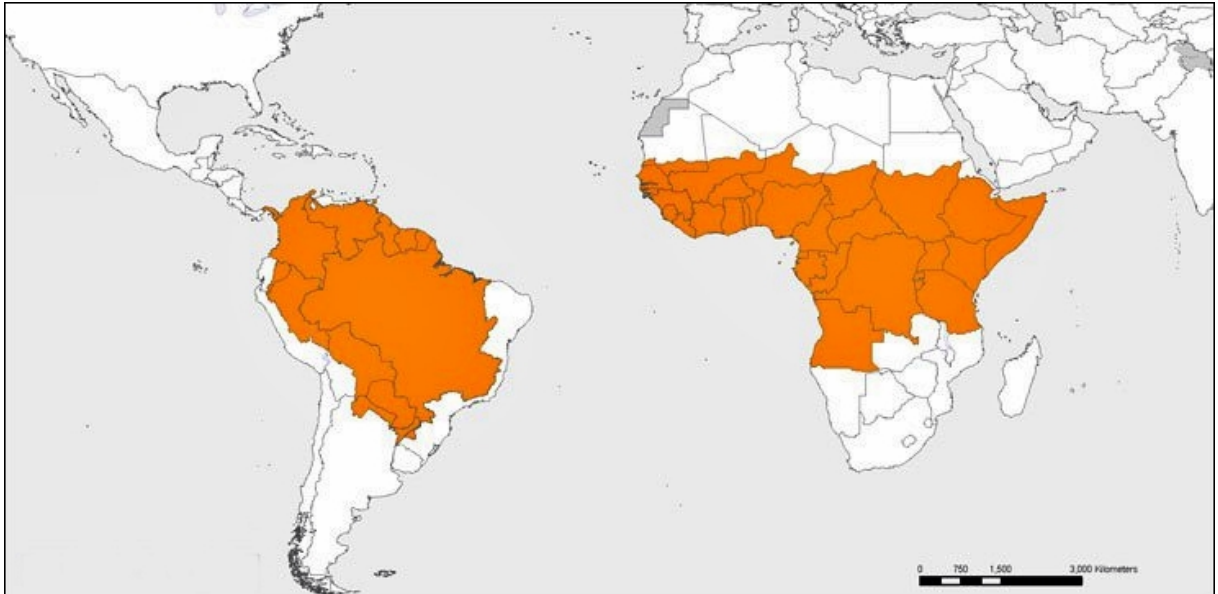


Figura 3. Mapa com áreas de risco de transmissão de Febre Amarela no mundo. Fonte: OMS (2008).

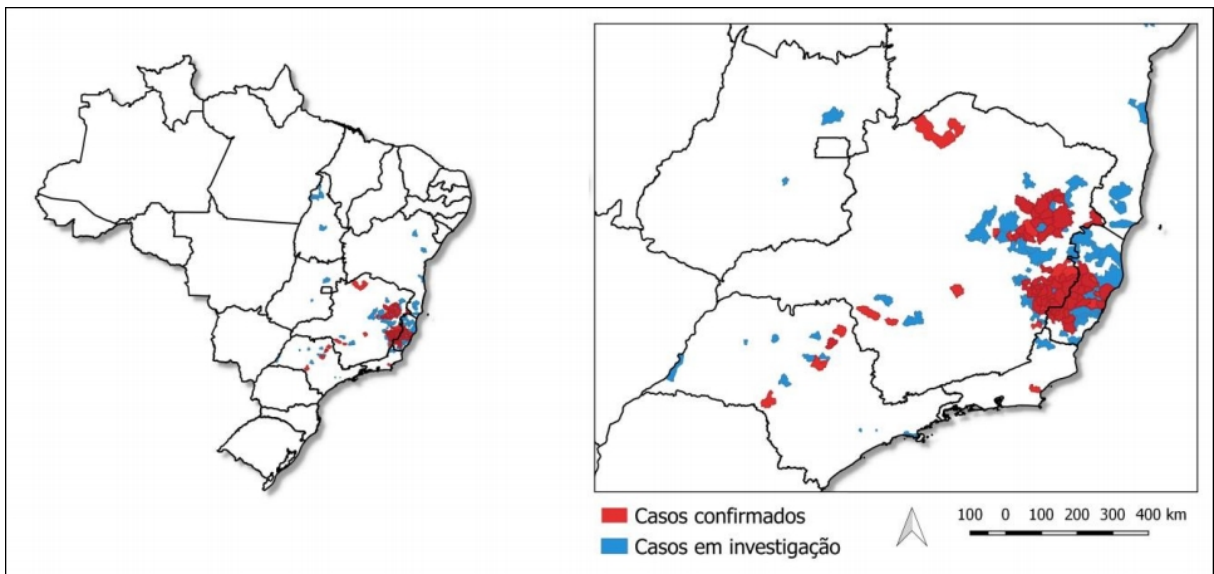


Figura 4. Distribuição geográfica dos casos humanos confirmados e em investigação de febre amarela, por município do local de provável infecção e classificação. Fonte: SVS, 2017.

O agente etiológico da FA é um arbovírus pertencente ao gênero *Flavivirus*, família Flaviviridae (do latim, flavus = amarelo). A família Flaviviridae atualmente contém cerca de 70 vírus, a maior parte deles transmitidos por artrópodes, isto é, arbovírus (Vasconcelos, 2003; Reiter, 2010).

Sob o ponto de vista epidemiológico, divide-se a FA em duas formas: a urbana e a silvestre (Fig. 5). Entre elas não existem diferenças dos pontos de vista etiológico, clínico e fisiopatológico, o que as difere é o tipo de hospedeiro e espécies de vetores envolvidos na

transmissão, bem como o local de ocorrência (Brasil, 2005; Monath, 2001). O vetor para Febre Amarela Urbana (FAU) é o *Ae. aegypti* e o hospedeiro é o homem, que, em contrapartida, não desempenha função importante na transmissão e/ou manutenção da Febre Amarela Silvestre (FAS), para esta os hospedeiros são os primatas não humanos (PNH). Na América do Sul, os vetores da FAS são culicídeos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*, já no continente africano são mosquitos das espécies *Ae. albopictus* Skuse, 1894, *Ae. africanus* Theobald, 1901, *Ae. furcifer* Edwards, 1913, *Ae. simpsoni* Theobald, 1905, *Ae. taylori* Edwards, 1936, *Ae. luteocephalus* Newstead, 1907, *Ae. pseudoafricanus* Chwatt, 1949 (Vasconcelos, 2003; Gubler, 2003; CDC, 1991). Uma vez infectados, os mosquitos vetores permanecem assim por toda sua vida (Bates & Roca Garcia, 1946).



Figura 5. Ciclos epidemiológicos (silvestre e urbano) da febre amarela. Fonte: SVS (2009).

A FAU é considerada uma antroponose, não se reconhecendo até o momento, hospedeiros animais de importância epidemiológica (Tauil, 2010). Neste ciclo urbano de transmissão, o vírus é passado de homem a homem pela picada do mosquito previamente infectado. Assim, o próprio homem infectado, estando em fase virêmica atua como disseminador do vírus na população (Brasil, 2005).

Por outro lado, a FAS é uma zoonose, com ciclo mais complexo de ser extinguido (Brasil, 1999). A transmissão se processa entre PNH e mosquitos de hábitos silvestres (Forattini, 2002). No ciclo silvestre, várias espécies de mosquitos são responsáveis pela

transmissão, sendo que no Brasil os gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* são os principais vetores (Araújo, et al., 2011). Desta forma, a infecção do homem não imunizado ocorre acidentalmente, ao entrar em contato com este ciclo natural nas áreas endêmicas e de transição (Brasil, 2009; Franco, 1969).

Compreender as diferentes manifestações espaciais da febre amarela inclui ter conhecimento das características do vírus, dos reservatórios, dos vetores, do hospedeiro e do meio ambiente, não podendo ser descartada a importância da ação humana na produção e na dinâmica da dispersão complexa da doença (Simpson, 1996; Monath, 2006).

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

A Colônia Juliano Moreira (CJM) foi uma instituição psiquiátrica criada em 1924 na área rural de Jacarepaguá (Fig. 6), com o intuito de sanar os problemas existentes nas antigas colônias de alienados da Ilha do Governador. A CJM foi responsável formalmente por construir as casas de alguns núcleos habitacionais, como a área dos Lordes, e, por outro, informalmente, permitiu a ocupação/construção de outras áreas, como as “comunidades” Caminho da Cachoeira e Fincão a partir dos anos 1960. Os funcionários da CJM podiam residir em casas construídas no seu terreno e, com o tempo, foram construídas outras moradias a partir do crescimento das famílias dos funcionários que permaneceram lá mesmo após a aposentadoria, isso ocasionou um aumento significativo de moradores na Colônia. Os antigos funcionários tinham grande dependência da instituição com relação à sua sobrevivência e de seus dependentes, por exemplo, os moradores utilizavam luz, água, correio, cozinha do hospital e seus filhos frequentavam a escola da CJM, isto é, foi criado um vínculo muito forte dos funcionários para com o local (ISER/Fiocruz, 2004).

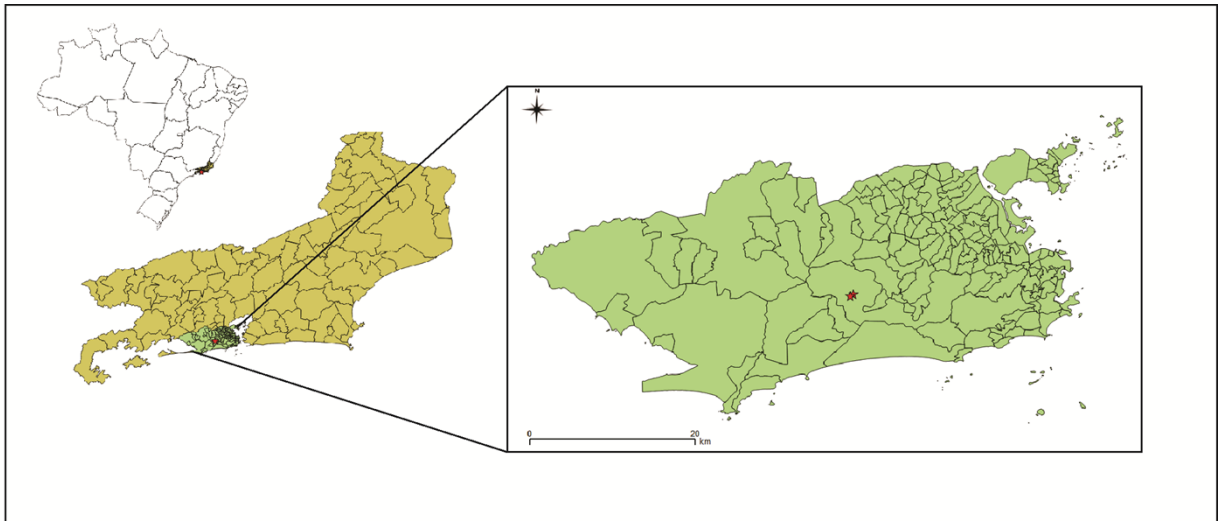


Figura 6. Localização do Campus Fiocruz da Mata Atlântica no município do Rio de Janeiro/Rio de Janeiro.

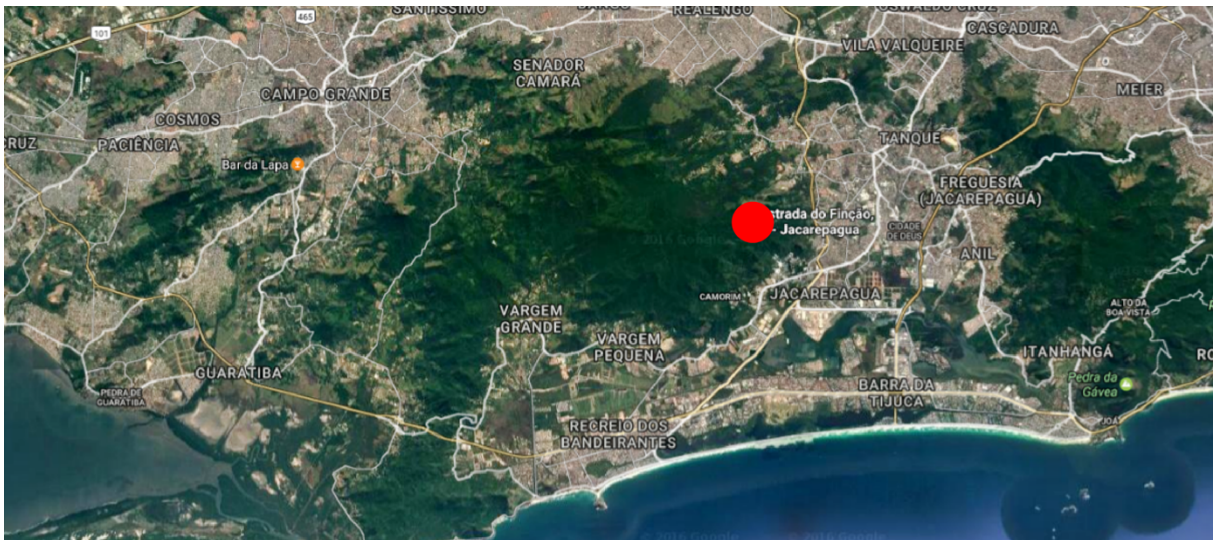


Figura 7. Cobertura vegetal do Campus Fiocruz da Mata Atlântica e seu entorno. Fonte: Adaptado do Google Earth.

