

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

DISSERTAÇÃO

**“INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DA ÁGUA NA
PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO POR MICROSPORÍDEOS
EM POPULAÇÃO NATURAL DE LARVAS DE *Simulium*
(*Chirostilbia*) *pertinax* Kollar, 1832 (DIPTERA: SIMULIIDAE),
NO MUNICÍPIO DE MAGÉ, ESTADO DO RIO DE JANEIRO,
BRASIL.”**

ÉRIKA SILVA DO NASCIMENTO

2005



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

**“INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DA ÁGUA NA PREVALÊNCIA DE
INFECÇÃO POR MICROSPORÍDEOS EM POPULAÇÃO NATURAL DE
LARVAS DE *Simulium (Chirostilbia) pertinax* Kollar, 1832 (DIPTERA:
SIMULIIDAE), NO MUNICÍPIO DE MAGÉ, ESTADO DO RIO DE
JANEIRO, BRASIL.”**

ÉRIKA SILVA DO NASCIMENTO

Sob a Orientação do Professor

Gonzalo Efraim Moya Borja

e Co-orientação do Professor

Carlos José Pereira da Cunha de Araújo Coutinho

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção
do grau de **Mestre** em
Biologia Animal.

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2005

595.771098153

N244i

T

Nascimento, Érika Silva do, 1980-

Influência da temperatura da água na prevalência de infecção por microsporídeos em população natural de larvas de Simulium (Chirostilbia) pertinax Kollar, 1832 (Diptera: Simuliidae), no município de Magé, estado do Rio de Janeiro, Brasil / Érika Silva do Nascimento. - 2005.

82 f.

Orientador: Gonzalo Efraim Moya Borja.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia.

Bibliografia: f. 64-82.

1. Simulídeo - Magé (RJ) - Teses. 2. Simulídeo - Efeito da temperatura da água - Magé (RJ) - Teses. 3. Simulídeo - Controle biológico - Magé (RJ) - Teses. 4. Simulídeo - Parasito - Magé (RJ) - Teses. 5. Microsporidia - Magé (RJ) - Teses. I. Moya Borja, Gonzalo Efraim, 1935- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia. III. Título.

Bibliotecário: _____

Data: ___/___/___

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

ÉRIKA SILVA DO NASCIMENTO

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28 / 02 / 05

Dr. Gonzalo Efraim Moya Borja UFRRJ
(Orientador)

Dr. Rubens Pinto de Mello

Dr^a. Clara de Fátima Gomes Cavados

“Tendes a necessidade imperiosa de conhecer-vos a vós próprios,
de adquirir consciência dos limites
e da consistência verdadeira do próprio saber:
a vossa sabedoria não está no saber mais coisas do que os outros,
mas no saber que não sabeis,
enquanto que os outros crêem saber o que não sabem.”

Sócrates (469 – 399 a.c.)

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Gonzalo Efrain Moya Borja**, do Laboratório de Entomologia, Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por ter adotado a causa de me orientar em um grupo no qual não era especialista, e desta forma na qualidade de orientador, ter tornado possível este trabalho em uma área que carece de estudos parasitológicos, através de suas valiosas contribuições.

Ao Prof. Dr. **Carlos José Pereira da Cunha de Araújo Coutinho**, do Laboratório de Referência Nacional em Simulídeos e Oncocercose, Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, que na qualidade de co-orientador deste trabalho prestou valiosas contribuições acerca da biologia do grupo em estudo, dedicando seu tempo e conhecimento desde a iniciação científica que me subsidiou nesta carreira, apoiando indispensavelmente à realização deste projeto.

Ao Dr. **James Jimmy Becnel** e sua equipe, do Center for Medical, Agricultural and Veterinary Entomology – U.S. Department of Agriculture Agricultural Research Service, que estiveram sempre a disposição para a confirmação diagnóstica das lâminas e ainda, elucidando as dúvidas que surgiram em relação à biologia do patógeno em questão, ao longo destes dois anos.

Ao Prof. Dr. **Antônio José Mayhé Nunes**, do Laboratório de Mirmecologia, Departamento de Biologia Animal – área de Zoologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, que gentilmente forneceu seu tempo e espaço enquanto professor, sendo muito atencioso e crítico, me apoiando e orientando na disciplina Estágio de Docência na Graduação, o que foi fundamental para a minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. ***Nicolau Maués da Serra Freire***, do Laboratório de Ixodídeos do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, que colaborou indispensavelmente, orientando às análises estatísticas dos dados obtidos, com aplicabilidade neste trabalho.

A Prof^a. Dr^a ***Marilza Maia Herzog***, do Laboratório de Referência Nacional em Simulídeos e Oncocercose do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, pelas possibilidades oferecidas, apoio logístico e também pelas inestimadas contribuições no decorrer destes anos que tenho desenvolvido estudos acerca da biologia do grupo em questão.

Ao ***Ronaldo Figueiró Portella Pereira***, do Laboratório de Referência Nacional em Simulídeos e Oncocercose do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, pelo auxílio nas coletas, pela amizade e apoio que contribuíram a superar os momentos de adversidades nestes 24 meses e também pelos muitos momentos de alegria.

À ***Marcela Cristina da Silva Costa***, do Laboratório de Referência Nacional em Simulídeos e Oncocercose do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, pelo auxílio técnico nas etapas de desenvolvimento deste projeto.

À ***Tatiana Ribeiro***, da Universidade do Iguazu, pelo auxílio nas coletas.

À ***equipe do Laboratório de Referência Nacional em Simulídeos e Oncocercose*** do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz, pelo apoio profissional e pessoal que tornaram possível, agradável e, sobretudo recompensador a concretização deste trabalho.

À ***Agra Mendonça Cardoso***, secretária do Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela

amizade e assistência eficiente no que a compete, esclarecendo e facilitando o cumprimento das normas da instituição.

Aos meus pais, *Orlenilda Silva do Nascimento e Edison Cardoso do Nascimento*, pelo incentivo, atenção, carinho e apoio que sempre me reservaram, de todas as formas possíveis, em qualquer momento da minha vida.

Ao *Rodrigo P. de Carvalho*, pelo incentivo e amor, companheirismo, paciência e atenção sempre que necessário do decorrer desta etapa.

Ao *Pedro Paulo Oliveira de Carvalho e Marly Pinto de Carvalho*, pela amizade, credibilidade e apoio que me confiaram.

A *todos os amigos* que tive a felicidade de conhecer no Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelos momentos de alegria e descontração, e também por toda a contribuição mútua que compartilhamos ao longo do tempo.

Ao *Programa de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES), pelo financiamento parcial do trabalho.

A *todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal da UFRRJ*, pelos ensinamentos e compreensão nestes meses de convivência.

A todas as pessoas que se dedicam, apóiam ou simplesmente admiram a pesquisa científica e acreditam ser ela uma fundamental ferramenta para o progresso da humanidade, nos mais diferentes aspectos.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste estudo.

SUMÁRIO

	Página
1 – Introdução.....	01
2 – Revisão de Literatura.....	05
3 – Materiais e Métodos.....	11
2.1 – Área de estudo.....	11
2.2 – Metodologia da amostragem.....	19
2.3 – Análise estatística dos dados.....	26
4 – Resultados.....	28
4.1 – Dados abióticos.....	28
4.2 – Dados bióticos.....	33
4.2.1 – Gêneros de microsporídeos encontrados em larvas de <i>Simulium (Chirostilbia) pertinax</i>	33
4.2.2 – Distribuição sazonal dos microsporídeos detectados em larvas de <i>Simulium (Chirostilbia) pertinax</i>	42
4.2.3 – Teste de similaridade para ocorrência de infecção.....	50
4.2.4 – Associação Real Interspecífica pelo índice de afinidade de Fager.....	50
4.2.5 – Correlação entre a temperatura da água do criadouro natural e as infecções por microsporídeos.....	50
5 – Discussão.....	54
6 – Conclusões.....	62
7 – Referências Bibliográficas.....	64

ÍNDICE DAS FIGURAS

	Página
Figura 1 - Mapa de localização do município de Magé no estado do Rio de Janeiro.....	13
Figura 2 - Mapa de localização do rio Santo Aleixo em Santo Aleixo, município de Magé, do estado do Rio de Janeiro.....	14
Figura 3 – Vista do rio Santo Aleixo, em Santo Aleixo no município de magé do estado do Rio de Janeiro.....	15
Figura 4 – Vista do rio Santo Aleixo em Santo Aleixo, no município de Magé, estado do Rio de Janeiro (fotografia tirada do mesmo ângulo da figura 3).....	16
Figura 5 - Aparato que permite a sobrevivência das larvas de simulídeos, transportadas do rio Santo Aleixo – Magé para o laboratório.....	21
Figura 6 - Substrato rochoso do rio Santo Aleixo em Santo Aleixo no município de Magé, com larvas de simulídeos fixadas.....	22
Figura 7 - Criadouro artificial utilizado para manutenção da sobrevivência das larvas de simulídeos no laboratório.....	23
Figura 8 - Larva de <i>Simulium (Ch.) pertinax</i> não infectada por microsporídeos em vista dorsal (1), ventral (2) e lateral (3), coletada no rio Santo Aleixo – Magé – Rio de Janeiro.....	24

Figura 9 - Larva de <i>Simulium (Ch.) pertinax</i> , apresentando sintomatologia de infecção por microsporídeo, coletada no rio Santo Aleixo – Magé – Rio de Janeiro.....	25
Figura 10 - Média mensal da variação das temperaturas da água registrada no rio Santo Aleixo - município de Magé, no período de maio de 2001 a maio de 2002 e de maio de 2003 a maio de 2004.....	29
Figura 11 - Média mensal da variação da temperatura máxima ambiente registrada para a região estudada, e para o período de maio de 2001 a maio de 2002 e de maio de 2003 a maio de 2004.....	30
Figura 12 - Média mensal da variação da temperatura mínima ambiente registrada para a região estudada, e para o período de maio de 2001 a maio de 2002 e de maio de 2003 a maio de 2004.....	31
Figura 13 - Variação mensal da precipitação pluviométrica acumulada, registrada no rio Santo Aleixo - município de Magé, no período de maio de 2001 a maio de 2002 e de maio de 2003 a maio de 2004.....	32
Figura 14 - Esporos de <i>Amblyospora</i> sp. identificados em larva de <i>Simulium pertinax</i> ..	34
Figura 15 - Esporos de <i>Amblyospora</i> sp. encontrados em larva de <i>Simulium pertinax</i> com as dimensões semelhante as dimensões descritas de <i>Amblyospora bracteata</i>	35
Figura 16 - Esporos de <i>Amblyospora</i> sp. encontrados em larva de <i>Simulium pertinax</i> com as dimensões semelhantes as dimensões descritas de <i>Amblyospora varians</i>	36
Figura 17 - Meiosporos uninucleados de <i>Amblyospora</i> sp. encontrados no tecido adiposo de larvas de <i>Simulium (Ch.) pertinax</i>	37

Figura 18 - Esporos binucleados de <i>Amblyospora</i> sp. encontrados em larva de <i>Simulium</i> (<i>Ch.</i>) <i>pertinax</i>	38
Figura 19 - Esporos uninucleados de <i>Polydispyrenia</i> sp. encontrados no tecido adiposo de larvas de <i>Simulium</i> (<i>Ch.</i>) <i>pertinax</i>	39
Figura 20 - Esporo de <i>Polydispyrenia</i> sp. em esporogonia diplocariótica do plasmódio, encontrado em larva de <i>Simulium</i> (<i>Ch.</i>) <i>pertinax</i>	40
Figura 21 - <i>Polydispyrenia</i> sp. com esporoblastos uninucleados (Y) e um plasmódio em esporogonia (X).....	41
Figura 22 - Sazonalidade de <i>Amblyospora</i> sp. encontrado em larvas de <i>Simulium</i> (<i>Ch.</i>) <i>pertinax</i> no período 2001-2002, no rio Santo Aleixo – Magé - RJ.....	44
Figura 23 - Sazonalidade de <i>Polydispyrenia</i> sp. encontrado em larvas de <i>Simulium</i> (<i>Ch.</i>) <i>pertinax</i> no período 2001-2002, no rio Santo Aleixo – Magé - RJ.....	45
Figura 24 - Sazonalidade de <i>Amblyospora</i> sp. encontrado em larvas de <i>Simulium</i> (<i>Ch.</i>) <i>pertinax</i> no período 2003-2004, no rio Santo Aleixo – Magé - RJ.....	48
Figura 25 - Sazonalidade de <i>Polydispyrenia</i> sp. encontrado em larvas de <i>Simulium</i> (<i>Ch.</i>) <i>pertinax</i> no período 2003-2004, no rio Santo Aleixo – Magé - RJ.....	49

ÍNDICE DAS TABELAS

- Tabela 1** - Média mensal da temperatura máxima dos últimos 10 anos (1995 a 2004), registrada no município de Magé..... **17**
- Tabela 2** - Média mensal da temperatura mínima dos últimos 10 anos (1995 a 2004), registrada no município de Magé..... **17**
- Tabela 3** - Total mensal de precipitação pluviométrica dos últimos 10 anos (1995 a 2004), registrado no município de Magé..... **18**
- Tabela 4** - Frequência relativa mensal e anual de larvas de *Simulium (Ch.) pertinax* infectadas por microsporídeos em relação ao total coletado, e a distribuição em valores absolutos dos gêneros identificados no rio Santo Aleixo, Magé, RJ, no período de maio de 2001 a maio de 2002..... **43**
- Tabela 5** - Frequência relativa mensal e anual de larvas de *Simulium (Ch.) pertinax* infectadas por microsporídeos em relação ao total coletado, e a distribuição em valores absolutos dos gêneros identificados no rio Santo Aleixo, Magé, RJ, no período de maio de 2003 a maio de 2004..... **47**
- Tabela 6** - Dados da temperatura do criadouro natural de larvas de *Simulium (Ch.) pertinax* distribuídos por classes, e a relação destes com o número e o percentual de larvas infectadas pelos gêneros de microsporídeos encontrados nos dois períodos de desenvolvimento do trabalho (maio de 2001-2002 e maio 2003-2004)..... **53**

RESUMO

NASCIMENTO, Érika Silva do. **Influência da Temperatura da água na Prevalência de Infecção por Microsporídeos em População Natural de Larvas de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* Kollar, 1832 (Diptera: Simuliidae), no Município de Magé, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.** Seropédica: UFRRJ, 2005. 82 p. (Dissertação, Mestrado em Biologia Animal).

Este trabalho foi realizado no rio Santo Aleixo, município de Magé do estado do Rio de Janeiro, com coletas semanais de larvas de simulídeos no período de dois períodos não consecutivos (2001 – 2002 e 2003 – 2004), objetivando avaliar a influência da temperatura da água do criadouro natural de larvas de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* (Diptera: Simuliidae), na prevalência de infecção por *Amblyospora* sp. (Microsporidia: Amblyosporidae) e *Polydispyrenia* sp. (Microsporidia: Duboscqiidae), na população natural destas larvas.

Os resultados obtidos demonstram que as infecções nas larvas de *S.pertinax* por *Amblyospora* sp. tem maior prevalência, quando comparadas com as infecções por *Polydispyrenia* sp., e com isso verificou-se que as infecções não seguem o mesmo padrão, apresentando enzootias diferentes, onde o gênero *Amblyospora* apresentou ocorrência em quase todos os meses em que foi realizado o estudo, com exceção apenas do mês de dezembro de 2001, promovendo alguns picos epizooticos neste período. Então, as condições disponíveis para a colonização de larvas de *S. pertinax* neste criadouro permitem observar que existe um maior favorecimento ao parasitismo pelo gênero *Amblyospora*.

Segundo a tabela de Rugg, os dados observados entre a influência da temperatura da água do criadouro natural e as infecções por *Amblyospora* sp., evidenciam que no primeiro ano de estudo houve uma forte correlação negativa e significativa ($r = -0,65$), enquanto que no segundo ano esta correlação negativa foi considerada significativa e apreciável ($r = -0,43$). Ao contrário deste, *Polydispyrenia* sp. apresentou correlação desprezível ($r = -0,10$) no primeiro período e ($r = 0,10$) no segundo período, ou seja, não significativa em ambos os períodos de desenvolvimento do trabalho. Porém, quando o tamanho da amostra foi expurgado, observou-se que a correlação foi significativa somente entre a temperatura da água e o gênero *Amblyospora* no primeiro período estudado ($r = -0,64$). Esta constatação é importante pelo fato de não existirem relatos na literatura deste tipo de estudo em população de *Simulium pertinax*.

Infecções por *Amblyospora* sp. e *Polydispyrenia* sp. tem sido relatadas em diversas espécies de simulídeos na América do Sul, porém pouco se sabe sobre seus aspectos epizooticos e enzoóticos, e os fatores-chave que atuam e regulam as microsporidioses nas populações hospedeiras nestes sistemas.

Palavras chave: Simuliidae, microsporídeo, controle biológico.

ABSTRACT

NASCIMENTO, Érika Silva do. **The influence of water temperature on prevalence of microsporidia infections, in a natural larvae population of *Simulium (Chirostilbia) pertinax* Kollar, 1832 (Diptera: Simuliidae), in the Magé municipality, Rio de Janeiro state, Brazil.** Seropédica: UFRRJ, 2005. 82 p. (Dissertação, Mestrado em Biologia Animal).

This study was developed in the Santo Aleixo river, located at the Magé municipality, where blackfly larvae were weekly sampled within a two-year period (2001-2002 & 2003-2004), in order to evaluate the correlation between the water temperature of the breeding site and the prevalence of *Amblyospora* sp. (Microsporidia: Amblyosporidae) and *Polydispyrenia* sp. (Microsporidia: Duboscqiidae) in the population of *Simulium (Chirostilbia) pertinax* (Diptera: Simuliidae).

The achieved results show that *Amblyospora* sp. infection in *S. pertinax* larvae is more prevalent when compared to *Polydispyrenia* sp. infections, and with that it was verified that the infections do not follow the same pattern presenting different enzootics where the genus *Amblyospora* occurred in almost every month within the duration of this study, with exception to december 2001, promoting some epizootics highs during this periods. Therefore, in the conditions in which *S. pertinax* larvae live, there is more possibility to *Amblyospora* to parasite.

According to Rugg's table the observed data about the influence of water temperature from the breeding site and infections by *Amblyospora* sp., show that in the first year of the study, there was a strong negative correlation ($r = -0,65$), while in the second year, this negative correlation was significant ($r = -0,43$). Unlikely, on the other hand, *Polydispyrenia* sp. showed insignificant correlations in both sampling periods ($r = -0,10$) in the first period and ($r = 0,10$) in the second period. However, when the sample size was expurged, a significant correlation was observed only for genus *Amblyospora* and in the first period of the study ($r = -0,64$). This observation is important because the literature do not mention anything about this kind of population study of the *Simulium pertinax*.

Amblyospora sp. and *Polydispyrenia* sp. infections have been reported in diverse South Amercian blackflies species, even though very little is known about their epizootic e enzootic aspects, as well as the key-factors that regulate microsporidiasis in host populations in these systems.

Key Words: Simuliidae, microsporidia, biological control.

1. INTRODUÇÃO

Segundo Crosskey (2002), existem no mundo 1.787 espécies reconhecidas na família Simuliidae (Diptera), sendo que 83 destas espécies pertencem ao gênero *Simulium* Latreille, 1802 e 4 pertencem ao gênero *Lutzsimulium* d' Andreta & d' Andreta, 1947, totalizando 87 espécies descritas no Brasil (Crosskey & Howard, 1997; Crosskey, 1999, 2002). Estima-se que apenas 10% destas espécies que ocorrem no Brasil acometem o homem e animais domésticos, e cerca de 40 são de interesse médico ou veterinário, como vetoras de doenças ou como inseto-incômodo ao homem (Crosskey, 1990).

A importância desta família para a saúde humana está baseada no fato das fêmeas de certas espécies do gênero *Simulium* Latreille, 1802 serem vetores de *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) Railliet & Heney, 1910 (Nematoda: Onchocercidae), um filarídeo que causa a oncocercose humana, encontrado na região Neotropical das Américas e na África Central e Oeste (Shelley, 2002). No Brasil, a Oncocercose foi evidenciada no extremo norte de Roraima por Moraes & Chaves (1974); no norte do estado de Goiás, onde foi descrito o primeiro caso autóctone fora da região Amazônica (Gerais & Ribeiro, 1986), e mais recentemente foi descrita no norte do Amazonas (Shelley *et al.* 1997). Mas, apesar de ser classificada como uma doença emergente, a oncocercose não se encontra dentro das prioridades das autoridades sanitárias brasileiras (Araújo-Coutinho, 1998).

A oncocercose humana é uma doença rural provocada pelo nematódeo *O. volvulus*, cujas larvas produzem despigmentação, perda de elasticidade e coceira na pele, podendo comprometer a capacidade visual ou até mesmo causar perda de visão em casos mais graves, afetando em torno de 17 milhões de pessoas no mundo, principalmente na África (Shelley *et al.* 1997).

Nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, onde não ocorre transmissão da Oncocercose, a importância dos simulídeos está relacionada ao incômodo, gerada por altas taxas de picada das espécies hematófagas, em região que apresente elevados índices populacionais destas espécies. Dentre as citadas, tem-se *Simulium (Chirostilbia) pertinax* Kollar, 1832, com ocorrência na Argentina, Brasil e Paraguai (Coscarón, 1981, 1987, 1991).

Araújo-Coutinho *et al.* (1988), em um levantamento realizado nas espécies do gênero *Simulium* no litoral norte do estado de São Paulo, área compreendida nos municípios de Caraguatatuba, Ilhabela, São Sebastião e Ubatuba, constataram que *Simulium (Chirostilbia) pertinax* teve grande representatividade, apresentando maior amplitude, tanto em distribuição quanto em densidade. Este relato permitiu concluir que esta espécie gera impacto sócio-econômico nestes municípios, visto que apresentam como fonte de renda principal a indústria turística. Tal fato foi verificado devido à expansão das áreas de infestação de simulídeos, uma consequência do crescimento urbano desordenado e desmatamento indiscriminado que gerou na década de 80 uma redução no afluxo turístico nesta área (Araújo-Coutinho, 1993). E em relação às outras espécies, esta é, portanto, a que afeta em maior proporção às populações humanas e as criações de animais na região neotropical (Coscarón, 1989; Strieder & Corseuil, 1992).

Uma vez considerada praga em diversas regiões do Brasil, esta espécie tem recebido grandes esforços para o seu controle nas últimas décadas (Andrade, 1989 a, 1989 b; Araújo-Coutinho, 1995; Mardini *et al.* 2000; Regis *et al.* 2000; Campos & Andrade, 2001). Devido à desvantagem do caráter disperso dos adultos de simulídeos no ambiente e pela ocorrência de concentração abundante das larvas nos cursos d' água, o controle com larvicidas tem sido o principal método utilizado.

No Brasil, a primeira iniciativa de controle deu-se na década de 50, no estado de São Paulo, com aplicações de inseticidas químicos organoclorados (DDT e BHC) de forma aleatória nos rios, com a finalidade de diminuir a densidade larvária (SUCEN, 1977). A partir de 1971, o controle deste inseto, através do Programa de Controle de Simulídeos, passou a utilizar um inseticida químico organofosforado (Themephos), de menor impacto no ambiente (Araújo-Coutinho & Lacey, 1990).

A resistência aos produtos químicos, e especialmente, ao larvicida organofosforado Temephos em populações de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* e outros simulídeos do Sul e Sudeste do Brasil (Ruas-Neto, 1984; Andrade & Campos, 1995), evidenciada pela diminuição da suscetibilidade à concentração operacional, estimulou a busca de método alternativo ou complementar de controle, o controle biológico (Ruas-Neto, 1984; Ruas-Neto *et al.* 1985). Este foi introduzido no estado de São Paulo, no final da década de 80, utilizando *Bacillus thuringiensis* sorovar *israelensis* - Bti (Araújo-Coutinho, 1995), agente

de alta especificidade e menor ação sobre organismos não-alvo existentes no ambiente lótico (Colbo & Undeen, 1980; Merrit *et al.* 1989). Desde então, as formulações de Bti foram melhoradas para aperfeiçoar a potência, estabilidade, facilidade de aplicação de campo e sua atividade residual (Couch, 2000).

Em se tratando de controle biológico, sabe-se que patógenos com uma transmissão eficiente e virulência moderada podem ser agentes mais efetivos (Anderson, 1982 *apud* Maddox, 1987). Neste contexto, os microsporídeos (*Microspora*) apresentam, entre os protozoários patogênicos a invertebrados, o melhor potencial como agentes de controle em longo prazo (Sweeney & Becnel, 1991). São formadores de esporos com desenvolvimento exclusivamente intracelular e ciclo de vida extremamente diverso; estão entre os entomopatógenos mais comuns associados a *Diptera* na natureza (Garcia & Micieli, 1999).

Segundo Sprague *et al.* (1992), na metade do século XX, o conhecimento deste grande grupo de organismos era completamente superficial e muito fragmentado, apontando para a necessidade de estudos com aplicação de técnicas modernas de classificação. A classificação dos Microsporídeos foi proposta primeiramente por Kudo (1924) e posteriormente por Sprague (1977). Já a classificação com utilização de técnicas moleculares foi revisada, com detalhes, por Issi (1986), Larsson (1986) e Canning (1990).

Atualmente, a família Simuliidae tem registro de mais de 60 espécies parasitadas por microsporídeos no mundo, sendo conhecidas cerca de 30 espécies distribuídas em sete famílias. Os microsporídeos ocorrem mais frequentemente nas formas imaturas de simulídeos (Weiser & Prasertphon, 1982; Garcia *et al.* 1989; Crosskey, 1990) e com menor frequência nos adultos (Undeen, 1981). Nas populações naturais de larvas, a prevalência de infecção por estes protozoários é menor que 1% (Crosskey, 1990), podendo atingir uma taxa de prevalência de até 2% (Araújo-Coutinho *et al.* 2004), embora Adler *et al.* (2000), já tenham relatado uma razão de prevalência de 57%, Weiser & Undeen (1981) encontraram prevalência de 30%, e Maddox (1987) relatou taxa de prevalência de 50% de infecção.

Deve-se destacar que é precário o conhecimento sobre os mecanismos de transmissão e persistência de microsporídeos parasitos de insetos. A maioria dos trabalhos está direcionada para os aspectos abióticos dos sítios de criação do hospedeiro.

Becnel e Andreadis (1999), promoveram uma revisão sobre a relação entre a temperatura da água e os esporos de microsporídeos, a qual foi fundamentada em estudos

realizados por Kramer (1970, 1976), Maddox (1973, 1977) e Brooks (1980, 1988). A temperatura da água é crucial para o desenvolvimento dos esporos, e existem relatos mencionando que as faixas extremas diminuem a sua capacidade de sobrevivência e viabilidade, estes limites de temperatura estão abaixo dos 6 °C, que disponibiliza de dois a três meses de sobrevivência, e acima dos 35 °C, que reduz a viabilidade do esporo. Com base nesta revisão, pode-se afirmar que os esporos de microsporídeos encontrados no ambiente, na maioria das espécies, não persistem por mais de um ano no ambiente natural.

De acordo com Kramer (1976), o principal fator limitante para a sobrevivência dos esporos de microsporídeos pode ser ocasionado por altas temperaturas. Em climas tropicais ou subtropicais, a longevidade extra-corpórea dos esporos é de curta duração e conseqüentemente limitada, porque este entomopatógeno está mais adaptado para persistir no hospedeiro do que no ambiente, visto que é intracelular obrigatório (Nasci *et al.* 1992).

Dentre os poucos estudos encontrados na literatura que enfocam a relação existente entre os microsporídeos e dípteros, sob a influência da temperatura, têm-se relatos apenas de trabalhos com a família Culicidae, que consistem de experimentos realizados em laboratório e com temperatura controlada, como os desenvolvidos por Undeen *et al.* (1993) e Becnel e Undeen (1992). Por esse motivo, se torna imprescindível à avaliação da influência que a temperatura exerce em Simuliidae (Diptera) no ambiente, e principalmente no Brasil, onde os estudos que envolvem as relações parasito-hospedeiro estão voltados unicamente para a questão da sazonalidade e da determinação de ocorrência de entomopatógenos em populações larvais (Araújo-Coutinho *et al.* 2004; Ginarte *et al.* 2003).

A importância deste estudo reside na aquisição de informações que subsidiarão trabalhos referentes à biologia e ecologia dos microsporídeos encontrados no Brasil, e estes auxiliarão no estabelecimento de parâmetros determinantes da relação parasito-hospedeiro, e da ocorrência dos eventos enzoóticos e epizoóticos, possibilitando assim, a utilização deste entomopatógeno em programa de manejo integrado de simulídeos.

Este estudo teve por objetivo avaliar a influência da temperatura da água do criadouro natural de larvas de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* (Diptera: Simuliidae), na prevalência de infecção pelos gêneros de microsporídeos *Amblyospora* (Microsporidia: Amblyosporidae) e *Polydispyrenia* (Microsporidia: Duboscqiidae).

2. REVISÃO DE LITERATURA

Verdat (1822) e Planchon (1844), realizaram uma das primeiras descrições gerais de simulídeos, em trabalhos publicados há mais de 150 anos, e apesar destes apresentarem descrições superficiais do aparelho bucal das larvas, já constavam as suas adaptações à filtração, ainda que a primeira descrição detalhada da morfologia larvar de Simuliidae tenha vindo a ser publicada somente em 1925 por Puri (Colbo & Wotton, 1981).

Simulium (Chirostilbia) pertinax Kollar, 1832 foi a primeira espécie da família Simuliidae descrita no Brasil, com base em exemplares coletados no município do Rio de Janeiro, sendo que esta espécie foi precariamente descrita por Kollar (1832) (*apud* Lutz 1909). A partir dos estudos de Lutz (1909, 1910, 1917 e 1922) e Lutz *et al.* (1918) mais informações foram obtidas sobre as características morfológicas e biológicas de *S. pertinax*. D'Andretta & d'Andretta (1950) descreveram todos os estágios de *S. pertinax*, utilizando basicamente exemplares provenientes do estado de São Paulo. Coscarón (1981) caracterizou o subgênero *Chirostilbia* Enderlein, 1921, designando-a espécie-tipo do subgênero.

S. (Ch.) pertinax é socioeconomicamente relevante, porque as fêmeas apresentam antropofilia acentuada e suas picadas causam prurido intenso e irritação, podendo culminar em reações imunológicas severas. Portanto, afetam as atividades turísticas e agropecuárias, como por exemplo, a fixação do homem no campo. Além da antropofilia, apresentam cibário inerme sugerindo capacidade para vetoração de *Onchocerca volvulus* (Shelley *et al.* 1997).

Os simulídeos são insetos holometábolos, cujas larvas são encontradas em ambientes lóticos de alta drenagem (Cummins, 1973), associados ao substrato rochoso (normalmente ao epibentos) e ao folhiço represado.

As larvas de Simuliidae são um dos mais importantes componentes da fauna de macroinvertebrados em ambientes lóticos (Adler & McCreadie, 1997), desempenhando no meio, um expressivo papel como detritívoros (Cummins, 1987), e normalmente apresentam comportamento filtrador não seletivo (Cummins, 1973), alimentando-se de partículas

sestônicas que variam em diâmetro entre 10 e 100 mm (Chance, 1970), apesar de poderem apresentar também comportamento raspador. Algumas espécies apresentam somente comportamento raspador, estando os exemplos mais conhecidos compreendidos nos gêneros *Twinnia* e *Gymnopais* (Colbo & Wotton, 1981).

Embora a família Simuliidae apresente distribuição global, tais organismos ficam, em geral, localmente restritos as áreas nas quais condições lóxicas apropriadas proporcionem habitat para o desenvolvimento de imaturos (Lake & Burger, 1983).

Uma das características mais notáveis da biologia de larvas de simulídeos é seu enorme potencial colonizador, onde várias espécies são capazes de colonizar substratos novos em poucas horas (Kiel *et al.* 1998), podendo alcançar densidades de várias centenas de indivíduos por 100 cm² em poucos dias (Kiel, 1996; Matthaei *et al.* 1996).

No entanto, as densidades de larvas de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* geralmente demonstram grandes flutuações, sendo as altas densidades rapidamente seguidas por decréscimos súbitos em um curto período de tempo (Kiel, 1996; Matthaei *et al.* 1996). Vários fatores estão associados a estas flutuações numéricas nas abundâncias de simulídeos, como a competição, a disponibilidade de alimento, a velocidade da corrente de água (Kiel *et al.* 1998) e a temperatura da água, que dependendo da sua variação, influencia na duração do ciclo de vida favorecendo ou não o amadurecimento dos ovos, que geralmente ocorre em torno de 5 a 6 dias (Viviani & Araújo -Coutinho, 1999 b). Logo, o desenvolvimento de larvas e pupas também é dependente da temperatura e requer de uma semana a seis meses de seu ciclo de vida (Crosskey, 1990).

Deve-se ainda destacar as inundações como um fator proeminente na causa de distúrbios naturais em ambientes lóxicos de encosta, que como tal exercem forte influência em toda a comunidade bentônica de invertebrados, incluindo os simulídeos (Stefan, 1965 *apud* Maier, 2001; Resh *et al.* 1988; Townsed, 1989). Enchentes de grande intensidade podem causar perdas substanciais em invertebrados bentônicos (Waters, 1972; Schweder & Tomski, 1990; Giller *et al.* 1991; Matthaei *et al.* 1996), embora normalmente a fauna se recupere rapidamente (Debrey & Lockwood, 1990; Matthai *et al.* 1997).

Ainda que sejam considerados todos os fatores abióticos capazes de influenciar no desenvolvimento do ciclo de vida de *Simulium pertinax*, é cabível afirmar que esta espécie é a mais comum e amplamente distribuída no litoral norte do estado de São Paulo, região

compreende 893 Km entre a Serra do Mar e o Oceano (Araújo-Coutinho *et al.* 1988). Com isso, tem-se baseado todos os esforços de controle deste inseto tendendo a utilização do controle biológico, tendo em vista que, no final do século passado foi efetivada a substituição do controle químico pelo controle biológico para os simulídeos.

As larvas de *Simulium pertinax* apresentam dentre os entomopatógenos encontrados na natureza, os microsporídeos (Protozoa) com sendo os mais comuns. Segundo Sweeney & Becnel (1991), este patógeno apresenta grande potencial para o controle de dípteros aquáticos, especialmente a médio e longo prazo. A dificuldade reside na produção em larga escala a custos que permitam colocar um produto de forma competitiva no mercado mundial, além das condições de armazenamento do inseticida biológico. Todavia, de acordo com Andreadis (1990), o interesse na utilização dos microsporídeos para o controle de populações de mosquitos existe há décadas. Primeiramente, os esforços eram focalizados apenas em duas espécies monomórficas, *Nosema algerae* e *Vavraia culicis*, simplesmente porque estas eram as únicas espécies de microsporídeos que apresentavam viabilidade para serem transmitidas aos mosquitos através da alimentação. Estas investigações demonstraram ao mesmo tempo, que ambas as espécies tinham um amplo espectro de atuação em hospedeiros e foram capazes de reduzir significativamente a longevidade e fecundidade dos adultos (Canning & Hulls, 1970; Vavra & Undeen, 1970; Reynolds, 1972; Anthony *et al.* 1978), porém, elas não apresentavam um grande potencial para o controle de mosquitos porque não causavam altas taxas de mortalidade nas larvas hospedeiras e não persistiam no ambiente (Hazard, 1975).

Ultimamente, as pesquisas têm girado em torno das formas polimórficas de microsporídeos, especialmente nos membros da família Amblyosporidae. No entanto, esta demonstra ter um potencial maior para utilização em controle biológico do que as espécies monomórficas, como *Nosema algerae* e *Vavraia culicis*, porque infectam uma ampla variedade de mosquitos na natureza, coerentemente causando alta mortalidade no ambiente com capacidade de se manter através da via de transmissão transovariana. De qualquer modo, sua avaliação como um agente de controle biológico, está até então, sendo dificultada por dois fatores parcialmente incompreendidos, que são os seus complexos ciclos de vida e a não habilidade para infectar mosquitos hospedeiros em laboratório (Hazard, 1975; Canning, 1982).

Descobertas recentes a respeito do envolvimento de um hospedeiro intermediário em *Amblyospora* (Andreadis, 1985; Sweeney *et al.* 1985), e a elucidação completa do ciclo de vida de outros gêneros polimórficos que não requerem um hospedeiro intermediário, como por exemplo: *Culicospora* (Becnel *et al.* 1987), *Culicosporella* (Hazard *et al.* 1984), *Edhazardia* (Becnel *et al.* 1989), *Hazardia* (Hazard *et al.* 1985 & Becnel, 1986), tem proporcionado a primeira oportunidade de examinar criticamente estes microsporídeos e avaliar seu futuro potencial para o controle de mosquitos.

Os protozoários são organismos essencialmente unicelulares e eucarióticos. Na classificação clássica, Protozoa compreende um filo do reino animal, porém, na classificação moderna, Protozoa pode ser considerado um sub-reino do reino Protista. A principal linha de evolução deste grupo tem sido a especialização de organelas celulares quanto às funções de alimentação, locomoção, regulação osmótica e reprodução.

Segundo o Comitê de Sistemática e Evolução da Sociedade de Protozoologistas, os microsporídeos pertencem ao Filo Microspora (Sprague, 1977), por apresentarem esporos unicelulares contendo um esporoplasma uninucleado ou binucleado e aparato de extrusão simples ou complexo sempre incluso, o tubo polar e a cápsula polar, ausência de mitocôndria, e apresenta freqüentemente dimorfismo na seqüência de esporulação, são parasitas obrigatoriamente intracelulares.

Os protozoários identificados em Simuliidae pertencem a Classe Microsporea (Delphy, 1936), por apresentarem esporos com aparato de extrusão complexo, originados do complexo de Golgi, incluindo freqüentemente polaroplasto e vacúolo posterior, a cápsula e tubo polar tipicamente filamentosos (que se estende atrás da cápsula e se enrola na parede do esporo). A forma do esporo é variável e depende da largura do aparato de extrusão, a parede do esporo é formada por uma proteína (exosporo), a quitina (endosporo) e uma camada membranosa. O esporo tem duas camadas externas que variam consideravelmente em estrutura, com presença ou ausência de esporocisto.

Em simuliídeos, a Classe Microsporea comporta a Ordem Microsporida Balbiani, 1882 e a Sub-Ordem Pansporoblastina Tuzet, Maurand, Fize, Michel & Fenwick, 1971. Estando estas caracterizadas pela tendência, geralmente, ao desenvolvimento máximo e para a diversificação de especializações das organelas acessórias do esporo, nos quais estão os componentes do aparato de extrusão e da parede do esporo, com acompanhamento de

esporocisto reduzido (membrana pansporoblástica) presente ou ausente nas células hospedeiras e presença de merogonia. A seqüência de esporulação ocorre dentro da célula hospedeira, estando os esporoblastos e os esporos freqüentemente uninucleados, quando há presença de membrana, e binucleados, quando há ausência de membrana.

A germinação dos esporos de microsporídeos aparentemente envolve uma rápida perda de trealose que coincide com um aumento da pressão interna (Undeen, 1990; Undeen & Frixione, 1990). O decréscimo nesta germinação está intimamente ligado à perda gradual da trealose durante o armazenamento em altas temperaturas, e mesmo a pressão interna sendo uma vantagem durante a germinação, esta é a primeira causa da extrusão incompleta do filamento polar e do esporoplasma, mesmo assim, esta seqüência de acontecimentos é importante para prevenir que a germinação dos esporos ocorra ao mesmo tempo. Existem evidências de que não só a temperatura influencia a viabilidade dos esporos de microsporídeos, e como exemplo têm-se os esporos de *Nosema algerae*, que perdem a habilidade para germinar após serem expostos aos mecanismos de irradiação gama (Undeen *et al.* 1984) ou ultravioleta (Undeen & Vander Meer, 1990).

Estudos realizados em dípteros demonstram que o desenvolvimento de microsporídeos pode ser afetado por uma série de fatores ambientais, sendo que na literatura os fatores avaliados com mais freqüência são a temperatura e as fontes de alimento do hospedeiro. No entanto, a influência de fatores abióticos é mais bem interpretada no sentido de influenciar o sistema parasito-hospedeiro como um todo (Becnel & Undeen, 1992).

Microsporídeos são os mais numerosos e importantes protozoários patogênicos para insetos, os gêneros identificados nas larvas de *Simulium (Ch) pertinax* apresentam ocorrência unicamente em dípteros, podendo acarretar em alguns casos elevadas taxas de mortalidade, redução de longevidade e fecundidade nos adultos, pelo fato de serem parasitas intracelulares obrigatórios (Castello Branco Jr., 1999).

As infecções por microsporídeos têm como característica principal, em nível celular, a presença de núcleo hipertrofiado com vários nucléolos evidenciando a ação do patógeno em seu metabolismo protéico (Castello Branco Jr., 1994; Castello Branco Jr. & Habib, 1995). E quanto às alterações morfofisiopatológicas, estes proporcionam um aumento no número de mitocôndrias da célula hospedeira, e em seguida, há considerável

redução da quantidade de retículo endoplasmático liso (Liu & Davies, 1972; Maurand, 1975). Como conseqüência do aumento de mitocôndrias, ocorre também um aumento de até 20 % na taxa de respiração dos indivíduos infectados (Maurand, 1975).

