# **UFRRJ**

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

## **TESE**

Biodiversidade de Culicidae em uma área de preservação de Mata Atlântica, Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro.

# JULIANA SOARES SARMENTO DOS SANTOS

2017



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

Biodiversidade de Culicidae em uma área de preservação de Mata Atlântica, Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro.

#### JULIANA SOARES SARMENTO DOS SANTOS

Sob a Orientação do Doutor **Jerônimo Augusto Alencar** 

e Co-orientação do Doutora Jacenir Reis dos Santos Mallet

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Biologia Animal,** no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal

Seropédica, RJ Agosto de 2017

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

#### JULIANA SOARES SARMENTO DOS SANTOS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Biologia Animal**, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, área de Concentração em Biodiversidade Animal.

	Dr. Jeronimo Alencar – FIOCRUZ/RJ
	(Orientador)
•	Dra. Helena Keiko Toma – UFRJ
Dr. Jos	sé Mário D' Almeida – Departamento Biologia Gera
-	Du Vandaulai Campas de Cilva EIOCDUZ/DI
	Dr. Vanderlei Campos da Silva – FIOCRUZ/RJ

Aos meus avós Aristides (in memorian) e Neide (in memorian), por todo apoio, oportunidades e imenso carinho depositados em minha pessoa. Vocês foram minha estrela -guia.

Dedico

Ao meu amor, João Paulo, por sempre acreditar no meu potencial e me fazer sentir
amada, obrigada por fazer parte da sua vida.
Dedico

Ao meu grande amor, minha filha Ana Júlia, pois desde o momento que soube da sua existência me tornei uma pessoa mais guerreira. Você é a luz da minha vida. Minha razão mais linda de viver.

Dedico

#### **AGRADECIMENTOS**

À **Deus** por estar presente em todos os momentos da minha vida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – **CAPES** pelo apoio financeiro recebido.

À coordenação do **Programa de Pós Graduação em Biologia Animal/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro** pela possibilidade em realizar o doutorado.

Ao meu orientador **Dr. Jeronimo Augusto Alencar** por todo ensinamento, pelos conselhos, sugestões, sabedoria, confiabilidade e todo apoio. Sem ele nada disso se realizava, meu eterno amigo.

À minha co-orientadora **Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet** por compartilhar sua sabedoria, amizade, parceria, compreensão e carinho de uma mãe. Simplesmente gratidão.

À Dra. Júlia da Silva pela amizade e atenção.

Aos meus amigos do laboratório de Diptera (MSc. Aline Tátila e as biólogas Andressa Araújo, Thaiuana Castro e Daniele Aguiar) e Laboratório LIVEDIH (Dra. Nathaniely Casado, Dra. Cristina Santos, Dra. Danielle Misael, Dra. Alice Ricardo, Dr. Renato, Dra. Simone Freitas, Dra. Catarina Macedo, Dra. Margareth Almeida, Dra. Teresa Cristina, MSc. William Marques, MSc. Michelle Serdeiro, MSc. Alexandre Oliveira, MSc. Simone Teves, MSc. Maria Luiza Ribeiro e MSc. Amanda Villas) pela amizade e parceria, com vocês até os dias mais nublados tiveram sol para iluminar.

À MSc. Cecília Mello por todas as trocas de saberes.

À MSc. Liliana Pery por ter acreditado em mim desde o primeiro dia que conversamos, você sempre será lembrada com um imenso carinho.

À MSc. Helenyr Antão pela credibilidade e inúmeras aprendizagens.

Aos meus amigos do **Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal** pelos momentos de estudos e amizade.

Aos meus amigos do Museu Nacional/RJ do laboratório de Insetos Aquáticos (Dra. Gisele Almeida, Dra. Janira Costa, Dra. Danielle Anjos-Santos e Dra. Fernanda Avelino) onde iniciei minha vida científica, o meu eterno agradecimento.

Agradeço aos **Professores do Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal da UFRRJ** e da **Fiocruz** pelos importantes ensinamentos, esses profissionais são maravilhosos.

À todos meus amigos pelo apoio e descontrações.

À minha **mãe Noralice**, que sempre demonstrou empolgação com meus estudos, e por ficar cuidando do meu bem mais precioso, quando eu estava desenvolvendo minha tese. Isso jamais irei esquecer.

À minha família, meu pai, Ozéas, irmã Danieli, sogros Julia e Paulinho, cunhados Felipe, Flávia, Daniel, Priscila e Betinho, pelo apoio e carinho, sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus cachorros Negão e Shakira por todo o amor e alegria.

Aos meus tios **Marcelo e Vânia** por me darem muito amor e por estarem sempre ao meu lado.

À minha sobrinha linda **Isabella** pela alegria, quem amo muito e quem me proporcionou momentos maravilhosos.

#### **RESUMO**

SANTOS, Juliana Soares Sarmento. Biodiversidade de Culicidae em uma área de preservação de Mata Atlântica, Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro. 2017. 94p.Tese (Doutorado em Biologia Animal, Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Neste estudo apresentamos os culicídeos que são insetos pertencentes à ordem Diptera, Subordem Nematocera, família Culicidae. Distribuídos em duas subfamílias, Anophelinae e Culicinae, são insetos alados e na grande maioria as fêmeas são hematófagas. Culicíneos são incriminados vetores de patógenos causadores de doenças como Dengue, Febre Amarela dentre outras, abrangendo cerca de 3600 espécies, distribuídas em 11 tribos, constituídas por 46 gêneros. No Brasil, os estudos sobre a ecologia de mosquitos em áreas de preservação ambiental ainda são incipientes. A relevância do conhecimento da fauna de culicídeos está associada principalmente ao papel que desempenham na transmissão de patógenos ao homem e a outros vertebrados. Todo o trabalho foi desenvolvido na Reserva Ecológica de Guapiaçu (REGUA, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil) apresenta uma área de 7.385 hectares, sua formação fitoecológica é de Floresta Ombrófila Densa e está situada na Serra do Mar. Foram designados dois pontos de coletas, ponto A (trilha amarela) e ponto B (trilha verde). O levantamento faunístico resultou em 3.289 espécimes coletados, abrangendo as duas subfamílias, 14 gêneros e 47 espécies ao longo do período de coleta, compreendendo dois anos. A maioria dos espécimes foram coletados por meio de armadilhas luminosas, tipo CDC (3092 vs 197 com armadilha Shannon), e os mosquitos coletados no ponto B foram com armadilha de Shannon. Foram também coletados 2697 imaturos, em diversos criadouros, tais como: banhado, oco de árvore ,casca de fruta, alagadiço no solo, telha de amianto, bromélia, bambu, escavação em rocha dentre outras. Neste trabalho também foram analisadas morfologicamente duas espécies de culicídeos, sendo observadas em seu estágio de ovo através do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). Ovos de Aedes fluviatilis são geralmente depositados individualmente e diretamente sobre a água, estes ovos apresentam uma coloração negra com formato elíptico comprimento:  $722.8 \pm 39.5 \mu m$ ; largura:  $177.9 \pm 9.78 \mu m$  e têm um afunilamento em uma de suas extremidades. A ornamentação das células coriônicas consiste em células de formas irregulares,  $27.2 \pm 5.9 \mu m$ , tubérculos de  $3.2 \pm 0.57 \mu m$ encontrados nas células da superfície ventral. Os ovos de Culex bastagarius são de coloração negra, ovipostos em conjunto formando uma jangada e apresentam formato cônico com a aproximadamente 509 µm de comprimento e 131,7 µm de largura na região central. Nas extremidades, a área anterior do ovo apresenta 153 µm e 88,9 µm na região posterior. A superfície dorsal (anterior) do revestimento coriônico apresenta células coriônicas de diversos formatos (hexagonal e pentagonal). Os tubérculos (dorsal) apresentam formato arredondado, assim como o descritos em outras espécies de culicídeos como o gênero Ochlerotatus. Análise das variações do tamanho da asa de Culex bastagarius revelou variabilidade fenotípica significativa no tamanho da asa entre populações; no entanto, não foram observadas diferenças significativas no formato da asa. Os resultados sugerem a existência de plasticidade fenotípica em tamanho da asa, em resposta as variações sazonais.

Palavras-chave: Culicidae. Biodiversidade. Morfologia. Morfometria

#### **ABSTRACT**

SANTOS, Juliana Soares Sarmento. 2017. **Biodiversidade de Culicidae em uma área de preservação de Mata Atlântica, Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro.** 94p. Tese (Doutorado em Biologia Animal, Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

In this study we present the culicidae that are insects belonging to the order Diptera, Suborder Nematocera, family Culicidae. Distributed in two subfamilies, Anophelinae and Culicinae, are winged insects and in the majority the females are hematophagy. Culicinae are incriminated vectors of pathogens that cause diseases like Dengue, Yellow Fever, among others, covering about 3600 species, distributed in 11 tribes, constituted by 46 genera. In Brazil, studies on the ecology of mosquitoes in areas of environmental preservation are still incipient. The relevance of the knowledge of culicidae fauna is mainly associated with their role in the transmission of pathogens to humans and other vertebrates. All the work was carried out in the Ecological Reserve of Guapiaçu (REGUA, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil). It has an area of 7,385 hectares, its phytoecological formation is of Dense Ombrophylous Forest and is located in Serra do Mar. Two collection points were designated, Point A (yellow track) and point B (green track). The fauna survey resulted in 3,289 collected specimens, covering the two subfamilies, 14 genera and 47 species throughout the collection period, comprising two years. Most of the specimens were collected by means of light traps, type CDC (3092 vs 197 with Shannon trap), and the mosquitoes collected at point B were with Shannon trap. There were also 2697 immatures collected in several breeding sites, such as: plank, tree hollow, fruit peel, soil swamp, asbestos tile, bromeliad, bamboo, rock excavation, among others. In this work two species of culicidae were also analyzed morphologically, being observed in their egg stage through the Scanning Electron Microscope (SEM). Eggs of Aedes fluviatilis are usually deposited individually and directly on the water, these eggs present a black coloration with elliptical format length:  $722.8 \pm 39.5 \mu m$ ; Width:  $177.9 \pm 9.78 \mu m$  and have a taper at one of its ends. The ornamentation of the chorionic cells consists of irregularly shaped cells,  $27.2 \pm 5.9$  µm, tubers of  $3.2 \pm 0.57$  µm found in the cells of the ventral surface. The eggs of Culex bastagarius are black in color, oviposited together forming a raft and have a conical shape with approximately 509 µm in length and 131.7 µm in width in the central region. At the extremities, the anterior area of the egg shows 153 µm and 88.9 µm in the posterior region. The dorsal surface (previous) of the chorionic lining presents chorionic cells of various shapes (hexagonal and pentagonal). The tubers (dorsal) have a rounded shape, as well as those described in other Culicidae species such as the genus Ochlerotatus. Analysis of wing size variations of Culex bastagarius revealed significant phenotypic variability in wing size among populations; However, no significant differences in wing shape were observed. The results suggest the existence of phenotypic plasticity in wing size, in response to seasonal variations.

Keywords: Culicidae. Biodiversity. Morphology. Morphometry.

# SUMÁRIO

1 Introdução	1
1.1 Culicídeos	1
1.2 Justificativa	4
2 Objetivos	6
2.1 Principal	6
2.2 Específicos	6
3 Revisão de Literatura	7
4 Metodologia	16
4.1 Área de estudo	16
4.2 Métodos de coleta	20
4.3 Identificação das espécimes	24
4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura	24
4.5 Morfometria Geométrica das Asas	26
4.6 Análise Estatísticas Adultos	27
4.7 Análise Estatísticas Imaturos	28
5 Resultados e discussão	31
5.1 Levantamento faunístico de Culicídeos adultos	31
5.2 Riqueza, diversidade, abundância	33
5.3 Variação estacional e influência de fatores climáticos gerais	37
5.4 Preferência dos criadouros das espécies	45
5.5 Descrição dos ovos de <i>Aedes fluviatilis</i> e <i>Culex bastagarius</i> , através da Microscopia Eletrônica de Varredura	58
5.6 Análise dos padrões de estruturação genética em populações de <i>Culex</i> ( <i>Melanoconion</i> ) bastagarius Dyar & Knab (Diptera: Culicidae), por meio da técnica de morfometria geométrica das asas	64
6 Conclusões	68
7 Referências	70
Anexos	80
- Scanning electron microscopy of eggs of <i>George craigius fluviatilis</i> (Lutz) (Diptera: Culicidae, Aedini)	
- Phenotypic plasticity in response to seasonal variation in populations of <i>Culex (melanoconion) bastagarius</i> Dyar & Knab (Diptera: Culicidae)	

#### LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Distribuição bimestral das espécies de Culicidae, valores 31 absoluto (N) coletado na Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil, no Período de Fevereiro 2012 a Outubro de 2013.
- Tabela 2. Número total de espécimes adultos coletados de Fevereiro 35 2012 a Janeiro 2014, na Reserva Ecológica Guapiaçu (REGUA), Rio de Janeiro, e estimativa de diversidade por ponto de captura.
- Tabela 3. Resultados de um estudo comparativo de análise de 39 regressão das estimativas de abundâncias das espécies mais frequentes de mosquitos, em função das temperaturas (máxima e mínima), precipitação e umidade relativa do mês ou do mês anterior.
- Tabela 4. Número total de espécimes de imaturos coletados de 40 Fevereiro 2012 a Janeiro 2014, na Reserva Ecológica Guapiaçu (REGUA), Rio de Janeiro.
- Tabela 5. Abundância de imaturos de Culicidae por criadouro 42 encontrado na Reserva Ecológica do Guapiaçu (REGUA), Trilha amarela (Ponto A), no período de fevereiro de 2012 a março de 2014.
- Tabela 6. Abundância de imaturos de Culicidae por criadouro 45 encontrado na Reserva Ecológica do Guapiaçu (REGUA), Trilha verde (Ponto B), no período de fevereiro de 2012 a março de 2014.
- Tabela 7. Diversidade de criadouros de Culicidae em área de 47 preservação de Mata Atlântica da Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro, em estudo realizado entre fevereiro de 2012 e março de 2014.
- Tabela 8. Diversidade de espécies de Culicidae nos criadouros 48 investigados em área de preservação de Mata Atlântica da Reserva Ecológica do Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro, em estudo realizado entre fevereiro de 2012 e março de 2014, com citação da intensidade média de ocupação (IMO) e identificação da dominante.
- Tabela 9. Coeficiente de prevalência (CP) e coeficiente de dominância 51 (CD) das cinco principais espécies de mosquitos nas bromeliáceas como criadouros investigados nos dois pontos coletas da Reserva Ecológica do Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro, em estudo realizado entre fevereiro de 2012 e março de 2014.

### LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem da Reserva Ecológica de Guapiaçu (REGUA), e dois pontos de coletas (trilha amarela e trilha verde)			
Figura 2. Ponto A-trilha amarela; Ponto B-trilha verde			
1 Igura 2. Tomo 11 arma amarota, Tomo B arma verde	20		
Figura 3. Capturas sistemáticas de adultos, com auxilio de armadilhas			
luminosas: A) Shannon B) CDC, C) gaiola com mosquitos, D) triagem do			
material e E) pinça	21		
Figura 4. Coleta de imaturos: A) sugador manual,			
B) concha entomológica e C) Sonda para mensuração das variáveis			
abióticas dos criadouros.			
Figura 5. (A e B)Coleta do conteúdo hídrico da bromélia com auxílio de	22		
sugador e coleta de imaturos despejado na bandeja com auxilio de pipeta.			
Figura 6. Criação dos mosquitos (A, B, C e D), identificação (E) e conservação após montagem (F).			
Figura 7. Capela de exaustão	24		
Figura 8. Microscópio eletrônico de varredura Jeol 5310®	24		
Figura 9. Diversidade e abundância dos gêneros coletados na Reserva Ecológica de Guapiaçu /REGUA	31		
Figura 10. Espécies de culicídeos encontradas simultaneamente e exclusivamente em cada um dos pontos na Reserva Ecológica do Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu (REGUA, RJ) entre 2012-2014.	49		
Figura 11. Espécies de culicídeos encontradas simultaneamente e exclusivamente em bromeliáceas da Reserva Ecológica do Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu (REGUA, RJ) entre 2012-2014	50		
Figura 12. Reta de tendência na ocupação de bromeliáceas como criadouros de Culicidae na Reserva Ecológica do Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, por	52		

quadrimestre entre fevereiro de 2012 e janeiro de 2014.

Figura 13. Ovos de *Aedes fluviatilis*. A- ovo inteiro ; B – micrópila e colar 59 da micrópila ; C- células de formas irregulares na superfície ventral ; D- detalhes das células coriônicas da região dorsal mostrando tubérculos tamanhos diferentess em torno do tubérculo central ; E- transição entre a região dorsal e ventral .

Figura 14. Ovos de *Culex bastagarius*. A- jangada ; B - ovo inteiro ; C- 62 Tubérculos; D- região posterior do ovo mostrando os tubérculos.

Figura 15. A) Asa com pontos anatômicos . B) Representação gráfica de 65 configuração de asa consenso formado por 13 pontos anatômicos ligados por linhas.

Figura 16. Fêmeas de *Culex bastagarius* de tamanho e forma variadas coletadas em Reserva Ecológica Guapiaçu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil ao longo de quatro temporadas. A: centroide da asa (CS), (CS1 = Primavera; CS2 = verão; CS3 = Outono; e CS4 = inverno). cada caixa denota a mediana como uma linha através do meio com os quartis (25 e 75 percentuais, respectivamente) em cada extremidade. \* Diferenças significativas (teste de Mann - Whitney, p < 0,05). B: análise de variáveis canônicas (primavera de laranja =; vermelho = verão; azul = inverno; e castanho = Outono). A distribuição centróide (média multivariada) de fatores canônicos 1(CF1) e 2 (CF2) está ilustrado. Polígonos representam a dispersão dos pontos que correspondem a cada população. CF1 responsável por 54 % da variância, enquanto CF2 representaram 32 %. C: método de grupo par não ponderada com média aritmética (UPGMA) dendrograma derivado de distâncias de Mahalanobis (1 = Primavera; 2 = verão; 3 = Outono; e 4 = inverno).

#### LISTA DE SIGLAS

PARNASO – Parque Nacional da Serra dos Órgãos

IOC- Instituto Oswaldo Cruz

UFMG- Universidade Federal de Minas Gerais

PMNI- Parque Municipal de Nova Iguaçu

REGUA- Reserva Ecológica de Guapiaçu

INEA- Instituto Nacional do Meio Ambiente

PETP- Parque Estadual dos Três Picos

IMO- Intensidade média de ocupação

MEV- Microscopia Eletrônica de Varredura

## 1. INTRODUÇÃO

#### 1.1 Culicídeos

A família Culicidae inclui os mosquitos, pernilongos, muriçocas ou carapanãs. Seu ciclo biológico compreende as seguintes fases: ovo, quatro estádios larvais, pupa e adulto. Os adultos são alados, possuem pernas e antenas longas e as fases imaturas são aquáticas. São os insetos com maior importância médica e veterinária, tendo em vista o hábito hematófago, a larga e persistente distribuição e as diversas doenças que transmitem, como a Dengue, Malária, Febre Amarela e outros óbices sérios para a Saúde Pública (FORATTINI, 2002).

Segundo HARBACH & KITCHING (2007), compreende duas subfamílias, Anophelinae e Culicinae. Reconhece-se a existência de cerca de 3600 espécies de mosquitos (http://mosquito-taxonomic-inventory.info/family-culicidae-meigen-1818), distribuídas por aproximadamente 46 gêneros. A Região Neotropical é a que detém o maior nível de endemicidade, uma vez que 31% desses grupos são restritos a essa região biogeográfica (WARD, 1982).

Na subfamília Anophelinae encontramos mosquitos responsáveis pela transmissão de patógenos causadores da malária. Esta subfamília reúne 467 espécies distribuídas em três gêneros: *Anopheles*, cosmopolita; *Chagasia*, restrito à região neotropical e *Bironella*, existente apenas na região australiana (CONSOLI & LOURENÇO – DE- OLIVEIRA, 1994; HARBACH, 2007).

A subfamília Culicinae reúne as principais espécies com interesse epidemiológico, principalmente das tribos Aedini e Culicini. Outros culicíneos podem apresentar interesse médico, restringindo-se a determinadas situações ou intervenções sobre o ambiente (FORATTINI, 2002).

O inventário faunístico de mosquitos em áreas de ambiente natural é de considerável importância em estudos ecológicos. As populações naturais de culicídeos em uma determinada área biogeográfica distribuem-se em comunidades sujeitas a constantes flutuações em resposta ao ambiente (ALENCAR et al., 2011).