No final da década de 1930 e principalmente início da década de 1940, a CJM passou por um marcante processo de expansão de sua estrutura física e de seus recursos terapêuticos. Na conjuntura das políticas públicas para a psiquiatria - idealizadas a partir do final dos anos de 1930 e consolidadas na década seguinte - a Colônia foi sendo transformada em um hospital-colônia. Porém, de acordo com o relatório do ISER/Fiocruz (2004), entre 1973 e 1988 houve uma gradual desativação dos núcleos por causa da redução do número de internos e pela diminuição de novas internações.

Em 1996, iniciou-se o processo de municipalização da Colônia e diversos estudos foram realizados buscando integrá-la à malha urbana da cidade, o que culminou, alguns anos depois, em sua divisão em setores. Em 2003 a Colônia foi desmembrada em 5 setores, dos quais o maior deles - o Setor 1 - é cedido à Fundação Oswaldo Cruz que desde então desenvolve atividades de reconhecimento local e implantação do Campus Fiocruz da Mata Atlântica (CFMA). O setor 2 é cedido à Secretaria Municipal de Saúde para a continuidade dos equipamentos de saúde incluindo-se aí o Instituto Municipal de Assistência à Saúde Juliano Moreira, o Setor 3 à Secretaria Municipal de Habitação, o Setor 4 ao Exército (foi posteriormente vendido a uma empresa imobiliária) e o Setor 5 ao Centro de Referência Professor Hélio Fraga (Domingues & Rodrigues, 2008).

É interessante conhecer a história da origem do CFMA, pois, com isso, é possível uma ampla compreensão da atual conjuntura do mesmo. O fato de haver moradias no Campus, por exemplo, leva a necessidade de estudos aprofundados acerca das possíveis patogenias que podem acometer a comunidade em decorrência da proximidade com a mata, a qual pode abrigar vetores.

No entorno do CFMA são registrados sucessivos ciclos históricos, materializados em um rico conjunto arquitetônico e patrimônio cultural tombado pelos órgãos de defesa do patrimônio histórico (Fig. 8). Compõem esse conjunto, variados bens móveis e imóveis de valor histórico, artístico, cultural e científico (Domingues et al., 2011).



Figura 8. Conjunto arquitetônico e patrimônio cultural tombado do Campus Fiocruz da Mata Atlântica.

O CFMA abrange cerca de 500 hectares e está situado na zona oeste do município do Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro, S 22° 56' e W 043° 25'. Toda porção oeste do *campus* pertence a uma área de preservação ambiental, apresentando como vegetação característica a Mata Atlântica, predominantemente secundária, cuja cobertura vegetal corresponde a Floresta Ombrófila Densa (Fig. 7). Animais silvestres - como primatas não

humanos, bichos-preguiça (*Pilosa*), cobras (*Ophidia*), gambás (*Didelphimorphia*), tatus (*Cingulata*), lagartos (*Sauria*), tucanos (*Piciformes*), papagaios (*Psittaciformes*) - são encontrados na mata conservada, podendo ser observados nos arredores das áreas habitadas. Foram descritos oito biótopos para a área do campus: mata atlântica (mata secundária, localizada acima da cota de 100m), mata em regeneração (mata secundária, arbórea e densa), agrupamento de árvores (vegetação arbórea-arbustiva), cultura de subsistência, pastos ou macegas (capim, alguns arbustos e pequenas árvores), afloramentos rochosos, mata alagada (agrupamento de árvores com alagamento eventual) e área urbanizada ou deflorestada (área descoberta ou construída) (Fiocruz, 2004).

Coleta dos espécimes

Seguindo a metodologia proposta por Silver (2008), o monitoramento foi realizado através da utilização de armadilhas do tipo ovitrampas que eram constituídas por pote preto fosco, com capacidade para o volume de 1litro, sem tampa com quatro palhetas de madeira compensada (placas de eucatex), de 2,5 cm X 14 cm, presas verticalmente no interior da armadilha por “CLIPS”. No pote, adicionava-se água natural e serrapilheira, visando reproduzir um ecossistema mais próximo do natural (Fay & Perry, 1965; Fay & Eliason, 1966). As armadilhas foram instaladas entre 0 a 8m do nível do solo (Fig. 10), sendo amostrados em ambiente florestal, tendo sido monitoradas de agosto de 2015 à julho de 2016. As armadilhas foram alocadas no alto das árvores com auxílio de uma fita de plástico, popularmente conhecida por fitilho, com um pedaço de madeira amarrado na extremidade, sendo arremessado por entre os galhos e permitindo a ascensão das ovitrampas. Nos meses seguintes, não era necessário o arremesso, pois o fitilho era amarrado na parte de baixo de árvores paralelas, propiciando que as ovitrampas fossem descidas com facilidade. As palhetas eram recolhidas e novas palhetas colocadas nas armadilhas. Após a troca, as ovitrampas eram içadas novamente para as devidas alturas (2 à 8 metros).

As palhetas foram substituídas quinzenalmente e identificadas de acordo com o ponto de amostragem e acondicionadas em uma câmara úmida para transporte ao Laboratório de Diptera do Instituto Oswaldo Cruz (Fig. 9). Todas as palhetas foram numeradas sequencialmente e acondicionadas em uma câmara úmida e enviadas ao Laboratório de Diptera do Instituto Oswaldo Cruz.



Figura 9. Substituição das palhetas na ovitrampa, realizada quinzenalmente.

As palhetas positivas foram separadas no laboratório, submetidas à contagem dos ovos e imersas em bandejas transparentes contendo água MiliQ®. Em seguida, as bandejas foram colocadas por três dias em estufa com termoperíodo e fotoperíodo reguladas: à temperatura de $28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de 75 a 90% e fotoperíodo de 14 horas. Logo após, os ovos eram acondicionados em bandejas secas por um período de, aproximadamente, 3-4 dias fora da estufa para que fosse imergido novamente, visando o término de desenvolvimento embrionário.

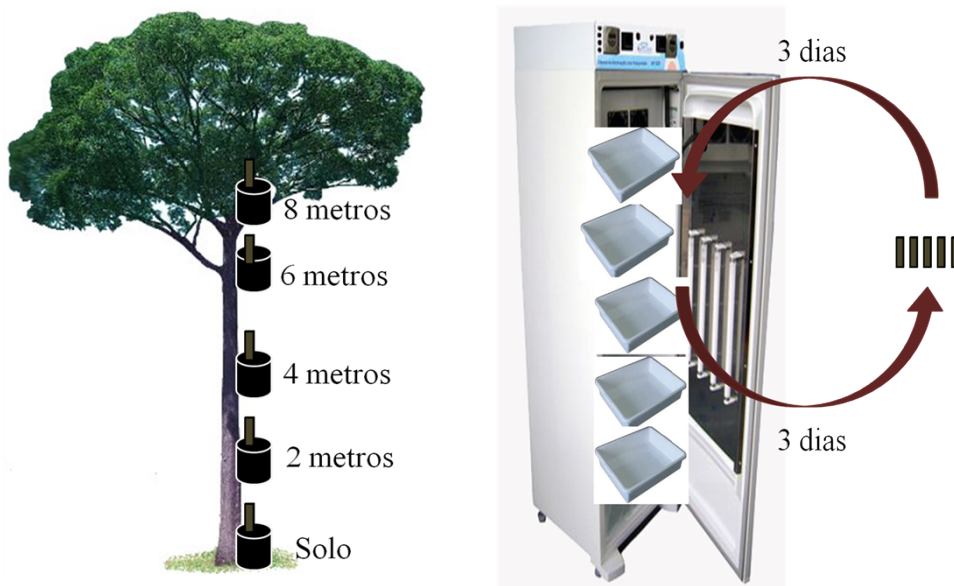


Figura 10. Disposição das palhetas em campo e demonstração do procedimento de imersões para eclosão dos ovos em laboratório.

Ao atingir a fase adulta, a determinação específica foi realizada pela observação direta dos caracteres morfológicos evidenciáveis ao microscópio estereoscópico e baseada nas chaves dicotômicas elaboradas por Arnell (1973), Forattini (2002) e Marcondes & Alencar (2010). Após a determinação específica, todos os espécimes foram incorporados à Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, sob o título de “Coleção Mata Atlântica – Rio de Janeiro”.

Os ovos utilizados do mês de outubro e novembro foram nomeados "Experimento 1" e "Experimento 2", respectivamente. Para comparar as diferenças da taxa de eclosão por imersão, foi utilizada a média de Willians (X_w), seguindo as definições de Haddow (1954; 1960).

Com o objetivo de observar o desenvolvimento e o tempo médio do ciclo de *Hg. leucocelaenus*, foram retiradas 20 larvas do CFMA recém eclodidas, no momento da maior taxa de eclosão. Em seguida, foram transferidas individualmente para recipientes plásticos com 3 cm de diâmetro por 6cm de altura e foram alimentadas com ração de peixe (Tropi-Fish®) triturada e peneirada, aplicada diretamente na água. A manutenção da criação foi feita diariamente, até atingir o estágio adulto. A análise estatística dos dados foi realizada através do teste de Mann-Whitney a nível de significância $\alpha = 0,05$.

Identificação dos espécimes

A determinação específica dos Culicidae foi realizada pela observação direta dos caracteres morfológicos evidenciáveis ao microscópio estereoscópico e baseada nas chaves dicotômicas elaboradas por Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994), Forattini (2002) e Marcondes & Alencar (2010). As abreviaturas dos nomes genéricos e subgenéricos seguem a proposta de Reinert (2001).

Capítulo I - Ciclo biológico de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) em condições de laboratório

O objetivo deste estudo foi contribuir para os conhecimentos sobre o ciclo biológico de ovo a adulto e taxa de eclosão dos ovos de *Haemagogus leucocelaenus*, espécie com potencial para transmissão do vírus da Febre Amarela Silvestre no Brasil. O estudo avaliou a taxa de eclosão de ovos coletados na natureza, após múltiplas imersões e a duração do ciclo de desenvolvimento em condições de laboratório.

Capítulo II - Comportamento de oviposição de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) vetor silvestre do vírus da febre amarela no Brasil

Apresenta informações sobre a preferência em altura de voo para oviposição e a abundância das populações de *Hg. leucocelaenus* entre os meses estudados. Esta investigação foi realizada com o auxílio de armadilhas de ovitrampas instaladas na cobertura vegetal, entre 2 metros, 4 metros, 6 metros e 8 metros do nível do solo, em ambiente florestal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, F. A. A.; RAMOS, D. G., SANTOS, A. L.; PASSOS, P. H. O., ELKHOURY, A. N. S. M.; COSTA, Z. G. A.; LEAL, S. G.; ROMANO, A. P. M. Epizootias em primatas não humanos durante reemergência do vírus da febre amarela no Brasil, 2007 a 2009. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília; 2011.

ARNELL, J. J. Mosquito studies (Diptera, Culicidae). XXXII. A revision of the genus *Haemagogus*. *Contributions of the American Entomology Institute* 10:1-174; 1973.

BATES, M. & ROCA-GARCÍA, M., The development of the virus of yellow fever in *Haemagogus* mosquitoes. *Am. J. trop. Med.*, 26 (5): 585-605, 1946.

BONNEFOY, X.; HELGE K.; KEVIN S. Public health significance of urban pests. *World Health Organization*, 2008.

BORROR, D. J.; DeLONG, D. M. Introdução ao estudo dos insetos. *Edgard Blücher Ltda*, São Paulo. 635 p., 1988.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. 7a ed. P. 816. Brasília; 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância de epizootias em primatas não humanos. P. 55. Brasília; 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/marco/18/Informe-especial-COES-FA.pdf>> Acesso em: 15 de abril de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância epidemiológica da Febre Amarela. P. 54. Brasília; 1999.

BRIAND, S.; BERESNIAK, A.; NGUYEN, T.; YONLI, T.; DURU, G.; KAMBIRE, C.; & Yellow Fever Risk Assessment Group (YF-RAG). Assessment of yellow fever epidemic risk: an original multi-criteria modeling approach. *PLoS Negl Trop Dis*, 3(7), e483, 2009.

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; POLETTO, D. W.; RODAS, L. A. C.; PACHIOLI, M. L.; CARDOSO, R. P.; SCANDAR, S. A. S. Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in São Paulo State, Brazil. *Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro*; 21(4):1278-1286; 2005.

CARDOSO, J. C.; ALMEIDA, M. A. B.; SANTOS, E.; FONSECA, D. F.; SALLUM, M. A. M.; NOLL, C. A.; MONTEIRO, H. A. O.; CRUZ, A. C. R.; CARVALHO, V. L.; PINTO, E. V.; CASTRO, F. C.; NETO, J. P. N.; SEGURA, M. N. O.; VASCONCELOS, P. F. C. Yellow fever vírus in *Haemagogus leucocelaenus* and *Aedes serratus* mosquitoes, southern Brazil, 2008. *Emerging Infectious Diseases*; 16(12):1918-1924; 2010.