Em larvas de dípteros hospedeiros, o desenvolvimento do ciclo de vida dos microsporídeos ocorre numa seqüência de acontecimentos que envolvem: a germinação dos esporos dentro do lúmen intestinal, seguido de invasão de células epiteliais do intestino médio e cecos gástricos, através da injeção do esporoplasma por meio da invaginação do tubo polar. Depois há um breve período de multiplicação por fissão binária, e a partir de então, incide a difusão dos microsporídeos para o tecido muscular e gônadas, onde serão submetidos à fase sexual do desenvolvimento que envolve gametogênese e plasmogamia, desse modo restabelecendo a sua condição de diplóide (Lucarotti & Andreadis, 1995). Nas fêmeas os microsporídeos têm sua multiplicação limitada e esporulam somente quando estas adquirem sangue através do repasto sanguíneo. A esporulação coincide com a maturação dos ovários, e é estimulada pelos eventos de reprodução do hospedeiro, provavelmente sob fatores hormonais (Lord & Hal, 1983). Resultando na formação de esporos binucleados que infectam os ovários, sendo estes responsáveis pela transmissão transovariana de infecção para a geração F₁. A potência ou viabilidade destes esporos está condicionada a alguns fatores ambientais, como a temperatura e as fontes de alimentação do hospedeiro, em todas as fases do período de vida (Jamnback, 1973; Lacey & Undeen, 1987).

Becnel & Undeen (1992), avaliaram o sistema parasito-hospedeiro de *Edhazardia aedis* parasitando larvas de *Aedes aegypti* sob a influência da temperatura e evidenciaram particularmente que, a temperatura externa do criadouro a partir dos 36 °C é relevante do ponto de vista ecológico não só para os esporos, mas também para o desenvolvimento das larvas de *Aedes aegypti*, que passarão para o estágio de pupa com tamanho pequeno. Tal fato, conseqüentemente, proporcionou um decréscimo do número de esporos no ambiente e ainda, redução no tamanho dos esporos no organismo parasitado, sendo este o resultado da influência da temperatura.

3.0 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O rio Santo Aleixo encontra-se no bairro Andorinhas, distrito de Santo Aleixo no município de Magé, localizado na província biogeográfica da Serra do Mar, na região da Serra dos Órgãos, no estado do Rio de Janeiro (Figura 1 e 2), com latitude S 22° 32', longitude W 43° 02', a 88m de altitude, pluviosidade média de 1250 a 1500mm anuais (Parques Nacionais, 1996). Pertence à bacia do Rio Paraíba do Sul e situa-se no domínio morfoclimático Tropical Atlântico, numa faixa que varia entre o quente, sub-quente e super-úmido, mas com período de sub-seca intermediário (IBAMA, 2002).

Este rio apresenta amplas áreas de insolação, com substrato predominantemente pedregoso (Figura 3), sendo esta última, uma característica de dobramento remobilizado formado por escapas e reversos da Serra do mar, também denominada “frente dissecada do bloco falhado” (Figuerêdo, 2004). É considerado rio de alta drenagem (Figura 4), sua vegetação é composta de resquícios de Floresta Tropical Pluvial Atlântica, com poucas árvores de elevado tamanho, epífitas e cipós (Figuerêdo, 2004), isso se dá pelo fato de apresentar freqüente impacto antrópico na maior parte de sua extensão, o que ocorre em decorrência dos dejetos provenientes da urbanização em seu entorno. Essa urbanização ocorreu com a criação do parque industrial de Magé na década de 30, onde a população migrante eram os trabalhadores das fábricas (Figuerêdo, 2004).

A eleição do rio Santo Aleixo para o estudo de correlação da temperatura da água, com a infecção de larvas de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* por protozoários entomopatogênicos, prende-se ao fato deste rio apresentar alta densidade de larvas de *Simulium pertinax* e taxas de infecção por microsporídeos dentro dos padrões de normalidade (Araújo-Coutinho *et al.* 2004).

Os dados abióticos como as temperaturas médias máxima e mínima e a precipitação pluviométrica, foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia do Rio de Janeiro – 6° Distrito, e indicam que a região apresentou para os últimos 10 anos as seguintes médias

referentes ao mesoclima: temperatura média da máxima de 25,20 °C (Tabela 1), temperatura média da mínima de 15,69 °C (Tabela 2) e precipitação pluviométrica acumulada de 15339,80 mm (Tabela 3). Com a finalidade de averiguar a possível ocorrência de fenômenos acidentais, estes dados abióticos foram comparados com os dois períodos em que decorreu o estudo (Figura 5).



Figura 1: Mapa de localização do município de Magé no estado do Rio de Janeiro.



Figura 2: Mapa de localização do rio Santo Aleixo, no município de Magé do estado do Rio de Janeiro.



Figura 3: Vista do rio Santo Aleixo, no município de Magé do estado do Rio de Janeiro.



Figura 4: Vista do rio Santo Aleixo, no município de Magé do estado do Rio de Janeiro (fotografia tirada do mesmo ângulo da figura 3).

Tabela 1: Média mensal da temperatura máxima dos últimos 10 anos (1995 a 2004), registrada no município de Magé.

Média das Temperaturas Máximas (°C)												
Ano	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr
95/96	23,90	23,70	24,00	26,70	24,10	24,40	25,00	26,10	28,90	29,60	28,40	26,10
96/97	22,80	22,60	21,80	25,70	21,60	24,20	23,70	27,50	26,50	27,80	25,70	24,60
97/98	22,90	23,00	23,70	24,50	24,90	25,40	27,90	28,40	29,20	29,30	28,50	26,40
98/99	23,00	20,50	22,40	24,40	24,00	23,40	23,60	27,40	28,40	29,50	27,10	25,00
99/00	22,80	21,10	21,30	22,40	25,20	22,00	23,30	25,70	28,30	27,60	26,20	25,40
00/01	22,80	23,40	20,10	22,90	22,30	27,60	25,30	27,10	29,30	30,500	28,90	27,30
01/02	23,20	23,50	22,90	24,50	23,10	23,90	26,10	26,20	27,50	26,60	29,10	27,40
02/03	24,20	24,60	21,70	25,40	22,20	28,80	26,30	27,00	27,20	30,60	27,30	25,90
03/04	23,00	24,60	22,70	21,10	22,60	24,60	25,20	26,70	25,90	26,10	25,80	25,60
2004	22,20											

* Dados cedidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia do estado do Rio de Janeiro – INMET.

- Primeiro ano de estudo
- Segundo ano de estudo

Tabela 2: Média mensal da temperatura mínima dos últimos 10 anos (1995 a 2004), registrada no município de Magé.

Média das Temperaturas Mínimas (°C)												
Ano	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr
95/96	14,60	11,10	13,00	13,40	13,60	15,80	16,40	17,90	19,40	19,40	18,90	15,80
96/97	12,80	12,00	11,20	10,60	13,20	14,80	15,70	17,50	18,40	17,40	16,00	15,20
97/98	12,30	11,90	11,40	11,60	14,80	15,90	18,80	19,00	19,90	19,80	19,10	17,30
98/99	13,70	11,30	11,60	14,90	15,60	15,50	16,00	18,90	19,50	19,40	18,30	15,80
99/00	12,50	12,80	12,70	10,70	13,80	14,30	15,20	17,30	17,90	18,60	17,90	15,50
00/01	13,00	11,40	11,30	12,10	14,80	17,40	17,20	18,00	18,60	19,10	17,90	16,80
01/02	14,20	13,00	11,20	12,30	14,10	15,40	17,90	18,40	18,90	18,70	18,60	16,40
02/03	15,20	13,40	12,70	14,70	14,30	17,00	17,80	19,20	19,60	19,40	18,50	16,00
03/04	13,20	12,80	11,50	11,70	14,00	15,30	17,50	18,80	18,20	18,50	16,90	17,40
2004	14,10											

* Dados cedidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia do estado do Rio de Janeiro – INMET.

- Primeiro ano de estudo
- Segundo ano de estudo

Tabela 3: Total mensal de precipitação pluviométrica dos últimos 10 anos (1995 a 2004), registrado no município de Magé.

Precipitação Pluviométrica Acumulada (mm)												
Ano	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr
95/96	49,4	28,5	25,7	6,1	106,6	174,5	227,8	326,1	207,8	199,6	207,5	81,0
96/97	50,7	33,6	11,8	34,4	199,7	115,8	252,9	239,5	236,0	70,6	174,3	35,8
97/98	65,0	33,0	8,0	22,2	75,2	90,3	208,0	196,2	193,3	330,5	89,3	81,0
98/99	99,5	21,3	15,8	44,2	39,6	158,1	213,2	245,6	272,3	103,3	182,3	52,5
99/00	39,4	64,3	27,9	14,3	78,7	49,4	192,3	451,4	416,3	114,6	160,4	87,3
00/01	40,3	0,2	94,1	114,6	113,6	86,8	198,1	245,0	269,8	216,9	184,0	190,3
01/02	73,3	2,3	18,9	7,7	73,4	91,5	151,6	422,2	308,3	202,0	148,4	116,8
02/03	70,4	6,5	35,0	24,8	124,8	54,8	282,1	508,0	323,5	49,5	193,8	52,2
03/04	55,6	35,0	31,6	66,3	43,6	177,7	351,1	164,0	227,4	340,4	154,8	106,8
2004	70,8											

* Dados cedidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia do estado do Rio de Janeiro – INMET.

- Primeiro ano de estudo
- Segundo ano de estudo

3.2 Metodologia da amostragem

O presente estudo foi realizado em dois períodos não consecutivos, com coletas semanais de larvas de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* de maio de 2001 a maio de 2002, no qual foi conferido um total de 36 coletas; e maio de 2003 a maio de 2004, onde foram efetuadas 34 coletas de larvas, sendo mensurados em ambos os períodos os dados da temperatura da água, temperatura máxima e mínima do ambiente e taxa de precipitação da região, sendo estes dois últimos obtidos no Departamento de Meteorologia do Instituto Nacional de Meteorologia, no 6º Distrito de Meteorologia do Rio de Janeiro.

Devido à necessidade de observação “*in vivo*” da sintomatologia externa da infecção por protozoário, as larvas foram transportadas para o laboratório em recipientes com água do criadouro sob aeração, promovida por bombas de aquário, numa caixa de isopor com gelo biológico para manutenção de temperatura aproximadamente constante e sobrevivência das mesmas (Figura 5).

A coleta de larvas foi realizada em pontos aleatórios do rio, sendo de 2 m a distância mínima entre cada ponto e o tempo investido foi de 45 minutos. As larvas foram coletadas em sua maioria no substrato rochoso (Figura 6), onde para tal, passa-se a mão sobre o substrato num movimento contra o fluxo da correnteza de água, com isso, as larvas se fixarão provisoriamente na extensão dos dedos, e então foram depositadas nos recipientes de transporte. Quando em folhiço represado na correnteza onde estavam aderidas, a remoção para o aparato de transporte foi realizada através de pinça de relojoeiro nº 5.

A temperatura da água do criadouro natural foi medida, somente em um ponto, em todas as coletas com termômetro de mercúrio digital, possibilitando assim, maior exatidão na aquisição deste dado abiótico.

As larvas foram transportadas para o Laboratório de Referência Nacional em Simulídeos e Oncocercose do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC / Fiocruz), onde permaneceram vivas em um criadouro artificial (Figura 7) durante o processo de contagem e identificação (Figura 8), baseado nas descrições de Coscarón (1981). As larvas de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* que apresentaram sintomatologia de

infecção, ou seja, abdome deformado com corpos gordurosos esbranquiçados e em forma globular (Figura 9), foram dissecadas seguindo o método de Undeen & Vavra (1997), e coradas com Giemsa como citado por Becnel (1997).

Para a classificação dos protozoários, em microscópio contraste de fase, foi utilizada a chave de identificação proposta por Weiser (1982, 1991). Para a confirmação diagnóstica, as lâminas identificadas foram enviadas para o Center for Medical, Agricultural and Veterinary Entomology – U.S. Department of Agriculture Agricultural Research Service.

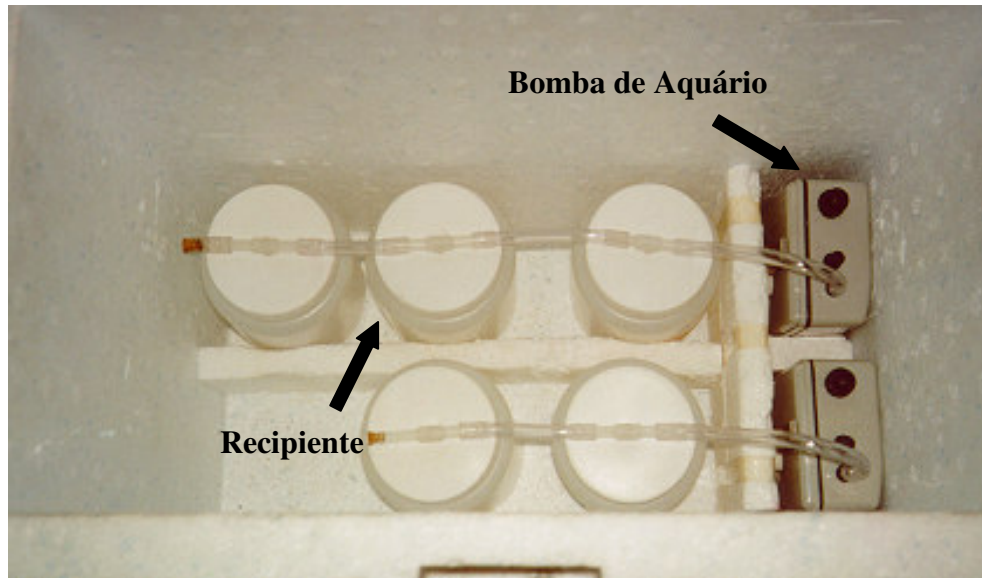


Figura 5: Aparato que permite a sobrevivência das larvas de simulídeos, transportadas do rio Santo Aleixo – Magé para o laboratório (em comunicação pessoal Araújo-Coutinho).



Figura 6: Substrato rochoso no rio Santo Aleixo, com larvas de simúlídeos fixadas.



Figura 7: Criadouro artificial utilizado para manutenção da sobrevivência das larvas de simulídeos em laboratório (em comunicação pessoal Araújo-Coutinho).



Figura 8: Larva de *Simulium pertinax* não infectada por microsporídeos em vista dorsal (1), ventral (2), lateral (3) e o padrão de mancha cefálica (M) utilizada na identificação das larvas coletadas no rio Santo Aleixo – Magé, Rio de Janeiro.



Figura 9: Larva de *Simulium pertinax* apresentando sintomatologia de infecção por microsporídeo.

3.3 Análise estatística dos dados

O perfil sazonal dos microsporídeos foi estabelecido a partir da frequência relativa dos gêneros, em que foram calculados os valores percentuais de larvas *S. pertinax* para as várias situações: percentual de espécimes infectados em relação ao total absoluto; percentual de espécimes infectados em relação ao total mensal; percentual dos gêneros de microsporídeos encontrados em relação ao total absoluto de espécimes infectados.

A partir desta avaliação, foi aplicado o teste de similaridade, utilizando o coeficiente de Soerensen (Serra-Freire, 2002), para os dados semanais de infecção de larvas de *Simulium (Chirostilbia) pertinax*, para verificar o padrão de incidência de infecção.

Devido à coexistência de mais de um gênero de microsporídeo infectando larvas de *Simulium pertinax* no rio onde ocorreu o desenvolvimento do estudo, foi aposto o índice de afinidade de Fager (1957) com 1% de erro, de grande utilidade no reconhecimento da ocorrência de associação real interespecífica que se manifesta freqüentemente em conjunto, independente da variação de sua abundância.

O coeficiente de correlação linear entre a temperatura da água do criadouro de larvas de *Simulium pertinax*, e as infecções pelos microsporídeos detectados no rio Santo Aleixo, foi estimada através da utilização da fórmula de Pearson tanto para o total de larvas infectadas em cada período de coleta, quanto para o número total de larvas infectadas por gêneros de microsporídeos encontrados. O Teste “t” de Student com 5 % de erro foi aplicado para verificar a significância dos dados obtidos na correlação. Como termo de comparação, visando à decisão de aceitar ou não a correlação analisada, com base no valor absoluto da correlação calculada, foi utilizada a Tabela de Rugg (Serra-Freire, 2002) que adota a seguinte convenção:

- $r \leq 0,15$ relação desprezível
- $0,15 < r \leq 0,29$ correlação fraca
- $0,29 < r \leq 0,49$ correlação apreciável
- $r \geq 0,50$ correlação forte

Foi calculada a taxa de prevalência total para o número de larvas de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* infectadas e para as larvas infectadas pelos gêneros de microsporídeos, detectados nas 77 semanas envolvidas no trabalho, visando estimar a ocorrência do perfil anual das infecções.

Visando verificar se o tamanho da amostra influencia na correlação entre a temperatura da água do criadouro, e as infecções em larvas de *Simulium pertinax* por microsporídeos, foi aplicado o coeficiente linear de correlação (r de Pearson) para a taxa de infecção do total de larvas coletadas, para a taxa de infecção do total de larvas infectadas e para as taxas mensais de larvas infectadas para os gêneros de microsporídeos encontrados, nos dois períodos de estudo (2001-2002 e 2003-2004).

O coeficiente de Pearson também foi aplicado para os dados mensais de precipitação pluviométrica, no período 2001-2002 e 2003-2004, com os dados mensais de temperatura da água do criadouro, com a taxa de infecção para o total de larvas coletadas e com a taxa de infecção para as larvas infectadas pelos gêneros de microsporídeos encontrados.

4.0 RESULTADOS

4.1 Dados abióticos

O rio Santo Aleixo durante o primeiro período de estudo, maio de 2001 a maio de 2002, apresentou temperatura média da água de 21,74 °C, variando entre a mínima de 19,60 °C no mês de setembro e máxima de 24,95 °C no mês de dezembro. Já no segundo período de estudo, que ocorreu de maio de 2003 a maio de 2004, a temperatura média da água foi de 21,23 °C oscilando entre a mínima de 18,90 °C no mês de agosto e máxima de 23,40 °C no mês de janeiro (Figura 10).

Para a região estudada a temperatura média máxima ambiente variou entre a mínima de 22,90 °C no mês de julho de 2001 e máxima de 29,10 °C no mês de março de 2002 (primeiro período); e mínima de 21,10 °C no mês de agosto de 2003 e máxima de 26,70 °C no mês de dezembro de 2003 (segundo período). A temperatura média mínima ambiente variou entre a mínima de 11,20 °C no mês de julho de 2001 e máxima de 18,90 °C no mês de janeiro de 2002, no primeiro período; e mínima de 11,50 °C no mês de julho de 2003 e máxima de 18,80 °C no mês de dezembro de 2003, no segundo período (Figura 11 e 12).

A precipitação pluviométrica para a região variou entre a mínima de 2,3 mm no mês de junho e a máxima de 422,2 mm no mês de dezembro, no primeiro período. Durante o segundo período, esta variou entre a mínima de 31,6 mm no mês de julho e a máxima de 351,1 mm no mês de novembro (Figura 13).

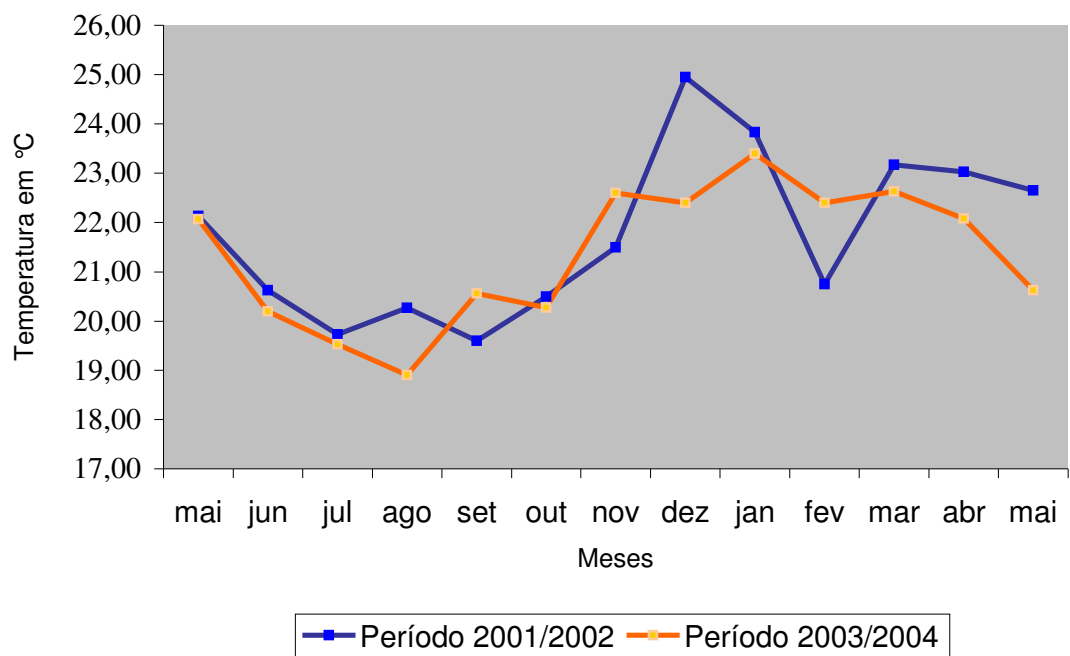


Figura 10: Média mensal da variação das temperaturas da água registradas no rio Santo Aleixo – município de Magé, no período de maio de 2001 a maio de 2002 e de maio de 2003 a maio de 2004.