No Brasil, os estudos sobre a ecologia de mosquitos em áreas de preservação ambiental ainda são incipientes. A relevância do conhecimento da fauna de culicídeos está associada principalmente ao papel que desempenham na transmissão de patógenos ao homem e a outros vertebrados (MONTES, 2005). Portanto, a grande maioria dos estudos que envolvem os mosquitos é frequentemente realizada em função da ocorrência de alguma enfermidade ou da presença dos seus transmissores em locais de risco (GUIMARÃES & ARLÉ, 1984). As investigações sobre a diversidade dos culicídeos em seu ambiente natural podem esclarecer hábitos ainda desconhecidos desses vetores (HUTCHINGS et al., 2005).

O conhecimento da estrutura biocenótica das comunidades de mosquitos é de fundamental importância em áreas nas quais o ambiente vem sofrendo ruptura dos equilíbrios naturais. Tais interferências podem se tornar perigosas, principalmente quando ocorre o contato direto entre esses culicídeos e a população humana local (ALENCAR et al., 2012).

Estudos sobre os aspectos ecológicos da fauna de culicídeos vêm sendo realizados em diversas áreas de diferentes estados do Brasil. No Estado do Rio de Janeiro, por exemplo, o estudo da entomofauna, responsável pela transmissão da maioria das doenças humanas, tem sido feito sempre em função do diagnóstico de alguns de seus transmissores (GUIMARÃES & ARLÉ, 1984).

O desmatamento de florestas e o aumento da população humana no local acarretam profundas mudanças nas condições ecológicas e ambientais de uma região.

Isso tem particular importância na saúde pública, tendo em vista que o desmatamento de florestas pode acarretar surtos de arboviroses que são vírus que podem infectar vertebrados e invertebrados, esses vírus possuem uma variação muito grande de hospedeiros, incluindo vertebrados (mamíferos, aves, anfíbios, répteis) e invertebrados (mosquitos, carrapatos). Os arbovírus têm uma distribuição geográfica bastante ampla abrangendo todos os continentes, tanto nas regiões temperadas como nas tropicais com predominância nestas últimas, certamente por oferecerem condições ecológicas mais favoráveis (TRAVASSOS, 1997; MURRAY, 2006).

Com efeito do desmatamento, foram detectados anticorpos em humanos para diversos arbovírus em regiões de Mata Atlântica, como o vírus da encefalite St. Louis (LOPES, 1979), vírus Mucambo do complexo da Encefalite Equina Venezuelana (LOPES, 1978) e vírus Rocio (IVERSSON et al., 1989). Existem mais de 500 arbovírus identificados no Catálogo Internacional de Arbovírus, dos quais pelo menos 134 são causadores de doenças em humanos. O conhecimento das populações de insetos, principalmente os hematófagos em seus respectivos ecossistemas, pode fornecer informações sobre uma possível ocorrência de doença transmissível nessas áreas (KARABATSOS, 1978). Há cerca de 180 diferentes tipos de arbovírus no Brasil, quase todos de ocorrência Amazônica, desses apenas 20% são considerados patogênicos para o homem (CONSOLI-OLIVEIRA, 1994).

Nos últimos 60 anos, as intensas modificações ocorridas no Brasil incluem a migração da população humana do ambiente rural para aglomerados urbanos. Consequentemente alterou-se também o espectro das doenças, com redução das endemias rurais e aumento da frequência de agravos das sociedades modernas como causa de morbi-mortalidade (CHAIMOWICZ, 1997). Contudo, doenças cujos agentes

etiológicos são veiculados por vetores biológicos continuam sendo problemas em saúde pública em áreas urbanas (MEDEIROS-SOUZA et al., 2013).

Estudos realizados sobre a ecologia de populações de mosquitos devem levar em consideração aspectos relacionados às condições ambientais tanto externas aos reservatórios como, por exemplo, temperatura e umidade relativa do ar, assim como os fatores diretamente relacionados à qualidade de um criadouro, como a presença de matéria orgânica animal e/ou vegetal (ALENCAR et al., 2010).

O conhecimento da dinâmica das populações de Culicidae só poderá ser alcançado se a sistemática e ecologia do grupo forem estudadas de forma mais abrangente. Desta forma, estudos em ecologia de culicídeos são essenciais para a compreensão da epidemiologia de diferentes patologias e nos fornecem conhecimentos aplicáveis ao controle de vetores e monitoramento de espécies bioindicadores de alterações ambientais (FORATTINI et al., 1989; FORATTINI et al., 1991).

#### 1.2 Justificativa

As florestas tropicais contêm a maior parte da diversidade, ao mesmo tempo em que contêm os maiores hiatos no conhecimento da sua fauna. O Brasil, com alta biodiversidade, enfrentando uma alarmante destruição de habitats, com espécies sendo extintas antes que possam ser descobertas ou descritas pela ciência, tem uma necessidade urgente de ampliação dos inventários faunísticos, incluindo levantamentos da entomofauna. Deste modo quando se propõe estudos prolongados sobre a ecologia da entomofauna, é muito importante ter-se em mente que o habitat a ser estudado não sofrerá alterações, para que os resultados estejam muito próximos do ambiente natural, sem que os efeitos da ação antrópica os modifiquem.

Os culicídeos respondem de diversas formas às transformações ambientais, auxiliando na indicação de possíveis implicações epidemiológicas, tornando-se um importante estudo em área de fragmento florestal. O Estado do Rio de Janeiro possui diversas áreas detentoras de determinantes ecológicos para a emergência de doenças transmitidas por vetores. Em consequência, essas informações auxiliarão na vigilância e no controle entomológico. Dependendo do grau de alteração sofrido em uma região pode haver aumento, redução ou eliminação da população de um dado vetor (DORVILLÉ, 1996; FORATTINI & MASSAD, 1998). Através desses estudos em áreas de reservas e parques florestais é de se apontar uma enorme contribuição para a comunidade científica e tempo hábil para prevenção de certas arboviroses.

As transformações causadas ao ambiente pelos diferentes ciclos de atividade humana vêm modificando a dinâmica populacional de insetos vetores ao longo dos anos e frequentemente, espécies de grupos de insetos que apresentam hábitos tipicamente silvestres têm-se adaptado a criadouros localizados em áreas urbanas e, por conseguinte, à convivência com o homem. Vários estudos têm demonstrado que o crescimento do impacto no ambiente proporciona alterações no comportamento de populações primitivas e tornando-as dominantes, favorecendo consequentemente sucessão na fauna, devido às adaptações de outras espécies ao ambiente artificialmente modificado (CALADO & SILVA, 2001).

Considerando essa realidade, estudos laboratoriais sobre a dinâmica populacional de insetos são de grande importância, pois permitem uma simulação de aspectos ambientais de maneira controlada, porém, estudos em áreas silvestres também apresentam importante papel por permitirem uma observação direta de como aspectos ambientais influenciam na escolha de reservatórios por fêmeas para realizar oviposição, comportamento hematofágico, ou distribuição de espécies ao longo de uma gradiente de

vegetação (GUIMARÃES, 2000; LOZOVEI, 2001; URBINATTI et al., 2001; SILVA et al., 2004; ALENCAR et al., 2010).

O conhecimento da biodiversidade de Culicidae na área relatada no presente estudo permite entender a dinâmica populacional dos culicídeos em seu habitat natural. Além de possibilitar a avaliação de novas situações de risco para ocorrência de doenças em áreas onde as características ambientais e a composição das populações de mosquitos sejam favoráveis a essas possibilidades.

#### 2. OBJETIVOS

#### 2.1 Principal

Estudar a taxocenose de Culicidae em áreas com vários níveis de preservação no domínio de Mata Atlântica da Reserva Ecológica de Guapiaçu, no Estado do Rio de Janeiro.

#### 2.2 Específicos

- Realizar o levantamento faunístico de Culicidae em área de mata primária e secundária da Reserva Ecológica de Guapiaçu;
- 2. Estudar a biologia das espécies, analisando variação estacional, relacionando cada ocorrência com as variáveis climáticas locais: temperatura, umidade relativa do ar, precipitação pluviométrica;
- 3. Realizar levantamento e avaliação da preferência dos criadouros das espécies nas áreas estudadas:
- 4. Avaliar a frequência de espécies na área de estudo de acordo com as características abióticas do criadouro onde foram desenvolvidas;
- Descrever e comparar morfologicamente os ovos de Aedini e Culicini, para evidenciar eventuais diferenças morfológicas, através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- 6. Analisar os padrões de estruturação genética das populações mais numerosas das amostragens, por meio de técnica de morfometria geométrica de asas.

#### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Estudos de Culicídeos em áreas de preservação

Os culicídeos são insetos de importância médica, responsáveis pela ocorrência de diversos problemas de saúde pública. Por serem vetores biológicos e os responsáveis por elevados índices de morbidade no mundo, o estudo desses insetos designou a especialidade culicidologia médica (FORATTINI, 2002).

As primeiras descrições científicas de mosquitos ocorreram em meados do século XVIII. No Brasil, os primeiros estudos datam do final do século passado e foram realizados na Serra do Cubatão (SP), atualmente Serra do Mar, quando o *Anopheles cruzii* (Dyar & Knab) foi incriminado como responsável pela transmissão do agente etiológico causador da malária na epidemia ocorrida durante a construção da estrada de ferro Santos-São Paulo (Lutz, 1903). No ano seguinte, Lutz associa três espécies de mosquitos amazônicos com a malária (Lutz, 1904).

Ainda nos anos vinte, identificaram-se áreas europeias onde havia abundância de certo anofelino, mas não se adquiria malária. Essa situação foi denominada "anofelismo sem malária". Tal fato acabou por evidenciar a existência do que se conhece como "complexo de espécies crípticas" (CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994).

O Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) foi onde ocorreram os primeiros estudos sobre a dinâmica populacional de culicídeos em áreas de preservação ambiental (DAVIS, 1944; DAVIS, 1945a; DAVIS, 1945b). Nessa mesma área tempos depois, na década de 80, mais especificamente de 1980 a 1984, pesquisadores do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Laboratório de Diptera, em novas coletas observaram a distribuição estacional e vertical, preferência horária para a hematofagia e preferência

alimentar quanto os hospedeiros. Nesse estudo foram identificados 44 espécies de culicídeos (GUIMARÃES & ARLÉ, 1984; GUIMARÃES & VICTORIO, 1986; GUIMARÃES et al., 1987).

Entre as décadas de 70 e 80 pesquisadores coordenados pelo Professor Forattini, da Universidade de São Paulo, desenvolveram diversos estudos sobre culicídeos, tais como: preferências para hematofagia, mecanismo de domiciliação, possíveis risco epidemiológicos, em áreas silvestres e periurbanas no Vale da Ribeira, no estado de São Paulo (FORATTINI et al., 1978; FORATTINI et al., 1981; FORATTINI et al., 1986a; FORATTINI et al., 1986b; FORATTINI et al., 1987a; FORATTINI et al., 1987b).

SILVA & NEVES (1989) realizaram pesquisas devido a casos de Dengue e Febre Amarela na mata do Campus Ecológico da Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG, identificando espécies locais de culicídeos, fazendo um levantamento da fauna diurna e noturna, e a variação sazonal das mesmas.

No mesmo ano (1989), LOURENÇO-DE-OLIVEIRA fez um levantamento da fauna culicidiana no Parque Nacional do Xingu, Mato Grosso, e nesse mesmo estudo observou que o comportamento da espécie *Anopheles darlingi* (Root, 1926) era predominantemente exofílico.

Na década de 90 SILVIA & LOZOVEI, realizaram diversos estudos de culicídeos, em áreas de fragmento de mata na região urbana de Curitiba, Paraná, onde desenvolveram trabalho de levantamento faunístico da família Culicidae. Apesar da região estar inserida no centro urbano, foram encontradas espécies com caráter predominantemente silvestre, *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shanon, 1924) e *Toxorhynchites theobaldi* (Dyar & Knab, 1906).

No parque Ecológico do Tietê, São Paulo, TAIPE-LAGOS & NATAL (2003), consideraram o ambiente com riscos epidemiológicos, devido à presença de culicídeos potencialmente vetores.

HUTCHINGS et al. (2005) realizaram o inventário entomológico de Culicidae da área do Parque Nacional de Jaú, Amazonas onde foram discutidas as possíveis implicações epidemiológicas e ecológicas das espécies.

SANTOS-NETO & LOZOVEI (2008), realizaram um estudo sobre os mosquitos adultos na Mata Atlântica do município de Morretes, Paraná, no qual concluíram que *An. cruzii* e *Culex ribeirensis* (Forattini & Sallum, 1985) foram as espécies predominantes na região. Neste mesmo ano ANJOS & NAVARRO-SILVA (2008) analisaram a composição e riqueza da família Culicidae em dois ambientes em área de Mananciais da Serra, região de Floresta Atlântica, Paraná, verificando se as espécies encontradas indicavam grau de preservação de fragmentos.

Ainda em 2008, MARQUES & FORATTINI (2008), compararam a diversidade de mosquitos coletados em bromélias em três diferentes ambientes: urbano, periurbano e mata primativa sendo que neste último, suas coletas consistiram no Parque Estadual de Ilha bela, São Paulo. A composição específica de culicídeos em bromélias de solo mostrou-se diversificada, sendo maior naquelas de ambiente de mata. As espécies dominantes foram *Culex pleuristriatus* (Lutz, 1903) e *Culex ocellatus* (Theobald, 1903).

REIS et al. (2010), realizaram um inventário dos mosquitos da Unidade de Conservação Ambiental, Desterro, Santa Catarina. Verificaram que as espécies mais abundantes da região foram: *Runchomyia reversa* (Lane & Cerqueira, 1942), *Ochlerotatus scapularis* (Rondani, 1848), *Wyeomyia pallidoventer* (Theobald, 1907), *Anopheles cruzii* e *Sabethes purpureus* (Theobald, 1907), e com esse estudo ainda registraram dez novas espécies de culicídeos para o estado de Santa Catarina.

ALENCAR et al. (2011) realizaram estudos na Reserva Biológica do Tinguá, Rio de Janeiro, analisando a influência dos fatores climáticos e as preferências horárias de hematofagia dos mosquitos, concluindo que as espécies de mosquitos ocorreram com maior incidência nos períodos diurnos e que essa preferência está diretamente relacionada às variáveis climáticas.

CONFALONIERI & NETO (2012) estudaram os culicídeos existentes em um local de terra firme da Floresta Nacional de Caxiuanã, no Pará, analisando a riqueza e a diversidade.

CORREA et al. (2014) realizaram estudos no Parque Municipal de Nova Iguaçu (PNMNI), Rio de Janeiro, fazendo um levantamento das espécies locais, coletando tanto imaturos quanto culicídeos adultos. Dentre as espécies de importância médica estavam *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), *Ae. albopictus* (Skuse, 1894), *Ae. fluviatilis* (Lutz, 1904), *Ae. scapularis, Haemagogus leucocelaenus* e *Psorophora ferox* (Von Humboldt, 1819).

DOS SANTOS et al. (2016) publicaram um trabalho sobre ecologia de culicídeos em um fragmento florestal urbano do município de Joaçaba, estado de Santa Catarina. Ao longo do estudo foram encontradas 18 espécies. Ressaltando que neste estudo foram coletadas espécies de importância médica, *Anopheles darlingi*, vetor primário da malária no Brasil e *Haemagogus leucocelaenus*, vetor da febre amarela silvestre.

ORLANDIM et al. (2017) estudaram culicídeos que ocorrem em uma área de Floresta Atlântica no oeste de Santa Catarina, sul do Brasil. Analisando a possível influência de fatores abióticos, bem como abundância e riqueza de espécies associadas ao período crepuscular.

#### 3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de ovos de mosquitos

As tribos Aedini e Sabethini, com grande quantidade de espécies, várias das quais com importância médica (vetores de agentes causadores de dengue, febre amarela, dirofilariose etc.), têm tido vários aspectos de sua morfologia e taxonomia estudados. No entanto, apenas 16 e 8% das espécies, respectivamente, tiveram seus ovos estudados, em sua maioria por LM (Reinert, 2005, 2010).

HORSPAL & CRAIG, JR (1956) já apontavam a descrição de ovos como uma ferramenta rápida para o diagnóstico através da estrutura morfológica, já que algumas espécies de mosquitos passam a maior parte de suas vidas na fase de ovo. Muitas espécies vivem para um ano ou mais, como ovos em esteiras de restos de plantas ou em rachaduras no solo.

BARATA (1995) enfatiza a importância da caracterização das espécies a partir dos ovos, uma vez que, durante as medidas de controle, monitoramento e levantamento das populações de vetores é frequente o encontro de ovos, exocórios de ovos e exúvias sendo o detalhamento de informações morfológicas de suma importância para uma maior precisão na identificação de material coletado.

A importância da obtenção e registro sistemático de dados morfológicos pode ser demonstrada pela possibilidade da confecção de chaves taxonômicas para separação das espécies envolvidas, como demonstrada por KALPAGE & BRUST (1968) ao fornecer chave para os ovos de *Aedes* da região de Manitoba, Canadá.

Os ovos de mosquitos são vistos como grandes apontamentos da taxonomia clássica devido a utilização da (MEV) ter apresentado excelentes resultados. O primeiro estudo de ovos de mosquitos utilizando esta técnica foi realizado por MATSUO & KUNOU (1972), onde foram descritos o exocório de cinco espécies de *Aedes*.

LINLEY (1989) descreve o ovo de *Aedes triseriatus* (Say) observando que este apresenta uma superfície ventral de forma hexagonal, e apresenta uma delimitação entre as células coriônicas como se fosse uma parede elevada.

Pela primeira vez LINLEY (1989) fez um estudo comparando algumas estruturas de ovos das espécies *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* e *Aedes bahamensis*, afirmando que é necessário mais pesquisas para determinar as diferenças das estruturas de diversos ovos.

CHADEE & BENNETT (1990) estudando os ovos de *Hg. celeste* (Dyar&Nunez Tovar, 1926) e *Hg. eqüinus* (Theobald, 1903) observaram que algumas estruturas dessas duas espécies se diferem em suas características morfológicas, e reforçou a idéia que MEV é uma excelente ferramenta taxonômica.

Analisando os resultados obtidos com o estudo dos ovos de *Aedes notoscriptus* (Skuse, 1889), LINLEY et al. (1991) chamaram a atenção para o fato de que informações importantes podem ser perdidas pelo exame incompleto dos mesmos. Esses autores enfatizaram a importância do exame tanto da superfície dorsal quanto da estrutura da superfície lateral nos ovos de culicídeos.

LINLEY & CHADEE (1991) observaram que em *Hg. equinus* e *Hg. janthinomys* (Dyar, 1921), apresentam filamentos altamente desenvolvidos que ocorrem nos ovos dessas espécies, a presença de tais estruturas pode melhorar a aderência do ovo, efetivamente, incrementar a área de superfície de adesão por ocasião da oviposição.

Observações realizadas por ALENCAR et al. (2003) forneceram pela primeira vez visualização por MEV, de detalhes dos ovos de *Hg. leucocelaenus* (Dyar & Shannon, 1924), evidenciando que a ornamentação do exócorio apresenta diferenças em relação aos tubérculos das células coriônicas e do retículo coriônico, quando comparado

com algumas espécies de *Haemagogus*, além de analisar por morfometria suas principais estruturas.

ALENCAR et al. (2005) realizaram observações sobre ultraestrutura de ovos de *Ochlerotatus terrens* (Walker, 1856), analisando morfometricamente as principais estruturas com o auxílio do software Semafore. Alencar et al. (2008) descreveu através da MEV os ovos de *Hg. tropicalis* (Cerqueira & Antunes) fornecendo dados que podem permitir a construção de chaves dicotômica para ovos do gênero *Haemagogus*.

Estudos realizados por HADDOW et al. (2009) descreveram o ovo de *Oc. japonicus* (Theobald, 1901) e sendo levantado neste trabalho a discussão sobre os aspectos dos tubérculos, sugerindo os autores, mais investigações dessas estruturas.

SANTOS- MALLET et al. (2010) Descreveram que os ovos de *Ochlerotatus* albifasciatus (Macquart) apresentam um formato elíptico suas células coriônicas tem um pequeno tubérculo central cercado por tubérculos maiores.

MARCONDES et al. (2012) Realizaram estudos sobre a ultraestrutura dos ovos de *Ochlerotatus taeniorhynchus* (Wiedemann, 1821) verificando que ornamentação das células coriônicas consiste em células de formas irregulares, essa espécie apresenta semelhanças entre as células coriônicas de duas espécies norteamericanas *Oc. mitchellae* (Dyar) e *Oc. infirmatus* (Dyar & Knab).