CLEMENTS, A. N. The Biology of Mosquitoes: Development, Nutrition and Reproduction. 1 ed. London: *Chapman e Hall*, v. 1, 1992.

CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: *Editora FIOCRUZ*, 228 p. 1994.

DOMINGUES, L. C. S. M., RAVERA, C., VINHOSA, L. C., BRITO, G. S., BENEDICTO, D. B., MARQUES JR, F. P. Ações e estratégias na formação de políticas públicas promotoras de “assentamentos saudáveis” em terras públicas: o caso da Regularização Fundiária das “comunidades” do Setor 1 da Colônia Juliano Moreira, Jacarepaguá, Rio de Janeiro; 2011.

DOMINGUES, L. C. S. M.; RODRIGUES, C. Campus Fiocruz da Mata Atlântica: o desafio de implantação de um novo Campus associando a promoção da conservação ambiental e o desenvolvimento socioeconômico em uma área de fronteira junto ao Parque Estadual da Pedra Branca, Município do Rio de Janeiro. In: *Anais do Seminário Nacional sobre o Tratamento de Áreas de Preservação Permanente em Meio Urbano e Restrições Ambientais ao Parcelamento do Solo – APP Urbana*. São Paulo, FAUUSP. 2008.

DORVILLÉ, L. F. M. Mosquitoes as bioindicators of forest degradation in southeastern Brazil, a statistical evaluation of published data in the literature. *Stud Neotrop Environ*; 31:68-78; 1996.

FÉ, N. F.; BARBOSA, M. D. G. V.; FÉ, F. A. A.; GUERRA, M. D. F.; ALECRIM, W. D. Fauna de Culicidae em municípios da zona rural do Estado do Amazonas, com incidência de febre amarela. *Rev Soc Bras Med Trop*. 36:343-8; 2003.

FIGUEIREDO, L. T. M. Emergent arboviruses in Brazil. *Revi Soc Bras Med Trop*, v. 40, n. 2, p. 224–229, 2007.

FORATTINI, O. P. Entomologia médica. Vol. 1. Parte Geral, Diptera, Anophelini. São Paulo: Faculdade de Higiene e Saúde Pública. 1962.

FORATTINI, O. P. & MASSAD, E. Culicidae vectors and anthropic changes in a southern Brazil natural ecosystem. *Ecosyst. Health*. 4: 9-19; 1998.

FORATTINI, O. P. Culicidologia Médica. vol. 2. Identificação, Biologia, Epidemiologia. *Editora da Universidade de São Paulo - Edusp*, São Paulo SP, 860p.; 2002.

- FORATTINI, O. P. Ecologia, epidemiologia e sociedade. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*; 46, 230-230; 2004.
- FORATTINI, O. P. Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia Vol. 2. *Editora da Universidade de São Paulo - Edusp*, 1996.
- FOSTER, W.A.; WALKER, E.D. Mosquitoes (Culicidae). In: MULLEN, G.; DURDEN, L. (Orgs.). *Medical and Veterinary Entomology. Burlington: Elsevier*, p. 203-262; 2002.
- FRANCO, O. História da Febre Amarela no Brasil. Rio de Janeiro: Superintendência de Campanhas de Saúde Pública; 1969.
- GOMES, A. C.; TORRES, M. A. N.; PAULA, M. B.; FERNANDES, A.; MARASSÁ, A. M.; CONSALES, C. A.; FONSECA, D. F. Ecologia de Haemagogus e Sabethes (Diptera: Culicidae) em áreas epizooticas do vírus da febre amarela, Rio Grande do Sul, Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 19: 101-113; 2010.
- GOULD, E. A.; HIGGS, S. Impact of Climate Change and Other Factors on Emerging Arbovirus Diseases. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 103:109-121; 2009.
- GUBLER, D. J. The changing epidemiology of Yellow Fever and Dengue, 1900 to 2003: full circle? *Comp Immunol Microb Infect Dis*. 27(5): 319-30; 2004.
- GUBLER, D. J. & VASILAKIS, N. Arboviruses: Molecular Biology, Evolution and Control. UK: Caister Academic Press. 2016.
- GUEDES, M. P. Culicidae (Diptera) no Brasil: relações entre diversidade, distribuição e enfermidades. *Oecologia Australis*, 16(2), 283-296; 2012.
- HARBACH, R. E. & KNIGHT, K. L. Taxonomists' glossary of mosquito anatomy. Plexus Publ., Marlton, New Jersey, 415 pg. 1980.
- HARBACH, R. E.; KITCHING, I. J. Phylogeny and classification of the Culicidae. *Syst. Entomol*. 23(4): 327-70; 1998.
- HARBACH, R. E.; VU, D. C.; KITCHING, I. J. Systematics of Kimia, a new genus of Sabethini (Diptera: Culicidae) in the Oriental Region. *Proc. Entomol. Soc. Wash*. 109(1): 102-20; 2007.

HARBACH, R. E. Mosquito Taxonomic Inventory [internet]. Acesso em: 5 de dezembro de 2016. Disponível em: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>.

HERVÉ, J. P.; DÉGALLIER, N.; TRAVASSOS-DA-ROSA, A. P. A. Ecologia da Febre Amarela no Brasil. *Revista da Fundação SESP*, Belém, 28: 11-19; 1983.

ISER/FIOCRUZ. Relatório Final - Levantamento das Famílias Moradoras do Campus de Jacarepaguá. Parte I e II. Rio de Janeiro, 2004.

JOHANSSON, M. A.; ARANA-VIZCARRONDO, N.; BIGGERSTAFF, B. J.; GALLAGHER, N.; MARANO, N.; STAPLES, N. E. Assessing the Risk of International Spread of Yellow Fever Virus: A Mathematical Analysis of an Urban Outbreak in Asunción, 2008. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 86(2): 349–358; 2012.

JOHNSON, B. A.; CHAMBERS, T. V.; CRABTREE, M. B.; BHATT, T. R.; GUIRAKHO, F.; MONATH, T. P.; MILLER, B. R. Growth characteristics of chimerivax™- DEN 2 vaccine virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 67: 260- 265; 2002.

LOZOVEI, A. L. Culicidae (Mosquitos). In: MARCONDES, C.B. (Org.). *Entomologia Médica e Veterinária*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, p. 107-174; 2011.

MARCONDES, C. B., & ALENCAR, J. Revisão de mosquitos *Haemagogus* Williston (Diptera: Culicidae) do Brasil. *Rev Biomed*, 21, 221-238; 2010.

MASCHERETTI, M.; TENGA, C. H.; SATO, H. K.; SUZUKI, A.; SOUZA, R. P.; MAEDA, M.; BRASIL, R.; PEREIRA, M.; TUBAKI, R. M.; WANDERLEY, D. M. V.; FORTALEZA, C. M. C. B.; RIBEIRO, A. F. Febre amarela silvestre: reemergência de transmissão no estado de São Paulo, Brasil, 2009. *Rev. Saúde Pública* 47(5):881-9; 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Fundamentos da praxiterapia: guia e práticas, 2002.

MONATH, T. P. Yellow Fever as an endemic/epidemic disease and priorities for vaccination. *Bull SocPatholExot*. 99: 341-347; 2006.

MONATH, T. P. Yellow Fever: an update. *Lancet InfectDisease* 1: 11-20; 2001.

- MORATORI, C. Padrões genético-morfológicos em populações de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) - São Paulo; 2009.
- PINHEIRO, F.P.; TRAVASSOS-DA-ROSA, A. P. A.; MORAES, M. A. P.; NETO, J. C. A.; CAMARGO, S., FILGUEIRAS, F. P. An epidemic of yellow fever in Central Brazil, 1972-1973. II. Ecological studies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 30: 204-211; 1981.
- PINTO, C. S.; CONFALONIERI, U. E. C.; MASCARENHAS, B. M. Ecology of *Haemagogus* sp. and *Sabethes* sp. (Diptera: Culicidae) in relation to the microclimates of the Caxiuanã National Forest, Pará, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 104: 592-598; 2009.
- REITER, P. Yellow Fever and Dengue: a threat to Europe? *Euro Surveill*; 15(10); 2010.
- REY, L. Parasitologia (4.^a Edição), *Editora Guanabara Koogan SA*, Rio de Janeiro, 888 pp; 2008.
- SARDELIS, M.; TURELL, M.; O'GUINN, M.; ANDRE, R.; ROBERTS, D. Vector competence of three North American strains of *Aedes albopictus* for West Nile virus. *J Am Mosq Control Assoc* 18: 284–289; 2002.
- SERVICE, M. Medical Entomology for students. Londres: *Chapman and Hall*, 278 p.; 1996.
- SIMPSON, D. H. Arboviruses. In: Cook G, ed. *Manson's Tropical Diseases*. London: Saunders p. 55-63; 1996.
- SOPER, F. L.; PENNA, E.; SERAFIM, J. R.; FROBISHER, M.; PINHEIRO, J. Yellow fever without *Aedes aegypti*. Study of a rural epidemic in the Valle do Chanaan, Espírito Santo, Brazil. *American Journal Epidemiology*, 18(3):555-587; 1932.
- SOPER, F. L.; PENHA H. A.; CARDOSO, E.; SERAFIN, Jr. J.; FROOBISHER Jr., M.; PINHEIRO, J. Yellow Fever without er *Aedes aegypti*. Study of a rural epidemic in the al Valle do Chanaan, Espírito Santo, Brazil, *Am J. H, Hyg.*, 18:555-87; 1932.
- TAUIL, P. L.; Aspectos críticos do controle da febre amarela no Brasil. *Revista de Saúde Pública*; 44(3):555-8; 2010.

VASCONCELOS, P. F. C.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; DÉGALLIER, N.; PINHEIRO, F. P.; SÁ FILHO, G. C. Epidemiology of encephalitis by arboviruses in the Amazon region of Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*; 33:465-476; 1991.

VASCONCELOS, P. F. C. Yellow Fever in Brazil: thoughts and hypotheses on the emergence in previously free areas. *Rev. Saúde Pública*. 44 (6):1144-1149; 2010.

VASCONCELOS, P. F.; RODRIGUES, S. G.; DEGALLIER, N.; MORAES, M. A. P; TRAVASSOS DA ROSA, J. F.; TRAVASSOS DA ROSA, E. S.; et al. An epidemic of sylvatic yellow fever in the southeast region of Maranhão State, Brazil, 1993- 1994: epidemiologic and entomologic findings. *Am J Trop Med Hyg*; 57:132-7; 1997.

VASCONCELOS, P. F. C. Febre Amarela. *Rev Soc Bras Med Trop.*; 36(2):275-93; 2003.

VENÂNCIO, A. T. A.; CASSILIA, J. A. P. A doença mental como tema: uma análise dos estudos no Brasil. *Espaço Plural*, XI(22):24-34; 2010.

WARD, R. A. Second Supplement to “A Catalog of the Mosquitoes of the World” (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics*, Salt lake, Utah, v.16, n. 3, Sept. 1984.

WILKERSON, R. C.; LINTON, Y-M.; FONSECA, D. M.; SCHULTZ, T. R.; PRICE, D. C.; STRICKMAN, D. A. Making mosquito taxonomy useful: a stable classification of tribe Aedini that balances utility with current knowledge of evolutionary relationships. *PLoS ONE*. 10(7); 2015.

WORD HEALTH ORGANIZATION. *Aedes albopictus* introduction into Continental Africa. CDC; p. 1-6; 1991.

ZAVORTINK, T. J. Mosquito Studies (Diptera, Culicidae) XXVIII. The New World species formerly placed in *Aedes (Finlaya)*. *Contrib. Amer. Ent. Inst.* 8(3): 1-206; 1972.

CAPÍTULO I

Ciclo biológico de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) em condições de laboratório*

Aline Tátilla Ferreira^{1,2}, Daniele de Aguiar Maia¹, Jeronimo Alencar¹

RESUMO

O presente trabalho teve o objetivo de contribuir para os conhecimentos sobre o ciclo biológico de ovo a adulto e taxa de eclosão dos ovos de *Haemagogus leucocelaenus* espécie com potencial para transmissão do vírus da Febre Amarela Silvestre no Brasil. Os ovos foram coletados com auxílio de armadilha de oviposição “ovitrapas” em um fragmento de Mata Atlântica, no estado do Rio de Janeiro, Brasil, nos meses de outubro (1) e novembro (2) de 2015. Após as coletas os ovos foram submetidos à 16 imersões, para testar a taxa de eclosão e avaliar o tempo médio de desenvolvimento do ciclo biológico. Foi observado que os indivíduos de *Hg. leucocelaenus* mantidos em câmara climatizada, apresentaram o período de desenvolvimento, cujo ciclo desde larva de primeiro estágio a adulto se completa, em um tempo médio de 10.44 ± 0.70 dias. A viabilidade das imersões foi 49.8% e 18.2% para os experimentos 1 e 2, respectivamente. Em ambos experimentos, o pico de eclosão ocorreu na primeira imersão, quando eclodiram 26% dos ovos do experimento 1 e 15% do experimento 2. Assim sendo, o conhecimento a respeito do ciclo biológico e taxa de eclosão de *Hg. leucocelaenus*, contribuiu com informações sobre a biologia da espécie ainda não versados.