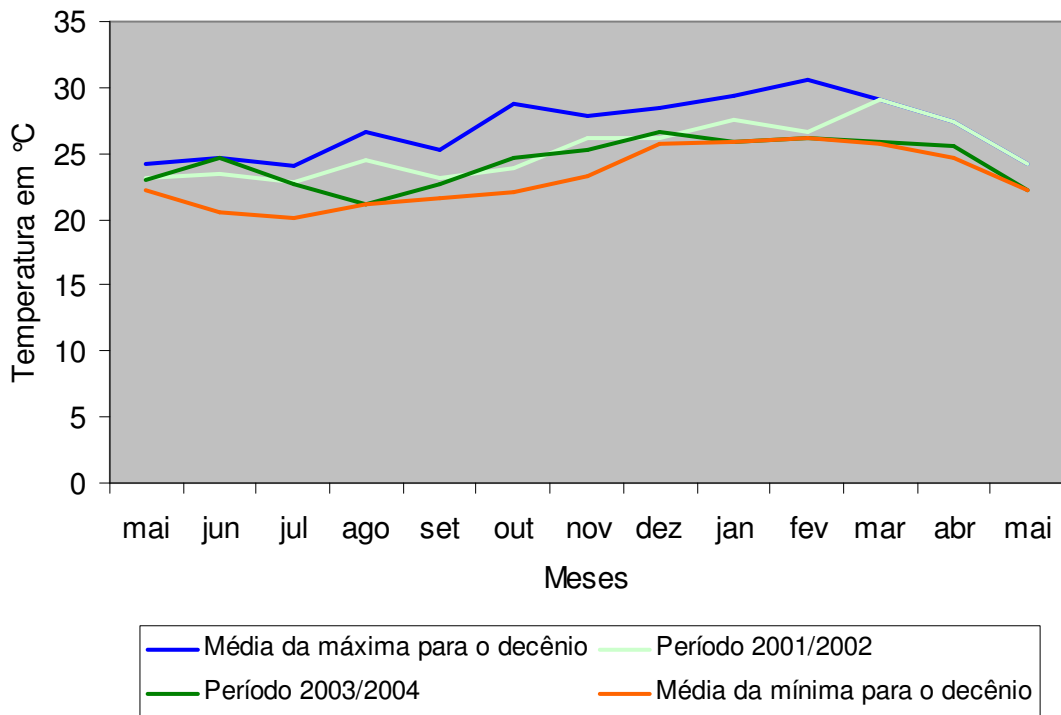


Figura 11: Média mensal da variação da temperatura máxima ambiente registrada para a região estudada, e para o período de maio de 2001 a maio de 2002 e de maio de 2003 a maio de 2004.

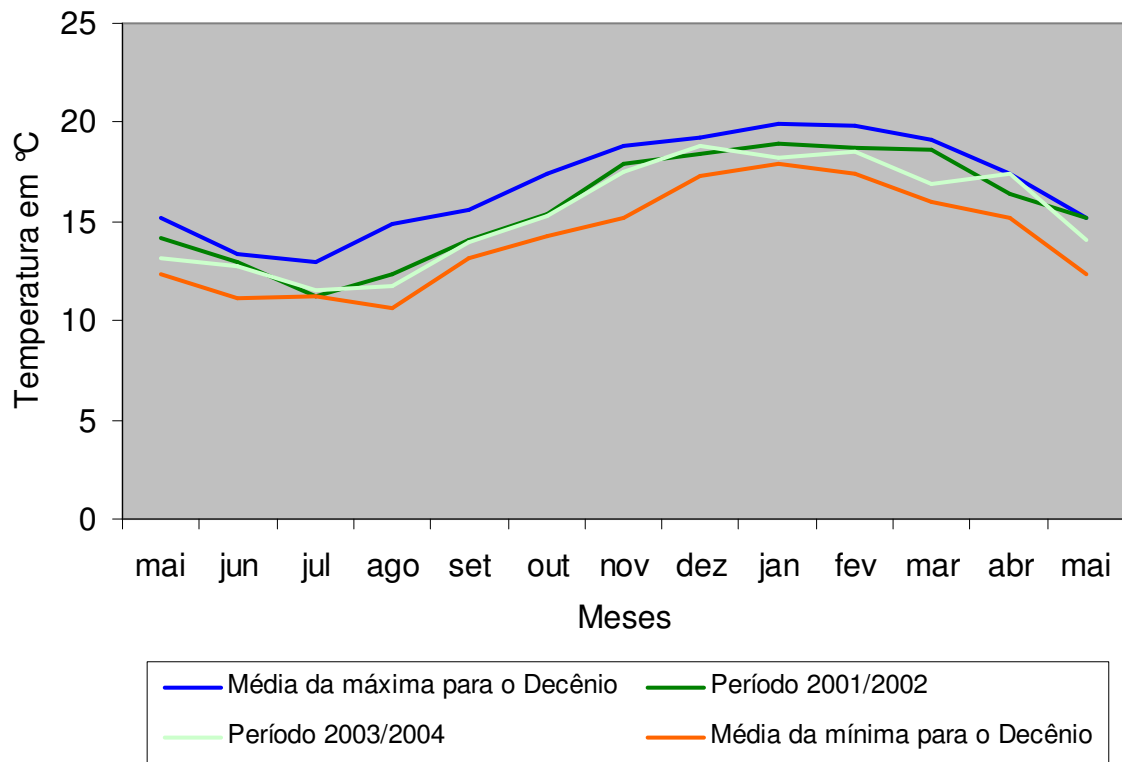


Figura 12: Média mensal da variação da temperatura mínima ambiente registrada para a região estudada, e para o período de maio de 2001 a maio de 2002 e de maio de 2003 a maio de 2004.

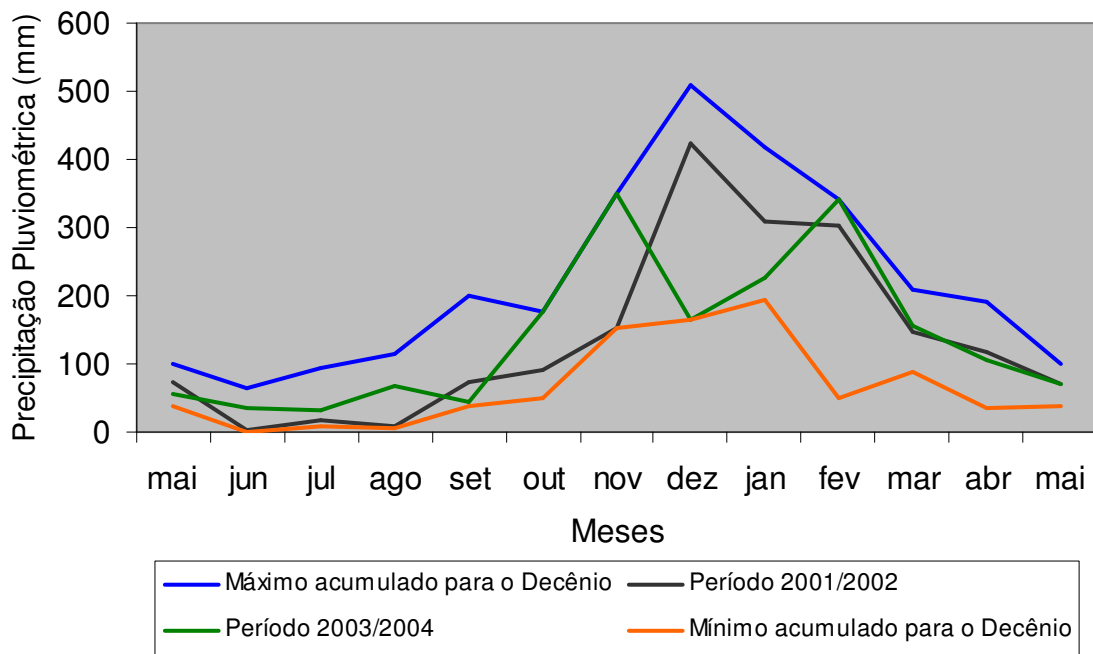


Figura 13: Variação mensal da precipitação pluviométrica acumulada dentro dos limites máximo e mínimo para o decênio registrado na região estudada, e para o período de maio de 2001 a maio de 2002 e de maio de 2003 a maio de 2004.

4.2 Dados bióticos

4.2.1 Gêneros de microsporídeos encontrados infectando larvas de *Simulium* (Ch.) *pertinax*

Os gêneros de microsporídeos *Amblyospora* (Hazard & Oldacre, 1975) e *Polydispyrenia* (Canning & Hazard, 1982), encontrados infectando o tecido adiposo das larvas de *Simulium* (*Chirostilbia*) *pertinax* neste estudo, foram identificados a partir de características morfológicas do esporo.

Amblyospora sp. foi caracterizado por apresentar como característica morfológica principal, a presença de oito esporos uninucleados amplamente elípticos e delicadamente robusto nas extremidades, com dimensões de esporo que variam de $4,2 \pm 0,6 \times 3,8 \pm 0,7$ μm (Figura 14). As dimensões estruturais que foram medidas a partir das detecções neste estudo, indicam que parte das lâminas caracterizadas como sendo deste gênero, é semelhante à espécie *Amblyospora bracteata* (Strickland, 1913) (Figura 15) e outra parte se assemelha à espécie *Amblyospora varians* (Léger, 1910) (Figura 16), descrita em simulídeos na América do Norte e Europa, respectivamente (Vavra e Undeen, 1981).

Foram observados também no tecido adiposo de larvas de *Simulium* (*Chirostilbia*) *pertinax*, meiosporos uninucleados (Figura 17) e esporos uninucleados e binucleados de *Amblyospora* sp. (Figura 18).

Polydispyrenia sp. foi caracterizado morfológicamente por possuir quantidade igual ou superior a 32 esporos uninucleados por vesícula do esporóforo, com dimensões de esporos que variam de $7,0 \pm 0,6 \times 4,9 \pm 0,8$ μm (Figura 19).

Nas lâminas identificadas com *Polydispyrenia* sp. foram observados eventos que normalmente ocorrem em seu ciclo de desenvolvimento, como esporogonia diplocariótica múltipla do plasmódio (Figura 20), esporoblastos uninucleados e um plasmódio em esporogonia, que apresenta como produto final esporos uninucleados sem a vesícula do esporóforo (Figura 21).

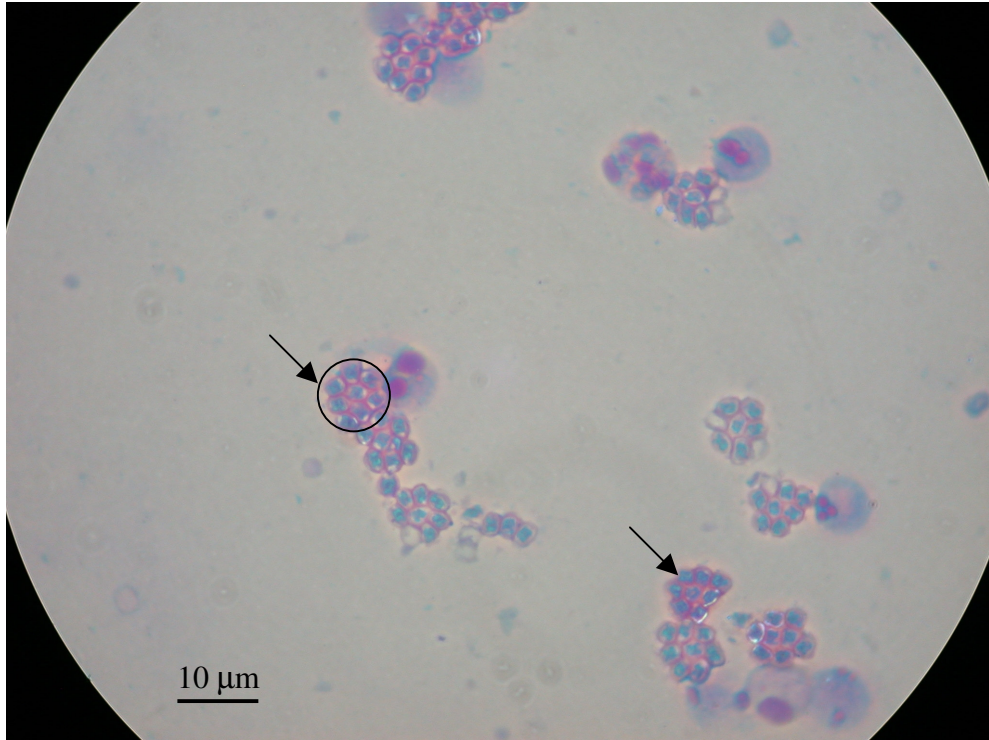


Figura 14: Esporos de *Amblyospora* sp. identificados em larva de *Simulium pertinax*.

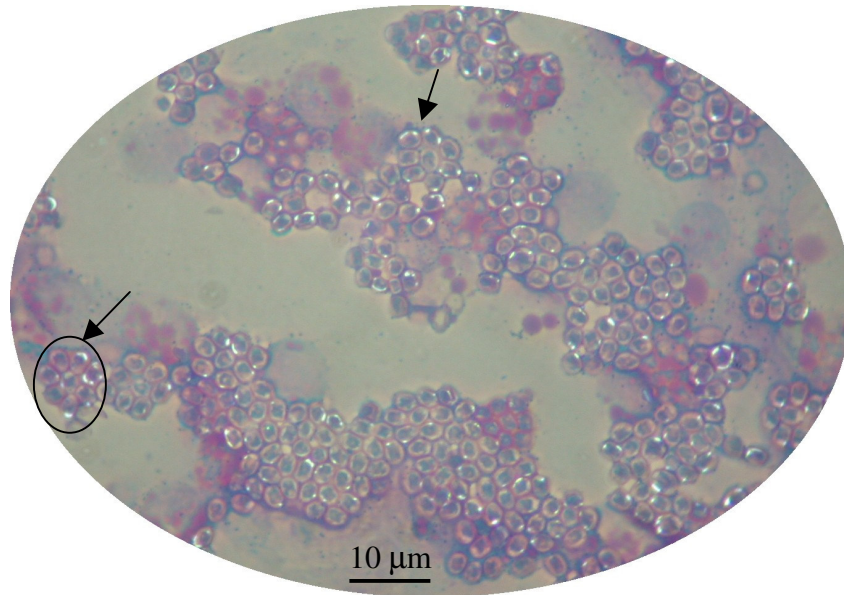


Figura 15: Esporos de *Amblyospora* sp. encontrados em larva de *Simulium pertinax* com as dimensões semelhante as dimensões descritas de *Amblyospora bracteata*.

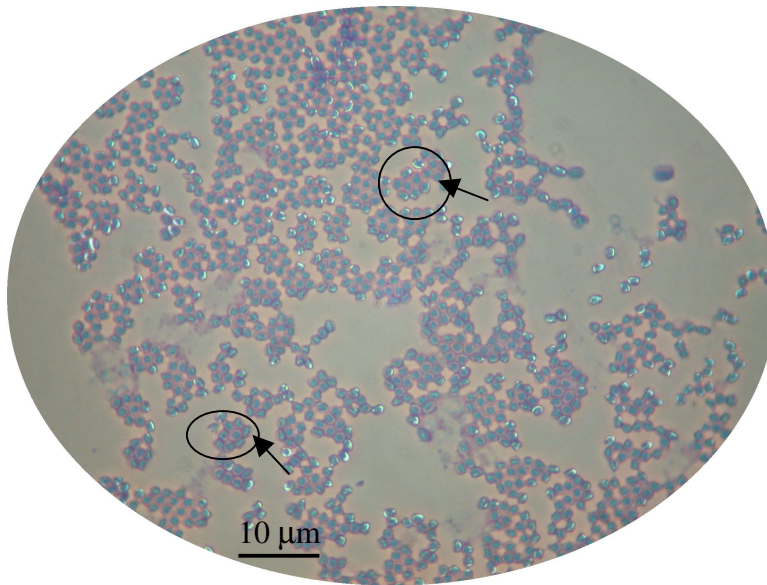


Figura 16: Esporos de *Amblyospora* sp. encontrados em larva de *Simulium pertinax* com as dimensões semelhantes as dimensões descritas de *Amblyospora varians*.

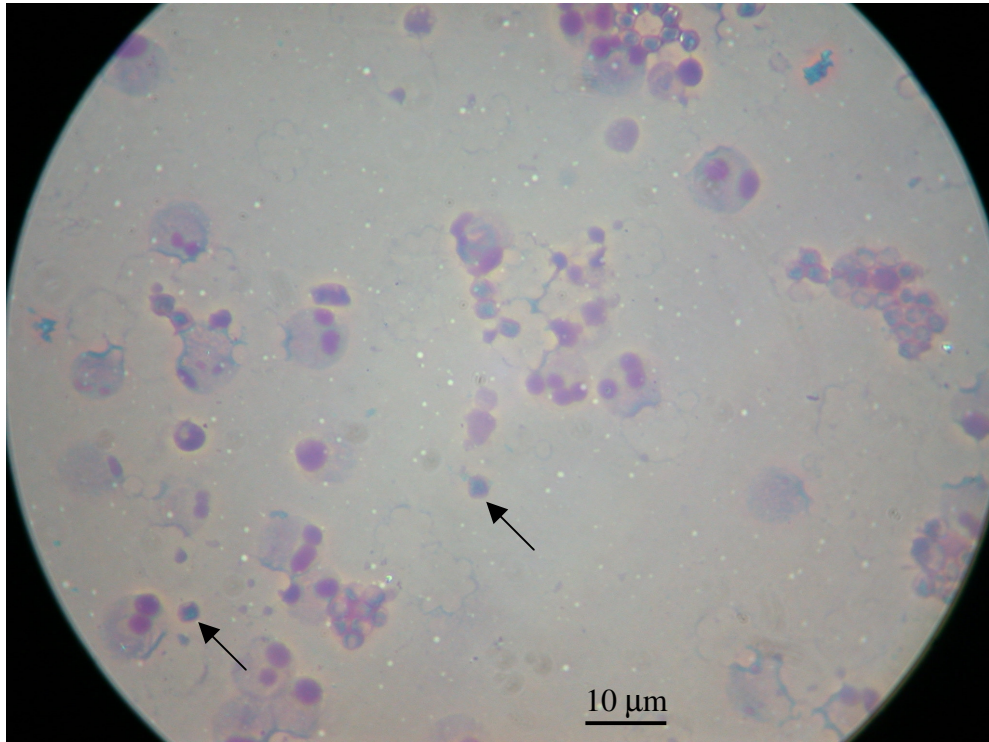


Figura 17: Meiosporos uninucleados de *Amblyospora* sp. encontrados no tecido adiposo de larvas de *Simulium* (*Ch.*) *pertinax*.

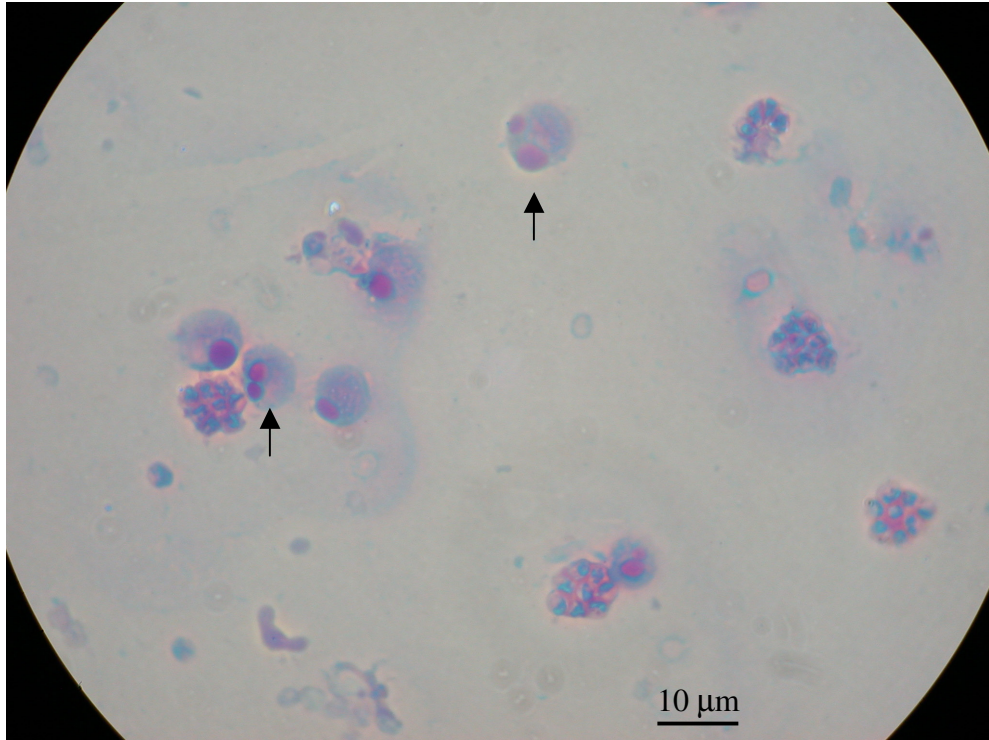


Figura 18: Esporos binucleados de *Amblyospora* sp. encontrados em larva de *Simulium* (Ch.) *pertinax*.