MELLO et al. (2017) compararam os ovos de diferentes populações *Psorophora ferox* (Humboldt, 1819) usando Microscopia Eletrônica deV, nesse estudo verificaram que a ornamentação do exocório das populações difere consideravelmente na morfologia dos tubérculos das células coriônicas, retículo coriônico externo, colar micropilar e micrópila.

#### 3.3 Morfometria geométrica em asas de mosquitos

A morfometria geométrica tem se mostrado útil para correlações com outras técnicas filogenéticas, tais como análise isoenzima (DUJARDIN et al., 2000), e para diferenciação de populações de insetos de importância médica. Em insetos, asas são preferenciais por se tratar de uma estrutura bidimensional. As asas apresentam características potencialmente herdáveis e assim sendo sujeita a evolução. (DUJARDIN et al., 1997; DUJARDIN & SLICE 2006; DUJARDIN, 2008).

JIRAKANJANAKIT, 2008 estudou populações de *Aedes aegypti* e observaram variação no tamanho alar e tamanho das espécimes e concluíram a dissimilaridade na forma da asa a um possível efeito de deriva genética.

MORAIS et. al., (2010) Verificaram que as populações de *Culex* quinquefasciatus do Brasil são morfologicamente diferentes das amostras da Argentina através da morfometria geométrica e também observaram diferenças entre as populações dessa mesma espécie entre as regiões Norte e Sul do Brasil.

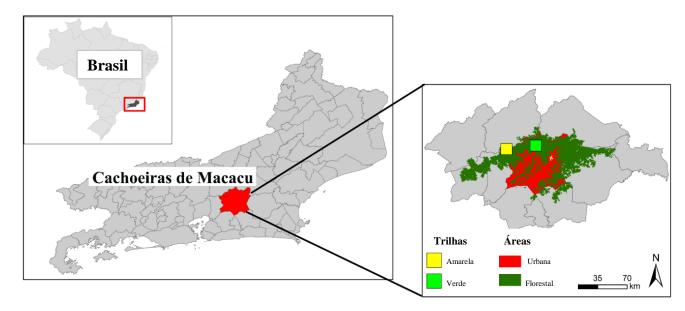
DOS SANTOS et al., (2012) avaliaram a variabilidade morfológica em quatro populações de *Chagasia fajardi* (Lutz, 1904) usando morfometria clássica. Na análise multivariada e os dendogramas UPGMA mostraram proximidade entre as populações 2 e 4 e entre as populações 1 e 3.

JARAMILLO et al., (2014) publicaram um trabalho no qual utilizaram a morfometria geométrica das asas de 11 espécies do gênero *Anopheles*. A partir da utilização da ferramenta de morfometria foi possível separar as espécies mais próximas do subgênero.

#### 4. METODOLOGIA

#### 4.1 Área de estudo

As coletas foram realizadas na Reserva Ecológica de Guapiaçu (REGUA), situada no Município Cachoeiras de Macacu (Figura 1), Rio de Janeiro, tendo sido criada em 1996. Para o desenvolvimento do estudo teve autorização de coleta (número: (34911-1), data da Emissão: 14/06/2012 válida em todo território nacional sob a responsabilidade técnica do pesquisador Jeronimo Augusto Fonseca Alencar que apresenta licença permanente para coleta, captura e transporte de material zoológico (SISBIO).



**Figura 1:** Imagem da Reserva Ecológica de Guapiaçu (REGUA) localizando os dois pontos de coletas (Trilha amarela e Trilha verde).

A Reserva Ecológica de Guapiaçu (REGUA, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil) é uma organização não-governamental com área de 7.385 hectares (Figura 1), sua formação fitoecológica é de Floresta Ombrófila Densa e está situada na Serra do Mar, um dos corredores ecológicos de maior relevância em termos de biodiversidade biológica. Esse tipo de vegetação é caracterizado por macrofanerófitos (plantas lenhosas com porte de 30 à 50m de altura), mesofanerófitos (plantas lenhosas

com porte de 20 à 30m de altura), lianas (cipós e plantas herbáceas) e epífitas (bromélias). A denominação Ombrófila, demonstra o caráter climático dessa estrutura vegetal, com altas temperaturas (25°C em média) e altos índices pluviométricos bem distribuídos ao longo do ano (de 0 a 60 dias secos). Esse fator permite que praticamente não haja período biologicamente seco nessa formação (IBGE 1992).

Três subtipos de Floresta Ombrófila Densa são encontradas nesse território, de acordo com a altitude em que se situam. As florestas montana, submontana e de baixada (OLIVEIRA-FILHO & FONTES, 2000) traçam um gradiente altitudinal que varia de 20m a cerca de 2.000 m. A cota acima de 400m sobrepõe a REGUA ao Parque Estadual dos Três Picos, que é a maior unidade de conservação estadual do Rio de Janeiro (58.799,83 ha, segundo o INEA).

Os solos das áreas estudadas foram classificados como Neossolo Flúvico, Latossolo Amarelo e Cambissolo Háplico para os relevos plano, suave ondulado e montanhoso, respectivamente. No trabalho realizado por PINHEIRO (2012) na grande bacia hidrográfica Guapi-Macacu (rios Guapiaçu e Macacu) foram observadas outras classes de solos de possível ocorrência na região desse estudo. Segundo Köppen, o clima da região é tropical com verão chuvoso e inverno seco, classificado como tipo Aw. A temperatura média anual da área de 22,4°C com máximas nos meses de janeiro e fevereiro e mínimas em junho. A precipitação anual média é de 2095 mm, onde dezembro e janeiro apresentam-se os meses mais chuvosos e junho e julho os menos chuvosos.

A REGUA é composta quase que integralmente por áreas de florestas (94,78%), o que contribui na composição de um corredor entre áreas de unidades de conservação da parte alta da bacia do Rio Guapiaçu (PMCM, 2008; PEDREIRA et al., 2009). A Reserva Ecológica de Guapiaçu.

A Reserva Ecológica de Guapiaçu conjuntamente com o Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) e o Parque Estadual dos Três Picos (PETP), está inserida em um remanescente estratégico para conservação, por proteger a bacia hidrográfica da Baía de Guanabara (ROCHA et al., 2003).

As amostragens foram obtidas nos seguintes meses: fevereiro, abril, junho, agosto, outubro e dezembro de 2012; fevereiro, março, abril, maio, junho, agosto, outubro e dezembro de 2013; janeiro e março de 2014). Cada ciclo de coleta foi realizado em dois dias consecutivos, entre às 8:00 e 17:00 horas, em duas áreas da REGUA.

Foram designados dois pontos de coletas (Figura 2), ponto A (trilha amarela) localizado próximo a Sede da Reserva, sendo considerado a área mais antropizada, apresentando um terreno plano, atualmente coberto por pastagem e floresta regenerada de 7 anos. O ponto B (trilha verde) está localizado na parte mais alta da área de estudo, com vista para o terreno acidentado. A floresta é submarina e montanhosa. As coordenadas geográficas dos locais de amostragem foram obtidas usando um Garmin GPSmap 60CS GPS. Os mapas foram preparados no Arcview10 e editados no Adobe Photoshop CS5 e CorelDraw X5. Os locais das coletas são mostrados nas Figuras 1 e 2.

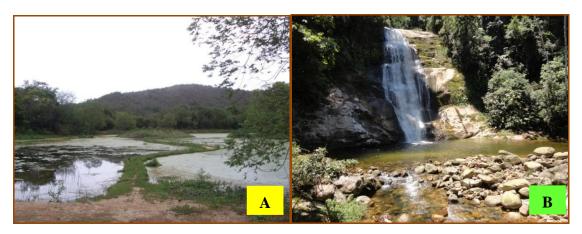


Figura 2: Ponto A - trilha amarela; Ponto B - trilha verde.

#### 4.2 Métodos de coleta

#### Coletas dos espécimes

#### • Coletas de espécimes adultos

As capturas de Culicidae foram realizadas bimestralmente em 2012; fevereiro, março, abril, maio, junho, agosto, outubro e dezembro de 2013; janeiro e março de 2014, das 18:00h às 10:00h, durante 4 dias nos pontos estabelecidos, em amostragens com diferentes configurações biocenóticas, onde as capturas dos espécimes adultos foram feitas com auxílio de armadilhas luminosas do tipo CDC e Shannon, além da captura com auxílio do tubo de sucção manual para os espécimes atraídos ocasionalmente pelos membros da equipe (Figura 3). Ao final de cada captura os adultos foram levados ao laboratório onde permaneceram durante aproximadamente 20 minutos no congelador, e foram acondicionados em pequenas caixas padronizadas (Figura 5). Os adultos foram sacrificados em baixas temperaturas e mantidos congelados até momento de sua análise. Colocou-se também armadilhas do tipo ovitrampas em copas de árvores com o intuito de coletar larvas e/ou ovos de mosquitos acrodendrófilos. Durante todas as capturas foram registradas, de hora em hora, as condições de temperatura e umidade relativa do ar.

#### • Coletas de imaturos

As formas imaturas foram coletadas com a utilização de conchas entomológicas, pipetas, sugadores e larvtrap; sendo a água despejada em bandejas, e as larvas e pupas coletadas com o auxílio de uma pipeta plástica, nos diversos criadouros descritos a seguir. Criadouros naturais em recipientes: permanentes ou semipermanentes  $\rightarrow$  bambus, taquara, bromélias, buraco de árvore. Transitórios  $\rightarrow$  cocos, conchas, folhas caídas. Em seguida, as larvas e pupas foram pipetadas, transferidas a sacos plásticos de

250 ml (Whirl-Pak® bags, BioQuip®) e transportadas ao laboratório; cada amostra foi identificada quanto ao local, data, tipo de criadouro e volume de água (Figuras 4).

As amostras foram transportadas ao laboratório, as larvas mantidas em bacias contendo a água do próprio reservatório o qual foram coletadas, sendo completada com água destilada em caso de evaporação e as pupas foram transferidas a frascos pequenos e mantidas até atingir a fase adulta. As exúvias obtidas foram montadas em bálsamo do Canadá para auxílio na identificação específica.



**Figura 3:** Capturas sistemáticas de adultos, com auxilio de armadilhas luminosas: A) Shannon, B) CDC, C) gaiola com mosquitos, D) triagem do material e E) pinça



**Figura 4:** Coleta de imaturos: A) sugador manual, B) concha entomológica e C) Sonda para mensuração das variáveis abióticas dos criadouros.



**Figura 4:** (A e B) Coleta do conteúdo hídrico da bromélia com auxílio de sugador e coleta de imaturos. (C) bandeja para triagem tendo auxílio de pipeta.

# 4.3 Identificação dos espécimes

A identificação das espécies foi realizada a partir da observação direta dos caracteres morfológicos evidenciáveis ao microscópio estereomicroscópio (Zeiss®), e utilização de chaves dicotômicas elaboradas por LANE (1953a) (1953b), FARAN & LINTHICUM (1981), CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA (1994) e FORATTINI (2002) (Figura 5). As abreviaturas dos nomes genéricos e subgenéricos seguem a proposta de REINERT (2001).



**Figura 5.** Criação dos mosquitos (A, B, C e D), identificação (E) e conservação após montagem (F).

#### 4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

Os ovos foram fixados em glutaraldeído 2,5% e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1%, ambos em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2. Após a lavagem no mesmo tampão os ovos foram desidratados em série crescentes de etanol (10, 20, 30,

50, 60, 70, 80, 90 e 100%) e submetidos ao método de secagem pelo ponto crítico utilizando CO<sub>2</sub> superseco em aparelho Balzers. Todo esse processamento foi feito na capela de exaustão. A seguir os ovos foram montados em suportes metálicos em diferentes posições recobertos com ouro e observados ao microscópio eletrônico de varredura (Jeol 5310®).



Figura 6. Capela de exaustão.



Figura 7. Microscópio Eletrônico de varredura Jeol 5310.

### 4.5 Morfometria geométrica das asas

As análises de morfometria geométrica foram realizadas nas asas de 53 espécimes de *Cx bastagarius* (todos fêmeas) coletados nas quatro estações ou seja, durante a primavera (G1, n = 13); verão (G2, N = 10); outono (G3, n = 15); e inverno (G4, n = 15). As asas foram dissecadas com auxílio de pinças, após a remoção das escamas, foram montadas com resina Entellan entre lâmina e lamínula para análise morfométrica. As imagens das asas foram capturadas através de microscópio estereomicroscópio com câmera (Leica EZ4 HD®), no aumento de 40 X. Um total de 13 *landmarks* (pontos de /intersecção das veias alares) de tipo I foram identificados seguindo Bookstein (1991). As coordenadas geométricas de cada *landmark* foram digitalizadas usando o programa tpsDig2 versão 2.09 (Rohlf, 1999ª).

As variáveis de conformação foram obtidas usando a análise de Procrustes (ROHLF, 1996) realizado com MOGwin versão 0.77 (DUJARDIN, 2003). O método é baseado na superposição de cada indivíduo usando o quadrado mínimo, eliminando os efeitos da escala, orientação e posição dos objetos.

Na análise alométrica calculou-se a regressão linear das variações de conformação sobre as variações de tamanho, sendo o tamanho das asas utilizado como variável independente e a conformação como variável dependente.

Utilizamos dados de coordenadas e o cálculo isométrico, conhecido como tamanho centróide (CS- centroid size) para comparar dimensões globais das asas entre insetos coletados em todas as estações. Define-se o centroid size como a raiz quadrada da soma das distâncias entre o centro da configuração dos pontos anatômicos (BOOKSTEIN, 1990).

As variáveis de CS foram feitas por análise de regressão multivariada para detectar alometria. O Teste de Mann-Whitney foi aplicado para comparações de CS nos

grupos de todas as estações. As distâncias de Mahalanobis (MD) derivadas das variáveis de conformação foram usadas para explorar a proximidade de conformação entre os grupos. Estas distâncias foram computadas por testes de permutação (1000 testes para cada) e usadas para construir um dendograma de algorítimo UPGMA. (comparação por pares usando médias aritméticas não ponderadas). A análise discriminante foi realizada para avaliar a existência de diferenças significativas entre os centróides em nível interpopulacional, ordenando as populações na forma do espaço formado pelos primeiro e segundo fatores canônicos (CF1 e CF2) e reclassificando os indivíduos usando as funções e as distâncias de Mahalanobis.

Comparações de CS foram realizados usando o software 3.01 PASSADO (disponível em http://folk.uio.no/ohammer/past/). As coordenadas geométricas foram digitalizadas usando o software tps Dig2 (disponível em www.82 life.bio.sunysb / morfo). Os módulos VAR, MOG, PAD e COV incluído no pacote CLIC93 (disponível em www.mome-clic.com).

#### 4.6 Análises Estatísticas

# 4.6.1 Reserva Ecológica do Guapiaçu – Adultos

Os seguintes índices estatísticos foram utilizados para estimar a diversidade de espécies: riqueza de espécies (S, número de taxa); Índice de Shannon (H), e Dominância (= 1 - índice de Simpson) (HAMMER et al., 2001; MAGURRAN, 2004). A Diversidade mensal e total foram comparados entre os pontos de coletas. Foi utilizado o módulo "Comparar a diversidade de software Past" que calcula uma série de índices de diversidade para 2 amostras. Em seguida foram utilizados para comparar as diversidades usando bootstrap e permutação de dois procedimentos de randomização diferentes (HAMMER et al., 2001). Foi comparada a composição das espécies entre os locais de

amostragens, utilizando o índice de similaridade de Sørensen e Bray-Curtis Medida (MAGURRAN., 2004).

O índice de similaridade de Sørensen = 2C / (SA+SB)

Onde: C é o número de espécies compartilhadas por ambos os pontos de coletas (pontos ou locais de amostragem), SA e SB são respectivamente, o número de espécies no ponto A e ponto B.

A medida de Bray-Curtis = 2S/(nA = nB)

Onde: S é a soma da diferença absoluta em número de espécimes por espécie de pontos (pontos ou locais de amostragem) A e B, nA é o número total de indivíduos de ponto A e nB o número total de espécimes de ponto B.

As relações entre variáveis climatológicas médias mensais e índices de diversidade foram exploradas com correlações de Spearman. As relações entre as espécies mais frequentes e as variáveis ambientais foram modeladas com regressão de Pearson.

#### 4.6.2 Reserva Ecológica do Guapiaçu – Imaturos

Os dados foram analisados de maneira a expressar a relação ecológica existente entre as populações dos mosquitos com a frequência mensal, possibilitando a análise populacional dos meses de coletas. Para testar a associação da influência dos fatores abióticos dos criadouros (temperatura e pH) em diferentes pontos de amostragens da área de estudo, foi utilizado o Coeficiente de Correlação de Spearman. Para testar o risco relativo da diversidade das espécies diferir significativamente entre os pontos de coleta amostrados foi utilizado o teste qui quadrado, adotando o nível crítico de significância de 5% (P>0,05).

As comparações entre o número de espécies de mosquitos que compõem as diversidades encontradas nos diferentes períodos foram analisadas através do Coeficiente de Dominância.

O coeficiente de dominância real (CDR) foi utilizado para mensurar o padrão de dominância entre as espécies em um determinado habitat, em relação a toda a comunidade analisada. O CDR foi calculado de acordo com SERRA-FREIRE (2002).

Fórmula: CDR = 
$$(\sum x_i / \sum t_i).100$$

Onde:  $\sum \! x_i = soma$  do número de espécimes de uma determinada espécie encontrados em cada região geográfica

 $\Sigma$ ti = soma do número dos espécimes de todas as espécies encontradas em cada região geográfica.

Para analisar quantitativamente o grau de associação entre as amostras em relação à altitude e abundância, foi utilizado o coeficiente de correlação. Para o cálculo, utiliza-se a fórmula:

$$r_i = \sum (dx_i \cdot dy_i) / (n \cdot s_x \cdot s_y)$$

Onde: rj = coeficiente de correlação;

 $dx_i$  = desvio de valores de altitude em relação à média altitude;

dyj = desvio do número de insetos em relação ao número médio de insetos;

sx = desvio-padrão para a altitudes;

sy = desvio-padrão para o número de mosquitos;

n = número de observações

Para analisar as proporções de cada espécie sobre o total das amostras analisadas, comparou-se os diferentes pontos de coleta utilizando a avaliação da reta de tendência na ocupação dos criadouros dos mosquitos. Para avaliar a dominância das

cinco principais espécies de mosquitos nos criadouros investigados utilizou-se os seguintes testes: intensidade média de ocupação (IMO) e o teste estatístico não paramétrico de Kruskal-Wallis (H), baseado na análise de variância de classificação de pequenas para amostras, permitindo avaliar se "K" (amostras independentes) são oriundas de populações diferentes, utilizando a medida P, adotando o nível crítico de significância de 5% (P>0,05). Esta prova analisa Ho (hipótese de nulidade) que supõem serem as "K" amostras da mesma população idênticas quanto às medidas de tendência central.

Para o cálculo, utiliza-se a fórmula:

$$H = \{12 \div [n. (n+1)] \cdot [\Sigma (Rj)^2 \div nj] - 3 (n+1)\}$$
 
$$j = 1$$

Onde: H = índice da hipótese;

n = número total de observações;

ΣRj = somatório dos valores da classificação;

nj = número de observações em cada amostra.

# 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5.1 Levantamento faunístico de Culicidae (adultos)

Foram capturados 3.289 espécimes, abrangendo as duas subfamílias, 14 gêneros e 47 espécies ao longo do período de coleta, compreendendo dois anos. Dos 3.289 espécimes, destes 3170 (96,4 %) foram identificadas ao nível de espécie (Tabela 1). O restante 3,6% só foram determinados em nível de gênero devido às características morfológicas danificadas. A maioria dos espécimes foram coletados por meio de armadilhas luminosas, tipo CDC (3092 vs 197 com armadilha Shannon), e os mosquitos coletados no ponto B foram com armadilha de Shannon.

**Tabela 1.** Distribuição bimestral das espécies de Culicidae, valores absoluto (N) coletado na Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil, no Período de Fevereiro 2012 a Outubro de 2013.