PALAVRAS CHAVE: Ciclo de desenvolvimento; Febre amarela; Imaturos; Ovos de culicídeos.

*Trabalho aceito para publicação na revista Entomological News.

¹ Laboratório de Diptera, Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil. E-mails: line.tatila@hotmail.com, dani.aguiar.maia@gmail.com, jalencar@ioc.fiocruz.br

² Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.

Development of preimaginal stages of *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) in laboratory conditions

ABSTRACT

The objective of this study was to provide new insights on the egg-to-adult biological cycle and hatching rate of eggs of *Haemagogus leucocelaenus*, a species that transmits wild-type yellow fever in Brazil. Eggs were collected using oviposition traps, “ovitrap,” in a fragment of the Atlantic Forest in Rio de Janeiro, Brazil, in October (Experiment 1) and November (Experiment 2) 2015. Thereafter, the eggs were subjected to 16 immersions, to test hatching rate and evaluate the average development time. *Hg. leucocelaenus* individuals kept in a climate-controlled chamber showed an average development period of 10.44 ± 0.70 d, from the start of larval stage to adulthood. Immersion viability was 49.03% and 17.37% for Experiments 1 and 2, respectively. In both experiments, the hatching peak occurred during the first immersion, where 26% and 15% of eggs hatched in Experiments 1 and 2, respectively. These results would provide new insights into the biology of *Hg. leucocelaenus*.

KEYWORDS: Culicidae; *Haemagogus*; eggs; development cycle; hatching rate

INTRODUÇÃO

O gênero *Haemagogus* (Williston, 1896) contém 28 espécies, com ampla distribuição geográfica na América Central e América do Sul. Várias das espécies têm importância na transmissão do vírus da Febre Amarela e Mayaro e é possível que tenham papel na transmissão do vírus da dengue (Marcondes & Alencar, 2010).

Haemagogus leucocelaenus (Dyar, 1925) é uma espécie silvestre, que tem a copa das árvores como habitat preferencial, desenvolvendo suas atividades durante o período diurno (Forattini et al., 1988; Chadee et al., 1995), sendo apontada como vetor primário do vírus da Febre Amarela Silvestre (FAS) no sudeste do Brasil. Sua distribuição geográfica se estende desde Trinidad até o sul do Brasil e Norte da Argentina. A importância dessa espécie tem ganhado cada vez mais visibilidade devido à sua crescente importância médica na transmissão também de outras arboviroses (Arnell, 1973) intensificado com o relato de infecção do sorotipo 1 do vírus da dengue no estado da Bahia, Brasil (Figueiredo et al., 2010).

A resistência à dessecação dos ovos de insetos é um fato que os propicia sobreviver em ambientes inóspitos. Entre os culicídeos, ovos bastante resistentes aos períodos estiagem pertencem aos gêneros *Aedes* (Meigen, 1818), *Ochlerotatus* (Lynch Arribáizaga, 1891), *Psorophora* (Robineau-Desvoidy, 1827), *Haemagogus* (Williston, 1896) e *Opifex* (Hutton, 1902) (Clements, 1992; Juliano & Lounibos, 2005). Culicídeos que completam o seu ciclo larval em ambientes transitoriamente alagados, como em ocos de árvores ou bambus cortados, estão suscetíveis a oscilações do padrão de umidade. Desta forma, a resistência à dessecação é considerada uma estratégia reprodutiva (Vinogradova, 2007). Além disso, sabe-se que espécies de mosquito que possuem ovos muito resistentes ao período seco têm sua capacidade de dispersão aumentada. Sendo assim, a resistência do ovo à dessecação é fortemente associada à introdução de espécies de culicídeos em novas regiões geográficas. Essa importante característica ecológica tem implicações na dispersão e na transmissão de doenças como, por exemplo, a Febre Amarela, Dengue e outras (Juliano & Lounibos, 2005).

Com o objetivo de contribuir com os conhecimentos sobre o ciclo biológico de ovo a adulto de *Hg. leucocelaenus*, neste trabalho são relatados dados sobre as taxas de eclosão dos ovos, tempo médio de desenvolvimento e índices de mortalidade dos estágios imaturos até a emergência dos alados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Descrição da área de estudo

As populações estudadas foram procedentes do Campus Fiocruz da Mata Atlântica (CFMA), o qual abrange cerca de 500 hectares e está situado na zona oeste do município do Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro, S 22° 56' e W 043° 25'. Toda porção oeste do *campus* pertence a uma área de preservação ambiental, apresentando como vegetação característica a Mata Atlântica, predominantemente secundária, cuja cobertura vegetal corresponde a Floresta Ombrófila Densa. Animais silvestres - como primatas não humanos, bichos-preguiça (*Pilosa*), cobras (*Ophidia*), gambás (*Didelphimorphia*), tatus (*Cingulata*), lagartos (*Sauria*), tucanos (*Piciformes*), papagaios (*Psittaciformes*) - são encontrados na mata conservada, podendo ser observados nos arredores das áreas habitadas (Fiocruz, 2010). Foram descritos oito biótopos para a área do campus: mata atlântica (mata secundária, localizada acima da cota de 100m), mata em regeneração (mata secundária, arbórea e densa), agrupamento de árvores (vegetação arbórea-arbustiva), cultura de subsistência, pastos ou macegas (capim, alguns arbustos e pequenas árvores), afloramentos rochosos, mata alagada (agrupamento de árvores com alagamento eventual) e área urbanizada ou deflorestada (área descoberta ou construída) (Fiocruz, 2010).

Coleta e processamento dos ovos

Seguindo a metodologia proposta por Silver (2008), o monitoramento foi realizado através da utilização de armadilhas do tipo ovitrampas que eram constituídas por pote preto fosco, com capacidade para o volume de 1litro, sem tampa com quatro palhetas de madeira compensada (placas de eucatex), de 2,5 cm X 14 cm, presas verticalmente no interior da armadilha por “CLIPS”. No pote adicionava-se água natural e serrapilheira, visando reproduzir um ecossistema mais próximo do natural (Fay & Perry, 1965; Fay & Eliason, 1966). As armadilhas foram instaladas aleatoriamente entre 0 e 8m do nível do solo, sendo amostrados em ambiente florestal, tendo sido monitoradas ao longo dos meses de outubro e novembro de 2015. As palhetas foram substituídas quinzenalmente e identificadas de acordo com o ponto de amostragem e acondicionadas em uma câmara úmida para transporte ao Laboratório de Diptera do Instituto Oswaldo Cruz. Todas as palhetas foram numeradas sequencialmente e acondicionadas em uma câmara úmida e enviadas ao Laboratório de Diptera do Instituto Oswaldo Cruz.

As palhetas positivas foram separadas no laboratório, submetidas à contagem dos ovos e imersas em bandejas transparentes contendo água MiliQ®. Em seguida, as bandejas foram colocadas por três dias em estufa com termoperíodo e fotoperíodo reguladas: à temperatura de $28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de 75 a 90% e fotoperíodo de 14 horas. Logo após, os ovos eram acondicionados em bandejas secas por um período de, aproximadamente, 3-4 dias fora da estufa para que fosse imergido novamente, visando o término de desenvolvimento embrionário.

Ao atingir a fase adulta, a determinação específica foi realizada pela observação direta dos caracteres morfológicos evidenciáveis ao microscópio estereoscópico e baseada nas chaves dicotômicas elaboradas por Arnell (1973), Forattini (2002) e Marcondes & Alencar (2010). Após a determinação específica, todos os espécimes foram incorporados à Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, sob o título de “Coleção Mata Atlântica – Rio de Janeiro”.

Os ovos utilizados do mês de outubro e novembro foram nomeados "Experimento 1" e "Experimento 2", respectivamente. Para comparar as diferenças da taxa de eclosão por imersão, foi utilizada a média de Willians (X_w), seguindo as definições de Haddow (1954; 1960).

Com o objetivo de observar o desenvolvimento e o tempo médio do ciclo de *Hg. leucocelaenus*, foram retiradas 20 larvas do CFMA recém eclodidas, no momento da maior taxa de eclosão. Em seguida, foram transferidas individualmente para recipientes plásticos com 3 cm de diâmetro por 6cm de altura e foram alimentadas com ração de peixe (Tropi-Fish®) triturada e peneirada, aplicada diretamente na água. A manutenção da criação foi feita diariamente, até atingir o estágio adulto. A análise estatística dos dados foi realizada através do teste de Mann-Whitney a nível de significância $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

No total, foram coletados 875 ovos, dos quais 323 (36,9%) eclodiram. Observou-se variação na taxa de viabilidade entre os experimentos. Dos 518 ovos provenientes do mês de outubro (Experimento 1) obteve-se taxa de viabilidade de 49.8% e dos 357 ovos do mês de novembro (Experimento 2) registrou-se taxa de viabilidade de 18.2%. Esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p = 0.06$). Os dois experimentos 1 e 2 apresentaram

variabilidade na taxa de eclosão dos ovos, após as 15 imersões as quais foram submetidos, de 26% à 63% para o Experimento 1 e de 15% to 19% para o Experimento 2 (Fig.1). A evolução cumulativa bem como a média Willians da proporção de incubação após as imersões pode ser visualizada na Figura 1.

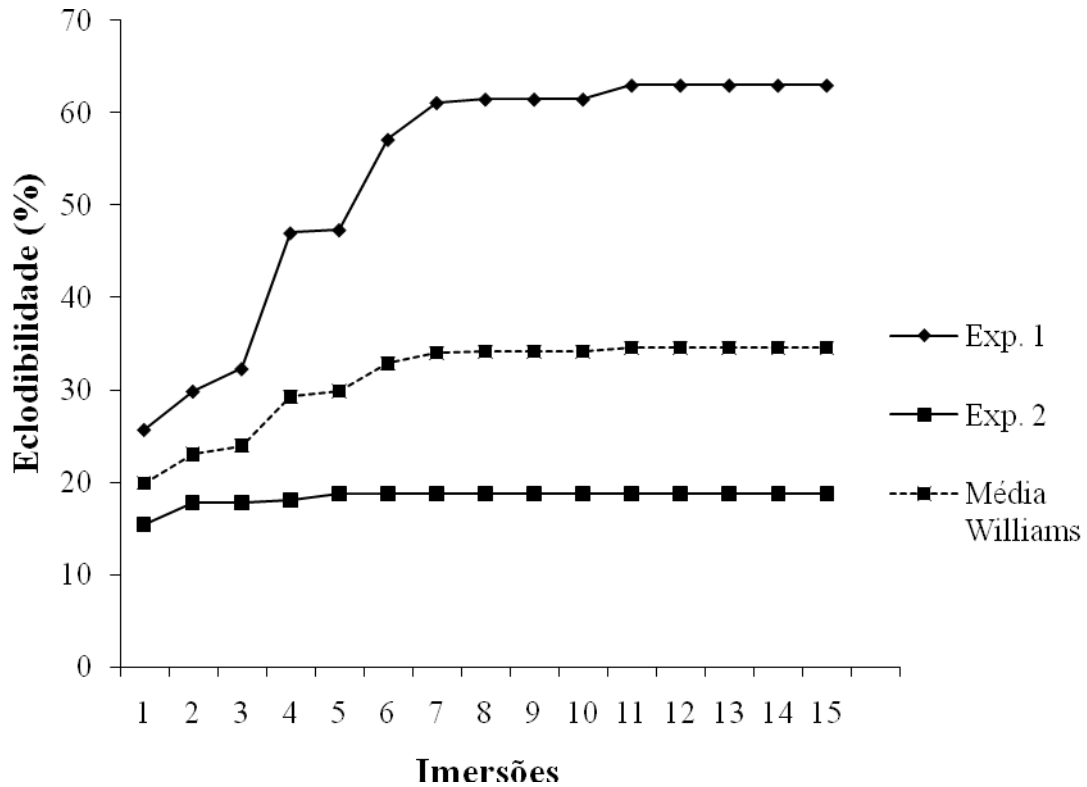


Figura 1. Efeito cumulativo de várias imersões do ovo de espécimes de *Hg. leucocelaenus*, coletados em armadilha Ovitrapa, no *Campus* FIOCRUZ da Mata Atlântica, estado do Rio de Janeiro, Brasil, nos meses de outubro e novembro de 2015.

No Experimento 1, o pico de eclosões ocorreu na 1ª imersão, quando eclodiram 26% dos ovos, seguido da 4ª (15%), 6ª (10%) e 2ª e 7ª imersões (ambas 4%). É importante ressaltar que foram detectadas eclosões (2%) até a 11ª imersão. O pico de eclosões no Experimento 2 também ocorreu na 1ª imersão, com taxa de 15% de ovos eclodidos, seguido da 2ª (2%), e 5ª imersão (1%). De um modo geral, após a 7ª (Exp. 1) ou 5ª (Exp. 2) imersão, a proporção de ovos eclodidos decai abruptamente (Figura 2).