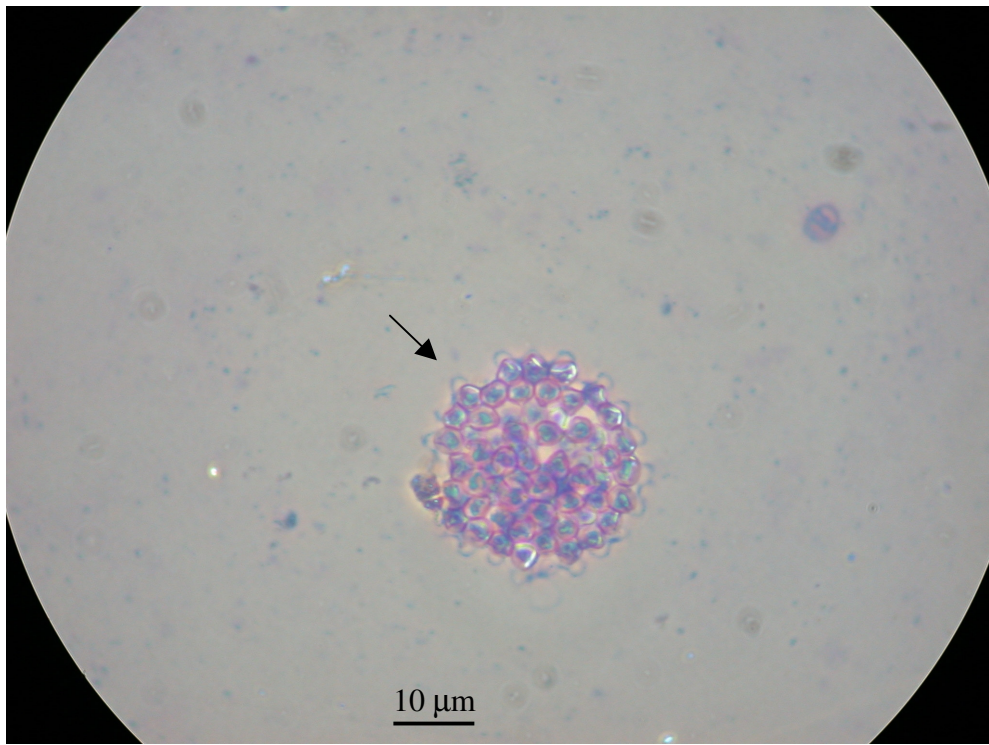


Figura 19: Esporos uninucleados de *Polydispyrenia* sp. encontrados no tecido adiposo de larvas de *Simulium* (*Ch.*) *pertinax*.

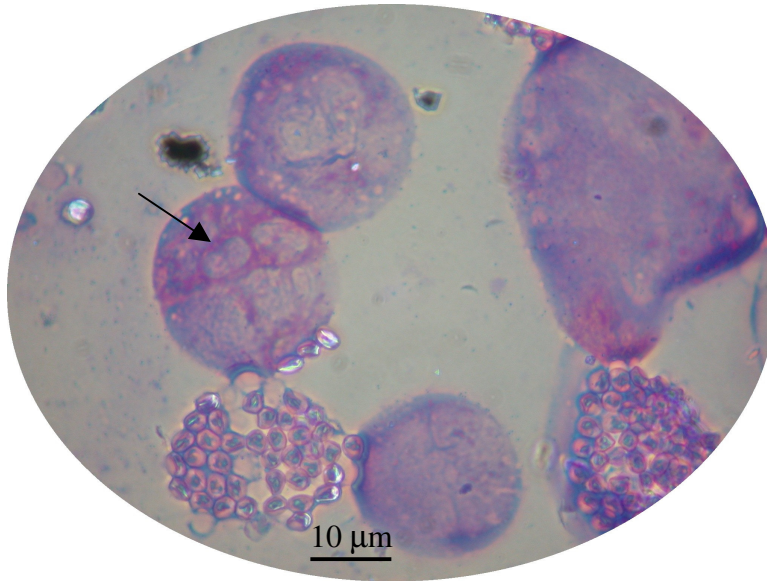


Figura 20: Esporo de *Polydispyrenia* sp. em esporogonia diplocariótica do plasmódio, encontrado em larva de *Simulium* (*Ch.*) *pertinax*.

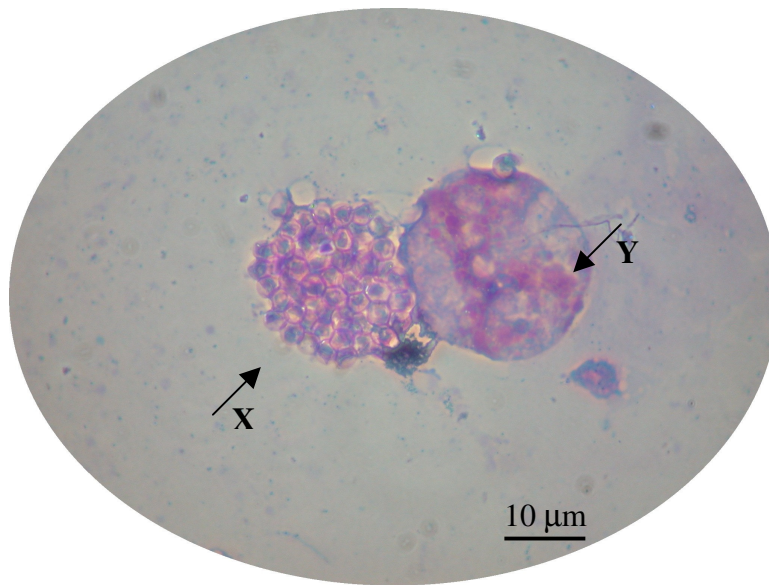


Figura 21: *Polydispyrenia* sp. com esporoblastos uninucleados (Y) e um plasmódio em esporogonia (X).

4.2.2 Distribuição sazonal dos microsporídeos detectados em larvas de *Simulium (Ch) pertinax*

Nas 36 coletas de larvas realizadas no período de 2001 – 2002, foram obtidos um total de 10.603 larvas de *Simulium pertinax*, sendo detectadas 207 larvas infectadas por microsporídeos, dentre as quais 201 estavam infectadas pelo gênero *Amblyospora* e 6 larvas estavam infectadas pelo gênero *Polydispyrenia*. Com isso, foi observado que *Amblyospora* sp. apresentou frequência relativa de 1,90 % na população de larvas de *Simulium pertinax*, representando 97,10 % da população de microsporídeos detectados. Já *Polydispyrenia* sp. apresentou 0,06 % de frequência relativa, o que representou apenas 2,90 % da população de microsporídeos encontrados (Tabela 4).

Amblyospora sp. apresentou ocorrência em todo o ano em que foi realizado o estudo, com exceção do mês de dezembro de 2001, e foi notado uma prevalência maior de junho a agosto e em outubro de 2001, com picos de infecção nos meses de junho (1,95 %), julho (3,88 %), agosto (2,60 %) e outubro (3,30 %) (Figura 22). Entretanto este fato não foi observado em *Polydispyrenia* sp., que teve ocorrência apenas nos meses de outubro de 2001, fevereiro e maio de 2002, apresentando baixa prevalência (Figura 23).

Tabela 4: Frequência relativa mensal e anual de larvas de *Simulium pertinax* infectadas por microsporídeos em relação ao total coletado e a distribuição em valores absolutos dos gêneros identificados no rio Santo Aleixo, Magé, RJ, no período de maio de 2001 a maio de 2002.

Rio Santo Aleixo - Magé - Rio de Janeiro - Brasil (2001 / 2002)							
Mês / Ano	TLC	TLI	FRLI	LI <i>Polydispyrenia</i> sp.	FR 1	LI <i>Amblyospora</i> sp.	FR 2
mai/01	777	2	0,26%	0	0,00%	2	100,00%
jun/01	2304	45	1,95%	0	0,00%	45	100,00%
jul/01	1854	72	3,88%	0	0,00%	72	100,00%
ago/01	1344	35	2,60%	0	0,00%	35	100,00%
set/01	299	3	1,00%	0	0,00%	3	100,00%
out/01	606	21	3,47%	1	4,76%	20	95,24%
nov/01	425	7	1,64%	0	0,00%	7	100,00%
dez/01	196	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
jan/02	501	7	1,40%	0	0,00%	7	100,00%
fev/02	292	4	1,37%	3	75,00%	1	25,00%
mar/02	536	3	0,56%	0	0,00%	3	100,00%
abr/02	688	1	0,15%	0	0,00%	1	100,00%
mai/02	781	7	0,90%	2	28,57%	5	71,43%
Anual	10603	207	1,95%	6	2,90%	201	97,10%

Legenda:

TLC - Total de Larvas de *Simulium pertinax* Coletadas

TLI - Total de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas

FRLI - Frequência Relativa de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas

LI *Polydispyrenia* sp. - Número de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas pelo gênero *Polydispyrenia*

FR 1 - Frequência Relativa de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas por *Polydispyrenia* sp.

LI *Amblyospora* sp. - Número de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas pelo gênero *Amblyospora*

FR 2 - Frequência Relativa de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas por *Amblyospora* sp.

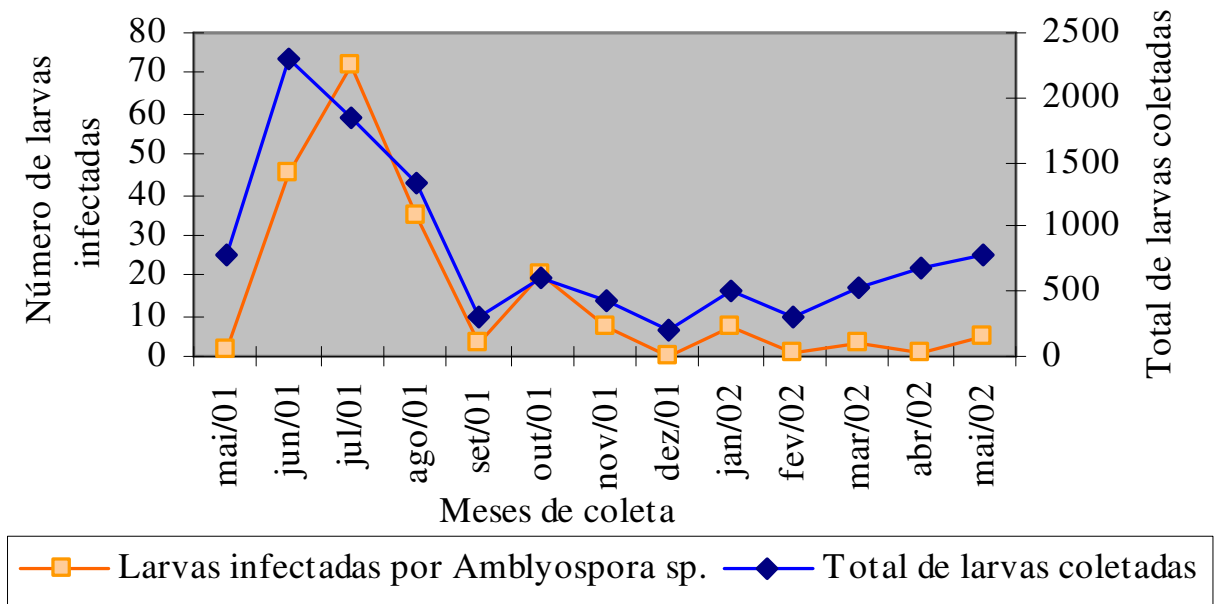


Figura 22: Distribuição sazonal de *Amblyospora* sp. encontrado infectando larvas de *Simulium pertinax* no período 2001-2002, no rio Santo Aleixo – Magé - RJ.

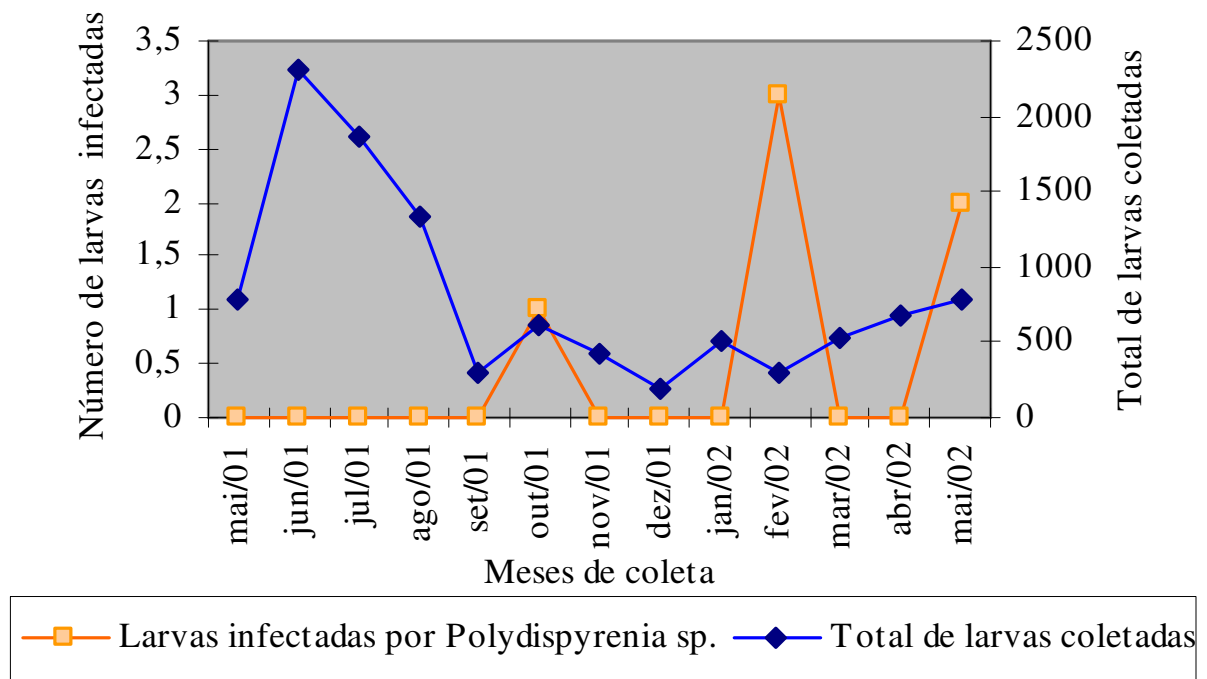


Figura 23: Distribuição sazonal de *Polydispyrenia* sp. encontrado infectando larvas de *Simulium pertinax* no período 2001-2002, no rio Santo Aleixo – Magé - RJ.

No período de 2003 – 2004, foram executadas 34 coletas com um total de 24.116 larvas de *Simulium pertinax*, dentre as quais 396 estavam infectadas pelo gênero *Amblyospora* e 42 estavam infectadas pelo gênero *Polydispyrenia*. Pôde ser observado durante este período que, *Amblyospora* sp. apresentou frequência relativa de 1,64 % na população de larvas de *Simulium pertinax*, o que representou 90,40 % da população de microsporídeos encontrados. Enquanto *Polydispyrenia* sp. apresentou 0,17 % de frequência relativa na população estudada, representando somente 9,60 % dos microsporídeos detectados no rio Santo Aleixo (Tabela 5).

Igualmente ao evento exposto no primeiro período de coleta, foram verificadas infecções por *Amblyospora* sp. durante todo o ano de estudo, sendo que neste caso, os picos de infecções ocorreram de julho a outubro de 2003 e de março a maio de 2004. Estas epizootias representaram uma prevalência de 1,36 % no mês de julho, 1,13 % em agosto, 2,43 % no mês de setembro e 4,08 % em outubro de 2003; e no ano 2004 as prevalências mais representativas foram nos meses de março com 1,05 %, abril com 1,24 % e maio com 2,44 %. (Figura 22). Contudo, *Polydispyrenia* sp. que teve ocorrência em quase todo o período com exceção apenas dos meses de maio de 2003 e fevereiro de 2004, apresentou uma baixa prevalência em todo o ano de estudo (Figura 23).

Tabela 5: Frequência relativa mensal e anual de larvas de *Simulium pertinax* infectadas por microsporídeos em relação ao total coletado e a distribuição em valores absolutos dos gêneros identificados no rio Santo Aleixo, Magé, RJ, no período de maio de 2003 a maio de 2004.

Rio Santo Aleixo - Magé - Rio de Janeiro - Brasil (2003 / 2004)							
Mês / Ano	TLC	TLI	FRLI	LI <i>Polydispyrenia</i> sp.	FR 1	LI <i>Amblyospora</i> sp.	FR 2
mai/03	466	7	1,50%	0	0,00%	7	100,00%
jun/03	2623	4	0,15%	1	25,00%	3	75,00%
jul/03	2355	34	1,44%	2	5,88%	32	94,12%
ago/03	2918	36	1,23%	3	8,33%	33	91,66%
set/03	5976	157	2,63%	12	7,64%	145	92,36%
out/03	1325	56	4,23%	2	3,57%	54	96,43%
nov/03	873	16	1,83%	5	31,25%	11	68,75%
dez/03	721	10	1,39%	5	50,00%	5	50,00%
jan/04	438	9	2,05%	1	11,11%	8	88,89%
fev/04	274	7	2,55%	0	0,00%	7	100,00%
mar/04	2086	28	1,34%	6	21,43%	22	78,57%
abr/04	2501	32	1,28%	1	3,13%	31	96,87%
mai/04	1560	42	2,70%	4	9,52%	38	90,48%
Anual	24116	438	1,82%	42	9,60%	396	90,40%

Legenda:

TLC - Total de Larvas de *Simulium pertinax* Coletadas

TLI - Total de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas

FRLI - Frequência Relativa de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas

LI *Polydispyrenia* sp. - Número de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas pelo gênero *Polydispyrenia*

FR 1 - Frequência Relativa de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas por *Polydispyrenia* sp.

LI *Amblyospora* sp. - Número de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas pelo gênero *Amblyospora*

FR 2 - Frequência Relativa de Larvas de *Simulium pertinax* Infectadas por *Amblyospora* sp.

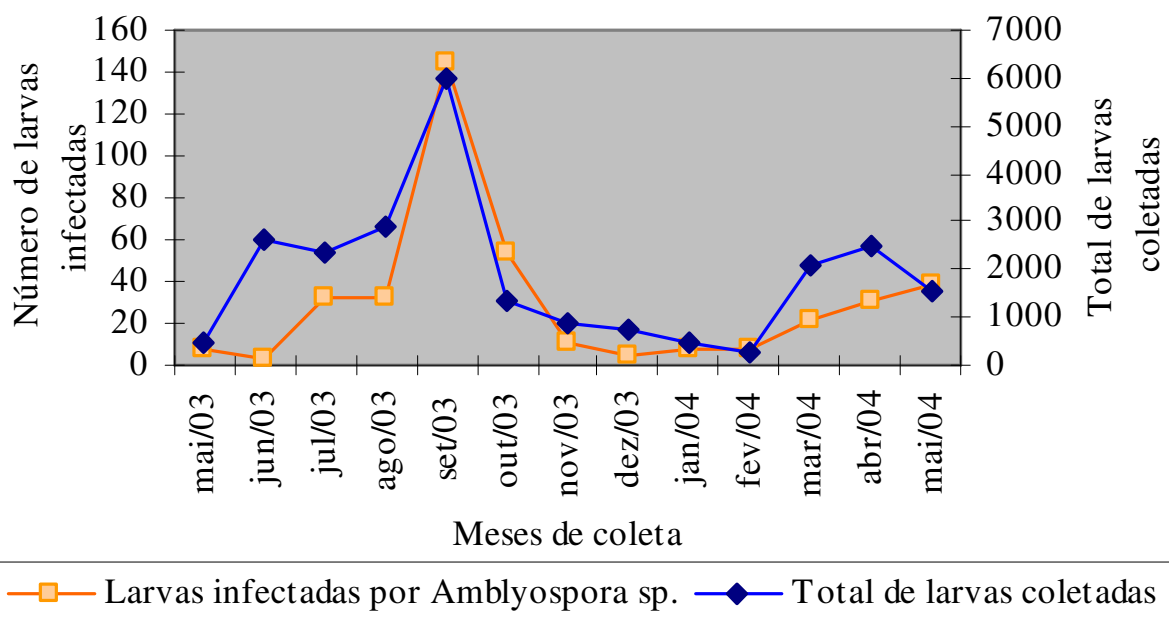


Figura 24: Distribuição sazonal de *Amblyospora* sp. encontrado infectando larvas de *Simulium pertinax* no período 2003-2004, no rio Santo Aleixo – Magé - RJ.