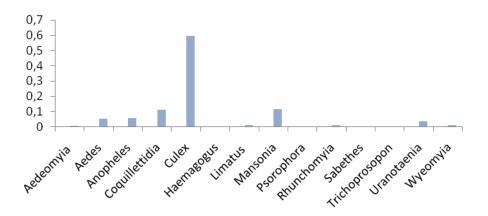
Ano	2012						2013								
Meses	Fev	Abr	Jun	Ago	Out	Nov	Dez	Fev	Abr	Mai	Jun	Ago	Out	Total	
Ad. (Ady.) squamipennis (Lynch Arribalzaga)1878	1	0	0	0	0	0	10	0	0	1	0	0	1	13	
Ae. (Och.) fluviatilis (Lutz), 1904	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	
Ae. (Och.) scapularis (Rondani),1948	11	0	0	0	4	7	0	23	38	6	4	2	0	95	
Ae. (Och.) serratus (Theobald), 1901	22	0	0	0	0	1	0	1	27	1	0	0	0	52	
Ae. (Pro.) terrens (Walker),1856	0	0	14	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	16	
Ae. (Och.) rhyacophilus (Da Costa Lima), 1933	0	0	1	0	0	1	0	0	17	0	0	0	0	19	
Ae. (Stg.) albopictus Skuse, 1984	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	3	
An. (Nys.) albitarsis Lynch-Arribalzaga, 1878	0	0	0	0	0	7	1	1	63	0	13	23	7	115	
An. (Nys.) evansae (Brethes), 1926	0	0	0	0	1	0	0	0	37	1	0	6	3	48	
An. (Nys.) minor Da Costa Lima, 1929	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	
An. (Nys.) triannulatus (Neiva and Pinto), 1922	0	0	0	0	1	0	0	1	12	0	0	9	0	23	
Cq. (Rhy.) albicosta (Peryassu), 1908	2	0	0	0	0	2	0	0	36	2	0	0	0	42	
Cq. (Rhy.) chrysonotum (Peryassu), 1922	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	
Cq. (Rhy.) juxtamansonia (Chagas), 1907	16	0	0	0	1	4	1	0	41	10	0	19	2	94	
Cq.(Rhy.) fasciolata (Lynch Arribalzaga), 1891	4	0	1	0	1	9	0	0	56	10	0	19	0	100	
Cq.(Rhy.) venezuelensis (Theobald, 1912)	0	0	0	0	2	0	1	0	36	20	0	38	25	122	
Cx. (Cux.) usquatus Dyar, 1918	38	14	6	4	5	87	40	9	255	40	7	53	15	573	
Cx. (Cux.) bidens Dyar, 1922	0	0	0	0	0	0	0	4	0	6	0	0	0	10	
Cx. (Cux.) declarator Dyar and Knab, 1906	29	9	8	4	6	74	59	13	218	30	8	36	19	513	
Cx. (Cux.) quinquefasciatus Say, 1823	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	2	5	
Cx ( $Cux$ .) sp1	0	0	0	6	0	0	1	43	4	0	0	0	37	91	
Cx ( $Cux$ .) sp2	0	0	0	0	0	0	4	21	0	0	0	0	3	28	
Cx. (Mcx.)imitator Theobald, 1903	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Cx. (Mel.) bastagarius Dyar and Knab, 1906	0	0	0	0	2	0	88	0	206	5	52	251	110	714	
Hg. (Hag.) janthinomys Dyar, 1921	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	

Hg.(Hag.) leucocelaenus (Dyar and Shannon),1924	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Li. durhamii Theobald, 1901	0	0	0	0	0	7	0	0	4	0	0	0	6	17
Li. flavisetosus De Oliveira Castro, 1935	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	7	15
Ma. (Man.) titillans (Walker), 1848	12	0	0	0	0	10	0	0	165	0	0	0	6	193
Ma. (Man.) wilsoni (Barreto and Coutinho), 1944	0	0	0	0	1	0	10	10	127	2	7	18	4	179
Ps. (Jan.) ferox (Von Humboldt), 1819	7	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	10
Rh. (Run.) frontosa (Theobald), 1903	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Rh. (Run.) reversa Lane and Cerqueira, 1942	0	2	5	6	0	3	1	0	1	2	1	7	1	29
Sa. (Sbn.) intermedius Lutz, 1904	0	0	1	1	0	0	2	0	0	1	2	0	0	7
Tr. (Tri.) digitatum (Rondani), 1848	0	0	2	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	5
Tr. (Tri.) pallidiventer (Lutz), 1905	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Ur. (Ura.) calosomata Dyar and Knab, 1907	0	0	0	0	0	0	0	0	35	1	5	1	3	45
Ur. (Ura.) geometrica Theobald, 1901	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	10	0	13
Ur. (Ura.) lowii Theobald, 1901	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
Ur. (Ura.) nataliae Lynch Arribalzaga, 1891	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	1	8
Ur. (Ura.) pulcherrima Lynch Arribalzaga, 1891	0	0	0	0	1	0	15	0	0	0	4	21	4	45
Wy. (Pho.) flabellata (Lane and Cerqueira), 1942	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Wy. ( Den) luteoventralis Theobald, 1901	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Wy. (Pho.) muehlensi Petrocchi, 1927	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Wy. (Pho.) edwardsi (Lane and Cerqueira), 1942	0	0	0	2	0	0	1	0	1	1	0	3	3	11
Wy. (Tri.) aporonoma Dyar and Knab, 1906	0	0	2	1	0	4	0	0	4	1	0	0	0	12
Wy. (Wye.) pertinans (Williston), 1896	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Total	143	27	54	25	25	228	237	127	1395	147	104	517	260	3289

#### 5.2 Riqueza, diversidade, abundância

Analisando culicideofauna segundo as subfamílias a qual pertencem, foi constatado que os culicíneos foram mais numerosos do que os anofelinos. Cerca de 94,3% dos espécimes encontrados pertenciam à subfamília Culicinae e destes, 54,7% eram *Culex*. A subfamília Anophelinae foi representada por 4,6% do total de espécimes capturados. Dentre os anofelinos, a espécie de maior ocorrência foi *An. albitarsis*, com 123 dos anofelinos encontrados; e dentre os culicíneos capturados, as espécies de maior ocorrência foram: *Culex (Melanoconion) bastagarius* Dyar & Knab, (21,7%); seguido por *Cx. (Cux.) usquatus* Dyar, (17,4%); *Cx. (Cux.) declarador* (15,6%), e *Ma. (Man.) titillans* (Walker) (5,9%) (Tabela 1).

Os mosquitos capturados pertencem a 14 gêneros e 47 espécies: Aedeomyia Theobald (0,4%), Aedes Meigen (5,2%), Anopheles Meigen (5,7%), Coquillettidia Dyar (10,9%), Culex Linnaeus (59,5%), Haemagogus Williston (0,1%), Limatus Theobald (1%), Mansonia Blanchard (11,3%), Psorophora Lynch Arribalzaga (0,3%), Rhunchomyia Theobald (1 %), Sabethes Robineau - Desvoidy (0,2%), Trichoprosopon Theobald (0,2%), Uranotaenia Lynch Arribalzaga (3,4%), e Wyeomyia Theobald (0,8%) (Figura 9). A Curva de acumulação de espécies foi estimada considerando o total mensal de cada ponto amostral. A curva indicou que, a riqueza de espécies esperada foi ligeiramente superior ao observado no presente estudo, as amostragens permitiram uma representação adequada da diversidade de espécies, uma vez que o número de espécies aumentou menos de 2% após acumular 13 amostras (total de 29 amostras). Além disso, as extrapolações das curvas utilizando a equação de Michaelis - Menten, indicou que a acumulação das espécies alcançou uma curva assimptotas de aproximadamente em 50 espécies (cerca de 43 amostras).



**Figura 9.** Diversidade e abundância dos gêneros coletados na Reserva Ecológica de Guapiaçu /REGUA

A Riqueza das espécies foi semelhante entre os dois pontos de coletas (média de 36 espécies), o ponto A apresentou mais diversidade e teve dominância de espécies quando comparado ao ponto B (Tabela 2).

A composição de espécies foi moderadamente semelhante, compartilhado cerca de 67% das espécies (índice de Sørensen); a medida Bray-Curtis foi baixa (0,38%), indicando que não só houve diferenças na composição de espécies entre pontos, mas também a abundância de espécies em comum diferem, de acordo com maior predominância do ponto A.

Mesmo tendo variações entre meses e os anos no número de mosquitos coletados, quando estes dados mensais foram analisados, não detectaram efeitos significativos durante os anos, ponto de coleta ou mês para a riqueza de espécies, a diversidade, ou dominância, assim tendo uma riqueza maior de espécies em 2013 (p=0,05). Consistentemente, não houve correlação significativa entre a riqueza ou índices de diversidade e variáveis meteorológicas (p>0,12), exceto para a riqueza de espécies para o local A e umidade relativa do mês anterior (SR=0,68 e p=0,01). A abundância de *Ae. scapularis* em cada local de amostragem foi significativa e positivamente relacionada com a variável climatológica precipitação pluviométrica, temperatura máxima e mínima.

**Tabela 2.** Número total de espécimes adultos coletados de Fevereiro 2012 a Janeiro 2014, na Reserva Ecológica Guapiaçu (REGUA), Rio de Janeiro, e estimativa de diversidadepor ponto de captura.

Espécies*	Ponto A	Ponto B	Total
Ad. (Ady.) squamipennis (Lynch Arribalzaga), 1878	13	2	15
Ae. (Och.) rhyacophilus (Da Costa Lima), 1933	17	2	19
Ae. (Och.) scapularis (Rondani),1948	53	51	104
Ae. (Och.) serratus (Theobald), 1901	28	24	52
Ae. (Pro.) terrens (Walker),1856	0	16	16
An. (Nys.) albitarsis Lynch-Arribalzaga, 1878	115	8	123
An. (Nys.) evansae (Brethes), 1926	46	2	48
An. (Nys.) triannulatus (Neiva and Pinto), 1922	23		23
Cq. (Rhy.) albicosta (Peryassu), 1908	42		42
Cq. (Rhy.) juxtamansonia (Chagas), 1907	72	22	94
Cq.(Rhy.) fasciolata (Lynch Arribalzaga), 1891	73	27	100
Cq.(Rhy.) venezuelensis (Theobald, 1912)	139	1	140
Cx(Cux.) sp1	99	14	113
<i>Cx (Cux.)</i> sp2	44	6	50
Cx. (Cux.) bidens Dyar, 1922	10		10
Cx. (Cux.) declarator Dyar and Knab, 1906	230	281	511
Cx. (Cux.) usquatus Dyar, 1918	274	299	573
Cx. (Mel.) bastagarius Dyar and Knab, 1906	1075	28	1103
Li. durhamii Theobald, 1901		17	17
Li. flavisetosus De Oliveira Castro, 1935		15	15
Ma. (Man.) titillans (Walker), 1848	196		196
Ma. (Man.) wilsoni (Barreto and Coutinho), 1944	173	6	179
Ps. (Jan.) ferox (Von Humboldt), 1819	8	2	10
Rh. (Run.) frontosa (Theobald), 1903		6	6
Rh. (Run.) reversa Lane and Cerqueira, 1942	1	29	30
Sa. (Sbn.) intermedius Lutz, 1904	1	6	7
Ur. (Ura.) calosomata Dyar and Knab, 1907	42	3	45
Ur. (Ura.) geometrica Theobald, 1901	13	0	13
Ur. (Ura.) nataliae Lynch Arribalzaga, 1891	5	3	8
Ur. (Ura.) pulcherrima Lynch Arribalzaga, 1891	51	1	52
Wy. (Pho.) edwardsi (Lane and Cerqueira), 1942	11		11
Wy. (Tri.) aporonoma Dyar and Knab, 1906		12	12

Índice	Ponto A	Ponto B
Individual	2873ª	900 <sup>b</sup>
Riqueza (S)	35ª	37 <sup>a</sup>
Dominância	0.17 <sup>a</sup>	0.22 <sup>b</sup>
Shannon H	2.41 <sup>a</sup>	2.14 <sup>b</sup>

# 5.3 Variação estacional e influência de fatores climáticos gerais

Anopheles albitarsis foi positivamente correlacionado à umidade relativa do ar média do mês anterior no ponto A, mas de forma negativa para o ponto B.

O número de espécies coletadas na REGUA foi comparável com a quantidade de gêneros e espécies encontrados em outras áreas de Mata Atlântica. Por exemplo, GUIMARÃES et al. (1989) coletaram 13 gêneros e 45 espécies de mosquitos em ambiente florestal de Itaguaí, Rio de Janeiro, embora apenas 50% das espécies foram comuns aos coletados na REGUA. No Parque Municipal de Nova Iguaçu, a área de proteção natural do Gericinó-Mendanha, também no Rio de Janeiro, foram encontrados 12 gêneros e 31 espécies de mosquitos (CORREA et al., 2014).

É importante ressaltar que apesar dos pontos de coletas estarem localizados dentro de um mesmo fragmento de Mata Atlântica, a composição biocenótica apresentou algumas variações que podem explicar as diferenças na fauna de mosquitos quanto à escolha do local de oviposição. Embora a riqueza de espécies tenha sido semelhante, a diversidade foi maior no ponto A em comparação com o ponto B, diferindo na composição. Espécies de mosquitos, como por exemplo, *Cx. bastagarius*, e as espécies da tribo Mansoninii foram encontrados quase exclusivamente no ponto de coleta A. As espécies da dessa tribo diferem-se dos demais culicídeos por realizarem a postura dos ovos sob as folhas de plantas aquáticas (*Eichornia*, *Typha*, etc) e, após a

eclosão na água, as larvas de segundo estágio fixam-se diretamente nos tecidos da vegetação aquática, e assim, retirando diretamente do parênquima aerífero o oxigênio para a sua respiração. Por outro lado, espécies da tribo Sabethini, foram encontrados em ambientes silvestres como no ponto de coleta B, caracterizada por uma cobertura vegetal mais preservada. Estes mosquitos são tipicamente silvestres, pois suas formas imaturas se desenvolvem quase exclusivamente nas águas armazenadas em plantas, e assim seus criadouros podem ser ocos de árvores, bromélias, brácteas diversas, folhas caídas. (FORATTINI, 2002).

Algumas hipóteses têm sido propostas para explicar a riqueza ou a diversidade de espécies, como a hipótese de nicho diversidade, onde a diversidade é uma função da variedade de habitats e do grau de especialização das espécies para o compartilhamento de habitats e ecossistemas mais estáveis, como florestas apresentam uma alta diversidade de espécies. A diversidade indica o grau de complexidade da estrutura da comunidade (CONNELL, 1978). O presente estudo não mostrou diferenças significativas na riqueza de espécies entre os dois pontos de coletas da área estudada. No entanto, o ponto B, caracterizado como o ambiente mais preservado, apresentou uma menor diversidade e maior dominância de culicídeos. Diferenças na disponibilidade de habitat larval e / ou preferência também pode explicar os padrões observados. Essas espécies de Culicidae que apresentam hábitos mais silvestres, como os culicídeos da tribo Sabethini, com a exceção de *Limatus durhamii*, que foi coletado em diversos habitat, tais como recipientes artificiais (SILVA, 2002) e tanques de percolação (ALENCAR et al., 2.013), foram mais frequentemente coletados no ponto de coleta B (43% em comparação com 8 % do ponto A, e são considerados bioindicadores, demonstrando que o ambiente não sofreu uma acentuada antropização (DORVILLE, 1996). Em contraste, 91% dos mosquitos coletados do ponto A, desenvolveram

principalmente em outro habitat larval tais como lagos e recipientes artificiais; a presença de espécimes de tribo Mansoniini (*Mansonia* spp, *Coquillettidia* spp) e, principalmente, Aedini (e.g, *Ae. scapularis*), estão mais relacionados a ambientes com um maior grau de antropização (DORVILLE, 1996; FORATTINI, 2002).

O índice de diversidade obteve pouca variação entre meses e anos e nenhuma associação nítida foi detectado com variáveis meteorológicas. NIMER (1979) aponta que em algumas regiões do Brasil, há alternâncias entre as características de clima tropical e temperado; as temperaturas médias durante o período de amostragem variaram entre 20 e 26 °C. Aedes scapularis esteve influenciado, diretamente pelas variáveis climatológicas (chuva e temperatura), esta observação justificada pela própria bionomia da espécie, que utilizam o solo úmido para realizar oviposição. (Tabela 3) Comportamento semelhante foi observado para Ae. albifasciatus (GLEISER et al., 1997; GLEISER et al., 2000). Regime das chuvas influencia diretamente o desenvolvimento de imaturos de Ae. scapularis, (CASANOVA & PRADO, 2002; FORATTINI, 2002), justificando uma maior ocorrência nos períodos mais quentes, úmidos e de chuvas torrenciais (TEODORO et al., 1994). Durante o período de amostragem na área da REGUA essa espécie foi coletada em números similares em ambos os pontos de coleta, confirmando o ecletismo de Ae. scapularis relatados por FORATTINI et al. (1981) no estado de São Paulo, e no Rio de Janeiro por LOURENÇO-DE- OLIVEIRA & SILVA (1985) e GUIMARÃES et al. (1989).

A composição da riqueza das espécies diferiu entre os ambientes estudados, provavelmente influenciado pelo grau de preservação dos fragmentos florestais e outras características locais, como a disponibilidade de habitat larval (ANJOS & NAVARRO-SILVA, 2008).

Devido à diversidade de espécies de mosquitos coletados na REGUA e seu papel potencial para transmissão de patógenos, combinado com um fluxo intermitente de visitantes nacionais e internacionais na área de estudo, as atividades de vigilância entomológica merecem ser contínuas.

**Tabela 3.** Resultados de um estudo comparativo de análise de regressão das estimativas de abundâncias das espécies mais frequentes de mosquitos, em função das temperaturas (máxima e mínima), precipitação e umidade relativa do mês ou do mês anterior.

Variáveis	Paramétricos	T	P
Ae. scapularis			
T.min (prev)	0.54±0.17	3.24	0.007
An. albitarsis			
T.max (prev)	0.33±0.12	2.78	0.02
T.min	-0.28±0.14	- 2.78	0.05
Cx. bastagarius			
UR	0.17±0.07	2.33	0.04
Cx. usquatus			
T. Max	-0.39±0.16	-2.43	0.03
Ma.titillans			
T.min (prev)	0.69±0.19	3.7	0.003
T. min	$-0.45 \pm 0.17$	-2.6	0.02
Ma. wilsoni			
UR (prev)	$0.11 \pm 0.04$	2.41	0.03

Apenas variáveis com p <0,05 foram incluídas. Tmax = Temperatura máxima mensal; Tmin = temperatura mínima mensal; UR = umidade relativa; (prev) = no mês anterior.

**Tabela 4.** Número total de espécimes de imaturos coletados de Fevereiro 2012 a Janeiro 2014, na Reserva Ecológica Guapiaçu (REGUA), Rio de Janeiro.