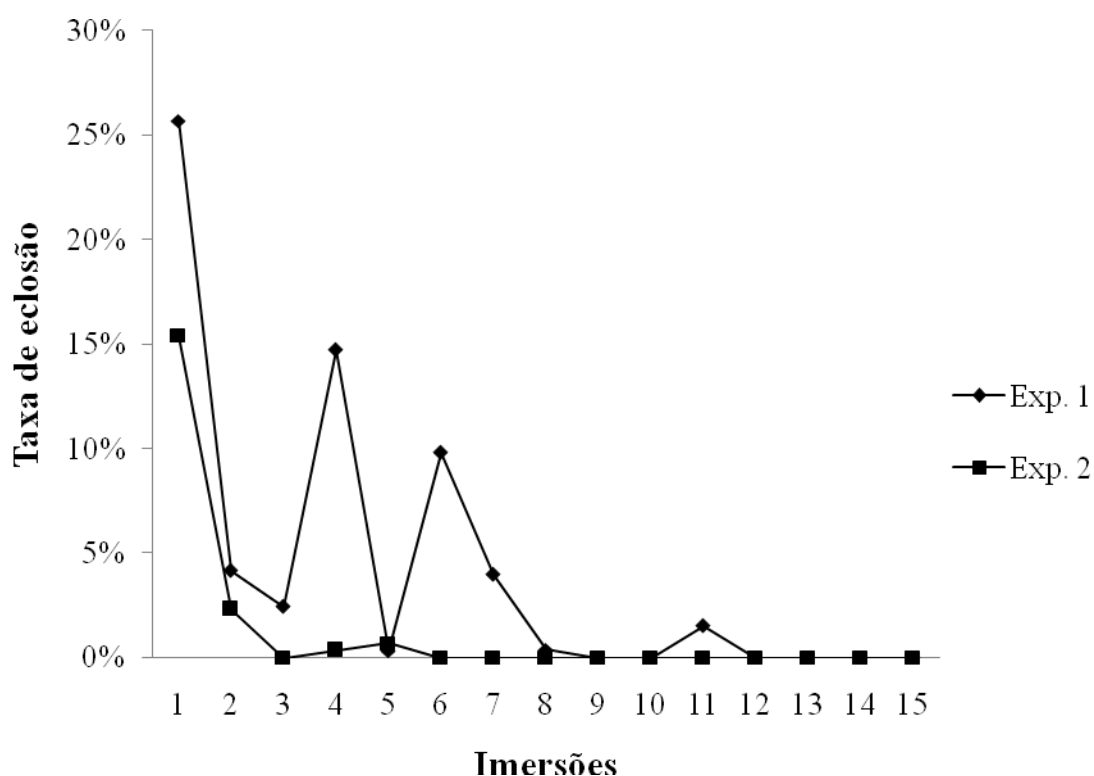


Figura 2. Taxa de eclosão representada por imersão de ovos de *Hg. leucocelaenus* coletados em armadilha Ovitrapa, no *Campus* FIOCRUZ da Mata Atlântica, estado do Rio de Janeiro, Brasil, nos meses de outubro e novembro de 2015.

Dentre as 20 larvas monitoradas até a fase adulta, uma morreu no 3º instar e uma no 4º instar, as 18 restantes concluíram o ciclo, dentre as quais 5 fêmeas e 13 machos. O período total de desenvolvimento variou entre 9 e 11 dias. A duração média do ciclo foi de 10.44 ± 0.70 dias. A duração de cada estágio do desenvolvimento foi a seguinte: No primeiro instar, média de 1 ± 0.00 (1 dia); no segundo instar, média de 1.17 ± 0.38 (1-2 dias); no terceiro instar, média de 1.17 ± 0.38 (1-2 dias); no quarto instar, média de 3.66 ± 0.77 (3-5 dias); na fase de pupa, média de 2.44 ± 0.86 (1-4 dias). A duração média do ciclo não mostrou diferença significativa entre machos e fêmeas ($P > 0,05$).

DISCUSSÃO

O desenvolvimento de uma vacina eficiente auxiliou muito para diminuir a incidência de Febre Amarela. Entretanto, apesar da vacina anti-amarílica ser uma ferramenta importantíssima para o controle da doença e ter sido amplamente utilizada na vacinação de milhões de pessoas no país, a revisão dos casos de febre amarela notificados/identificados

pelo sistema nacional de vigilância entre 1999 e 2009, demonstrou uma forte tendência de sazonalidade, provavelmente ligada à influência dos fatores climáticos sobre o ciclo biológico dos vetores, com 93% dos casos identificados entre novembro e maio (Costa et al., 2010). Dessa forma, os estudos sobre biologia de populações de *Hg. leucocelaenus*, incriminado como principal vetor em diversos surtos de Febre Amarela no sul e sudeste do Brasil (Vasconcelos et al., 2003; Cardoso et al., 2008; Souza et al., 2009), tornam-se importantes, pois nos permitem tecer considerações sobre medidas de controle.

Nossos experimentos mostraram taxa de viabilidade total de 36,9%, resultado bastante similar ao encontrado por Alencar et al. (2014) (36,7%), que consideraram esta porcentagem de eclosão de ovos moderada. A eclodibilidade dos ovos de *Hg. leucocelaenus* no presente trabalho mostrou variação tanto entre os experimentos, como entre as imersões. O resultado encontrado no presente trabalho corrobora com as observações realizadas por Alencar et al. (2008). As sucessivas imersões desencadearam efeito cumulativo na eclosão dos ovos, sendo que a primeira imersão mostrou-se a mais eficaz, em ambos experimentos. Outro trabalho obteve o mesmo resultado para *Hg. leucocelaenus* coletados nos meses de abril, outubro e dezembro (Alencar et al., 2014). O mesmo trabalho observou que no experimento do mês de junho a terceira imersão foi a mais evidente, quando comparada aos demais meses estudados. Apesar da primeira imersão ter sido a mais significativa, a taxa de eclosão dos ovos prosseguiu ativamente após várias imersões, como observado anteriormente para *Hg. leucocelaenuse* (Alencar et al., 2014) e *Hg. janthinomys* (Alencar et al., 2008). Campos & Sy (2006) relatam que algumas espécies podem exigir mais de um episódio de contato com a água para eclosão das larvas, que se encontram em estado de dormência. A diapausa do ovo de mosquitos é definida como uma forma de dormência hormonalmente programada e que não se finaliza em resposta imediata a condições favoráveis. Em contrapartida, a quiescência é uma dormência induzida em resposta direta às condições ambientais desfavoráveis e é encerrada imediatamente após o retorno das condições ambientais favoráveis (Delinger & Armbruster, 2014). A diapausa dos ovos de *Aedini* geralmente termina na primeira imersão, como em *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), mas alguns ovos podem precisar de mais de uma imersão para a eclosão (Clements, 1963). Isto é conhecido como “*instalment hatching*” (Gillet, 1955), e provavelmente é uma estratégia para a sobrevivência dos mosquitos, tais como os pertencentes ao gênero *Haemagogus*, em criadouros temporários submetidos a várias inundações e dessecações (Andreadis, 1990).

Embora tenha ocorrido um abrupto declínio das eclosões após a sétima imersão, demonstrou-se que houve viabilidade até a 11ª imersão. A influência de fatores químicos e fisiológicos sobre a reação dos ovos permite que possam eclodir depois de um ou vários eventos de inundação que sejam suficientemente fortes para submergi-los. O efeito de múltiplas imersões em ovos de *Ochlerotatus albifasciatus* (Macquart, 1838) (= *Aedes albifasciatus*) está relacionado à duração do dia e temperatura (Campos & Sy, 2006). Vitek & Livdahl (2006) referem que embora os ovos de *Ae. albopictus* possam exigir vários eventos de inundação antes da eclosão das larvas, a maioria delas eclode durante as primeiras duas imersões. Ovos de espécies do gênero *Haemagogus* são capazes de resistir a longos períodos de dessecação, podendo prolongar-se por até sete meses, essa resistência que os ovos adquirem à dessecação permitem que ocorram eclosões em épocas diferentes de acordo com as variações de chuvas irregulares (Galindo et al., 1955). Essas informações são relevantes na epidemiologia da febre amarela silvestre, uma vez que o pico de transmissão coincide com o período chuvoso (Costa et al., 2010), época em que os ovos estarão expostos a vários períodos de inundação. Além disso, é possível que alguns ovos não estejam aptos para eclodir neste período, o que pode proporcionar a existência de uma população de adultos durante todo o ano.

Forattini (1965) considerou que a eclodibilidade dos ovos de *Haemagogus* depende de vários fatores, como diferenças sazonais e redução da concentração de oxigênio na água. Galindo et al. (1951) ressaltaram que os ovos de *Hg. janthinomys*, coletados no Panamá, necessitam de duas semanas sob condições de umidade para seu desenvolvimento. No entanto, esses resultados não estão de acordo com o presente estudo, no qual o tempo de desenvolvimento ovo-adulto apresentou uma média de 10.44 ± 0.70 dias. Alencar et al. (2008) apresentaram estudos sobre o ciclo de *Hg. janthinomys*, onde o ciclo se completava em 12.40 ± 0.82 dias, mostrando que há uma variação do tempo de desenvolvimento entre espécies do mesmo gênero, com o ciclo do *Hg. leucocelaenus* concluído mais rapidamente. O rápido desenvolvimento do ciclo também pode influenciar na capacidade de transmissão de Febre Amarela, uma vez que tende a aumentar a densidade vetorial.

Portanto, alguns aspectos elucidados no presente trabalho como a longevidade dos ovos de *Hg. leucocelaenus*, sua capacidade de permanecer em quiescência e a velocidade com que o ciclo se desenvolve podem ter importâncias nas doenças transmitidas por esse vetor, especialmente a Febre Amarela Silvestre.

O conhecimento a respeito do ciclo biológico e taxa de eclosão de *Hg. leucocelaenus*, aqui apresentados podem contribuir com dados sobre a biologia da espécie ainda não versados, e que irão auxiliar em programas específicos de monitoramento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alencar J, Almeida HM, Marcondes CB, Guimarães AE. Effect of multiple immersions on eggs and development of immature forms of *Haemagogus janthinomys* from South-Eastern Brazil (Diptera: Culicidae). *Entomol News* 2008; 119: 239-244.

Alencar J, Gleiser RM, Morone F, de Mello CF, dos Santos Silva J, SerraFreire NM, Guimarães AÉ. A comparative study of the effect of multiple immersions on Aedini (Diptera: Culicidae) mosquito eggs with emphasis on sylvan vectors of yellow fever virus. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2014; 109, 114–117.

Andreadis TG. Observations on the installment egg hatching in the Brown Salt Marsh mosquito, *Aedes cantator*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 1990; 6:727-729.

Arnell JJ. Mosquito studies (Diptera, Culicidae). XXXII. A revision of the genus *Haemagogus*. *Contributions of the American Entomology Institute* 1973; 10:1–174.

Campos RE, Sy VE. Variation in the hatching response of *Ochlerotatus albifasciatus* egg batches (Diptera: Culicidae) in temperate Argentina. *Mem. Ins. Oswaldo Cruz* 2006; 101: 47–53.

Cardoso JC, Almeida MAB, Santos E, Fonseca DF, Sallum MAM, Noll CA, et al. Yellow fever virus in *Haemagogus leucocelaenus* and *Aedes serratus* mosquitoes, Southern Brazil, 2008. *Emerg Inf Dis* 2010; 16:1918-1924.

Chadee DD, Ganesh R, Hingwan JO, Tikasingh ES. Seasonal abundance, biting cycle and parity of the mosquito *Haemagogus leucocelaenus* in Trinidad, west Indies. *Med Vet Entomol* 1995; 9:372–6.

Clements AN. Biology of Mosquitoes, Vol. I: Development, Nutrition, Reproduction Chapman & Hall, Wallingford, UK, 1992.

Clements AN. The physiology of mosquitoes. International Series of Monographs on Pure and Applied Biology. Zoology Division. Pergamon Press. Volume 17. Oxford, England, United Kingdom 1963; p 393.

Costa ZGA, Romano APM, Elkhoury ANM, Flannery B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. Rev Pan-Amaz Saude 2010; 2(1):11–26.

Delinger DL, Armbruster PA. Mosquito Diapause. Ann Rev Entomol 2014.

Fay RW, Eliason DA. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. Mosq. News 1966; 26: 531-5.

Fay RW, Perry AS. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. Mosq. News 1965; 25: 276-81.

Figueiredo ML, Gomes AC, Amarilla AA, Leandro AS, Orrico AS, Araujo RF, et al. Mosquitoes infected with dengue viruses in Brazil. Virol J 2010; 12:152.

FIOCRUZ. Relatório Ambiental do Setor 1 da Colônia Juliano Moreira. Rio de Janeiro; 2010.

Forattini OP. Entomologia Médica. 3rd vol., Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo; 1965.