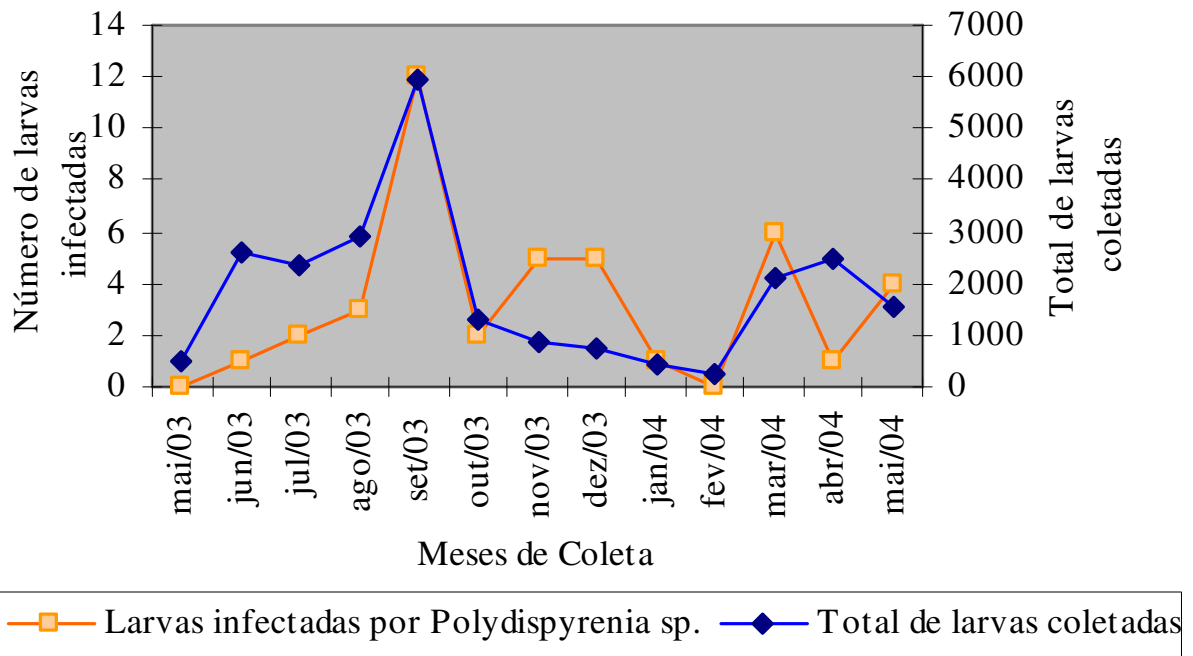


Figura 25: Distribuição sazonal de *Polydispyrenia* sp. encontrado infectando larvas de *Simulium pertinax* no período 2003-2004, no rio Santo Aleixo – Magé - RJ.

4.3.1 Teste de similaridade para ocorrência de infecção

Na similaridade de ocorrência de infecção nos dois períodos de estudo, foi conferida uma similaridade parasitária de 59,34 %, o que é considerada uma similaridade fraca. Então se pode dizer que as infecções pelos gêneros de microsporídeos encontrados não seguem o mesmo padrão.

4.3.2 Associação real interespecífica pelo índice de afinidade de Fager

Para os dados bióticos sazonais dos dois períodos de estudo, foi possível observar que o $T_{\text{calculado}} = 15,4540 > T_{\text{tabelado}} 1 \% = 3,91$. Por isso, pode ser concluído que o índice de afinidade real foi significativo, e então, as infecções por *Amblyospora* sp. e *Polydispyrenia* sp. em larvas de *Simulium* (*Ch.*) *pertinax* não sofrem influência uma da outra.

4.3.3 Correlação entre a temperatura da água do criadouro natural e as infecções por microsporídeos.

Para a correlação linear (r de Pearson) entre o total de larvas de *Simulium* (*Ch.*) *pertinax* infectadas por microsporídeos com a temperatura da água, nos períodos de estudo, foi obtida uma correlação negativa e significativa ($r = -0,52$ com $P < 0,05$). A correlação entre a temperatura da água com as infecções por *Amblyospora* sp. no primeiro período de estudo (2001-2002) foi negativa, considerada forte e significativa ($r = -0,65$ com $P < 0,05$), e no segundo ano (2003-2004) também verificou-se correlação negativa ($r = -0,43$, com $P < 0,05$), significativa e considerada apreciável. *Polydispyrenia* sp. demonstrou ausência de correlação ($r = -0,10$ com $P < 0,05$) no primeiro período (2001-2001) e no segundo período de estudo (2003-2004) ($r = 0,10$ com $P < 0,05$), uma correlação não significativa. A interpretação da correlação foi segundo a tabela de Rugg.

Para dirimir possível influência do tamanho da amostra na correlação, utilizou-se a taxa de infecção para as 77 semanas envolvidas no estudo, onde foi observada uma taxa de 1,86 % para as infecções de larvas de *Simulium (Ch.) pertinax* por microsporídeos, 1,72 % de taxa de infecção para o gênero *Amblyospora* e 0,14 % para o gênero *Polydispyrenia* (Tabela 6).

O primeiro período de estudo (2001-2002), na análise de correlação entre a temperatura da água do criadouro e a taxa de infecção do total de larvas de *S. (Ch.) pertinax* coletadas, a correlação não foi significativa ($r = -0,45$ com $P < 0,05$). Já entre a temperatura da água e a taxa de infecção das larvas infectadas apresentou correlação negativa forte e significativa ($r = -0,69$ com $P < 0,05$); assim como para as infecções por *Amblyospora* sp. a correlação também foi negativa, forte e significativa ($r = -0,64$ com $P < 0,05$), e foi observada ausência de correlação para as infecções por *Polydispyrenia* sp. ($r = -0,17$ com $P < 0,05$), e neste caso não foi verificada significância para os valores desta correlação.

Para a precipitação pluviométrica mensal no período (2001-2002), foram obtidas as seguintes correlações: com a temperatura ($r = 0,76$ com $P < 0,05$), uma correlação forte e significativa; com a taxa de infecção do total de larvas coletadas ($r = -0,66$ com $P < 0,05$), também uma correlação forte e significativa; com a taxa de infecção do total de larvas infectadas ($r = -0,48$ com $P < 0,05$), a correlação não foi significativa; com a taxa de infecção de larvas infectadas por *Amblyospora* sp. ($r = -0,68$ com $P < 0,05$) foi conferida uma correlação significativa forte e com a taxa de infecção de larvas infectadas por *Polydispyrenia* sp. foi observada ausência de correlação ($r = 0,11$ com $P < 0,05$), onde não foi conferida significância para os valores desta correlação.

No segundo período de estudo (2003-2004), a correlação entre a temperatura da água do criadouro e a taxa de infecção do total de larvas de *S. (Ch.) pertinax* coletadas não foi significativa ($r = -0,54$ com $P < 0,05$). Já a temperatura e a taxa de infecção de larvas infectadas apresentou ausência de correlação ($r = -0,01$ com $P < 0,05$); enquanto para as infecções por *Amblyospora* sp. não houve uma correlação significativa ($r = -0,09$ com $P < 0,05$), e para as infecções por *Polydispyrenia* sp. a correlação também não foi significativa ($r = 0,37$ com $P < 0,05$).

Para os dados de precipitação pluviométrica mensal no período (2003-2004), foram obtidas as seguintes correlações: com a temperatura ($r = 0,65$ com $P < 0,05$), uma correlação forte e significativa; com a taxa de infecção do total de larvas coletadas ($r = -0,58$ com $P < 0,05$), também apresentou correlação forte e significativa; com a taxa de infecção do total de larvas infectadas ($r = 0,31$ com $P < 0,05$), a correlação não foi significativa; com a taxa de infecção de larvas infectadas por *Amblyospora* sp. ($r = -0,20$ com $P < 0,05$) a correlação também não foi significativa, assim como para a taxa de infecção de larvas infectadas por *Polydispyrenia* sp. ($r = 0,20$ com $P < 0,05$) onde a correlação não foi significativa. Ressaltando que foi utilizada a convenção adotada na tabela de Rugg para a discriminação das correlações, como termo de comparação.

Tabela 6: Dados da temperatura do criadouro natural de larvas de *Simulium pertinax* distribuídos por classes, e a relação destes com o número e o percentual de larvas infectadas pelos gêneros de microsporídeos encontrados nos dois períodos de desenvolvimento do trabalho (maio de 2001-2002 e maio 2003-2004).

Estratificação dos dados obtidos no rio Santo Aleixo, nos dois períodos de estudo (2001-2002 / 2003-2004).								
Classe	Temperatura °C	<i>Amblyospora</i>	<i>Polydispyrenia</i>	TLI	TLC	P A	P P	PTLI
C1	17,0 - 19,0	108	4	112	6043	1,79%	0,07%	1,85%
C2	19,0 - 21,0	113	12	125	8991	1,26%	0,13%	1,39%
C3	21,0 - 23,0	303	20	323	13858	2,19%	0,14%	2,33%
C4	23,0 - 25,0	71	12	83	5417	1,31%	0,22%	1,53%
C5	25,0 - 27,0	2	0	2	451	0,44%	0,00%	0,44%
Σ		597	48	645	34719	1,72%	0,14%	1,86%

Legenda:

TLI - Total de Larvas de *Simulium (Ch.) pertinax* Infectadas

TLC - Total de Larvas de *Simulium (Ch.) pertinax* Coletadas

P A - Percentual de Larvas de *Simulium (Ch.) pertinax* infectadas por *Amblyospora* sp.

P P - Percentual de Larvas de *Simulium (Ch.) pertinax* infectadas por *Polydispyrenia* sp.

PTLI - Pecental do Total de Larvas de *Simulium (Ch.) pertinax* Infectadas

5.0 DISCUSSÃO

A despeito da identificação dos microsporídeos ter sido baseada nos parâmetros morfológicos e de medidas de esporos, só foi possível a realização desta ao nível de gênero, onde foram observados dois gêneros *Amblyospora* e *Polydispyrenia* sp.

A identificação de *Amblyospora* sp. apresentou semelhança com duas espécies, *Amblyospora bracteata* e *Amblyospora varians*, descritas em simulídeos na América do Norte e Europa, respectivamente (Vavra e Undeen, 1981). Com isso, foi constatado que a identificação apenas com as características morfológicas não foi suficiente para a identificação específica, então este não pode ser o único critério utilizado, fazendo-se necessária além da caracterização morfológica a molecular.

Quanto ao gênero *Polydispyrenia*, a espécie tipo é *Polydispyrenia simulii* (Lutz e Splendor, 1908), que foi descrita no Brasil infectando larvas de *Simulium pertinax* e *Simulium perflavum* (Sprague *et al.* 1992). Embora *Polydispyrenia* sp. detectada neste trabalho em larvas de *Simulium pertinax* apresente semelhança com os caracteres morfológicos da espécie descrita por Lutz & Splendor (1908), existe uma considerável diferença nas dimensões morfológicas do esporo relatado, onde os autores citados descreveram com medidas de 4,5 – 5,5 x 2,5 – 3,5 μm , e no presente estudo os mesmos variam de $7,0 \pm 0,6 \times 4,9 \pm 0,8 \mu\text{m}$. Por esta razão não foi determinada a espécie presente, e com isso se pôde observar a necessidade da utilização de técnicas moleculares de caracterização aliada à caracterização morfológica. Existem estudos realizados por vários autores que mostram outras espécies do gênero *Polydispyrenia* parasitando várias espécies de simulídeos na Região neotropical (Marino *et al.* 1980; Takaoka, 1980; Torres *et al.* 1991).

Os dados abióticos mensurados para a região, como temperatura máxima e temperatura mínima ambiente e precipitação pluviométrica, enquadram-se dentro dos limites observados na mesma região num período de 10 anos. Tal fato demonstra que o período de estudo não foi atípico em relação aos fatores abióticos.

A variação da abundância de *Simulium pertinax* não se comportou conforme citado em literatura, onde em geral, o aumento da população larval ocorre nos meses de outubro a abril (estação úmida) (Araújo-Coutinho, 1993), e neste rio foi observado o oposto, fato que pode ser justificado por tratar-se de um rio de alta drenagem, onde é notável que nos meses de junho a outubro (estação seca) houve aumento na população hospedeira no local de coleta. Segundo Peterson (1956), que analisou a influência da velocidade da água em populações de simulídeos em Utha – EUA, constatou preferências específicas para este fator, relacionando-a com a captação de alimentos e falência dos abanos cefálicos (estrutura morfológica). Com isso, provavelmente este fator pode ser analisado como um agente influenciador na abundância destas larvas.

O gênero de microsporídeo predominante no rio Santo Aleixo foi *Amblyospora* apresentando enzoótia nos dois períodos em que ocorreu o desenvolvimento do estudo, persistindo mesmo quando houve alta redução na população hospedeira, assim como observado por Andreadis (1999), em estudo realizado com população natural de culicídeos. No período 2001 - 2002 foram notados picos epizoóticos de junho a agosto e em outubro de 2001; a incidência desta epizootia se comportou de forma diferente no período 2003 - 2004, que aconteceu de julho a outubro de 2003 e de março a maio de 2004. Esta informação possibilitou verificar que *Amblyospora* sp. apresenta infecção crônica na população de *Simulium pertinax*, apesar de promover alguns picos epizoóticos nesta ocasião. Estudo realizado por Micieli *et al.* (2001), no período de maio de 1996 a maio de 1997 em população natural de *Aedes albifasciatus* (Diptera: Culicidae), relata um comportamento enzoótico de *Amblyospora albifasciati* coincidente com o observado neste trabalho, e os picos epizoóticos ocorreram aproximadamente nos mesmos meses em que foram conferidas epizootias neste trabalho, ou seja, de julho a outubro.

Infecções por *Amblyospora* sp. e *Polydispyrenia* sp. tem sido relatadas em diversas espécies de simulídeos na América do Sul (Garcia *et al.* 1989); apesar disso, pouco se sabe sobre seus aspectos enzoóticos, epizoóticos e os fatores-chave que atuam e regulam as microsporidioses nas populações hospedeiras nestes sistemas.

A despeito dos avanços no conhecimento dos aspectos de transmissão e da biologia do gênero *Amblyospora* em populações naturais, não existem relatos em simulídeos, por esse motivo, os resultados sobre a taxa de infecção foram discutidos confrontando com trabalhos acerca de outro hospedeiro.

A razão da taxa de infecção de larvas de *Simulium pertinax* por microsporídeos foi de 1,86 %, sendo que, esta taxa de infecção foi de 1,72 % para as infecções por *Amblyospora* sp. e 0,14 % para as infecções por *Polydispyrenia* sp. Este é um relato parecido com os de outros estudos realizados com simulídeos, onde a taxa de infecção pode variar de 0,5 % a 2,5 %, e dentre os mais freqüentes, a taxa é menor que 1 % (Crosskey, 1990), ainda que Adler *et al.* (2000), já tenham descrito uma razão de prevalência de 57 % desta taxa de infecção. Welch (1960), relatou uma taxa de prevalência para *Amblyospora* sp. (o autor supõe que provavelmente a espécie é *Amblyospora khaliulini*) variando em entre menos que 1 % até a taxa máxima de 32 % nas populações de larvas de *Aedes communis*, habitando vários lagos nas florestas, em Manitoba – Canadá, pelo período de dois anos. E o mesmo concluiu que esta espécie de microsporídeo foi responsável pela redução de 3 % a 11 % da população larval nesta localidade.

Saba *et al.* (1984) monitorou mensalmente a prevalência de *Amblyospora* sp. (o autor supõe que provavelmente a espécie é *Amblyospora indícola*) em populações de campo de larvas de *Culex sitiens* por um ano, em dois lagos na extensão da costa do Kenya, e observou que a taxa de infecção alcançou respectivamente nestes lagos de 2 % a 10 %, e de 2 % a 15 %.

A taxa de infecção de larvas por *Amblyospora* sp. encontrada neste trabalho se assemelha aos dados obtidos por Becnel & Andreadis (1999), em estudos realizados com populações de Culicidae, onde citam que provavelmente a epizootia observada é o resultado da existência de uma via de transmissão vertical. Considerando este relato e as informações aqui obtidas, tudo indica que a enzootia verificada é uma consequência da transmissão horizontal de *Amblyospora* sp. para *Simulium pertinax*, que possivelmente pode ter acontecido em todo o período de desenvolvimento deste estudo, inclusive nos meses de junho – outubro e março – maio, onde foram observadas epizootias. Esta informação prova a validade dos estudos de investigação dos mecanismos de via de transmissão horizontal de *Amblyospora* sp., incluindo em potencial um hospedeiro

intermediário, visto que Becnel & Andreadis (1999) citam a necessidade deste, no ciclo de vida do gênero *Amblyospora*.

Foram observados em algumas larvas com formação de histoblasto respiratório maduro, infectadas por *Amblyospora* sp., meiosporos uninucleados, enquanto que em larvas sem a formação de histoblasto maduro foram observados esporos uninucleados e binucleados. Segundo White *et al.* (1994), larvas de último ínstar com características de infecção do tecido adiposo apresentando meiosporos uninucleados, provavelmente foram infectadas pela via de transmissão vertical, e são estes meiosporos uninucleados que infectam os copépodos, e deste modo é iniciada uma nova seqüência de reprodução assexuada terminando num outro esporo morfologicamente distinto, o esporo uninucleado que é a forma infectante para as larvas. Quando o esporo uninucleado atinge o hospedeiro têm-se início a uma outra seqüência de esporulação que produz esporos binucleados, que são transmitidos para os ovos e serão responsáveis pela transmissão vertical. Então se pressupõem que os meiosporos observados em algumas larvas de *Simulium pertinax*, é um indicativo da existência de um hospedeiro intermediário.

Experimentos em campo com *Amblyospora connecticus* realizados por Andreadis (1991), permitiram concluir que *Amblyospora* provavelmente persiste através da sobrevivência de uma ou duas gerações de hospedeiro, sendo limitado principalmente por fatores abióticos, como a temperatura. Nas condições em que as larvas de *Simulium (Ch) pertinax* estão colonizando o rio Santo Aleixo, existe um maior favorecimento ao parasitismo pelo gênero *Amblyospora*.

O motivo de haver diferença entre o tamanho dos esporos uninucleados do gênero *Amblyospora* descritos no presente estudo, talvez seja causado por influência de fatores ambientais como a temperatura. Pois Becnel (1992), constatou que esporos de *Edhazardia aedis* (Microsporida: Amblyosporidae), um microsporídeo de mosquito, varia em tamanho de acordo com a variação da temperatura no meio; e também, Maddox & Sprenkel (1978) já haviam observado em *Vairimorpha necatrix* (Microsporida: Nosematidae), que o tamanho do esporo pode ser influenciado sob os efeitos da variação da temperatura. Ainda que não tenha sido verificada uma expressiva variação de temperatura na água no rio Santo Aleixo, e com isso a correlação entre a temperatura da água e as taxas de infecção por este

gênero não tenham demonstrado significância, este fator abiótico pode ter influenciado no tamanho dos esporos.

Ao contrário de *Amblyospora* sp., o gênero *Polydispyrenia* Canning & Hazard (1982) não teve uma forte proeminência, no primeiro período de estudo, representando somente 0,06 % da população de larvas de *Simulium* (*Ch*) *pertinax*, sendo detectado em apenas três meses de coleta (outubro, fevereiro e maio). No segundo período, este apresentou taxa de infecção de 0,17 % e uma distribuição temporal consistente, tendo presença ínfima em quase todo o período, com exceção dos meses de maio e de fevereiro.

Segundo Becnel & Andreadis (1999), *Polydispyrenia* sp. apresenta via de transmissão horizontal, e em geral, a seqüência de ocorrência dos eventos no ciclo de desenvolvimento, em sua fase de esporulação, envolve esporogonia diplocariótica múltipla do plasmódio, que passa por divisões pressupostamente envolvendo meiose, onde cada divisão produzirá oito esporos uninucleados individuais e sem a vesícula do esporóforo. O número de esporos produzidos em cada esporogonia do plasmódio é oito vezes o número de esporos diplocarióticos existentes. O encadeamento destes fatores conduzirá a uma esporogonia do plasmódio contendo esporoblastos uninucleados como o produto final desta esporulação.

Considerando os resultados das infecções por microsporídeos, os dados da precipitação pluviométrica e as temperaturas mensuradas em ambos os períodos, convém aceitar que as infecções não seguem o mesmo padrão, e talvez esta similaridade fraca entre as infecções por *Amblyospora* sp. e *Polydispyrenia* sp., se deva ao fato de tratarem-se de gêneros de microsporídeos diferentes, onde outros fatores podem estar predispondo suas ocorrências.

Nos resultados obtidos na análise de correlação, por dados absolutos de larvas infectadas, entre a temperatura da água do rio Santo Aleixo e as infecções por *Amblyospora* sp. ou por *Polydispyrenia* sp., sem expurgar o tamanho da amostra, observou-se que unicamente *Amblyospora* sp. sofreu influência da temperatura da água do criadouro, mostrando uma forte correlação negativa no primeiro período, embora no segundo ano de estudo também tenha sido verificada uma correlação apreciável.