Espásios			20	12			_	2013								2014 To		
Espécies	Fev	Abr	Jun	Ago	Out	Dez	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Ago	Out	Dez	Jan	Mar	- Total	
An. (Ker.) cruzii (Dyar & Knab, 1908)	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
An. (Nys.) albitarsis (Dyar, 1978)	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	6	
An. (Ano.) eiseni (Coquillett, 1902)	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	
An. (Nys.) evansae (Brethes, 1926)	0	1	8	0	13	11	0	0	0	4	0	1	0	0	0	0	38	
Ae. (Est.) albopictus (Skuse, 1894)	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	12	
Ae. (Pro.) terrens (Walker, 1856)	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	2	6	
Ae. (Och.) rhyacophilus (Da Costa Lima, 1933)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Ae. (Och.) scapularis (Rondani, 1848)	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Ae. (Och.) serratus (Theobald, 1901)	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Cq. (Rhy.) fasciolata (Lynch Arribalzaga, 1891)	0	0	0	2	3	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	7	
Cq. (Rhy.) juxtamansonia (Chagas, 1907)	0	0	0	4	4	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	11	
Cq. (Rhy.) venezuelensis (Theobald, 1912)	0	0	0	3	1	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	8	
Cx. (Cux.) abnormalis (Lane, 1936)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0	0	0	0	18	
Cx. (Aed.) sp (Lutz, 1904)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Cx. (Cux.) declarator (Dyar & Knab, 1906)	0	0	2	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	
Cx. (Cux.) usquatus (Dyar, 1918)	7	6	88	16	37	44	60	1	59	31	6	0	0	0	37	6	402	
Cx. (Car.) urichii (Coquillett, 1906)	0	0	0	0	0	0	0	5	2	0	0	0	0	0	0	0	5	
Cx. (Cux.) quinquefasciatus (Say, 1823)	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	
Cx. (Mcx.) lanei (De Oliveira Coutinho & Forattini., 1962)	0	1	28	0	0	67	0	0	7	2	0	9	13	0	0	15	142	
Cx. (Mcx.) pleuristriatus (Theobald,1903)	32	18	43	6	18	13	0	0	26	81	90	21	23	9	0	5	385	
Cx. (Mcx.) sp (Theobald, 1907)	1	2	2	0	1	1	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	11	
Cx. (Mel.) grupo atratus (Theobald, 1901)	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	
Cx. (Mel.) ocossa (Dyar & Knab, 1919)	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	
Cx. (Phc.) corniger (Theobald,1903)	0	0	0	0	0	1	0	0	157	0	0	0	0	0	0	0	158	
Cx. (Cux.) mollis (Dyar & Knab, 1906)	0	0	0	0	0	10	0	0	65	0	0	0	0	0	0	0	75	
Cx. (Mcx.) hedys ( Root.,1927)	0	2	0	0	2	0	0	0	13	9	0	0	0	2	0	0	28	
Cx. (Mcx.) imitator (Theobald, 1903)	1	5	11	0	4		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	
Cx. (Mcx.) retrosus (Lane & Whitman, 1951)	1	4	1	1	0	4	4	0	51	41	13	13	20	4	0	0	157	

Cx. (Mel) bastagarius (Dyar & Knab, 1906)	0	0	23	2	0	0	0	0	0	16	6	0	0	0	0	0	47
Cx. (Mel) ocellatus (Dyar & Knab,1919)	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	0	0	0	7
Cx. (Mcx.) aureus (Lane & Whitman, 1951)	10	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
Li. durhamii (Theobald, 1901)	0	0	17	0	0	55	0	0	79	120	3	21	0	0	0	0	295
Li. flavisetosus (De Oliveira Castro, 1935)	0	6	8	0	0	0	0	0	0	4	8	24	0	0	0	0	50
Li. pseudomethiscus (Bonne-Wepster & Bonne, 1920)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	17
Ps. (Jan.) albipes (Theobald, 1907)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Ps. (Gra.) cingulata (Fabricius, 1805)	5	88	90	27	28	59	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	314
Ps. (Jan.) ferox (Von Humboldt, 1819)	2	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16
Tr. (Tri.) pallidiventer (Lutz, 1905)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3
Tx. (Ank.) purpureus (Theobald, 1901)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3
Tx. (Ank.) tricopygus (Wiedemann, 1828)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	1
Tx. (Lyn.) mariae (Bourroul, 1904)	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	5
Ur. (Ura.) geométrica (Theobald, 1901)	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Ur. (Ura.) pulcherrima (Lynch Arribalzaga, 1981)	0	0	0	7	8	8	0	0	0	2	1	1	3	1	13	17	61
Wy. (Spi.) aningae (Motta & Lourenço de Oliveira, 2005)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Wy. (Spi.) bourrouli (Lutzi, 1905)	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	6
Wy. (Den.) luteoventralis (Lynch Arribalzaga, 1891)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Wy. (pho) bonnei (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	0	0	0	4	0	0	2	0	2	1	1	0	0	0	10
Wy. (pho.) davisi (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Wy. (pho.) edwardsi (Lane & Cerqueira, 1942)	0	1	1	2	9	10	3	0	30	7	26	8	22	22	1	0	142
Wy. (pho.) flabelata (Lane & Cerqueira, 1942)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Wy. (pho.) longirostris (Theobald, 1901)	0	1	17	10	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35
Wy. (pho.) pilicauda (Root, 1928)	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Wy. (pho.) quasilongirostris (Theobald, 1907)	0	0	10	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22
Wy. (pho.) theobaldi (Lane & Cerqueira, 1942)	2	9	11	1	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	34
Wy. (Wye.) medioalbipes (Lutz, 1904)	0	2	20	11	2	0	1	0	8	3	12	7	6	2	0	2	76
Wy. (Spi.) airosai (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Wyeomyia (wye.) arthrostigma (Lutz, 1905)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
TOTAL	69	174	388	105	149	331	69	6	509	321	190	148	92	48	51	47	2697

**Tabela 5.** Abundância de imaturos de Culicidae por criadouro encontrado na Reserva Ecológica do Guapiaçu (REGUA), Trilha amarela (Ponto A), no período de fevereiro de 2012 a março de 2014. Criadouros: 1-Banhado 2- Oco de árvore 3- Casca de fruta 4- Alagadiço no solo 5-Telha de amianto 6- Bromélia.

	2012 – 2014											
Espécies			C	riado	uros							
	1	2	3	4	5	6	Total					
An. (Ker.) cruzii (Dyar & Knab, 1908)	0	0	0	0	0	1	1					
An. (Nys.) albitarsis (Dyar, 1978)	0	0	0	2	0	0	2					
An. (Nys.) evansae (Brethes, 1926)	0	0	0	10	0	0	10					
Ae. (Est.) albopictus (Skuse, 1894)	0	0	0	0	11	1	12					
Ae. (Och.) rhyacophilus (Da Costa Lima, 1933)	0	0	0	1	0	0	1					
Ae. (Och.) scapularis (Rondani, 1848)	0	0	0	2	0	0	2					
Ae. (Och.) serratus (Theobald, 1901)	0	0	0	2	0	0	2					
Cq. (Rhy.) fasciolata (Lynch Arribalzaga, 1891)	7	0	0	0	0	0	7					
Cq. (Rhy.) juxtamansonia (Chagas, 1907)	11	0	0	0	0	0	11					
Cq. (Rhy.) venezuelensis (Theobald, 1912)	8	0	0	0	0	0	8					
Cx. (Cux.) abnormalis (Lane, 1936)	0	0	18	0	0	0	18					
Cx. (Aed.) sp (Lutz, 1904)	0	0	0	1	0	0	1					
Cx. (Cux.) usquatus (Dyar, 1918)	0	0	0	114	11	6	131					
Cx. (Mcx.) lanei (De Oliveira Coutinho & Forattini., 1962)	4	0	0	0	2	0	6					
Cx. (Mcx.) pleuristriatus (Theobald,1903)	0	0	5	0	0	85	90					
Cx. (Mcx.) sp (Theobald, 1907)	0	0	0	0	0	5	5					
Cx. (Mel.) grupo atratus (Theobald, 1901)	0	0	0	5	0	0	5					
Cx. (Mel.) ocossa (Dyar & Knab, 1919)	0	0	0	8	0	0	8					
Cx. (Phc.) corniger (Theobald,1903)	0	0	0	0	158	0	158					
Cx. (Cux.) mollis (Dyar & Knab, 1906)	0	0	0	0	75	0	75					
Cx. (Mcx.) imitator (Theobald, 1903)	0	0	0	0	0	10	10					
Cx. (Mcx.) retrosus (Lane & Whitman, 1951)	0	0	0	0	0	46	46					
Cx. (Mel) bastagarius (Dyar & Knab, 1906)	0	0	0	2	0	6	8					

Cx. (Mel) ocellatus (Dyar & Knab,1919)	0	0	0	0	0	2	2
Cx. (Mcx.) aureus (Lane & Whitman,1951)	0	0	0	0	0	1	1
Li. durhamii (Theobald, 1901)	0	0	14	0	120	22	156
Li. flavisetosus (De Oliveira Castro, 1935)	0	0	24	0	0	0	24
Li. pseudomethiscus (Bonne-Wepster & Bonne, 1920)	0	0	17	0	0	0	17
Ps. (Jan.) albipes (Theobald, 1907)	0	0	0	1	0	0	1
Ps. (Gra.) cingulata (Fabricius, 1805)	0	0	0	265	0	0	265
Ps. (Jan.) ferox (Von Humboldt, 1819)	0	0	0	16	0	0	16
Tx. (Ank.) purpureus (Theobald, 1901)	0	0	0	0	0	3	3
Tx. (Lyn.) mariae (Bourroul, 1904)	0	0	0	0	0	1	1
Ur. (Ura.) pulcherrima (Lynch Arribalzaga, 1981)	50	0	0	2	0	0	52
Wy. (Spi.) bourrouli (Lutzi, 1905)	0	0	0	0	0	6	6
Wy. (Den.) luteoventralis (Lynch Arribalzaga, 1891)	0	0	0	0	0	1	1
Wy. (pho) bonnei (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	0	0	0	4	4
Wy. (pho.) davisi (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	0	0	0	1	1
Wy. (pho.) edwardsi (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	0	0	0	63	63
Wy. (pho.) flabelata (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	0	0	0	1	1
Wy. (pho.) longirostris (Theobald, 1901)	0	0	0	0	0	27	27
Wy. (pho.) pilicauda (Root, 1928)	0	0	0	0	0	1	1
Wy. (pho.) quasilongirostris (Theobald, 1907)	0	0	0	0	0	22	22
Wy. (pho.) theobaldi (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	0	0	0	14	14
Wy. (Wye.) medioalbipes (Lutz, 1904)	0	2	0	0	0	55	57
TOTAL	80	2	78	431	377	384	1352

# 5.4. Preferência dos criadouros das espécies

Os imaturos de Culicidae foram encontrados em diversos criadouros localizados em duas áreas de amostragens, ponto A – trilha amarela (Tabela 4) e ponto B – trilha verde (Tabela 5).

**Tabela 6.** Abundância de imaturos de Culicidae por criadouro encontrado na Reserva Ecológica do Guapiaçu (REGUA), Trilha verde (Ponto B), no período de fevereiro de 2012 a março de 2014.

	2012 – 2014												
Espécies	Criadouros												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
An. (Ker.) cruzii (Dyar & Knab, 1908)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
An. (Nys.) albitarsis (Dyar, 1978)	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	4
An. (Ano.) eiseni (Coquillett, 1902)	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	5
An. (Nys.) evansae (Brethes, 1926)	0	0	0	0	0	2	18	0	0	8	0	0	28
Ae. (Pro.) terrens (Walker, 1856)	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Ae. (Och.) scapularis (Rondani, 1848)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Ae. (Och.) serratus (Theobald, 1901)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Cx. (Cux.) declarator (Dyar & Knab, 1906)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	2	0	9
Cx. (Cux.) usquatus (Dyar, 1918)	0	15	0	30	0	4	6	0	7	205	1	3	271
Cx. (Car.) urichii (Coquillett, 1906)	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Cx. (Cux.) quinquefasciatus (Say, 1823)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
Cx. (Mcx.) lanei (De Oliveira Coutinho & Forattini., 1962)	0	0	0	0	28	101	0	0	0	0	6	1	136
Cx. (Mcx.) pleuristriatus (Theobald,1903)	6	0	3	0	8	19	0	0	0	0	2	257	295
<i>Cx.</i> ( <i>Mcx.</i> ) sp (Theobald, 1907)	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	4	6
Cx. (Mcx.) hedys ( Root.,1927)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	28
Cx. (Mcx.) imitator (Theobald, 1903)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11
Cx. (Mcx.) retrosus (Lane & Whitman, 1951)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	111	111
Cx. (Mel) bastagarius (Dyar & Knab, 1906)	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	34	0	39
Cx. (Mel) ocellatus (Dyar & Knab,1919)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5
Cx. (Mcx.) aureus (Lane & Whitman,1951)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11
Li. durhamii (Theobald, 1901)	0	0	0	0	0	3	0	0	0	5	110	21	139
Li. flavisetosus (De Oliveira Castro, 1935)	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	12	8	26
Ps. (Gra.) cingulata (Fabricius, 1805)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	49	0	49
Tr. (Tri.) pallidiventer (Lutz, 1905)	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3

Tx. (Ank.) tricopygus (Wiedemann, 1828)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Tx. (Lyn.) mariae (Bourroul, 1904)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4
Ur. (Ura.) geométrica (Theobald, 1901)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
Ur. (Ura.) pulcherrima (Lynch Arribalzaga, 1981)	0	0	0	0	0	1	0	1	7	0	0	0	9
Wy. (Spi.) aningae (Motta & Lourenço de Oliveira, 2005)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Wy. (pho) bonnei (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6
Wy. (pho.) edwardsi (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	1	76	80
Wy. (pho.) longirostris (Theobald, 1901)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8
Wy. (pho.) pilicauda (Root, 1928)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Wy. (pho.) theobaldi (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20
Wy. (Wye.) medioalbipes (Lutz, 1904)	0	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0	10	18
Wy. (Spi.) airosai (Lane & Cerqueira, 1942)	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2
Wyeomyia (wye.) arthrostigma (Lutz, 1905)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
TOTAL	9	23	9	38	36	141	28	1	26	225	221	588	1345

**Tabela 7.** Diversidade de criadouros de Culicidae em área de preservação de Mata Atlântica da Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro, em estudo realizado entre fevereiro de 2012 e março de 2014.

	Criadouro	Quantidade (nº)	Coeficiente de Dominância (%)*
Artificial	Bacia plástica	05	7,7 <sup>b</sup>
Arumciai	Telha de amianto	03	$4.6^{\circ}$
	Alagadiço do solo	15	23,1ª
	Bambu	02	3,1°
	Banhado	08	12,3 <sup>b</sup>
	Brejo	06	$9.2^{\rm b}$
Noture1	Casca de fruta	02	3,1°
Natural	Córrego	06	$9.2^{\rm b}$
	Folha caída	01	1,5°
	Helicônia	08	12,3 <sup>b</sup>
	Oco de árvore	05	$7.7^{\mathrm{b}}$
	Raízes	04	3,2°
	Total	65	100,0

<sup>\*</sup>Expoentes com letras iguais na mesma coluna indicam diferença não significativa (p>0,05); quando as letras são desiguais indicam diferença significativa (p<0,05).

As coletas e contabilidade dos espécimes de mosquitos encontrados em cada um dos 12 tipos recipientes, permitiu fazer o cálculo da intensidade média de ocupação (IMO) dos criadouros no momento da amostragem, e confrontar com a diversidade de espécies em cada criadouro, assim identificando a espécie de mosquito dominante em cada local.

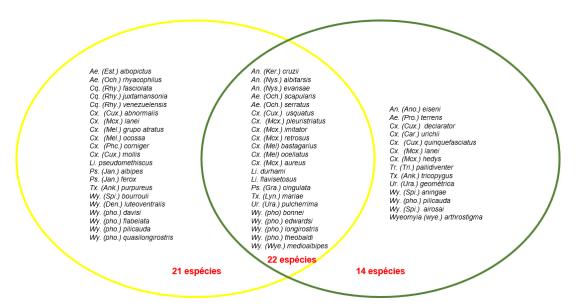
Analisados pelo teste do qui quadrado o criadouro natural alagadiço do solo foi significativamente melhor que os demais em relação a diversidade de mosquitos em criação. *Psorophora cingulata* teve maior dominância neste tipo de criadouro, mas para o universo de 36 pontos de criação estudados, formando 12 distintos ambientes, *Culex usquatus* é a espécie que coloniza maior número de criadouros, sendo descrita como espécie dominante na REGUA. Os criadouros artificiais encontrados no ambiente investigado são tão eficientes quanto aos criadouros naturais, permitindo tanto grande diversidade de espécies em colonização, como em quantidade de espécimes nos criadouros (Tabela 8).

**Tabela 8**. Diversidade de espécies de Culicidae nos criadouros investigados em área de preservação de Mata Atlântica da Reserva Ecológica do Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro, em estudo realizado entre fevereiro de 2012 e março de 2014, com citação da intensidade média de ocupação (IMO) e identificação da dominante.

Criadouro		Espécimes (nº)	IMO (nº)	Diversidade (nº)	Espécie dominante	
A mt:Cinin1	Bacia plástica	221	27,2	8 <sup>b,c</sup>	Limatus durhamii	
Artificial	Telha de amianto	377	125,7	$6^{b,c}$	Culex corniger	
Natural	Alagadiço do solo	457	32,9	14 <sup>a</sup>	Psorophora cingulata	
	Bambu	09	4,5	02°	Culex pleuristriatus	
	Banhado	80	10,3	05°	Uranotaenia pulcherrima	
	Brejo	225	43,3	06 <sup>b,c</sup>	Culex usquatus	
	Casca de fruta	114	43,0	05°	Limatus flavisetosus	
	Córrego	28	6,3	05°	Anopheles evansae	
	Folha caída	09	6,0	01°	Limatus flavisetosus	
	Helicônia	141	21,4	$10^{a,b}$	Culex lanei	
	Oco de árvor E	25	7,4	05°	Culex usquatus	
	Raízes	38	7,5	05°	Culex pleuristriatus	
Total		1.724				

<sup>\*</sup>Expoentes com letras iguais na mesma coluna indicam diferença não significativa (p>0,05); quando as letras são desiguais indicam diferença significativa (p<0,05).

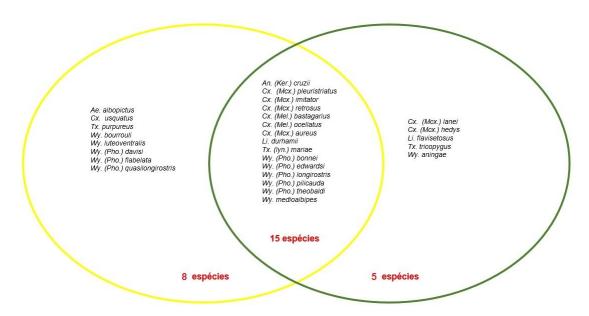
Das 57 espécies de mosquitos identificadas, 43 estavam no ponto de coleta da trilha amarela, e 36 no ponto de coleta da trilha verde, sendo que 14 espécies só ocorreram no ponto de coleta da trilha verde, e 21 só no ponto da trilha amarela, sendo assim 22 espécies eram comuns aos dois pontos de coletas (ponto B e ponto A) (Figura 10).



**Figura 10.** Espécies de culicídeos encontradas simultaneamente e exclusivamente em cada um dos pontos na Reserva Ecológica do Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu (REGUA, RJ) entre 2012-2014.

Testando pelo qui quadrado o risco relativo da diversidade de espécies diferir significativamente entre os dois pontos de coletas, o valor do qui quadrado encontrado foi de  $x^2 = 0.041$ , não significativo (p > 0.05), pelo que se aceita a hipótese da nulidade e se considera que a diferença entre as biodiversidades das espécies de mosquitos nos dois pontos de coletas foi aleatória.

As bromeliáceas foram criadouros de 28 espécies de Culicidae, sendo 15 espécies comuns nos dois pontos de coletas (trilha amarela e trilha verde), oito espécies foram encontradas só no ponto A (trilha amarela) (*Ae. albopictus, Cx. usquatus, Tx. purpureus, Wy.luteoventralis*, *Wy. bourrouli e Wy. (Pho.) flabelata, Wy. (Pho.) davisi, Wy. (Pho.) quasilongirostris*), *e* cinco apenas no ponto B (trilha verde) (*Cx. lanei, Cx. hedys, Limatus flavisetosus, Tx. tricopygus*, e *Wy. aningae*) (Figura 11).



**Figura 11**. Espécies de culicídeos encontradas simultaneamente e exclusivamente em bromeliáceas da Reserva Ecológica do Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu (REGUA, RJ) entre 2012-2014.

Nos criadouros estudados a temperatura apresentou uma variação entre  $16,6^{\circ}\text{C}$  e  $32,0^{\circ}\text{C}$  no ponto de coleta da trilha verde, e  $23,5^{\circ}\text{C}$  e  $31,0^{\circ}\text{C}$  no ponto de coleta da trilha amarela; a correlação calculada entre a quantidade de espécies encontradas e a temperatura foi desprezível (r < 0,15), assim como a diversidade de espécies em função da temperatura do criadouro (r < 0,15). Da mesma forma, o pH dos criadouros variou entre 5 e 7, com valor modal de seis, e também teve coeficiente de correlação desprezível (r < 0,15).

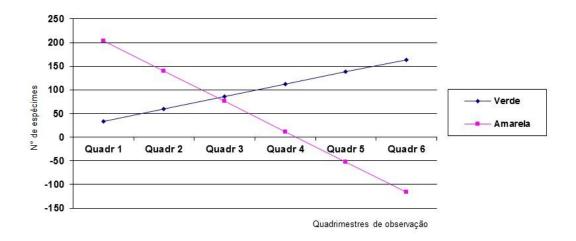
Das cinco espécies com maiores coeficientes de prevalência no ponto A, três espécies foram do gênero *Wyeomyia* e duas do gênero *Culex*, no ponto B, três espécies foram do gênero Culex e as outras duas diferiram, sendo uma do gênero *Limatus* e a outra do gênero *Wyeomyia* entre estas cinco espécies a dominância diferiu significativamente entre os coeficientes calculados para os dois pontos. As diferenças entre os indicadores foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis, com significância de 5% (Tabela 9).

**Tabela 9**. Coeficiente de prevalência (CP) e coeficiente de dominância (CD) das cinco principais espécies de mosquitos nas bromeliáceas como criadouros investigados nos dois pontos coletas da Reserva Ecológica do Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro, em estudo realizado entre fevereiro de 2012 e março de 2014.