Forattini, O. P., Gomes AC, Natal D, Kakitani I, Marucci D. Preferências alimentares e domiciliação de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil, com especial referência a *Aedes scapularis* e a *Culex (Melanoconion)*. Rev Saúde Pública 1988; 23:9–19.

Forattini, OP. Culicidologia Médica. São Paulo, EDUSP; v2. 2002.

Galindo P, Carpenter SJ, Trapido H. A contribution to the ecology and biology of tree hole breeding mosquitoes of Panama. Annals of the Entomological Society of America 1955; 48:158-164.

Galindo P, Carpenter SJ, Trapido, H. Ecological observations on forest mosquitoes of an endemic yellow-fever area in Panama. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1951; 31:98-137.

Gillett JD. Variation in the hatching response of *Aedes* eggs (Diptera: Culicidae). *Bulletin of Entomological Research* 1955; 46:241-254.

Haddow AJ. Studies of the biting-habits of African mosquitoes. An appraisal of methods employed, with special to the twenty-four hours. *Bull Ent Res* 1954; 45: 199-242.

Haddow AJ. Studies on the biting-habits and medical importance of east African mosquitoes in the genus *Aedes*. I - Subgenera *Aedimorphus*, *Bankisinella* and *Dunnius*. *Bull Ent Res* 1960; 50: 759- 779.

Juliano AS, Lounibos LP. Ecology of invasive mosquitoes: effects on resident species and on human health. *Ecol Letters* 2005; 8:558–574.

Marcondes, C. B. and J. Alencar. 2010. Revisão de mosquitos *Haemagogus* Williston (Diptera: Culicidae) do Brasil. *Rev Biomed* 21: 221–238.

Silver JB. *Mosquito ecology: field sampling methods*, 3rd edição. Springer, New York; 2008.

Souza RP, Petrella S, Coimbra TLM, Maeda AY, Rocco IM, Bisordi I, et al. Isolation of yellow fever virus (YFV) from naturally infected *Haemagogus* (*Conopostegus*) *leucocelaenus* (diptera, culicidae) in São Paulo State, Brazil, 2009. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2011;53(3):133-9.

Vasconcelos PFC, Sperb AF, Monteiro HAO, Torres MAN, Souza MRS, Vasconcelos HB, Mardini LBLF, Rodrigues SG. Isolations of yellow fever virus from *Haemagogus leucocelaenus* in Rio Grande do Sul State, Brazil, in the Southern Cone. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 97, 2003.

Vinogradova EB 2007. Diapause in aquatic insects, with emphasis on mosquitoes. Diapause in aquatic invertebrates, theory and human use. New York. Springer-Verlag 2007; 83–113.

Vitek CJ, Livdahl TP. Field and laboratory comparison of hatch rates in *Aedes albopictus* (Skuse). J Am Mosq Control Assoc. 2006; 22(4):609–14.

CAPÍTULO II

Comportamento de oviposição de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) vetor silvestre do vírus da febre amarela no Brasil*

Aline Tátilla Ferreira^{1,2}, Daniele de Aguiar Maia¹, Filipe Vieira Santos de Abreu³, William Costa Rodrigues⁴, Jeronimo Alencar¹

1 Laboratório de Diptera, Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil, 2 Pós-graduação de Programa em Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil, 3 Laboratório de Transmissores Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), 4 Entomologista do Brasil, EntomoBrasilis, Vassouras, Rio de Janeiro, Brasil.

RESUMO

Haemagogus leucocelaenus é considerado vetor de febre amarela silvestre, tem hábitos acrodendrófilos e deposita seus ovos principalmente em buracos de árvores e internódios de bambus. A seleção de criadouros é essencial na história de vida dos mosquitos e no seu sucesso reprodutivo. O presente trabalho investigou a altura preferencial de oviposição desta espécie, em uma área de mata atlântica do Rio de Janeiro. As amostragens foram realizadas com o uso de armadilhas de ovitrampas, instaladas na cobertura vegetal, entre 2 metros, 4 metros, 6 metros e 8 metros do nível do solo, em ambiente florestal, durante os meses de agosto de 2015 a julho de 2016. Foi possível coletar ovos em todos os meses do ano, com maior abundância em outubro e maio. Os resultados mostraram que as armadilhas instaladas em diferentes alturas, desde o nível do solo até 8 metros de altura, receberam quantidades similares de ovos. Isso mostra que esta espécie explora os diferentes níveis do estrato arbóreo, o que pode favorecer a transmissão de patógenos entre animais arborícolas (i.e. primatas) e o homem. Os dados foram discutidos do ponto de vista ecológico e epidemiológico.

PALAVRAS CHAVE: Acrodendrofilia; Culicidae; Preferência de altura; Vetor da Febre Amarela

* Artigo aceito para publicação na Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.

Oviposition behavior of *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae), a vector of wild Yellow Fever in Brazil

ABSTRACT

Haemagogus leucocelaenus, which is considered a major vector of wild yellow fever, exhibits acrodendrophilic habits and mainly deposits its eggs in treeholes and bamboo internodes. The selection of nursery sites is essential in the life history and reproductive success of mosquitoes. The present work investigated the preferred oviposition height and period of *Hg. leucocelaenus* in an Atlantic forest area in Rio de Janeiro. Sampling was performed using oviposition traps that were placed on plant material at 0, 2, 4, 6, and 8 m above the ground, from August 2015 to July 2016. Eggs were more abundant during October and May, and trap placement (i.e., height) had no significant effect on egg number, which indicated that *Hg. leucocelaenus* explores different levels of forest habitats, a behavior that may favor the transmission of pathogens among arboreal animals (i.e., primates) and humans. The findings of the present study are discussed from an ecological and epidemiological point of view.

KEYWORDS: Acrodendrophily; Culicidae; Height preference; Oviposition trap; Yellow fever vectors

INTRODUÇÃO

O comportamento de oviposição e a seleção de criadouros são componentes essenciais na história de vida de todas as espécies de mosquitos e estão intimamente relacionados à sobrevivência dos imaturos¹, uma vez que são incapazes de se deslocar, se as condições se tornam desfavoráveis^{2,3}. A seleção de criadouros pode influenciar também no desenvolvimento e crescimento das larvas, prevenção de predadores, na disponibilidade de alimentos e, em última análise, no fenótipo e aptidão da prole^{1,4,5}. Portanto, há uma grande pressão seletiva favorável às fêmeas que fazem escolhas que maximizam a sobrevivência de sua prole⁵.

Muitos culicídeos completam o seu ciclo larval em ambientes transitoriamente alagados, como em ocos de árvores ou bambus cortados e estão suscetíveis a oscilações dos padrões do criadouro⁶, como, por exemplo, mosquitos do gênero *Haemagogus*. Espécies desse gênero são, geralmente, silvestres e apresentam atividade diurna e hábitos acrodendrófilos⁷.

Haemagogus leucocelaenus (Dyar & Shannon, 1924) é uma espécie silvestre, que tem a copa das árvores como habitat preferencial, desenvolvendo suas atividades durante o período diurno^{8,9}. Esse táxon apresenta maior capacidade de adaptação a ambientes modificados que as outras espécies do gênero estudadas, nas fronteiras norte e oeste de São Paulo, e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894), ocorrendo nas mesmas áreas, poderia ajudar a levar o vírus FA para áreas urbanas¹⁰.

Esse culicídeo é comumente encontrado no Brasil e sua importância epidemiológica relaciona-se à atuação na transmissão de arboviroses, dentre elas a febre amarela^{11,12}. Figueiredo et al.¹³ relataram, utilizando RTNested-PCR, de sequências compatíveis com DENV-1 em *Hg. leucocelaenus* em Coribe, no sudoeste da Bahia, o que ressalta o interesse nos estudos destes vírus em mosquitos silvestres.

Apesar de não se detectar casos de febre amarela no estado do Rio de Janeiro há várias décadas, esta doença tem se expandido para o sul e para o leste, e atingiu áreas antigamente consideradas indenes, tais como os estados de São Paulo^{14,15} e Minas Gerais¹⁶, ambos fronteiraços com o Rio de Janeiro. Por isso, a compreensão dos diversos aspectos relacionados a este vetor na região da Mata Atlântica carioca pode contribuir para o estabelecimento de uma vigilância mais eficiente desta doença.

MATERIAIS E MÉTODOS

Declaração de ética

Todas as pesquisas foram realizadas de acordo com a licença científica número 34911 fornecida pelo SISBIO / IBAMA (Sistema de Autorização e Informação sobre Biodiversidade / Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) para a captura de culicídeos em todo o território nacional brasileiro.

Área de estudo: Os ovos de *Hg. leucocelaenus* foram coletados ao longo de 12 meses consecutivos, de agosto de 2015 a julho de 2016, no Campus Fiocruz da Mata Atlântica (CFMA), o qual abrange cerca de 500 hectares e está situado na zona oeste do município do Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro, S 22° 56' e W 043° 25'.

Toda porção oeste do CFMA pertence a uma área de preservação ambiental, apresentando como vegetação característica a Mata Atlântica, predominantemente secundária, cuja cobertura vegetal corresponde a Floresta Ombrófila Densa. Animais silvestres - como primatas não humanos, bichos-preguiça (*Pilosa*), cobras (*Ophidia*), gambás (*Didelphimorphia*), tatus (*Cingulata*), lagartos (*Sauria*), tucanos (*Piciformes*), papagaios (*Psittaciformes*) - são encontrados na mata conservada, podendo ser observados nos arredores das áreas habitadas¹⁷. Foram descritos oito biótopos para a área do campus: mata atlântica (mata secundária, localizada acima da cota de 100m), mata em regeneração (mata secundária, arbórea e densa), agrupamento de árvores (vegetação arbórea-arbustiva), cultura de subsistência, pastos ou macegas (capim, alguns arbustos e pequenas árvores), afloramentos rochosos, mata alagada (agrupamento de árvores com alagamento eventual) e área urbanizada ou deflorestada¹⁷.

Coleta dos espécimes: Armadilhas para postura com aberturas grandes têm sido usadas com certo sucesso para obter material de *Hg. leucocelaenus*, e *Hg. janthinomys*^{18,19,20}. Seguindo a metodologia proposta por Silver²¹, o monitoramento foi realizado através da utilização de armadilhas de oviposição - Ovitrapa^{22,23}, que consiste em um recipiente preto fosco, com capacidade de 1 litro, com quatro painéis de madeira compensada com medidas 2,5cm por 14cm (placas Eucatex®) fixadas verticalmente dentro da armadilha, com o auxílio de "clips". As armadilhas continham, como atraente para oviposição, água e matéria orgânica.

Para analisar o comportamento de oviposição, foram utilizadas armadilhas de ovitrapas em diferentes alturas de dois pontos do ambiente florestal. Foi colocada uma armadilha em cada uma das alturas testadas: nível do solo, 2 metros, 4 metros, 6 metros e 8

metros. As palhetas foram substituídas quinzenalmente e identificados de acordo com o ponto e acondicionados em uma câmara úmida para transporte ao laboratório de Diptera do Instituto Oswaldo Cruz, onde eram analisados com auxílio de um estereomicroscópio para contagem de ovos de mosquitos.

Criação e identificação em laboratório: As palhetas positivas foram imersas em bandejas transparentes contendo água MiliQ®. Em seguida, as bandejas foram colocadas por três dias em ambiente experimental controlado, em estufa com termoperíodo e fotoperíodo regulada à temperatura de $28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de 75 a 90% e fotoperíodo de 14 horas. Logo após, os painéis eram acondicionados em bandejas secas por um período de, aproximadamente, 3-4 dias fora da estufa para que fosse imergido novamente, visando o término de desenvolvimento embrionário.

Ao atingir a fase adulta, a identificação das espécies foi realizada a partir da observação direta dos caracteres morfológicos evidenciáveis ao microscópio estereomicroscópio (Zeiss®) e consulta às descrições/diagnoses respectivas das spp, utilizando chaves dicotômicas elaboradas por Arnell⁷, Forattini²⁴ e Marcondes & Alencar⁹. Após a determinação específica, todos os espécimes foram incorporados à Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, sob o título de “Coleção Mata Atlântica – Rio de Janeiro”.

Análises estatísticas: Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Os dados com distribuição normal foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo Teste F (Fisher) para comparação da oviposição (número de ovos) nas diferentes alturas em uma primeira análise e em seguida comparou-se os diferentes meses do ano, não levando em consideração as alturas. Além disso, testou-se a correlação entre as diferentes alturas de oviposição e a frequência absoluta através do teste de correlação de Pearson. Os dados foram agrupados através do método de Cluster (K means) para verificar as associações entre as alturas de vôo e os meses de observação. Todas as análises foram realizadas no Programa R Core Team²⁵, com uso de diversos pacotes (Econometric tools for performance and risk analysis: PerformanceAnalytics, eXtensible Time Series, Grammar of Graphics, Political Science Computational Laboratory, Polychoric and Polyserial Correlations, Visualization of a Correlation Matrix).

RESULTADOS

Os ovos foram coletados em todos os meses do ano, totalizando 4.553 unidades, durante os doze meses de experimento. Os meses que obtiveram o maior número de ovos foram outubro (16,87%) e maio (15,13%) e os meses com menor número de ovos foram dezembro (1,36%) e julho (1,56%). Todos os ovos pertenciam à mesma espécie de mosquito: *Haemagogus leucocelaenus*.