Embora haja significância entre os dados na correlação anterior, a mesma análise foi realizada utilizando-se as taxas de infecção ao invés dos números absolutos, com intuito de verificar se o tamanho amostral teve influência no resultado. Foi observado que não houve correlação entre a temperatura e a taxa de infecção em nenhum dos dois períodos para os gêneros de microsporídeos encontrados, então provavelmente o tamanho da amostra influenciou na análise de correlação com os valores absolutos. Além disso, foi aplicado o coeficiente de correlação com a precipitação pluviométrica, e somente para o primeiro período houve correlação forte para *Amblyospora* sp. Este resultado permitiu observar que tanto a temperatura da água quanto a precipitação pluviométrica não influenciaram na taxa de infecção por microsporídeos. Desse modo, é cabível dizer que as taxas de infecção não apresentaram correlação com os fatores abióticos, no rio Santo Aleixo, pelo fato deste ser um criadouro de alta drenagem, onde o comportamento do hospedeiro diferenciou daquele observado em criadouros com drenagem dentro dos parâmetros da normalidade, e ainda pelo motivo das temperaturas máxima e mínima para o período não terem variado muito, estando dentro dos limites observados como ótimo para as infecções por microsporídeos (Undeen *et al.* 1993; Becnel & Undeen, 1992; Fowler & Reeves, 1975). No entanto, estes resultados de correlação vão ao encontro com os relatados por Saba *et al.* (1984), que observou em populações naturais de larvas de *Culex sitiens*, que a taxa de infecção por *Amblyospora* não apresentou correlação significativa com a temperatura, e nem com a precipitação pluviométrica.

De acordo com a revisão realizada por Issi (1986), os fatores ambientais realmente influenciam o sistema parasito-hospedeiro, em tratando-se de microsporídeos. A maioria dos trabalhos demonstra que os ótimos de temperatura para microsporídeos e os seus hospedeiros são similares, e que temperaturas extremas são deletérias ao desenvolvimento do parasita, e neste caso, o desenvolvimento foi determinado pela dimensão dos esporos identificados a partir de larvas infectadas no campo. Também foi evidenciado em estudos que embora parasita e hospedeiro compartilhem uma amplitude térmica semelhante para desenvolvimento ótimo, o parasita aparentemente é mais sensível a temperaturas extremas do que o hospedeiro (Becnel & Undeen, 1992). Provavelmente os resultados encontrados foram influenciados pelo comportamento do hospedeiro que foi contrário ao citado em

literatura, além disso, os valores limitantes da temperatura não foram tão variáveis quanto os relatados como sendo fundamentais para interferir no desenvolvimento de *Amblyospora* sp. e *Polydispyrenia* sp.

A variação da temperatura da água é ecologicamente relevante para o tamanho amostral das larvas de *Simulium pertinax*, e neste criadouro esta variou de 17,0 °C a 27,0 °C. Considerando a análise dos dados estratificados da temperatura, nota-se que o ponto ótimo da temperatura observado no rio Santo Aleixo está dentro dos limites de 21,0 °C a 23,0 °C, em que se podem verificar aumento da população hospedeira e picos de infecção de larvas tanto por *Amblyospora* sp. como por *Polydispyrenia* sp., atingindo uma razão de prevalência de 2,33 %.

Outro estudo que relata os efeitos adversos das altas temperaturas no ciclo de vida dos microsporídeos é o de Reynolds (1970), o qual cita a inibição dos estágios de crescimento de *Vavraia culicis* em *Culex pipiens fatigans*, com temperatura em torno dos 34,0 °C, embora esta temperatura não extermine os esporos. Já Fowler & Reeves (1975), revelaram que temperaturas extremamente altas e baixas retardam o desenvolvimento de *Vairimorpha necatrix* resultando numa elevada redução de esporos nos dois diferentes hospedeiros que esta espécie apresenta. Tal fato pode ser considerado como sendo a ação que a temperatura exerce no estado metabólico do hospedeiro e do parasita, e por fim, com respaldo na afirmação de Hupin (1968) é ponderado dizer que a temperatura pode ser considerada como um ativador ou como um depressor do hospedeiro.

Com isso, é aceitável concluir que pelo motivo deste criadouro ser de alta drenagem, este fato pode ter influenciado a coleta de larvas de *Simulium pertinax*, visto que nos períodos em que estão citados na literatura como os de crescimento populacional deste hospedeiro, houve redução de larvas capturadas pela dificuldade de coleta dos espécimes, o que possivelmente influenciou os resultados de correlação com a temperatura, pois quando o tamanho da amostra foi expurgado os resultados de correlação não foram significativos. Então, a faixa de temperatura ótima para o desenvolvimento do hospedeiro e do parasito observada neste estudo, provavelmente foi influenciada pelas peculiaridades do rio, onde outros fatores podem ter influenciado as infecções nas larvas de *Simulium pertinax* por *Amblyospora* sp. e por *Polydispyrenia* sp., ressaltando que a variação da temperatura no rio Santo Aleixo não atingiu nem a temperatura ótima para a produção de esporos, nem as

temperaturas deletérias para os esporos de microsporídeos, como os já relatados em outros estudos.

6.0 CONCLUSÕES

Diante dos resultados alcançados e da inexistência de estudos que correlacionem fatores abióticos, como a temperatura da água do criadouro natural de larvas de simúlídeos com a prevalência de infecção por microsporídeos, podemos concluir que:

- Existem dois gêneros de microsporídeos parasitando larvas de *Simulium (Ch) pertinax*, no rio Santo Aleixo em Santo Aleixo – Magé, *Amblyospora* sp. e *Polydispyrenia* sp.
- Estudos de caracterização morfológica e molecular são imprescindíveis para a identificação específica dos microsporídeos encontrados em larvas de *Simulium (Chirostilbia) pertinax*.
- As infecções por *Amblyospora* sp. e *Polydispyrenia* sp. não seguem o mesmo padrão, apresentando enzootias diferentes para o período estudado.
- O gênero *Amblyospora* foi relatado apresentando dominância neste sítio de coleta, nos dois períodos em que ocorreu o desenvolvimento do trabalho.
- No primeiro ano de estudo 2001-2002, foram observados picos de infecção por *Amblyospora* sp. nos meses de junho, julho, agosto e outubro.
- No segundo ano de estudo 2003-2004, foram constatadas epizootias de infecção por *Amblyospora* sp. nos meses de julho, agosto, setembro e outubro de 2003, e em março, abril e maio de 2004.
- Nas condições em que as larvas de *Simulium (Ch) pertinax* estão colonizando este criadouro, existe um maior favorecimento ao parasitismo pelo gênero *Amblyospora*.
- Foi verificado que a faixa ótima de temperatura observada no rio Santo Aleixo está dentro dos limites de 21 °C a 23 °C, onde foram notados aumento da população hospedeira, com picos de infecções em larvas de *Simulium (Ch) pertinax* tanto por *Amblyospora* sp. quanto por *Polydispyrenia* sp.

- Na correlação entre a temperatura da água do criadouro natural com os valores absolutos de larvas de *Simulium (Ch) pertinax* infectadas por *Amblyospora* sp., foi observada uma correlação forte para o primeiro período e uma correlação apreciável para o segundo período enquanto *Polydispyrenia* sp apresentou ausência de correlação em ambos os períodos. No entanto, quando o tamanho da amostra foi expurgado, observou-se que a temperatura da água do criadouro natural não apresentou influência na infecção das larvas de *Simulium (Ch) pertinax*, por *Amblyospora* sp. e por *Polydispyrenia* sp. A correlação verificada entre a temperatura da água do rio Santo Aleixo e a taxa de infecção por *Amblyospora* sp. e *Polydispyrenia* sp. não foi significativa, assim como para os dados de precipitação pluviométrica.

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLER P.H.; BECNEL, J.J.; MOSER, B.A. Molecular characterization and taxonomy of a new species of Caudosporidae (Microspora) from black flies (Diptera: Simuliidae), with host-derived relationships of the North American Caudosporids. **J. Invertebr. Pathol.** v. 75, p.133-143, 2000.

ADLER P.H.; MCCREADIE J.W. The hidden ecology of black flies: sibling species and ecological scale. **Am. Entomol.** v. 43, p.153-161, 1997.

ANDERSON, R.M. The population dynamics of microparasites and their invertebrate hosts. **Philos. Trans. R. Soc. Lond.** v. 291, p.451-524, 1982.

ANDRADE, C.F.S. **Ecologia da Supressão de Populações de Culicídeos e Simulídeos.** 1989. Tese (Doutorado) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. Campinas.

ANDRADE, C.F.S. Manejo integrado de borrachudos. In: XI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 1989. **Anais do Evento.** Campinas: Fundação Cargill, 1989. p.141-157.

ANDRADE, C.F.S.; Campos, J. Efetividade de Bactivec, a base de *Bacillus thuringiensis* H-14 no controle de *Simulium pertinax* (Diptera, Simuliidae). **Revta. Patol. Trop.** v. 24, p.275-281, 1995.

ANDREADIS, T.G. Life cycle, epizootiology, and horizontal transmission of *Amblyospora* sp. (Microspora: Amblyosporidae) in a univoltine mosquito, *Aedes stimulans*. **J. Invertebr. Pathol.** v. 46, p.31-46, 1985 a.

ANDREADIS, T.G. Experimental transmission of a microsporidian pathogen from mosquitoes to an alternate copepod host. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** v. 82, p.5574-5577, 1985 b.

ANDREADIS, T.G. Epizootiology of *Amblyospora connecticus* (Microsporida) in field populations of the salt marsh mosquito, *Aedes cantator*, and the cyclopoid copepod *Acanthocyclops vernalis*. **J. Protozool.** v. 37, p.174-182, 1990.

ANDREADIS, T.G. Experimental observations on the longevity at meiospores at *Amblyospora connecticus* (Microsporida). **J. Invertebr. Pathol.** v. 58, p.458-460, 1991.

ANDREADIS, T.G. Epizootiology of *Amblyospora stimuli* (Microsporidia: Amblyosporidae) infection in field populations of a univoltine mosquito, *Aedes stimulans* (Diptera: Culicidae), inhabiting a temporary vernal pool. **J. Invertebr. Pathol.** v. 74, p.198-205, 1999.

ANTHONY, D.W.; SAVAGE, K.E.; HAZARD, E.I.; AVERY, S.W.; BOSTON, M.D.; OLDACRE, S.W. Field tests with *Nosema algerae* Vavra and Undeen (Microsporida, Nosematidae) against *Anopheles albimanus* Wiedmann in Panama. **Misc. Pub. Entomol. Soc. Am.** v. 11, p.17, 1978.

ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C. **Abundância sazonal da população de formas imaturas de *Simulium pertinax* Kollar, 1832 (Diptera: Simuliidae) e da entomofauna associada, no município de Paraty, RJ.** 1993. Dissertação (Mestrado) - Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1993.

ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C. Biological Control Program against Simuliids in the State of São Paulo. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v. 90, p.131-133, 1995.

ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C. **Avaliação do impacto no ambiente lótico de atividades de controle larvário de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* Kollar, 1832 (Diptera,**

Simuliidae) com o uso de *Bacillus thuringiensis* sorovar *israelensis* e Temephos, no município de Paraty, no estado do Rio de Janeiro. 1998. Tese (Doutorado) - Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1998.

ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C.; LACEY L.A. Controle de simulídeos com concentrado emulsionável de *Bacillus thuringiensis*. **Bol of Sanit Panam.** v. 108, p.213-219, 1990.

ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C.; MAIA-HERZOG, M.; SOUZA B.C. Levantamento das espécies do gênero *Simulium* Latreille (Díptera: Simuliidae) no litoral norte do estado de São Paulo. **Revta. Bras. Ent.** v. 32, n. 1, p.11-17, 1988.

ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C.; NASCIMENTO, E.S.; FIGUEIRÓ, R.; BECNEL, J.J. Seasonality and prevalence rates of microsporidia in *Simulium pertinax* (Diptera: Simuliidae) larvae in the region of Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro, Brasil. **J. Invertebr. Pathol.** v. 85, p.188-191, 2004.

BALBIANI, G. Sur les microsporidies ou psorospermies des articules. **C. R. Acad. Sei.** v. 95, p.1168-1171, 1882.

BECNEL, J.J. Microsporidian sexuality in culicine mosquitoes. In: SAMSON, R.A., VLAK, J.M., PETERS, D. (Eds.). **Fundamental and Applied Aspects of Invertebrate Pathology.** Fourth Intl. Colloq. Invertebr. Pathol. Veldhoven: The Netherlands, 1986. 331p.

BECNEL, J.J. Horizontal transmission and subsequent development of *Amblyospora californica* (Microsporida: Amblyosporidae) in the intermediate and definitive hosts. **Dis. Aquat. Org.** v. 13, p.17-28, 1992.

BECNEL, J.J. Complementary techniques: Preparations of entomopathogens and diseased specimens for more detailed study using microscopy. In: LACEY, L. A. (Ed.). **Manual of**

Techniques in Insect Pathology. Biological Techniques Series. Academic Press: London, 1997. p337-353.

BECNEL, J.J.; ANDREADIS, T.G. Microsporidia in insects. In: WITTNER, M. (Ed.). **Microsporidia and Microsporidiosis.** American Society for Microbiology: Washington, D.C., 1999. p447-501.

BECNEL, J.J.; HAZARD, E.I.; FUKUDA, T.; SPRAGUE V. Life cycle of *Culicospora magna* (Kudo, 1920) (Microsporida, Culicosporidae) in *Cu/ex restuans* Theobold with special reference to sexuality. **J. Protozool.** v. 34. p.313-322, 1987.

BECNEL, J.J.; SPRAGUE, V.; FUKUDA, T.; HAZARD, E.I. Development of *Edhazardia aedis* (Kudo, 1930) n. gen., n. comb. (Microsporida: Amblyosporidae) in the mosquito *Aedes aegypti*_(L.) (Diptera: Culicidae). **J. Protozool.** v. 36, p.119-130, 1989.

BECNEL, J.J.; UNDEEN, A.H. Influence of temperature on developmental parameters of the parasite/host system *Edhazardia aedis* (Microsporida: Amblyosporidae) and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **J. Invertebr. Pathol.** .v 60, p.299-303, 1992.

BROOKS, W.M. Production and efficacy of protozoa. **Biotech. Bioeng.** v. 22, p1415-1440, 1980.

BROOKS, W.M. Entomogenous protozoa. In: IGNOFFO C. M. (Ed.). **Handbook of Natural Pesticides.** CRC Press: Boca Raton, Fla, 1988. vol.5. p.1-149.

CAMPOS, J.; ANDRADE, C.F.S., Considerações sobre os simulídeos (Diptera, Nematocera) e o seu controle. **Entomol. y Vect.** v. 8, p.27-50, 2001.

CANNING, E.U. An evaluation of protozoal characteristics in relation to biological control of pests. **Parasitology.** v. 84, p.119-149, 1982.

CANNING, E.U. Microspora. In: MARGULIS, L., CORLISS, J.O., MELKONIAN, M., CHAPMAN, D., JONES, J. (Eds.). **Handbook of Protoctista**. Bartlett, Boston. 1990. p.53-72.

CANNING, E.U.; HAZARD, E.I. Genus *Pleistophora* Gurley, 1893: an assemblage of at least three genera. **J. Protozool.** v. 29, p.39-49, 1982.

CANNING, E.U.; HULLS, R.H. A microsporidan infection of *Anopheles gambiae* Giles, from Tanzania: interpretation of its mode of transmission and notes on *Nosema* infection in mosquitoes. **J. Protozool.** v. 17, p.532-539, 1970.

CASTELLO BRANCO JR. A. **Patologia e epizootiologia de *Simulium pertinax* (Diptera: Simuliidae) infectado por *Polydispyrenia simulii* (Microspora; Duboscqiidae) e *Gastromermis viridis* cf. (Nematoda; Mermithidae)**. 1994. 120p. Tese (Doutorado) - Unicamp, Campinas.

CASTELLO BRANCO JR. A.; HABIB, M.E.M. Estudos histopatológicos em diferentes estágios de desenvolvimento de *Simulium pertinax* (Diptera: Simuliidae) infectado por *Polydispyrenia simulii* (Microspora; Duboscqiidae), p. 328. In: RESUMOS CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15, 1995 a, Caxambu. **Anais do Evento**. 1995 a. p809.

CASTELLO BRANCO JR. A.; HABIB, M.E.M. Influência da infecção por *Polydispyrenia simulii* (Microspora; Duboscqiidae) nas gônadas de *Simulium pertinax* (Diptera: Simuliidae), p. 329. In: RESUMOS CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15, 1995 b, Caxambu. **Anais do Evento**. 1995 b. p.809.

CASTELLO BRANCO JR. A. Effects of *Polydispyrenia simulii* (Microspora; Duboscqiidae) on development of the gonads of *Simulium pertinax* (Diptera: Simuliidae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v. 94, p.421-424, 1999.

CHANCE, M.M. The functional morphology of the mouthparts of blackfly larvae (Diptera: Simuliidae). **Quaest. Ent.** v. 6, p.245-284, 1970.

COLBO, M.H.; UNDEEN, A.H. Effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-target organisms in stream trials for control of Simuliidae. **Mosq. news** v. 40, n.3, p.369-376, 1980.

COLBO, M.H.; WOTTON, R.S. Preimaginal Blackfly Bionomics. In: LAIRD, M. (Ed.). **Blackflies: The future for biological methods in integrated control.** Academic Press, 1981.

COSCARÓN, S. Notas sobre simúlidos neotropicales XI. Sobre el subgénero *Simulium* (*Chirostilbia*) Enderlein, con la descripción de los especies nuevas del S.E. del Brasil (Diptera, Insecta). **Rev. Soc. Entomol. Argent.** v. 40, p.157-164, 1981.

COSCARÓN, S. **Fauna de Agua Dulce de la República Argentina (Insecta Diptera).** Fascículo 1. Buenos Aires: Fundación para la Educación. La Ciencia y la Cultura, 1981.

COSCARÓN, S. **El Género *Simulium* Latreille en la Región Neotropical: Análisis de los Grupos Suprespecíficos. Especies que los Integran y Distribución Geográfica (Simuliidae, Diptera).** Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi, 1987.

COSCARÓN, S. Los Estudios Ecológicos en Simúlidos Neotropicales (Diptera: Insecta). In: XI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA. 1989, Campinas. Fundação Cargill, 1989. p69-98.

COSCARÓN, S. **Fauna de Agua Dulce de la República Argentina.** Fascículo 2. Buenos Aires: Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura, 1991.

COUCH, T.L. Industrial fermentation and formulation of entomopathogenic Bacteria. In: CHARLES, J.F.; DELÉCLUSE, A.; NIELSEN-LEROUX C. (Eds.). **Entomopathogenic**

Bacteria: from Laboratory to Field Application, Kluwer: Academic Publishers, Dordrecht, 2000. p.297-314.

CROSSKEY, R.W. **The Natural History of Blackflies**. London, The British Museum of Natural History. 1990. 711p.

CROSSKEY, R.W. **First Update to the Taxonomic and Geographical Inventory of World Blackflies (Diptera: Simuliidae)**. London, The Natural History Museum, 1999. 13p.

CROSSKEY, R.W. **Second Update to the Taxonomic and Geographical Inventory of World Blackflies (Diptera: Simuliidae)**. London, The Natural History Museum, 2002. 14p.

CROSSKEY, R.W.; HOWARD, T. **A New Taxonomic and Geographical Inventory of Blackflies (Diptera: Simuliidae)**. London, The Natural History Museum, 1997. 144p.

CUMMINS, K.W. Trophic relations of aquatic insects. **Annual Review of Entomology**, v. 18, p.183-206, 1973.

CUMMINS, K.W. The functional role of black flies in stream ecosystems. In: KIM K.C., MERRIT, R.W. (Eds.). **Black flies: Ecology, Population Management, and Annotated World List**. The Pennsylvania State University: University Park, P.A., 1987. p.1-10.

D'ANDRETTA JR., C.; D'ANDRETTA, M.A.V. Espécies neotropicais da família Simuliidae Schiner (Diptera, Nematocera), IV - Redescricao do *Simulium pertinax* Kollar, 1832. **Pap. Avuls. Depart. Zool.** v.9, p.193-231, 1950.

DEBREY, L.D.; LOCKWOOD, J.A. Effects of sediment and flow regime on the aquatic insects of a high mountain stream. **Regul. Riv.** v.5, p.241-250, 1990.

DELPHY, J. Sous-regne des Protozoaires. In: PERRIER R, (Ed.). **La Faune de la France et Tableaux Synoptiques Illustrés**. Delagrave: Paris, IA, PZI-PZ95, 1936.

FAGER, E.W. Determination and analysis of recurrent groups. **Ecology** v.38, p.586-595, 1957.

FIGUERÊDO, M.A. Gênese e (re)produção do espaço da baixada fluminense. **Revista geopaisagem** (on line). Revista indexada ao Latindex. v.3, n.5, 2004.

FOWLER, J.L.; REEVES, E.L. In vivo propagation of a microsporidian pathogenic to insects. **J. Invertebr. Pathol.** v.25, p.349-353, 1975.

GARCIA, J. J.; HAZARD, E. I.; FUKUDA, T. Preliminary report of microsporidia in Simuliidae larvae from Argentina. **J. Amer. Mosquito Control Assoc.** v.5, p.64-69, 1989.