Indicador	CP (%)		CD (%)		Número	
Espécies	A	В	A	В	A	В
Culex pleuristriatus	22,1	43,5	30,9 <sup>a</sup>	52,1 <sup>a</sup>	85	257
Culex hedys	-	4,7	-	5,7 <sup>d</sup>	-	28
Culex retrosus	12,0	18,8	$16,7^{b}$	$22,5^{b}$	46	111
Limatus durhamii	-	3,6	-	4,3 <sup>d</sup>	-	21
Wyeomyia edwardsi	16,4	12,9	$22,9^{b}$	15,4°	76	63
Wyeomyia longirostris	7,0	-	9,8°	-	27	-
Wyeomyia medioalbipes	14,1	-	19,6 <sup>b</sup>	-	54	-

<sup>\*</sup>Expoentes com letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam diferença não significativa (p>0,05); quando as letras minúsculas são desiguais indicam diferença significativa (p<0,05). A e B: pontos de coletas.

A avaliação da reta de tendência para a quantidade de exemplares encontrados nas bromeliáceas nos dois pontos (trilhas verde e amarela) considerando os quadrimestres de estratificação da amostra revelou tendências diferentes nos dois pontos; enquanto no ponto B (trilha verde) a tendência foi de aumento do número de espécimes encontrados (y = 8.8 + 25.63x), no ponto A (trilha amarela) foi de redução (y = 268.63 - 63.8x (Figura 13).



**Figura 12**. Reta de tendência na ocupação de bromeliáceas como criadouros de Culicidae na Reserva Ecológica do Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, por quadrimestre entre fevereiro de 2012 e janeiro de 2014

No presente trabalho foi verificado que as espécies de culicídeos apresentaram uma maior preferência para colonizar criadouros temporários (alagadiços no solo) pois são coleções hídricas no solo, efêmeras, alagáveis pelas chuvas ou inundáveis pelo transbordamento de curso de água. Enquadram-se nesse caso vários tipos de depressões do terreno, desde as pequenas poças de água até maiores extensões representadas por alagadiços (FORATTINI, 2002). É comum que esses criadouros temporários, dependendo do regime de chuvas e da temperatura da região, durem apenas alguns dias. Sendo assim, os mosquitos dos gêneros *Culex* e *Psorophora* devem se desenvolver rapidamente para utilizarem esses habitats, o que é corroborado por esse estudo.

É interessante ressaltar que no presente estudo *Psorophora albipes* (Theobald, 1907) e *Ps. cingulata* (Fabricius, 1805) foram coletadas exclusivamente em coleções líquidas no solo, apresentando uma preferência nas coleções temporárias. Tratam-se de espécies que seus ovos são altamente resistentes à dessecação, podendo permanecer por muitos anos aguardando o próximo evento de inundação (FOSS & DEYRUP, 2007).

Desse modo, as formas imaturas desse gênero se criam em coleções líquidas no solo, preferencialmente as temporárias. De acordo com BELKIN et al. (1971), essas larvas desenvolvem-se em poças de chuva de regiões arborizadas. Observação corroborada por CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA (1994), que ao comentarem especificamente sobre as larvas dos mosquitos do subgênero *Janthinosoma* Lutz, 1908 no qual se incluem as *Psorophora albipes e Ps. cingulata*, reafirmaram que estas se desenvolvem em depressões rasas e transitórias no solo, caracterizadas pela abundância de vegetação emergente ou pela presença da sombra propiciada pelas copas de árvores.

O encontro de *Limatus durhamii* colonizando preferencialmente criadouros artificiais, apresenta características euriécias, com adaptações genético-ecológicas suficientes que possa garantir sobrevivência em ambiente antroppizado (LOPES, 1997). Essa capacidade de utilizar recipientes abandonados foi relatada por PROSEN, CARCAVALLO & MARTÍNEZ (1962).

Estudos realizados por ALENCAR et al. (2010) em áreas do Parque Estadual da Serra do Mar observaram que *Li. durhamii* foi coletado exclusivamente em utensílios humanos, como botas de borracha, abandonadas no interior do parque. GUIMARÃES et al. (1985) relatam que entre os sabetíneos estudados no Parque Nacional da Serra Órgãos, *Li. durhamii* esteve entre as espécies mais bem adaptadas ao ambiente urbano, apresentando um elevado potencial para domiciliação e adaptação para diferentes tipos de criadouros artificiais. LOURENÇO-DE-OLIVEIRA et al. (1986) encontraram formas imaturas de *Li. durhamii* exclusivamente em recipientes artificiais, em áreas peri-urbanas da cidade do Rio de Janeiro.

Culex usquatus é a espécie que coloniza maior número de criadouros, sendo considerada como a dominante na área da REGUA. Assim como ALENCAR et al (2010) também observaram espécies do gênero Culex colonizando uma variedade de

criadouros e representando o segundo maior índice de dominância durante o período de estudo.

No ponto de coleta localizado na trilha amarela houve predominância de representantes do gênero *Uranotaenia*. Esta área possui um extenso alagado com margens sombreadas na maior parte do dia, o que pode ser favorável para estas espécies. Segundo SOTA et al. (1994) as espécies de *Uranotaenia* colonizam criadouros permanentes e estáveis ou semipermanentes MOGI et al. (1984) ressaltam que espécimes de *Uranotaenia* também podem utilizar como criadouros, buracos de caranguejo, ocos de árvore e internódios de bambu. TOMA & MIYAGI (1981) declaram que também é possível encontrá-las em axilas de plantas, plantas carnívoras e recipientes artificiais.

Diferente do que ocorreu no ponto A (trilha amarela), a maior parte dos mosquitos coletados da tribo Sabethini concentrou-se no ponto B (trilha verde). Os Sabethini são essencialmente tropicais de hábitos silvestres, suas formas imaturas criam-se em fitotelmas, sendo seus criadouros representados por recipientes naturais encontrados em ambientes silvestres como, ocos de árvores, internódios de bambu e axilas de folhas (LANE, 1953b; FORATTINI, 1965; FORATTINI, 2002), o que justifica sua grande representação no ponto B, área mais preservada.

A avaliação da reta de tendência para a quantidade de exemplares encontrados nas bromeliáceas nos dois diferentes pontos: A (trilha amarela) e B (trilha verde) revelou tendências diferentes nos dois pontos de coleta; enquanto no ponto de coleta B (trilha verde) a tendência foi de aumento do número de espécimes encontrados, no ponto A (trilha amarela) a mesma foi de redução. Podemos considerar que as bromélias juntamente com bambus, representam refúgios protetores para formas imaturas dos mosquitos durante os períodos climaticamente desfavoráveis, especialmente nas

estações secas. SILVA et al. (2007) sugerem que as comunidades bromelícolas, por serem pequenas, relativamente simples e muito abundantes, oferecem vantagens inigualáveis formando um microhabitat complexo. De maneira geral, os criadouros artificiais encontrados no ambiente da REGUA são tão eficientes quanto os mais eficientes criadouros naturais. Observamos que a influência da ação exercida pelas variáveis abióticas (temperatura e pH) mensuradas no período das coletas, assim como a diversidade das espécies em função dessas variáveis, não favoreceram diretamente o padrão quantitativo e teve coeficiente de correlação desprezível. Através desta análise foi comprovado que para a REGUA essas variáveis abióticas não atuaram como fator limitante para as espécies de culicídeos estudados.

Foram coletados poucos imaturos de *An. cruzii*, encontrados colonizando exclusivamente bromeliáceas. Essa espécie vem sendo frequentemente incriminada na transmissão do agente etiológico causador da malária humana e simiana em área com cobertura vegetal de Mata Atlântica, no litoral das regiões Sul e Sudeste do Brasil (DEANE et al 1986). O baixo número de anofelineos do subgênero *Kerteszia* theobald, 1905 em áreas de Mata Atlântica já foi relatado por ARAGÃO (1956) e GUIMARÃES et al. (2001). Estes autores observaram que significativos índices de pluviometria não estão relacionados à quantidade de precipitações pluviométricas, mas sim ao tipo dessas precipitações. Pois, enquanto os períodos de chuvas mais prolongadas favorecem a proliferação das bromeliáceas, nos períodos de estiagens, com chuvas mais raras e esparsas, essas plantas, por serem praticamente os únicos criadouros conhecidos das espécies deste subgênero, favorecem a proliferação desses mosquitos.

No que concerne aos criadouros de Wy. bonnei (Lane & Cerqueira, 1942), Wy. edwardsi (Lane & Cerqueira 1942), Wy. flabellata (Lane & Cerqueira, 1942), Wy. longirostris Theobald, 1901, Wy. pilicauda Root, 1928, Wy. quasilongirostris

(Theobald, 1907) e *Wy. theobaldi* (Lane & Cerqueira, 1942) pelo menos em referência a REGUA, não observamos variabilidade quanto ao local de escolha para postura dos ovos, tendo sido constatada a presença de formas imaturas apenas em bromeliáceas. É importante ressaltar o fato de que as espécies *Wy. quasilongirostris*, *Wy. flabellata* e *Wy. davisi* (Lane & Cerqueira, 1942) foram encontradas apenas no ponto de coleta A.

Aedes terrens (Walker, 1856) apresentou como criadouro preferencial as raízes tabulares. Esses resultados corroboram com as observações realizadas por LOZOVEI & LUZ (1976), NEVES & FARIA (1977). Em outros estudos realizados por LOPES (1997; 2002) ALENCAR et al. (2013). Essa espécie foi coletada com frequência em criadouros artificiais.

Trichoprosopon pallidiventer (Lutz, 1905) reproduziu-se preferencialmente em internódios de bambu. Segundo FORATTINI & MARQUES (2000) as espécies do gênero *Trichoprosopon* Theobald, 1901 caracterizam-se como mosquitos silvestres, coletados com frequência em coleções de água de pequeno porte como: fitotelmata, oco de árvore, axila de folha e casca de fruta.

Diante do exposto consideramos que a REGUA em relação aos seus criadouros (naturais e artificiais) apresentam similariedade para colonização de culicídeos, o que pode aumentar a população de espécies de mosquitos de grande importância médica. O conhecimento das populações em seus respectivos ecossistemas, podem fornecer informações sobre uma possível ocorrência arbovirose nessas área.

# 5.5 Descrição dos ovos de *Aedes fluviatilis* e *Culex bastagarius*, através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os caracteres morfológicos de ovos são ainda pouco ou incompletamente conhecidos, o que tem servido de estímulo na comunidade cientifica à descoberta e descrição de ovos de Culicidae. Entretanto com a utilização da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) vem se tornando possível a realização de uma descrição mais detalhada da ornamentação do exocório dos ovos desses culicídeos, o que tem permitido o encontro de estruturas bem características, que podem proporcionar um diagnóstico correto da espécie ainda em uma fase inicial do desenvolvimento.

Apesar da existência destes estudos, os caracteres morfológicos de ovos de culicídeos são ainda pouco conhecidos (FORATTINI, 2002), o que tem servido de estímulo na comunidade científica à descoberta e descrição de ovos.

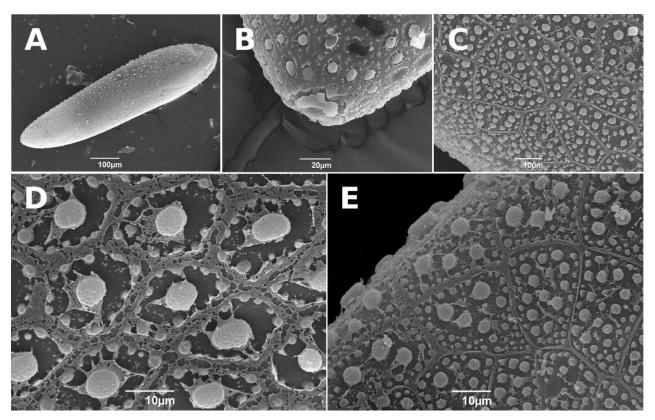
Aedes fluviatilis (Lutz), 1904 é encontrado em ambientes florestais, áreas modificadas, incluindo as urbanas. As fêmeas são ecléticas em suas fontes de alimentação, e as formas imaturas podem ser encontradas em escavações em rochas perto do solo. Possui distribuição a partir do Sul do México ao norte da Argentina, incluindo a encosta oriental dos Andes (FORATTINI, 2002). As formas imaturas de Ae. fluviatilis foram encontradas principalmente em fendas de rochas situadas perto ou em dentro de rios (FORATTINI, 1965; MARCONDES et al, 2006). Eles podem ser encontrados em recipientes artificiais, como pneus e vasos de flores nos cemitérios (LOPES, 2002).

os espécimes de *Aedes fluviatilis* apresentam seus ovos com uma coloração negra com formato elíptico (comprimento:  $722.8 \pm 39.6 \mu m$ ; largura:  $177.1 \pm 9.8 \mu m$ ) com um afunilamento em uma de suas extremidade, seu formato assemelha-se a um charuto, mais amplo no terço anterior e tem a superfície ventral mais convexo do que a

área dorsal (Figura. 13A). A micrópila é formada por um disco micropilar e por um colar micropilar achatado (Figura. 13B). A ornamentação das células coriônicas consiste em células de formas irregulares,  $27.2 \pm 5.9 \, \mu m$ , tubérculos de  $3.2 \pm 0.57 \, \mu m$  (n = 12) encontrados nas células da superfície ventral (Figura. 13C). As células coriônicas tendem a conter vários tubérculos de diferentes diâmetros na região ventral, enquanto aqueles na região dorsal incluem tubérculos de tamanho maior na parte central e vários tubérculos menores no seu redor, constituindo um losango irregular ou hexagonal alongado (Figura. 13D) na região ventral. O diâmetro dos tubérculos maiores é  $2.65 \pm 0.41 \, \mu m$  e dos menores  $1.4 \pm 0.24 \, \mu m$ . Na região dorsal, o diâmetro de tubérculos centrais é  $6.04 \pm 0.61 \, \mu m$  e os menores  $1.6 \pm 0.29 \, \mu m$ . Na transição entre regiões dorsal e ventral, o diâmetro do centro tubérculos é de  $5.1 \pm 0.58 \, \mu m$  e os menores  $2.0 \pm 0.64 \, \mu m$  (Fig. 14E). A superfície superior dos tubérculos maiores é confrontado (Fig. 14D). Estruturas relacionadas com a adesão estão ausentes.

Ovos de *Ae. fluviatilis* são geralmente depositados individualmente e diretamente sobre a água (CÔNSOLI & WILLIAMS, 1976), diferente dos ovos de *St. aegypti* e *St. albopicta* (Skuse) (= *Aedes albopictus*), que frequentemente aderem a superfícies (CONSOLI & OLIVEIRA, 1993). A ausência de filamentos que auxiliam na aderência também foram relatados nas espécies de *Haemagogus equinus* Theobald e *Hg. janthinomys* Dyar por LINLEY & CHADEE (1991).

Os imaturos de *Ae. fluviatilis* foram os únicos encontrados em fendas de rochas no meio de um rio no oeste da Santa Catarina, mas não foram encontrados perto das bordas, parcialmente na sombra e com folhas, onde apenas espécies predatórias (*Toxorhynchites* sp. e *Lutzia bigoti* (Bellardi) foram encontradas (MARCONDES et al. 2006).



**Figura 13**. Ovos de *Aedes fluviatilis*. A- ovo inteiro; B – micrópila e colar da micrópila; C- células de formas irregulares na superfície ventral; D- detalhes das células coriônicas da região dorsal mostrando tubérculos tamanhos diferentess em torno do tubérculo central; E- transição entre a região dorsal e ventral.

As espécies de mosquitos do gênero *Culex* Linnaeus pertencente ao subgênero *Melanoconion* Theobald são de porte pequeno ou médio de coloração em geral escura. Atualmente se conhece a descrição de 150 espécies, a maioria delas distribuídas na região neotropical. Os ovos são depositados isoladamente ou aglutinados, e as formas imaturas podem ser encontradas em variados tipos de hábitats, naturais ou artificiais. Supõe-se que membros desse subgênero possam desempenhar papel no ciclo natural de alguns arbovírus (FORATTINI, 2002).

As fêmeas apresentam uma probóscide média, com uma ponta de cor escura, mesonoto e pleura com a coloração marrom, abdomen escuro com manchas claras e

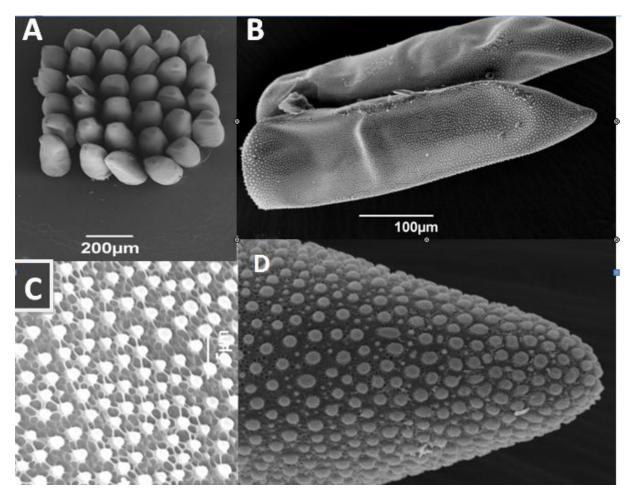
pernas acobreadas. As larvas possuem cabeça mais larga do que longa, tegumento escuro, antena ligeiramente mais escura na base (LANE, 1953).

As mensurações foram realizadas diretamente das imagens obtidas, com o auxílio do software de análise Semafore acoplado ao microscópio. Os ovos de coloração negra são ovipostos em conjunto formando uma jangada e apresentam formato cônico (Figura. 14 A) com aproximadamente 509 μm de comprimento e 131,7 μm de largura na região central. Nas extremidades, a área anterior do ovo apresenta 153 μm e 88,9 μm na região posterior. O índice do ovo, ou seja, a razão entre o comprimento e a largura, foi calculado utilizando-se a largura da região central obtendo-se 3,86 μm. A superfície dorsal (anterior) do revestimento coriônico apresenta células coriônicas de diversos formatos (hexagonal e pentagonal). Os tubérculos (dorsal) (Figura. 14 C) apresentam formato arredondado, assim como o descritos em outras espécies de culicídeos como o gênero *Ochlerotatus*. O aparelho micropilar não foi visualizado.

Algumas das peculiaridades estruturais da morfologia do ovo e morfometria de *Culex* já tinham sido descritas por SUMAN et al. 2008 em *Cx. tritaeniorhynchus* e *Cx. quinquefasciatus* sugerindo que eram prováveis aspectos evolutivos com relação ao padrão de postura de ovos. Em *Aedes*, os ovos são depositados individualmente sendo anexado ao substrato já *Anopheles* flutuam na água com um par flutuadoress no ovo.

Os ovos de *Culex bastagarius* são bem similares as espécies *de Cx. tritaeniorhynchus* e *Cx. quinquefasciatus* pois ambos apresentam formas fusiformes e são ovipositados em jangadas, tendo a região micropilar de forma cônica. *Culex bastagarius* e *Culex tritaeniorhynchus* apresentam medida da largura bem semelhante a primeira espécie com 131,7 µm e a segunda com 126.92 µm. Em relação aos tubérculos as três espécies de *Culex* apresentaram tubérculos centrais nas células coriônicas, o que também tem sido descritos em algumas espécies de *Ochlerotatus*.

Esses estudos demonstraram que os caracteres morfológicos encontrados nos ovos de *Cx. bastagarius* são fundamentais para a elaboração de chaves dicotômicas para o gênero *Culex*.



**Figura 14**. Ovos de *Culex bastagarius*. A- jangada; B - ovo inteiro; C- Tubérculos; D-região posterior do ovo mostrando os tubérculos.

## 5.6 Análise dos padrões de estruturação genética em populações de *Culex* (melanoconion) bastagarius Dyar & Knab (Diptera: Culicidae), por meio da técnica de morfometria geométrica das asas

Os mosquitos pertencentes ao subgênero *Melanoconion* Theobald do gênero *Culex* Linnaeus são de tamanhos pequeno a médio, apresentam uma coloração escura, tem hábitos crespusculares. Supõe-se que membros desse subgênero possam desempenhar papel no ciclo natural de alguns arbovírus, como por exemplo, o vírus da Encefalite Equina Venezuelana (Forattini, 2002).