Não houve diferença significativa entre as diferentes alturas de oviposição (f value > 0,05), como mostra a tabela 1.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F crítico*	Pr(>F)
Tratamento	4	2570	642	2,5397	0.951
Residuals	55	203159	3694		

Tabela 1: análise de variância (ANOVA) considerando as alturas como tratamentos e os meses como repetição.

Baseando-se nas análises, foi possível observar correlações significativas e positivas entre a altura e abundância absoluta com significância de 0.01 para seguintes alturas solo, 4m, 6m e 8m, e com significância de 0.05 para solo e 2m, e solo e 6m como mostram a figuras 1 e 2.

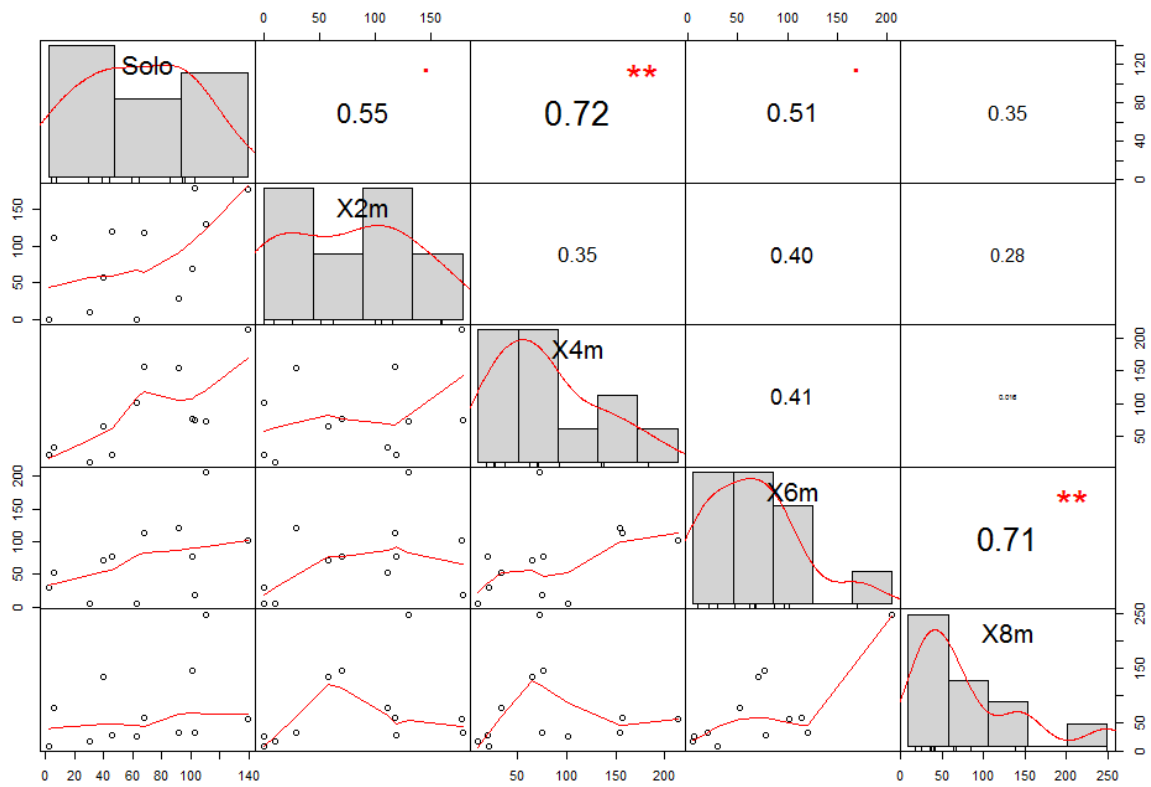


Figura 1: Matriz de dispersão de dados das alturas de voo, com seus respectivos valores de correlação de Pearson. Significância (*0,05; **0,01; ***0,001).

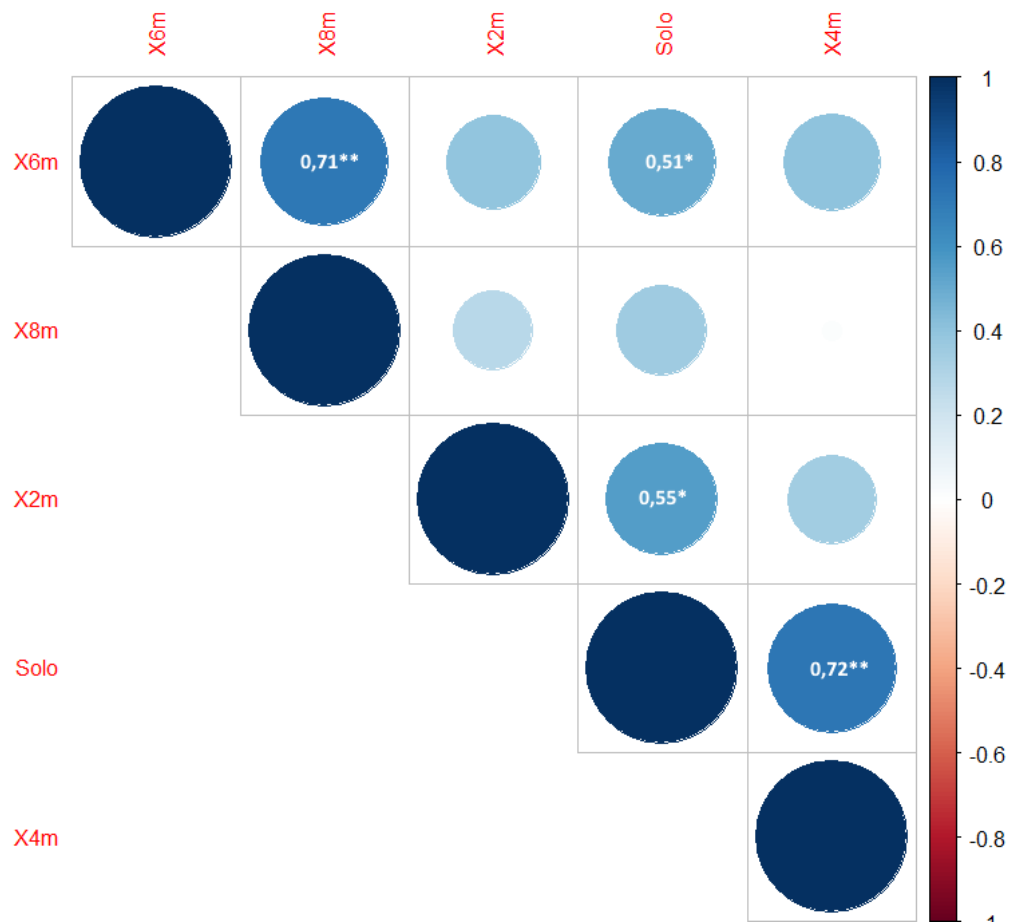


Figura 2. Matriz de escala de cores e valores das correlações de Pearson das alturas de voo. Significância (*0.05; **0.01).

A análise em cluster agrupou tanto os meses de diferentes estações climáticas (maio e outubro ou dezembro e julho) como as alturas distantes (como solo e 4 m). Foi possível perceber uma associação formada por pontos mais altos (6 e 8m) e outro mais baixos (solo, 2 e 4m) (Fig. 3).

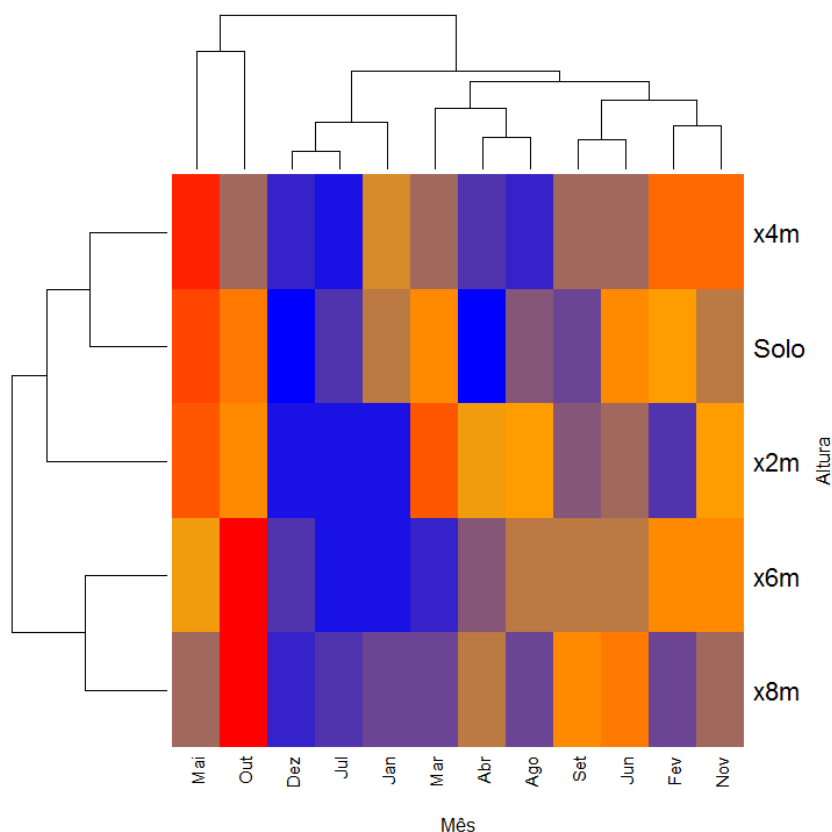


Figura 3: Mapa de cores, com agrupamento de cluster, permitindo verificar as correlações entre as alturas de voo e entre os meses de observação.

Quando consideramos os meses como tratamentos e as alturas das armadilhas como repetição, observou-se diferença significativa na ANOVA, como mostra a tabela 2.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F crítico*	Pr(>F)
Tratamento	11	104793	9527	1,9946***	0.00011 ***
Residuais	48	100936	2103		

Signif. codes: 0***; 0.001**; 0.01*; 0.05 ‘.’; 0.1 ‘.’; 1

Tabela 2. Análise de variância (ANOVA) considerando os meses como tratamentos e alturas como repetições para cada mês.

O teste de Tukey a 5% de significância mostrou que houve diferença na abundância dos espécimes apenas entre os meses maio vs dezembro; outubro vs. dezembro; maio vs. julho; outubro vs julho; outubro vs. janeiro. Apenas houve correlação significativa e

negativamente ($r = -0.94$) entre os meses de maio e outubro, ou seja, houve independência de ocorrência entre os demais meses.

Quando comparado os valores das alturas de voo e os fatores climáticos (uma semana antes e na mesma semana) não foi verificada a correlação entre os fatores e os parâmetros utilizados (altura de voo).

DISCUSSÃO

Haemagogus leucocelaenus é considerado um importante vetor de febre amarela silvestre, especialmente no sudeste, onde a ocorrência de *Hg. janthinomys* é limitada. Os dados do presente trabalho mostraram pela primeira vez, sua abundância dentro de um fragmento florestal urbano em área de mata atlântica. O grande número de ovos coletados e a presença de ovos durante o período de amostragem (incluindo estações secas e chuvosas), demonstram sua capacidade de adaptação às condições ambientais locais e a necessidade de vigilância constante, pois, apesar do Rio de Janeiro ser considerado um estado fora da endêmica, a febre amarela tem se expandido para o sul e para o sudeste, nos últimos anos^{11,12,26}.

Nos estudos sobre distribuição estacional de culicídeos desenvolvidos por Guimarães e Arlé²⁷, foi observado um maior número de *Hg. leucocelaenus* nos meses de novembro e junho. No presente estudo, não muito distinto do supracitado trabalho, os meses com maior abundância de espécimes foram outubro e maio.

Haemagogus leucocelaenus, *Oc. terreus* e *Hg. janthinomys* revelaram uma certa tolerância a dissecação, conforme observado nos experimentos realizados por Alencar et al.¹⁸. Considera-se que a dormência do estágio do ovo (e resistência à seca) é uma estratégia reprodutiva para a sobrevivência a longo prazo de mosquitos que se desenvolvem em criadouros temporários, tais como buracos de árvores e outros recipientes de água naturais sujeitos a flutuações de água⁶. A diapausa do ovo envolve uma longa e estável parada da eclosão, mesmo quando as condições ambientais são favoráveis para a eclosão. A diapausa dos ovos de *Aedini* geralmente termina na primeira imersão, mas alguns ovos podem precisar de mais de uma imersão para a eclosão²⁸. Isto é conhecido como “*instalment hatching*”²⁹, e provavelmente é uma estratégia para a sobrevivência dos mosquitos, tais como os pertencentes ao gênero *Haemagogus*, em criadouros temporários submetidos a várias

inundações e dessecações³⁰. Isto significa que parte deles precisa ser submergida por várias vezes para eclodir e que uma oviposição pode gerar mosquitos adultos por muito tempo.