GARCIA, J.J.; MICELI, M.V. Potencial de los microsporídios (Microspora) para el controle de mosquitos (Diptera: Culiciidae) em la Argentina. **Rev. Soc. Entomol. Argent.** v.58, n.1-2, p.34-41, 1999.

GERAIS, B.B.; RIBEIRO, T.C. Relatos de casos de Oncocercose: primeiro caso autóctone da região Centro-Oeste do Brasil. **Rev. Soc. Br. Med. Trop.** v.19, n.2, p.105-107, 1986.

GILLER, P.S.; SANGPRADUS, N.; TWOMEY, H. Catastrophic flooding and invertebrate community structure. **Verh. Int. Verein. Limnol.** v.24, p.1724-1729, 1991.

GINARTE, C.A.; ANDRADE, C.F.S.; GAONA, J.C. Larvas de simulídeos (Diptera, Simuliidae) do Centro Oeste, Sudeste e Sul do Brasil, parasitadas por microsporídeos (Protozoa) e Mermitídeos (Nematoda). **Iheringia, Ser. Zool.** Porto Alegre. v.93, n.3, p.325-334, 2003.

HAZARD, E.I. Microsporidia (Microspora) (Protozoa). In: CHAPMAN HC (Ed.). Biological Control of Mosquitoes. **Am. Mosq. Control Assoc. Bull.** v.6., p.51, 1975.

HAZARD, E.I.; FUKUDA, T.; BECNEL, J.J. Life cycle of *Culicopsorella lunata* (Hazard & Savage, 1970) Weiser, 1977 (Microspora) as revealed in the light microscope with a redescription of the genus and species. **J. Protozool.** v.31, p.385, 1984.

HAZARD, E.I.; FUKUDA, T.; BECNEL, J.J. Gametogenesis and plasmogamy in certain species of Microspora. **J. Invertebr. Pathol.** v.46, p.63, 1985.

HAZARD, E.I.; OLDACRE, S.W. Revision of Microsporidia (Protozoa) Close to *Thelohania* with Descriptions of One New Family, Eight New Genera, and Thirteen New Species. **U.S. Dept. Agric. Tech. Bull.** v.1530, p.1-104, 1975.

HAZARD, E.I.; WEISER, J. Spores in *Thelohania* in adult female *Anopheles*: Development and transovarial transmission and redescrptions of *T. legeri* Hesse and *T. obesa* Kudo. **J. Protozool.** v.15, p.817-823, 1968.

HURPIN, B. The influence of temperature and larval stage on certain diseases of *Melolontha melolontha*. **J. Invertebr. Pathol.** v.10, p.252-262, 1968.

IBAMA. Unidades de Conservação. Parques Nacionais. **Parque Nacional da Serra dos Órgãos.** Rio de Janeiro, 2002. Disponível em: <<http://www2.ibama.gov.br/unidade/parques/reuc/1003.htm>> Acesso em 5 nov. 2003.

ISSI, I.V. Microsporidia as a phylum of parasitic protozoa. **Acad. Sci. U.S.S.R. "Protozoology"**: Leningrad, (In Russian with English summary) v.10, p.6-136, 1986.

JAMNBACK, H. Recent development in control of black flies. **Annu. Rev. Entomol.** v.18, p.281-304, 1973.

- KIEL, E. Effects of Aufwuchs on colonization by simuliids (Simuliidae, Diptera). **Int. Rev. Ges. Hydrobiol.** v.81, p.565-576, 1996.
- KIEL, E., BÖGE, F.; RÜHM, W. Sustained effects of larval blackfly settlement on further substrate colonisers. **Arch. Hydrobiol.** v.141, n.2, p.153-166, 1998.
- KOLLAR, V. Die vorzüglich lästigen Insecten Brasiliens. In: POHL. J.E. (Ed.). **Reise im Innern von Brasiliens**, 1832. vol. 1. p. 101- 119. 448 p.
- KRAMER, J.P. Longevity of microsporidian spores with special reference to *Octospora muscae-domesticae* Flu. **Acta Protozool.** v.8, p.127-135, 1970.
- KRAMER, J.P. The extra-corporeal ecology of microsporidia. In: BULIA L. A.; CHENG T. C. (Eds.). **Comparative Pathobiology**. Plenum Press: New York, N.Y., 1976. v.1, p.127-136.
- KUDO, R. A biologic and taxonomic study of the Microsporidia. **III. Biol. Monogr.** v.9, p.1-268, 1924.
- LACEY, L.A.; UNDEEN, A.H. The biological control potential of pathogens and parasites of black flies. In: KIM, K.C.; MERRITT, R.W. (Eds.). **Black flies Ecology, Population Management, and Annotated World List**. The Pennsylvania State University: University Park, P.A., 1987. p.327-340.
- LAKE, D.J.; BURGER, J.F. Larvas distribution and succession of outlet-breedinh blackflies (Diptera: Simuliidae) in New Hampshire. **Can. J. Zool.** v.61, p.2519-2533, 1983.
- LARSON, J.I.R. Ultracytology of a tetrasporoblastic microsporidium of the caddisfly *Holocentropus picicornes* (Trichoptera, Polycentropodidae), with description of *Episeptum inversum* gen. et. sp. nov. (Microspora, Gurleyidae). **Arch. Protistenkd.** v.131, p.257-279, 1986.

LÉGER, L. *Caryospora simplex*, Coccidie monosporée, et la classification des Coccidies. **Arch. Protistenk.** v.22. p.71-88, 1911.

LIU, T.P.; DAVIES, D.M. Fine structure of developing spores of *Thelohania bracteata* (Strinckland. 1913) (Microsporida, Nosematidae) emphasizing polar-filament formation. **J. Protozool.** v.19, p.461-469, 1972.

LORD, J.C.; HALL, D.W. Sporulation of *Amblyospora* (Microspora) in female *Culex salinarius*: Induction by 20-hydroxyecdysone. **Parasitol.** v.87, p.377-383, 1983.

LUCAROTTI, C.J.; ANDREADIS, T.G. Reproductive strategies and adaptations for survival among obligatory microsporidian and fungal parasites of mosquitoes: A comparative analysis of *Coelomomyces* and *Amblyospora*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** v.11, p.111-121, 1995.

LUTZ, A. Contribuição para o conhecimento das espécies brasileiras do gênero *Simulium*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v.1, p.124-146, 1909.

LUTZ, A. Segunda contribuição para o conhecimento das espécies brasileiras do gênero *Simulium*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v.2, p.213-267, 1910.

LUTZ, A. Terceira contribuição para o conhecimento das espécies brasileiras do gênero *Simulium* - O piium do norte (*Simulium amazonicum*). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v.9, p.63-67, 1917.

LUTZ, A. Zoologia médica – Nematoceros hematofagos não pertencentes aos Culicídeos. **A. Folha Méd.** v.3, p.89-92, 1922.

LUTZ, A.; ARAÚJO, H.C.S.; FONSECA FILHO, O. Viagem científica no Rio Paraná e a Assuncion com volta por Buenos Aires Montevideú e Rio Grande. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v.10, p.104-173, 1918.

LUTZ, A.; SPLENDORE, A. Ueber pebrine und verwandte Mikrosporidien. Zweite Mitteilung. **Centralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hig. Abt. 1. Orig.** Berlin. v.46, p.311-315, 1908.

MADDOX, J.V. The persistence of the Microsporida in the environment. **Misc. Publ. Entomol. Soc. Am.** v.9, p.99-104, 1973.

MADDOX, J.V. Stability of entomopathogenic Protozoa: environmental stability of microbial insecticides. **Misc. Publ. Entomol. Soc. Am.** v.10, p.3-18, 1977.

MADDOX, J.V. Protozoan diseases. In: FUXA J.R.; TANADA Y. (Eds.). **Epizootiology of Insect Diseases**. New York: John Wiley & Sons, 1987. p.417-452.

MADDOX, J.V. & SPRENKEL, R.K. Some enigmatic microsporidia of the genus *Nosema*. **Misc. Pub. Entomol. Soc. Am.** v.11, p.65-84, 1978.

MARDINI, L.B.L.F.; TORRES, M.A.N.; SILVEIRA, G.L.; ATZ, A.M.V. *Simulium* spp. control program in Rio Grande do Sul, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. v.95, n.1, p.211-214, 2000.

MARINO, G.; COSCARÓN, S. Estudios sobre microsporídeos de la region neotropical. 1. Sobre la presencia de *Pleistosphora simulii* (Lutz & Splendore) en la región austral de América (Microspora). **Neotrópica**. La Plata. v.25, p.127-132, 1980.

MATTHAEI, C.; UEHLINGER, U.; MEYER, E.I.; FRUTIGER, A. Recolonization by benthic invertebrates after experimental disturbance in a Swiss prealpine river. **Freshwat. Biol.** v.35, p.233-248, 1996.

MATTHÄI, C.D.; UEHLINGER, U.; FRUTIGER, A. Invertebrate recovery from a bed moving spate: the role of drift versus movements inside the substratum. **Arch. Hydrobiol.** v.140, p.221-235, 1997.

MAURAND, J. Les microsporidies dês larves de simulies: systematique, donnes cytochimiques, pathologiques et ecologiques. **Ann. Parasitol. Hum. Comp.** v.50, p.371-396, 1975.

MERRIT, R.W.; WALKER, E.D.; WILZBACH, M.A.; CUMMINS, K.W.; MORGAN, W.T. A broad evaluation of Bti for black fly (Diptera: Simuliidae) control in a Michigan river: efficacy, carry and non-target effects on invertebrates and fish. **Journ. Amer. Mosq. Cont. Assoc.** v.5, n.3, p.397-415, 1989.

MICIELI, M.V.; GARCIA, J.J.; ANDREADIS, T.G. Epizootiological studies of *Amblyospora albifasciati* (Microsporidia: Amblyosporidae) in natural populations of *Aedes albifasciatus* (Diptera: Culicidae) and *Mesocyclops annulatus* (Copepoda: Cyclopidae) in a transient floodwater habitat. **J. Invertebr. Pathol.** v.77, p.68-74, 2001.

MICIELI, M.V.; GARCIA, J.J.; BECNEL, J.J. Horizontal transmission of *Amblyospora dolosi* (Microsporidia: Amblyosporidae) to the copepod *Metacyclops mendocinus*. **J. Invertebr. Pathol.** v.72, p.330-335, 2001.

MORAES, M.A.P.; CHAVES, G.M. Um caso de oncocercose no território de Roraima, Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo. v.16, n.2, p.110-113, 1974.

NASCI, R.S.; TANG, K.H.; BECNEL, J.J.; FUKUDA, T. Effect of *per os* *Edhazardia aedis* (Microsporida: Amblyosporidae) infection on *Aedes aegypti* mortality and body size. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** v.8, p.131-136, 1992.

PARQUES NACIONAIS. **Parque Nacional da Serra dos Órgãos** - Rio de Janeiro, 2002. Disponível em: <<http://www2.ibama.gov.br/unidades/parques/parnas.htm>> Acesso em 5 nov. 2003.

PETERSON, B.V. Observations on the biology of Utah black flies (Diptera: Simuliidae). **The Can. Entomol.** v.LXXXVIII, p.496-507, 1956.

PLANCHON, J.E. Histoire d'une larve aquatique de genre *Simulium*. **Typographie et lithographie de Bohem.** Montpellier. *Apud* Colbo & Wotton, 1981, 1844.

PURI, I.M. On the life-history and structure of early stages of Simuliidae (Diptera: Nematocera). Part 1 and 11. **Parasitol.** v.17, p.295-369, *Apud* Colbo & Wotton, 1981.

REGIS, L.; SILVA, S.B.; MELO-SANTOS, M.A.V. The use of bacterial larvicides in mosquito and black fly control programmes in Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** v.95, n.1, p.207-210, 2000.

REYNOLDS, D.G. Laboratory studies of the microsporidian *Pleistophora culicis* (Weiser) infecting *Culex pipiens fatigans* Weid. **Bull. Entomol. Res.** v.60, p.339-349, 1970.

REYNOLDS, D.G. Experimental introduction of a microsporidian into a wild population of *Culex pipiens fatigans* Weid. **Bull WHO.** v.46, p.807, 1972.

RESH, V.H.; BROWN, A.E.; COVICH, A.P.; GURTZ, M.E.; LI, H.W.; MINSHALL, G.W.; REICE, S.A.; SHELDON, A.L.; WALLACE, J.B.; WISSMAR, R.C. The role of disturbance in stream ecology. **J. N. Amer. Benthol. Soc.** v.7, p.433-455, 1988.

RUAS NETO, A.L. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* como alternativa no controle de simuliídeos no Rio Grande do Sul. 1. Suscetibilidade a campo. **B. Saúde.** Porto Alegre. v.11, n.2, p.21-26, 1984.

RUAS NETO, A.L.; SOUZA, M.A.T. Controle integrado de *Simulium (Chirostilbia) pertinax* Kollar, 1832. 1. Utilização de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* em três municípios do Rio Grande do Sul. **B. Saúde**. Porto Alegre. v.12, p.17-20, 1985.

SABA, D.M.; ODINDO, M.O.; OTIENO, W.A. Seazonal incidence of *Amblyospora* sp. (Thelohaniidae: Microsporidia) in *Culex sitiens* larvae at the Kenya coast. **Insect Sci. Appl.** v.5, p.269-272, 1984.

SCHWADER, H.; TOMSKI, D. Auswirkungen von Hochwasser in einem Bergbach. DGL, **Erweite Zusammenfassungen der jahrestagung vom 21. 26.9.1990 in Essen**. p.477-481, 1990.

SERRA-FREIRE, N.M. **Planejamento e análise de pesquisas parasitológicas**. Niterói, editora EdUFF, 2002. 195 p.

SHELLEY, A.J. Human onchocerciasis in Brazil: an overview. **Cad. Saúde Pública**. v.18, n.5, p.1167-1177, 2002.

SHELLEY, A.J.; LOWRY, C.A.; MAIA-HERZOG, M.; LUNA DIAS, A.P.A.; MORAES, M.A.P. Biosystematic studies on the Simuliidae (Diptera) of the Amazonia Onchocerciasis focus. **Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Entomol.)** v.66, p.1-120, 1997.

SPRAGUE, V. Systematics of the Microsporidia. In: BULLA, L. A. CHENG, T.C. (Eds.). **Comparative Pathobiology**. Plenum Press: New York., 1977. v.2, p.1-510.

SPRAGUE, V.; BECNEL, J.J.; HAZARD, E.I. Taxonomy of phylum Microspora. **Crit. Rev. Microbial.** v.18, p.285-395, 1992.

STEFAN, A.W. Zur Statik und Dynamikim Ökosystem der FlieBgewässer und zu den Möglichkeiten ihrer Klassifizierung. **Biozoologie**. p.65-110 p, 1965.

STRIEDER, M.S.; CORSEUIL, E. Atividades de hematofagia em Simuliidae (Diptera, Nematocera) na Picada Verão. Sapiranga, Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Biológica Leopoldensia**. v.14, p.75-98, 1992.

SWEENEY, A.W.; BECNEL, J.J. Potencial of Microsporidia for the Biological Control of Mosquitoes. **Parasitol. Today**. v.7, p.217-220, 1991.

SWEENEY, A.W.; DOGGETT, S.L.; PIPER, R.G. Life cycle of *Amblyospora indicola* (Microspora: Amblyosporidae), a parasite of the mosquito *Culex sitiens* and of *Apocyclops* sp. copepods. **J. Invertebr. Pathol.** v.55, p.428-434, 1990 a.

SWEENEY, A.W.; DOGGETT, S.L.; PIPER, R.G. Host specificity studies of *Amblyospora indicola* and *Amblyospora dyxenoides* (Microspora: Amblyosporidae) in mosquitoes and copepods. **J. Invertebr. Pathol.** v.56, p.415-418, 1990 b.

SWEENEY, A.W.; HAZARD, E.I.; GRAHAM M.F. Intermediate host for an *Amblyospora* sp. (Microspora) infecting the mosquito, *Culex annulirostris*. **J. Invertebr. Pathol.** v.46, p.98-102, 1985.

SUCEN. Superintendência de controle de endemias. **Relatório das atividades do programa de controle de simulídeos**. São Paulo. Editora Sucen. 81p, 1977.

TAKAOKA, H. Pathogens of black fly larvae in Guatemala and their influence on natural populations of three species of onchocerciasis vectors. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v.29, p.467-472, 1980.

TORRES, F.O.; MUNOZ DE HOYOS, P.; ROMERO DE PÉREZ, G. Parasitismo em larvas de simulidos (Diptera: Simuliidae) del rio Teusaca: microsporídios, mermítidos y hongos. **Revta. Acad. Colomb. Cienc.** Santafe de Bogotá. v.18, p.254-264, 1991.

TOWNSEND, C.R. The patch dynamic concept of stream community ecology. **J.N. Amer. Benthol. Soc.** v.8, p.36-50, 1989.

TUZET, O.; MAURAND, J.; FIZE, A.; MICHEL, R.; FENWICK, B. Proposition d'un nouveau cadre systematique pour les genres de microsporidies. **C. R. Acad. Sci. Paris.** v.272, p.1268-1271, 1971.

UNDEEN, A.H. Microsporidia infections in adult *Simulium vittatum*. **J. Invertebr. Pathol.** Riverside. v.38, p.426-427, 1981.

UNDEEN, A.H. A proposed mechanism for the germination of microsporidian (Protozoa: Microspora) spores. **J. Theor. Biol.** v.142, p.223-235, 1990.

UNDEEN, A.H. & FRIXIONE, E. The role of osmotic pressure in the germination of *Nosema algerae* spores. **J. Protozool.** v.37, p.561-567, 1990.

UNDEEN, A.H.; JOHNSON, M.A.; BECNEL, J.J. The effects of temperature on the survival of *Edhazardia-aedis* (Microspora, Amblyosporidae), a pathogen of *Aedes-aegypti*. **J. Invertebr. Pathol.** v.61, p.303-307, 1993.

UNDEEN, A.H.; VANDER MEER, R.K. The effect of ultraviolet radiation on the germination of *Nosema algerae* Vavra and Undeen (Microsporida: Nosematidae) spores. **J. Protozool.** v.37, p.194-199, 1990.

UNDEEN, A.H.; VANDER MEER, R.K.; SMITTLE, B.J.; AVERY, S.W. The effect of gamma radiation on *Nosema algerae* (Microspora: Nosematidae) spore viability, germination and carbohydrates. **J. Protozool.** v.31, p.479-482, 1984.

UNDEEN, A.H., VAVRA, J. Research methods for entomopathogenic Protozoa. In: LACEY L.A. (Ed.). **Manual of Techniques in Insect Pathology.** Biological Techniques Series, 1997. p.117-151.

VAVRA, J. & UNDEEN, A.H. *Nosema algerae* n. sp. (Cnidospora: Microsporida) a pathogen in a laboratory colony of *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). **J Protozool.** v.17, p.240, 1970.

VAVRA, J. & UNDEEN, A.H. Microsporidia (Microspora: Microsporida) from Newfoundland blackflies (Diptera: Simuliidae). **Can. J. Zool.** v.59, p.1431-1446, 1981.

VERDAT, F.J. Memoir pour servir à l'histoire des simulies, genre d'insectes de l'ordre des diptères, famille des tipulaires; lu à la réunion de la Société helvétique des Sciences naturelles à Bâle, le 25 juillet 1821. **Naturw. Anz.** v.9, p.65-70, 1822.

VIVIANI, A.B.P.; ARAÚJO-COUTINHO, C.J.P.C. Influência da Temperatura no desenvolvimento embrionário de *Simulium pertinax* Kollar, 1832 (Diptera: Simuliidae). **Entomología y Vectores.** v.6, n.6, p.591-600, 1999.

WATERS, T.F. The drift of stream insects. **Annu. Rev. Entomol.** v.17, p.253-272, 1972.

WEISER, J. Guide for field determination of major groups of pathogens affecting arthropod vectors of human diseases. **WHO / VBC/ 82.860.** p.43, 1982.

WEISER, J. Keys for identification of primary visible infections; biological control of vectors; manual for collecting field determination and handling of biofactors for control of vectors. **WHO.** New York. p.189, 1991.

WEISER, J.; PRASERTPHON, S. Microsporidia infecting *Simulium damnosum* in Nigéria. **J. Angew. Entomol.** Berlin. v.93, p.93-100, 1982.

WEISER, J.; UNDEEN, A.H. Diseases of blackflies. In: LAIRD, M. (Ed.). **Blackflies: the future for biological methods in integrated control.** London, Academic, 1981. p.181-196.

WELCH, H.E. Effects of protozoan parasites and commensals on larvae of the mosquito *Aedes communis* (DeGeer) (Diptera: Culicidae) at Churchill, Manitoba. **J. Insect Pathol.** v.2, p.386-395, 1960.

WHITE, S.E.; FUKUDA, T.; UNDEEN, A.H. Horizontal transmission of *Amblyospora opacita* (Microspora: Amblyosporidae) between the mosquito, *Culex territans*, and copepod, *Paracyclops fimbriatus chiltoni*. **J. Invertebr. Pathol.** v.63, p.19-25, 1994.