Culex (Melanoconion) bastagarius Dyar & Knab tem uma ampla distribuição geográfica por todo o Continente Sul Americano, incluindo o Brasil (PECOR et al., 1992) e é encontrado principalmente em solos inundados e em campos de arroz (FORATTINI et al., 1993). A plasticidade fenotípica é a capacidade de um único genótipo apresentar uma série de fenótipos em resposta as alterações ambientais (PIGLIUCCI, 2005; LUSK et al., 2008). Um entendimento para a compreensão da complexidade das respostas dos organismos às mudanças ambientais é importante dentro do contexto de mudança global do clima (MERILÄ & HENDRY 2014, SCHLICHTING & WUND, 2014).

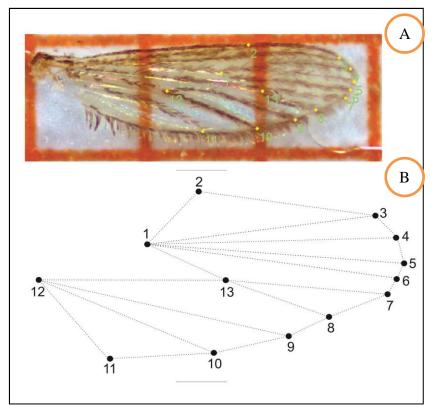
A morfometria geométrica é uma ferramenta poderosa e de baixo custo que auxilia em questões de taxonomia, ecologia e morfologia, particularmente em insetos (ADAMS et al., 2013). Estudos morfométricos dos dípteros têm abordado questões relacionadas com a plasticidade fenotípica e ao ambiente (SOTO et al., 2011). No entanto, nenhuma publicação científica anterior abordou variabilidade fenotípica e efeitos ambientais em *Culex bastagarius* Dyar & Knab, 1906. Nosso objetivo foi determinar os efeitos ambientais na variação fenotípica em *Cx. bastagarius*, usando

análise morfométrica geométrica das asas. As estações do ano foram designadas por G1, G2, G3 e G4 = Primavera, Verão, Outono e Inveno.

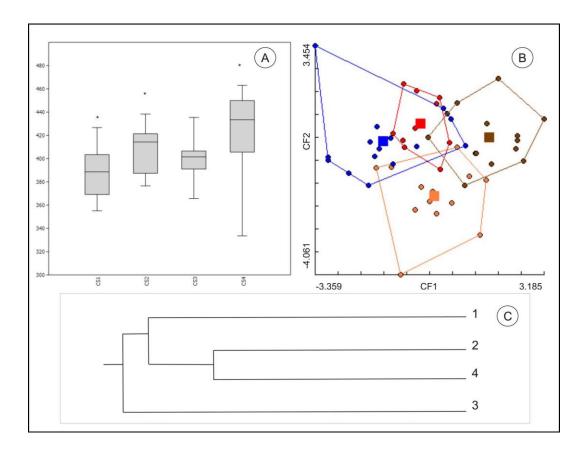
A análise das variações do tamanho da asa revelou que mosquitos coletados durante a primavera (G1) exibiu menor CS, seguido por aqueles coletados durante o outono (G3), inverno (G2), e no verão (G4). O teste de Mann-Whitney revelou diferenças significativas entre os mosquitos de G1 e G2 (L = 54, p = 0,0161), e aqueles dos símbolos G1 e G4 (L = 31, p = 0,0158) (Figura 17a). As classificações transversais verificadas dos indivíduos de cada grupo mostrou que 69-80% de todas as amostras foram corretamente classificadas. Por outro lado, o teste de permutação não mostrou diferenças significativas entre os grupos. O dendrograma UPGMA revelou semelhanças entre G1 e G2, G1 e G4, e G2 e G4. G3 ficou em um clado separado (Figura 17c). A Regressão multivariada na análise não apresentou nenhuma pendência comum entre as variáveis de conformação e CS (Wilks 'lambda: 0,098; F: 1,285; DF1: 66; df2: 72,5207; p = 0,1486).

Este estudo mostrou variabilidade fenotípica significativa no tamanho da asa entre populações; no entanto, não foram observadas diferenças significativas no formato da asa. Os resultados sugerem a existência de plasticidade fenotípica em relação ao tamanho da asa, em resposta as variações sazonais. Estes resultados são consistentes com os de outros estudos, em que os fatores ambientais, como a latitude, altitude, umidade relativa do ar, disponibilidade de nutrientes e temperatura afetou os tamanhos de vários insetos (MORALES-VARGAS et al., 2010, AYALA et al., 2011). Dos SANTOS et al. (2012) relataram que variabilidade fenotípica (como evidenciado pela taxa de reprodução e outras características morfológicas) em populações de *Chagasia fajardi* pode ser afetada por fatores ecológicos. Este é o primeiro estudo a demonstrar a variabilidade fenotípica em *Cx. bastagarius* com base em análises de morfometria

geométrica das asas. Estes estudos incluem o período de coleta relativamente curto e número limitado de indivíduos por grupo. No entanto, os resultados obtidos sugerem que análises morfométricas geométrica desta espécie poderia detectar variações no tamanho da asa, mas não necessariamente na forma da asa. Diferenças na forma são principalmente devido a genética e as adaptatações às mudanças ao invés de efeitos ambientais (DUJARDIN & FATIA, 2007; GÓMEZ et al., 2014). A morfometria geométrica analisa os marcadores moleculares que são ferramentas úteis e eficazes para estudos semelhantes.



**Figura 15.** A) Asa com pontos anatômicos . (B) Representação gráfica de configuração de asa c formado por 13 pontos anatômicos, ligados por linhas.



**Figura 16**. Fêmeas de *Culex bastagarius* de tamanho e forma variadas coletadas em Reserva Ecológica Guapiaçu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil ao longo de quatro temporadas. A: centroide da asa (CS), (CS1 = Primavera; CS2 = verão; CS3 = Outono; e CS4 = inverno). cada caixa denota a mediana como uma linha através do meio com os quartis (25 e 75 percentuais, respectivamente) em cada extremidade.

\*Diferenças significativas (teste de Mann - Whitney, p < 0,05 ). B: análise de variáveis canônicas (primavera de laranja =; vermelho = verão; azul = inverno; e castanho = Outono). A distribuição centróide (média multivariada) de fatores canônicos 1( CF1 ) e 2 (CF2) está ilustrado. Polígonos representam a dispersão dos pontos que correspondem a cada população. CF1 responsável por 54 % da variância, enquanto CF2 representaram 32%. C: método de grupo par não ponderada com média aritmética (UPGMA) dendrograma derivado de distâncias de Mahalanobis (1 = Primavera; 2 = verão; 3 = Outono; e 4 = inverno).

## 6. CONCLUSÕES

- ➤ Dentre as espécies coletadas de imaturos, destacam-se algumas incriminadas como vetores de agentes causadores de doenças ao homem e/ou a outros animais: An. cruzii, An. albitarsis, Aedes albopictus, Ae. scapularis, Coquillettidia venezuelensis, e Ps. ferox.
- ➢ O criadouro natural alagadiço do solo foi significativamente melhor que os demais como habitat. De um modo geral, os resultados comprovaram que Psorophora cingulata foi a espécie dominante neste tipo de criadouro, enquanto Culex usquatus colonizou maior número de criadouros, aparecendo por consequência, como a espécie dominante na área da REGUA.
- ➢ Aedes fluviatilis possui tubérculos maiores nas células coriônicas ventrais, o que pode auxiliar em sua adesão ao substrato. Esta espécie se assemelha a biologia de Ae. scapularis pois ambas depositam seus ovos em coleções líquidas no solo de cárater transitório ou não.
- ➤ Os ovos de *Culex bastagarius* são morfologicamente bem similares as espécies de *Cx. tritaeniorhynchus* e *Cx. quinquefasciatus*. Em relação aos tubérculos as três espécies de *Culex* apresentaram tubérculos centrais nas células coriônicas , o que também tem sido descritos em algumas espécies de *Ochlerotatus*.
- Análise dos padrões de estruturação genética em populações de *Culex* (melanoconion) bastagarius, por meio de técnica de morfometria geométrica de asas mostrou variabilidade fenotípica significativa no tamanho da asa em relação

às estações do ano, entretanto quanto ao formato da asa não houve diferenças significativas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, D. C.; ROHLF, F.J.; SLICE, D.E. A field comes of age:geometric morphometrics in the 21st century. **Hystrix** v.24, p.7–14, 2013.
- AHID, S. M. M.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.Mosquitos vetores potenciais de dirofilariose canina na Região Nordeste do Brasil. **Rev Saúde Pública** v.33 p.560–565, 1999.
- ALENCAR, J.; GUIMARÃES, A.E.; MELLO, R. P.; LOPES, C. M.; DÉGALLIER, N.; SANTOS-MALLET, J. R. Microscopia eletrônica de varredura de ovos de *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera:Culicidae). **Rev Saúde Pública**. v.37, n. 5, p. 621-629, 2003.
- ALENCAR, J., A. E. GUIMARÃES, H. R. GIL-SANTANA, AND J. R. SANTOS-MALLET. Scanning electron microscopy of eggs of *Ochlerotatus* (*Protomacleaya*) terrens Walker. **J. Am. Mosq. Control Assoc**. v.21, p.355-359, 2005.
- ALENCAR, J.; GUIMARÃES, A. E.; MELLO, R. P.; LOPES, C. M.; DEGALLIER, N.; SANTOS-MALLET, J. R. Scanning electron microscopy study of the egg of *Haemagogus* (*Haemagogus*) *capricornii* Lutz, 1904 (Diptera: Culicidae).**J. Med. Entomol.** v.42, n.1, p.1-6, 2005.
- ALENCAR, J.; <u>DÉGALLIER</u>, N.; HANNART, A.; SILVA, J.S.; <u>PACHECO</u> J.B.; <u>GUIMARÃES</u>, <u>A.E.</u> Circadian and seasonal preferences for hematophagy among *Haemagogus capricornii*, *Hg. janthinomys*, and *Hg. leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) in different regions of Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v.33, n.2, p.389-392, 2008.
- ALENCAR, J.; DEGALLIER, N.; GUIMARÃES, A. E. J. M. COSTA, W. A. MARQUES, V. C. SILVA, AND J. R. SANTOS-MALLET. Scanning electron microscopy of the egg of *Haemagogus tropicalis*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.** v.24, n.1, p.16-20, 2008.
- ALENCAR, J.; CASTRO, F.C.; MONTEIRO, H.A.O.; SILVA, O.V.; <u>DÉGALLIER</u>, N.; MARCONDES, C.B.; <u>GUIMARÃES</u>, A. E. New records of *Haemagogus* (*Haemagogus*) from Northern and Northeastern. **Zootaxa**, n.1779, p. 65-68, 2008.
- ALENCAR, J.; <u>SERRA-FREIRE</u>, <u>N.M.</u>; OLIVEIRA, R.F.N.; <u>SILVA</u>, <u>J.S.</u>; <u>PACHECO</u>, <u>J.B</u>. & GUIMARÃES, A.E. Immature mosquitoes of Serra do Mar Park, São Paulo state, Brazil. **Journal of the American mosquito Control Association**, v.26, p.249-256, 2010.
- ALENCAR, J.; FERREIRA, Z.N.; LOPES,C.M.; SERRA-FREIRE, N.M.; MELLO, R.P.; SILVA, J.S.; GUIMARAES, A.E. Biodiversity and Times of Activity of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Biome of the Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.8, n.2, p.223-231, 2011.

- ALENCAR, J.; MELLO, V.S.; SERRA-FREIRE, N.M.; SILVA, J.S.; MORONE, F.C. & GUIMARÃES, A.E. Evaluation of Mosquito (Diptera: Culicidae) Species Richness using Two Sampling Methods in the Hydroelectric Reservoir of Simplício, Minas Gerais, Brazil. **Zoological Science**, v.29, n.2, p.218-222, 2012.
- ALENCAR, J.; SILVA, J. S.; DE OLIVEIRA, L.C.; MARCONDES, C.B.; MORONE, F.; LOROSA, E.S. Feeding patterns of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Eastern, Santa Catarina, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.49, n.2, p.952-954, 2012.
- ALENCAR, J.; GLEISER, R.G.; MORONE, F. C.; MELLO, C.F.; SILVA, J.S.; SERRA-FREIRE, N.M. & GUIMARÃES, A. E. A comparative study of the effect of multiple immersions on Aedini (Diptera: Culicidae) mosquito eggs with emphasis on sylvan vectors of yellow fever virus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** (Impresso), v.109, p.114, 2014.
- ALENCAR. J.; MELLO, C.F.; GUIMARÃES, A.E; GIL-SANTANA'H.S.; SILVA, J.S.; SANTOS- MALLET'J.R. & GLEISER, R.M. Culicidae Community Composition and Temporal Dynamics in Guapiaçu Ecological Reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. **Plos One** v.10, p.1-16, 2015.
- ANJOS A. F., NAVARRO-SILVA M. A. Culicidae (Insecta: Diptera) em area de floresta Atlântica, no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Sci. Biol. Sci** v.30, p.23-27, 2008.
- ARAGÃO M. B . Aspectos climáticos do problema broméliamalária. **Rev Bras Malariol Doenças Trop** v.8, p.621-631, 1956.
- ARNELL, J.H. Mosquito studies (Diptera, Culicidae). XXXII. A revision of the genus *Haemagogus*. **Contributions of the American Entomological Institute**, v.10, p.1–174, 1973.
- ARNELL, J. H. Mosquito studies (Diptera, Culicidae) XXXIII. A revision of the scapularus group of Aedes (Ochlerotatus). **Contributions of the American Entomology Institute** v.13, n 3, p.1-144, 1976.
- AYALA, D.; CARO-RIANO, H.; DUJARDIN, J.P.; RAHOLA, N.;, FONTENILLE, D. & SIMARD, F. Chromosomal and environmental determinants of morphometric variation in natural populations of the malaria vector Anopheles funestusin Cameroon. **Infect Genet Evol** v.11, n.5, p.940–947, 2011.
- BARATA, R.C.B. Malária no Brasil: panorama epidemiológico na última década. **Cad Saude Publica**. v.11, n.1, p.128–136, 1995.
- BELKIN J.N, SCHICK R.X, HEINEMANN S.J Mosquitoes studies (Diptera, Culicidae). XXV. Mosquitoes originally described from Brazil. **Contrib Am Entomol Inst** v.7, n.5, p.1-64, 1971.
- BOOKSTEIN, F.L. Morphometric tools for landmarkdata: geometry and biology. New York, NY: Cambridge Univ. Press. 1991.

- BOOKSTEIN, F.L. Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. **Medical Image Analysis**. v.1, n.3, p.225–243, 1997.
- CALADO, D. C.; SILVA, M .A. N. Comunidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) em recepientes introduzidos em área rural e urbana da região metropolitana de Curitiba, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v.18, p.51-60. 2001.
- CAMPOS, S.; SILVA, M.; PIROLI, E.L.; CARDOSO, L.G.; BARROS, Z.X. Evolução do uso da terra entre 1996 e 1999 no município de Botucatu-SP. **Engenharia Agrícola** v. 24, p.211-218. 2004.
- CASANOVA, C.; PRADO, A.P. Key-factor analysis of immature stages of *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) populations in southeastern Brazil. **Bull Entomol Res** v. 92, p.271–277. 2002.
- CHADEE, D. D.; CORBET, P. S. Seasonal incidence and diel patterns of oviposition in the Peld of the mosquito, *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in Trinidad, West Indies: a preliminary study. **Ann. Trop. Med. Hyg.** v.8, p.151-161. 1987.
- CHADEE, D. D.; SMALL, G. J.; O'MALLEY, S.L.C.The description of the eggs of *Toxorhynchites moctezuma* (Diptera: Culicidae) from Trinidad, West Indies with notes on other eggs. **Mosq. Syst.** v. 19, 1987.
- CHADEE, D. D.; BENNETT, H. Scanning electron microscopyof the eggs of *Haemagogus celeste* and *Haemagogus equinus* (Diptera: Culicidae) from Trinidad, WestIndies. **Mosq Syst.** v.22, n.1, p.11–14, 1990.
- CHAIMOWICZ, F. Health of Brazilian elderly just before of the 21st century: current problems, forecasts and alternatives. **Rev. Saúde Pública** v.31, n.2, p.184-200, 1997.
- CHAPMAN & HALL. **Plasticity of crystals by E. Schmid and W. Boas** xiv 353 p. London 1968.
- CONFALONIERI, U. E. C.; NETO C. C. Diversity of Mosquito Vectors (Diptera: Culicidae) in Caxiuanã, Pará, Brazil. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v.2012, p.1-8, 2012
- CONNELL J.H Diversity in tropical rain forests and coral reefs. **Science** 199 p. 1302–1310, 1978.
- CONSOLI, R.A.G.; OLIVEIRA, R.L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro, Brazil: Editora Fiocruz. 228 p. 1994.
- CORREA F.F, GLEISER R.M, LEITE P.J, FAGUNDES E, GIL-SANTANA H.R, MELLO C.F, GREDILHA, R.; ALENCAR, J. Mosquito (Diptera: Culicidae) communities in Nova Iguaçu Natural Park Rio de Janeiro, Brazil. **J Am Mosquito Control Assoc**, v.30, n.1, p.83–90, 2014.

- DAVIS, D.E. 1944a. A comparison of mosquitoes captured with an avian bait at different vegetational leveis. **Revista de Entomologia**, v.15, n.1-2, p.209-215.
  - \_\_\_\_\_. Larval habitats of some brazilian mosquitoes. **Revista de Entomologia**, v.15, n.1-2, p.221-235, 1944b.
  - \_\_\_\_\_. The annual cycle of plants, mosquitoes, birds and mammals in two brazilian forests. **Ecological Monographs**. v.15, n.3, p.243-295, 1945a.
  - \_\_\_\_\_.. A comparison of mosquitoes captured with avian bait and human bait. **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v.47, p.252-256, 1945b
  - \_\_\_\_\_. Contribuição para o estudo da distribuição geográfica dos anofelinos do Brasil. **Revista Paulista de Medicina**, v.21, n.3-4, p.28-32, 1947.
- DORVILLÉ, L. F. M.; Mosquitoes as bioindicators of forest degradation in southeastern Brazil, a statistical evaluation of published data in the literature. **Study Neotropical Environ**, v.31, p.68-78, 1996.
- DOS SANTOS SILVA, J.; CARBAJAL DE LA FUENTE, A.L.; SERRA-FREIRE, N.M.; GUIMARAES, A.E.; SOARES SARMENTO, J.; ALENCAR, J. Morphometric analysis of *Chagasia fajardi* (Diptera: Culicidae) populations in Brazil.**Rev Colomb Entomol**. v.38, p.210–215. 2012.
- DUJARDIN, J.P.; LE PONT, F.; MATIAS, A.; DE LA RIVA, J. Morphometrical evidence for speciation within Bolivian *Lutzomyia aragaoi* (Diptera: Psychodidae). Infection, Genetics and Evolution. **Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases**, v.5, n.4, p.362-365, 2005.
- DUJARDIN, J.P.; SLICE, D.E. Contributions of Morphometrics to Medical Entomology. In, Tibayrenc, M. Encyclopedia of Infectious Diseases: Modern Methodologies. Ed. John Wiley & Sons . p.435 447, 2007.
- DUJARDIN, J.P.; STEINDEL, M.; CHAVEZ, T.; MACHANE, M.; SCHOFIELD, C.J. Changes in the sexual dimorphism of Triatominae in the transition from natural to artificial habitats. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.94, n.4, p.565 569. 1999.
- DUJARDIN, J.P.; TORREZ, E.M.; LE PONT, F.; HERVAS, D. Isozymic and metric variation in the *Lutzomyia longipalpis* complex. **Medical and Veterinary Entomology**, v.11n. 4, p. 394-400, 1997.
- DUJARDIN, J.P.; SLICE, D.E. Contributions of morphometrics to medical entomology. In: Tibayrenc M, ed. Encyclopedia of infectious diseases: modern methodologies. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc. p. 433–445, 2007.
- EDWARDS, F.W. Oligocene mosquitoes in the British Museum; with a summary of our present knowledge concerning fossil Culicidae. **Quarterly Journal of the Geological Society of London**, v. 79, p. 139-135, 1923.