No presente trabalho, o mês com maior número de ovos foi outubro. Levando-se em conta o tempo necessário para completar o ciclo de vida e a diapausa, é interessante notar que a emergência do maior número de adultos provavelmente coincidirá com o verão. No Brasil, a transmissão de febre amarela silvestre ocorre majoritariamente entre novembro e maio, o que pode ser explicado pela ocorrência de chuvas subsequentes que submergem os ovos depositados³¹. O segundo mês com maior abundância foi maio. Utilizando-se do mesmo raciocínio anterior, podemos explicar a presença de adultos durante todo o restante do ano.

Interessantemente, foram coletados ovos em todas as alturas testadas, desde o nível do solo até 8 metros de altura, e não houve diferença significativa entre elas. Isso evidencia que as fêmeas desta população de *Hg. leucocelaenus* são pouco seletivas em relação aos nichos do estrato vertical, pois ovipositaram de maneira homogênea em todos eles. Podemos extrapolar e supor que a alimentação sanguínea também ocorra em diversas alturas. Esta plasticidade pode ter impacto reprodutivo e epidemiológico. Do ponto de vista reprodutivo, a exploração de todo o estrato vertical aumenta as chances das fêmeas encontrarem criadouros e fontes de repasto, já que passam a ter acesso a diferentes ambientes e a animais que vivem nos diferentes estratos (mamíferos terrestres, mamíferos arborícolas e aves). Do ponto de vista epidemiológico, a exploração de diversos estratos pode fazer com que eles se alimentem em diferentes espécies, o que pode proporcionar o intercâmbio de patógenos. Isto se torna especialmente relevante no ciclo da febre amarela silvestre, cujos principais hospedeiros são os primatas não humanos de hábito arborícola.

Em geral, a transmissão do vírus de FA ocorre dentro de florestas, atingindo principalmente homens em atividades (corte de madeira, pesca, caça etc.) nestas áreas, mas no caso de *Hg. albomaculatus*, que tende a sair da floresta, podem ser infectados humanos de ambos os sexos e várias faixas etárias³². *Haemagogus leucocelaenus* infectados com febre amarela foram capturados no nível do solo durante o grande surto que ocorreu no Rio Grande Sul (Brasil) entre 2008 e 2009¹², o que reforça nossa hipótese.

Apesar da semelhança entre as alturas, a correlação significativa e positiva observada entre abundância absoluta pode indicar que a sensibilidade das ovitrampas tende a crescer com o aumento da altura, especialmente de 0 para 4 metros e de 6 para 8 metros. Já foi demonstrado em trabalhos desenvolvidos por Davis³³; Trapido et al.³⁴, Galindo et al.³⁵,

Ferreira Fé et al.³⁶ uma maior quantidade de indivíduos de *Hg. leucocelaenus* na copa das árvores, apresentando uma tendência à acrodendrofilia. Entretanto, tal fato não foi verificado nos trabalhos de Causey & Dos Santos³⁷, Forattini et al.³⁸ e Mondet³⁹, os quais encontraram a referida espécie mais abundantemente ao nível do solo. Em contrapartida, neste trabalho, os espécimes não apresentaram preferência à nenhuma das alturas.

A clusterização dos dados mostrou que mesmo meses distantes entre si, e com condições climáticas diferentes foram agrupados. Isso condiz com o fato de não ter sido observada diferença entre os dados obtidos e as condições climáticas analisadas (temperatura, pluviosidade e umidade). Portanto, com base nos resultados, fica evidenciado que o que determina a exploração dos diferentes estratos amostrados pelas fêmeas é a disponibilidade de recursos – criadouros e alimento. A disponibilidade de criadouros é considerada, por diversos autores, o principal fator para a dispersão de fêmeas de culicídeos.

Segundo Alencar et al.⁴⁰ *Hg. leucocelaenus* é uma espécie oportunista e eclética quanto o hábito alimentar, fatores importantes a serem considerados na mobilidade entre copa e solo na procura de hospedeiro. Apesar de até o momento a região estudada não ter evidências ativas para a transmissão do vírus causador da FAS, consideramos que a forte presença de espécimes dos principais vetores do vírus no Brasil, faz com que seja dedicada especial atenção a vigilância para o surgimento de doenças febris entre os moradores das comunidades das áreas do entorno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCES

1. Bentley MD, Day JF. Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Annu Rev Entomol.* 1989; 34:401-21.
2. Onyabe DY, Roitberg BD. The effect of conspecifics on oviposition site selection and oviposition behaviour in *Aedes togoi* (Theobald)(Diptera: Culicidae). *Can Entomol.* 1997; 129:1173-6.
3. Spencer M, Blaustein L, Cohen JE. Oviposition habitat selection by mosquitoes (*Culiseta longiareolata*) and consequences for population size. *Ecology.* 2002; 83:669-79.

4. Resetarits WJ. Oviposition site choice and life history evolution. *Am Zool.* 1996; 35:201-15.
5. Harrington LC, Ponlawat A, Edman JD, Scott TW, Vermeulen F. Influence of container size, location, and time of day on oviposition patterns of the dengue vector, *Aedes aegypti*, in Thailand. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008; 8:415-23.
6. Vinogradova EB. Diapause in aquatic insects, with emphasis on mosquitoes. Diapause in aquatic invertebrates, theory and human use. New York: Springer-Verlag; 2007.
7. Arnell JJ. Mosquito studies (Diptera, Culicidae). XXXII. A revision of the genus *Haemagogus*. *Contrib Am Entomol Inst.* 1973; 10:1-174.
8. Forattini OP, Gomes AC, Natal Id, Kakitani I, Marucci D. Preferências alimentares e domiciliação de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil, com especial referência a *Aedes scapularis* e a *Culex (Melanoconion)*. *Rev Saúde Pública.* 1988; 23:9-19.
9. Marcondes CB, Alencar J. Revisão de mosquitos *Haemagogus* Williston (Diptera: Culicidae) do Brasil. *Rev Biomed.* 2010; 21:221-38.
10. Camargo-Neves VL, Poletto DW, Rodas LA, Pachioli L, Cardoso RP, Scandar SA, et al. Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in Sao Paulo State, Brazil. *Cad Saúde Publ.* 2005; 21:1278-86.
11. Vasconcelos PFC, Sperb AF, Monteiro HAO, Torres MAN, Souza MRS, Vasconcelos HB, et al. Isolations of yellow fever virus from *Haemagogus leucocelaenus* in Rio Grande do Sul State, Brazil, in the Southern Cone. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2003; 97(1), 60-62.

12. Cardoso JC, Almeida MAB, Santos E, Fonseca DF, Sallum MAM, Noll CA, et al. Yellow fever virus in *Haemagogus leucocelaenus* and *Aedes serratus* mosquitoes, Southern Brazil, 2008. *Emerg Inf Dis.* 2010; 16:1918-24.
13. Figueiredo MLG, Gomes AC, Amarilla AA, Leandro AS, Orrco AS, Araujo RF, et al. Mosquitoes infected with dengue viruses in Brazil. *Virologia*. 2010; 12: 152.
14. Moreno ES, Spinola R, Tengan CH, Brasil RA, Siciliano MM, Coimbra TLM, ... & Petrella S. Yellow fever epizootics in non-human primates, São Paulo state, Brazil, 2008–2009. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2013; 55:45-50.
15. Saad LDC, Barata RB. Yellow fever outbreaks in São Paulo State, Brazil, 2000-2010. *Epidemiol Serv de Saúde.* 2016; 25:531-40.
16. Ribeiro M, Antunes CMF. Febre Amarela: estudo de um surto. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009; 42:523-31.
17. Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Relatório Ambiental do Setor 1 da Colônia Juliano Moreira. Rio de Janeiro; 2010.
18. Alencar J, Morone F, Mello CFD, Gil-Santana HR, Guimarães AE. (2013). Immature mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a eutrophic landfill tank from State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013; 46:769-71.
19. Alencar J, Gleiser RM, Morone F, de Mello CF, dos Santos Silva J, SerraFreire NM, et al. A comparative study of the effect of multiple immersions on *Aedini* (Diptera: Culicidae) mosquito eggs with emphasis on sylvan vectors of yellow fever virus. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014; 109:114-7.
20. Alencar J, de Mello CF, Gil-Santana HR, Guimarães AÉ, de Almeida SAS, Gleiser RM. Vertical oviposition activity of mosquitoes in the Atlantic Forest of Brazil with emphasis

- on the sylvan vector, *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). *J Vector Ecol.* 2016; 41:18-26.
21. Silver JB. Mosquito ecology: field sampling methods. 3rd ed. New York: Springer; 2008.
 22. Fay RW, Perry AS. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosq. News.* 1965; 25:276-81.
 23. Fay RW, Eliason DA. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosq. News.* 1966; 26:531-5.
 24. Forattini, OP. *Culicidologia Médica.* vol 2. São Paulo: EDUSP; 2002.
 25. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing [online]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2009. Available from: <http://www.Rproject.org>
 26. Souza RP, Petrella S, Coimbra TLM, Maeda AY, Rocco IM, Bisordi I, et al. Isolation of yellow fever virus (YFV) from naturally infected *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* (Diptera, Cukicudae) in São Paulo State, Brazil, 2009. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2011; 53:133-9.
 27. Guimarães AÉ, Arlé M. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, estado do Rio de Janeiro, Brasil: I-distribuição estacional. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 1984; 79:309-23.
 28. Clements AN. The physiology of mosquitoes. International series of monographs on pure and applied biology. Zoology division. vol 17. Oxford: Pergamon Press; 1963.
 29. Gillett JD. Variation in the hatching response of *Aedes* eggs (Diptera: Culicidae). *Bull Entomol Res.* 1955; 46:241-54.
 30. Andreadis TG. Observations on the installment egg hatching in the brown salt marsh mosquito, *Aedes cantator*. *J Am Mosq Control Assoc.* 1990; 6:727-9.

31. Costa ZGA, Romano APM, Elkhoury ANM, Flannery B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude*. 2010; 2:11-26.
32. Hervé JP, Dégallier N, Travassos da Rosa APA, Pinheiro FP, Sá GC. Aspectos ecológicos. Instituto Evandro Chagas. *Evandro Chagas: 50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical*. Belém, Brasil: Fundação Serviço Especial de Saúde Pública; 1986.
33. Davis ED. Larval habitats of some Brazilian mosquitoes. *Rev Entomol*. 1944; 15:221-35.
34. Trapido H, Galindo P, Carpenter SJ. A survey of forest mosquitoes in relation to sylvan yellow fever in the Panama isthmian area. *Am J Trop Med Hyg*. 1955; 4:525-42.
35. Galindo P, Carpenter SJ, Trapido H. A contribution to the ecology and biology of tree hole breeding mosquitoes of Panama. *Ann Entomol Soc Am*. 1955; 48:158-64.
36. Fé NF, Barbosa MDGV, Fé FAA, Guerra MDF, Alecrim WD. Fauna de Culicidae em municípios da zona rural do Estado do Amazonas, com incidência de febre amarela. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003; 36:343-8.
37. Causey OR, Santos GV. Diurnal mosquitoes in an area of small residual forests in Brazil. *Ann Entomol Soc Am*. 1949; 42:471-82.
38. Forattini, O. P., Lopes, O. D. S., & Rabello, E. X. Investigações sobre o comportamento de formas adultas de mosquitos silvestres no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública*. 1968 2:111-73.
39. Mondet B, Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa APA, Travassos da Rosa ES, Rodrigues SG, Travassos da Rosa JFS, et al. Isolation of yellow fever virus from nulliparous *Haemagogus (Haemagogus) janthinomys* in eastern Amazonia. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2002; 2:47-50.

40. Alencar J, Barreto-Pacheco J, Serra-Freire N, Guimarães A, & Bosch I. Comparative morphometric study of populations of *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shannon, 1924) (Diptera: Culicidae), sylvatic vector of yellow fever virus in Brazil. *Rev de Ciências da Vida*. 2008; 28(2), 23-28.

CONCLUSÃO GERAL

- ✓ Nos testes de eclodibilidade, a primeira imersão a qual os ovos de *Hg. leucocelaenus* foram submetidos apresentou maior taxa de eclosão.
- ✓ Mesmo havendo uma diminuição abrupta da taxa de eclosão ao longo das imersões, ainda foi possível observar ovos eclodindo até a 11^a imersão.
- ✓ Os ovos de *Hg. leucocelaenus* apresentaram variação na taxa de viabilidade entre os meses, mesmo numa mesma população.
- ✓ Testes em condições de laboratório, nos permitiu observar que o ciclo de vida (L1 à adulto) de *Hg. leucocelaenus* é de 10.44 ± 0.70 dias.
- ✓ Com a coleta anual de ovos, foi possível perceber que os meses que obtiveram o maior número de ovos foram outubro (16,87%) e maio (15,13%) e os meses com menor número de ovos foram dezembro (1,36%) e julho (1,56%).
- ✓ Foram coletados ovos de *Hg. leucocelaenus* nos diferentes estratos arbóreos, sugerindo que a fêmea desta espécie seja oportunista e se alimente em diferentes espécies, o que pode proporcionar o intercâmbio de patógenos.