- FIGUEIREDO, L.T.M. Arboviroses emergentes no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n.2, p.224-229, 2007.
- FORATTINI, O.P.; GOMES, A.C.; SANTOS, J.L.F.; GALATI, E,A,B.; RABELO, E.X.; NATAL, D. Observações sobre a atividade de mosquitos Culicidae, em mata residual do Vale da Ribeira, São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública.** v.15, n.6, p. 557-586, 1981.
- FORATTINI, O.P.; GOMES, A.C.; NATAL, D.; KAKITANI, I.; MARUCCI, D. Preferências alimentares e domiciliação de mosquitos Culicidae no Vale da Ribeira, São Paulo, Brasil, com especial referência a *Aedes scapularis* e a *Culex* (*Melanoconion*). **Rev Saúde Pública**. v.23, p.9- 19, 1989.
- FORATTINI, O.P. **Entomologia médica**. Volume II. Culicini: Culex, Aedes e Psorophora.. São Paulo: Editora da USP/ Faculdade de Higiene e Saúde Pública, 506p. 1965.
- FORATTINI, O. P.; MARQUES, G.R.A. Significado epidemiológico dos criadouros de *Aedes albopictus* em bromélias. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 186-188. 1998.
- FORATTINI, Oswaldo Paulo. **Culicidologia Médica**: Identificação, biologia, epidemiologia. São Paulo: EDUSP, v. 2, 2002, 860 p
- FORATTINI, O.P.; GOMES, A.C.; NATAL, D. & SANTOS, J.L.F. Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae em mata primitiva da encosta no Vale da Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 20, p. 1-20. 1986.
- FORATTINI, O.P.; KAKITANI, I.; MASSAD, E.; MARUCCI, D. Studies on mosquitoes (Díptera: Culicidae) and anthropic and environment. 7- Behaviour of adults Nyssorhynchus anophelines with special reference to *Anopheles albitarsis s.l.* in South Eastern, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v.29, n.1, p.20-26, 1995.
- FORATTINI, O.P.; KAKITANI, I.; MASSAD, E.; MARUCCI, D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 2. Immature stages research at a rice irrigation system location in south-eastern Brazil. **Rev. Saúde Pública**. v. 27, n.4, p.227–236, 1993.
- FOSS, K.A; DEYRUP, L.D. New record of *Psorophora ciliata* in Maine, United States. **Journal of the American Mosquito Control Association**. v.23, p.476-477, 2007.
- FRANÇA, T.C.C.; SANTOS, M.G. & FIGUEROA-VILLAR, J.D. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. **Química Nova**, v.31, n.5, p.1271-1278, 2008.
- FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, BRASIL. 2010/2011. SOS Mata Atlântica e INPE divulgam dados do Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica, no período de 2010 a 2011 Disponível em <a href="http://www.sosma.org.br/5697/sos-mata-atlantica-e-inpe-divulgam-dados-do-atlas-">http://www.sosma.org.br/5697/sos-mata-atlantica-e-inpe-divulgam-dados-do-atlas-</a>

- <u>dos-remanescentes-florestais-da-mata-atlantica-no-periodo-de-2010-a-2011/></u>. Acesso em: 09 maio. 2016.
- FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. Atlas da evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados no domínio da Mata Atlântica no período 1990-1995. São Paulo. 1998.
- GENTRY, A. H. Floristic similarities and differences between Southern Central America and upper and central Amazonia, pp. 141-157. In:\_\_\_\_\_\_. Four Neotropical rainforests, New Hven, Eua, Yale University Press, 640 p. 1990.
- GOMEZ, F.; MARQUEZ, E.J.; GUITERREZ, L.A.; CONNE, J.E.; CORREA, M.M. Geometric morphometric analysis of Colombian Anopheles albimanus (Diptera: Culicidae) reveals significant effect of environmenal factors onwing traits and presence of a metapopulation. **ActaTropica1**. v. 35, p.75–85, 2014.
- GUIMARÃES, A. E.; ARLÉ, M. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I Distribuição estacional. **Memórias do Instituto Oswaldo Cru**z, v.79, p.309-323, 1984.
- GUIMARÃES, A.E.; VICTÓRIO, V.M.N. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. III- Preferência Horária para Hematofagia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.81, p.93-103, 1986.
- GUIMARÃES, A.E.; MOTTA, M.; ARLÉ, M.; MACHADO, R.N.M., & GONÇALVES, L.D. Bionomia de mosquitos (Diptera-Culicidae) em áreas da mata Atlântica no município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I Freqüência intra, peri e extradomiciliar. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.84, p.243-254, 1989.
- GUIMARAES, A.E.; MELLO, R.P.; LOPES, C.M.; GENTILE, C. Ecology of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. I- Monthly Frequence and Clinatic Factors. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz,** Brasil, v.95, n.1, p.17-28, 2000.
- GUIMARÃES, A.E.; GENTILE, C.; LOPES, C.M.; SANT'ANNA, A. Ecologia de mosquitos em áreas do Parque Nacional da Serra da Bocaina. II Freqüência mensal e fatores climáticos. **Revista de Saúde Pública**, v.35, n.4, p.392-399, 2001.
- HAMILTON, A.J.; BASSET, Y.; BENKE, K.K.; GRIMBACHER, P.S.; MILLER, S.E.; NOVOTNÝ, V.; SAMUELSON, G.A.; STORK, N.E.; WEIBLEN, G.D. & YEN, J.D.L. Quantifying Uncertainty in Estimation of Tropical Arthropod Species Richness. **The American Naturalist**, v.176, n.1, p.90-95, 2010.
- HADDOW, A.D.; MOULTON, J.K.; GERHARDT, R.R.; MCCUISTON, L.J.; JONES, C.J.; Description of the egg of *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) using variable pressure scanning electron microscopy. **J. Med. Entomol**. v.46, n.1, p.9–14, 2009.

- HARBACH, R. Fossil Culicidae. Mosquito Taxonomic Inventory. 2008. Disponível em <a href="http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6420">http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6420</a>>. Acesso em: 22 novembro. 2015.
- GLEISER, R. M. & D. E. GORLA. Predicting the spatial distribution of *Ochlerotatus albifasciatus* (Diptera: Culicidae) abundance with NOAA imagery. Bull. **Entomol.Res**. v.97, n.6, p. 607-612, 2007.
- HAMMER, O.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica**, v.4, p.1-9, 2001.
- HARBACH, R. E.; KNIGHT, K. **Taxonomists glossary of mosquito anatomy**. 1980.
- HARBACH, R. E.; KITCHING, I. J. Phylogeny and classification of the Culicidae (Diptera). **Systematic Entomology.** v.23, n.4, p.327–370, 1998.
- HARBACH, R.E. The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. **Zootaxa**, v.1668, p.591-638, 2007.
- HUTCHINGS, R.S.G.; SALLUM, M.A.M., FERREIRA, R.L.M. & HUTCHINGS R.W. Mosquitoes of the Jaú National Park and their potential importance in Brazilian Amazonia. **Med. Vet. Entomol**, v. 19, n. 4, p.428-441. 2005.
- IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e bioestatística. Manual técnico da vegetação brasileira. Rio de Janeiro: IBGE; 1992. (manuais técnicos em geociências, 1).
- INEA. Plano de manejo do parque dos Três Picos . Rio de Janeiro: Instituto Estadual do Ambiente. 2009.
- IVERSON, R.M.; LAHUSEN, R.G. Dynamic pore-pressure fluctuations in rapidly shearing granular materials. **Science** v. 246, p. 796–99. 1989.
- JARAMILLO, O. N.; FONSECA-GONZALEZ, I.; CHAVERRA-RODRÍGUEZ, D. Geometric morphometrics of nine field isolates of *Aedes aegypti* with different resistance levels to lambda-cyhalothrin and relative fitness of one artificially selected for resistance. **Plos one**, v. 9, n.5, p. e96379, 2014.
- JARAMILLO, N, ; DUJARDIN, J.P.; CALLE-LONDONO, D.& FONSECA GONZALEZ, I. Geometric morphometrics for the taxonomy of 11 species of Anopheles (Nyssorhynchus) mosquitoes.**Med Vet Entomol** v.29, p.26–36, 2015.
- JIRAKANJANAKIT, N.; LEEMINGSAWAT, S.; DUJARDIN, J.P. The geometry of the wing of *Aedes* (Stegomyia) *aegypti* in isofemale lines through successive generations. **Inf. Genet. Evol**, v.8, n.4 p.414-421, 2008.
- JOURNAL POLICY ON NAMES OF AEDINI MOSQUITO GENERA AND SUBGENERA. 2005. **Editorial do Journal of Medical Entomology**, EUA, v.42, n.4, p.511, 2005.

- KARABATSOS, N. Supplement to International Catalogue of Arboviruses including certain other viruses of vertebrates. **Am J Trop Med Hyg**, v.27, p.372-440, 1978.
- KNIGHT, K. L.; STONE, A. A catalog of the mosquitoes of the world (Diptera:Culicidae). **The Thomas Say Foundation**, v.6, 611 p, 1977.
- KUMM, H.W. & NOVIS, A. Mosquito studies on the Ilha do Marajó, Pará, Brazil. **The American Journal of These**, v.27, n.3, p.498-515, 1938.
  - LANE, J. Neotropical Culicidae. v.2. EDUSP, São Paulo, 1953.
- LINLEY, J. R. Comparative fine structure off the eggs of *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* e *Aedes bahamensis* (Diptera: Culicidae). **J. Med. Entomol**. v.26, p. 5190-521, 1989.
- LINLEY, J. R. & D. D. CHADEE. Fine structure of theeggs of *Haemagogus equinus* and *Hg. janthinomys* (Diptera: Culicidae). **J. Med. Entomol.** v.28, p.434-445, 1991.
- LOPES, J. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do Norte do Estado do Paraná, Brasil. V. Coleta de larvas em recipientes artificiais instalados em mata ciliar. **Rev. Saúde Públ**, v.31, n.4, p.370-377, 1997a.
- LOPES, J. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do Norte do Estado do Paraná, Brasil. VI. Coletas de Larvas no Peridomicílio. **Rev. Bras. Zool**, v.14, n.3, p.571-578, 1997.
- LOPES, J. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do Norte do Estado do Paraná, Brasil. VII. Coexistência das espécies. **Iheringia, Ser. Zool**, v.83, p.91-97,1997.
- LOPES, J. Mosquitos (Diptera: Culicidae) da Região do Baixo Tibagi e suas adaptações a ambientes antropogênicos: causas e conseqüências. In **A Bacia do Rio Tibagi.** (M.E. Medri, E. Bianchini, O.A. Shibatta & J.A. Pimenta, eds). Londrina, p. 327-351, 2002.
- LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; SILVA, T.F. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma área de planície (Granjas Calábria) em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. III- Preferência horária das fêmeas para o hematofagismo. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.80, p.195–201, 1985.
- LOZOVEI, A.L.; LUZ, E. Diptera Culicidae em Curitiba e arredores. I. Ocorrência. **Arq. Biol. Tecnol,** v. 19, p. 25-42, 19%.
- LOZOVEI, A.L. Microhabitats de mosquitos (Diptera, Culicidae) em internódios de Taquara na Mata Atlântica, Paraná, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**. n. 90, p.3-13, 2001.

- LUSK, C.H.; REICH, P.B.; MONTGOMERY, R.A.; ACKERLY, D.D. CAVENDER-BARES, J. Why are evergreen leaves so contrary about shade? **Trends Ecol Evol**,v.23, n.6, p.299–303, 2008.
- LUTZ, A. Quadros dos gêneros da família Culicidae. 78p. Bourroul. Tese de Doutorado. Mosquitos do Brasil. 1904.
- LUZ, S.L.B.; LOURENÇO DE OLIVEIRA, R. Forest Culicinae mosquitoes in the environs of Samuel Hydroeletric Plant, State of Rondônia, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 91, p.427-432, 1996.
- MAGURRAN, A.E. **Measuring Biological Diversity**. Blackwell Publishing. p.256. 2004.
- MARCONDES, C. B.; MÜLLER, G. A.; SANTOS-MALLET, J.; ALENCAR, J.; SARMENTO, J.S.; DOS SANTOS, C. B.; REZENDE, H. R. Scanning electron microscopy of eggs of Ochlerotatus *taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae, Aedini). **Zootaxa.** v. 3509, p. 77-80, 2012.
- MATSUO, K.; IWAKI, M.; KUNOU, I. The scanning electron microscopy of mosquitoes. **I. Jpn J Sanit Zool.** v. 22, p.307, 1972.
- MATSUO, K.; YOSHIDA, Y.; LIEN, J. C. Scanning electron microscopy of mosquitoes II. The egg surface structure of 13 species of *Aedes* from Taiwan. **J. Med. Entomol.** v.11, p.179-188, 1974.
- MEDEIROS-SOUSA, A.R.; CERETTI-JUNIOR, W.; URBINATTI, P.R.; NATAL, D.;CARVALHO, G.C.; PAULA, M.B.; FERNANDES, A.; HOMEM DE MELO, M.H.S.; OLIVEIRA, R.C.; ORICO, L.D.; GONÇALVES, E.F.B. & MARRELLI, M.T Mosquito (Diptera: Culicidae) survey in parks of São Paulo City I. **Biota Neotrop.** v.13, n.1, 2013.
- MELLO, C. F.; SANTOS-MALLET, J.R.; TÁTILA-FERREIRA, A.; ALENCAR, J. Comparing the egg ultrastructure of three *Psorophora ferox* (Diptera: Culicidae) populations. **Braz. J. Biol.** 2017.
- MERILA, J.; HENDRY, A.P. Climate change, evolution, and phenotypic plasticity. **Evol Appl**, v.7, p.1–14. 2014.
- MONTES, J. Fauna de Culicidae da Serra da Cantareira, São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública** v. 39, p.578-84, 2005.
- MORAIS, S. A.; MORATORE; C. SUESDEK L.; MARRELLI. M. T. Genetic-morphometric variation in Culex quinquefasciatusfrom Brazil and LaPlata, Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.105, n.5, p. 672–676, 2010.
- MORALES-VARGAS, R.E.; YA-UMPHAN, P.; PHUMALA-MORALES, N.; KOMALAMISRA, N.; DUJARDIN, J.P. Climate associated size and shape changes in

- Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) populations from Thailand. **Infect Genet Evol**, v.10, n.4, p.580–585, 2010.
- MURRAY, P. R.; DREW ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Togavírus e Flavivírus**: Microbiologia Médica. Rio de janeiro: Guanabra Koogan, p.623-634, 2006. NEVES, D.P.; FARIA, A.C. Biologia do *Aedes* (Finlaya) *terrens* (Walker) em condições de campo e laboratório (Diptera, Culicidae). **Rev. Bras. Biol.**, v.37, p.803-806, 1977.
- NIMER E. **Climatologia do Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE (Recursos naturais e meio ambiente). 422 p. 1979.
- OLIVEIRA-FILHO, A.T.; FONTES, M.A.L. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, v.32, p.793-810, 2000.
- ORLANDIM, E;, SANTOS, E.B.; PIOESAN, M..; FAVRETTO, M, A.; SCHNEEBERGER, A. H.; SOUZA, V.O.; MULLER, G. A.; WAGNER, G. Mosquitoes (Diptera: Culicidae) from crepuscular period in an Atlantic Forest area in Southern Brazil. **Braz. J. Biol.** v.77, p.60-67, 2017.
- PECOR, J.E; MALLAMPALLI, V.L.; HARBACH, R.E.; PEYTON, E.L. Catalog and illustrated review of the subgenus Melanoconion of *Culex* (Diptera:Culicidae). **Contrib Am Entomol Inst.** v.27, n.1, p. 228, 1992.
- PEDREIRA, B. C. C. G.; FIDALGO, E. C. C; PRADO, R. B.; FADUL, M. J.; BASTOS, E. C.; SILVA, S. A.; ZAINER, N. G.; PELUZO, J. **Dinâmica de uso e cobertura da terra nas bacias hidrográficas do Guapi-Macacu e Caceribu RJ.** Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 66 p. (Embrapa Solos. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 136), 2009.
- PERYASSÚ, A.G. Os Culicídeos do Brazil. 1908. 407p. Tese de Doutorado, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- PIGLIUCCI, M. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? **Trends Ecol Evol**, v.20, p.481–486, 2005.
- PINHEIRO, H.S.K. Mapeamento Digital de Solos por Redes Neurais Artificiais da Bacia Hidrográfica do Rio Guapi-Macacu, Rio de Janeiro. 2012, 151p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, Rio de Janeiro.
- REINERT, J. F. List of species described in the egg stage of tribe Aedini (Diptera: Culicidae) with their literature citations. **J. Am. Mosq. Control Assoc**. v.21, p.252-262, 2005.
- ROCHA, C.F.D.; BERGALLO, H.G.; ALVES, M.A.S.; VAN SLUYS, M. A biodiversidade nos grandes remanescentes florestais do Estado do Rio de Janeiro e nas restingas da Mata Atlântica. RiMa Editora, São Carlos. 2003.

- SANTOS-MALLET, J.R.; GLEISER, R.M.; ALENCAR, J.; DE ALMEIDA MARQUES, W.; SARMENTO, J.S.; MÜLLER, G.A. & MARCONDES, C.B. Scanning electron microscopy of *Ochlerotatus albifasciatus* (Diptera: Culicidae). **J. Med. Entomol.** v.46, p.980–985, 2009.
- SANTOS-MALLET, J.R., MÜLLER, G.A., GLEISER, R.M., ALENCAR, J., DE ALMEIDA MARQUES, W.,SARMENTO, J.S. & MARCONDES, C.B. Scanning electron microscopy of the eggs of *Aedes scapularis* from southern South America. **J. Am. Mosq. Control Assoc**. v. 26, p.205–209, 2010.
- SANTOS-NETO, L.G.; LOZOVEI, A.L. Aspectos ecológicos de *Anopheles cruzii* e *Culex ribeirensis* (Diptera, Culicidae) da Mata Atlântica de Morretes, Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Entomol.** v.52, n.1, p.105-111, 2008.
- SANTOS, E. B.; ORLANDIM, E.; PIOVESAN, M.; FAVRETTO, M. F. Nota sobre os mosquitos (Diptera: Culicidae) de um fragmento florestal urbano de Joaçaba, Santa Catarina, Brasil. **Entomotropica.** v. 31, p.91-94, 2016.
- SCHLICHTING, C.D.; WUND, M.A. Phenotypic plasticityand epigenetic marking: an assessment of evidence for genetic accommodation. **Evolution.** v.68, p. 656–672. 2014.
- SILVA, A.M. Imaturos de mosquitos (Diptera, Culicidae) de áreas urbana e rural no norte do estado do Paraná, Brasil. **Iheringia, Sér. Zool.** v. 92, p.31–36, 2002.
- SILVA, A.M.; NUNES, V. & JOSÉ LOPES, J. Culicídeos associados a entrenós de bambu e bromélias, com ênfase em *Aedes*(*Stegomyia*) *albopictus* (Diptera, Culicidae) na Mata Atlântica, Paraná, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**. v.94, n.1, p.63-66, 2004.
- SILVA, M.B.; RIBEIRO, M.J.R;. COSTA, P.T.S. Comunidade planctônica presente no fitotelmata de bromélias (bromeliaceae) em ambiente urbano de feira de Santana, Bahia, Brasil. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**. v.7, p.125-127, 2007.
- SOTO, E.M.; SOTO, I.M.; CORTESE, M.D.& HASSON, E. Oviposition site preferences and performance in natural resources in the human commensals Drosophila melanogasterand **D. simulans. Fly.** v.5, p.102–109, 2011.
- TAIPE-LAGOS, C. B.; NATAL, D. Culicidae mosquito abundance in a preserved metropolitan area and its epidemiological implications. **Revista de Saúde Pública.** v. 37, p.275-279, 2003.
- TEODORO, U.; GUILHERME A. L.F.; LOZOVEI A. L.; SALVIA FILHO V.; SAMPAIO A.A.; SPINOSA R.P.; COSTA-FERREIRA, M. E. M.; BARBOSA, O. C.; LIMA, E. M. Mosquitos de ambientes peri e extradomiciliares na região sul do Brasil. **Rev Saúde Pública**. v. 28, n.22, p. 107–115, 1994.
- TRAVASSOS-DA-ROSA, A.P.A.; TRAVASSOS-DA-ROSA, J.F.S.; PINHEIRO, F.P.; & VASCONCELOS, P.F.C. **Doenças infecciosas e parasitárias: enfoque amazônico**. Editora CEJUP, Belém, Brazil, 1997.

VELOSO, H.P.; RANGEL FILHO, A.L.; LIMA, J.C.A. Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. IBGE, Rio de Janeiro, 1991.

URBINATTI, P.R. SENDACZ, S.; NATAL, D. Imaturos de mosquitos (Diptera: Culicidae) em parque de área metropolitana aberto à visitação pública. **Rev. Saúde Publ.**, São Paulo, v.35, n.5, p.461-466, 2001.

WARD, R.A. Second Supplement to "A Catalog of the Mosquitoes of the World" 62 (Diptera: Culicidae). **Mosquito Systematics, Salt lake, Utah**, v.16, n.3, 1984.

.