

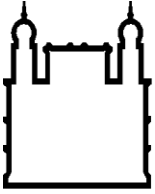
MINISTÉRIO DA SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Mestrado em Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

**Aspectos ecológicos de *Anopheles* do subgênero *Nyssorhynchus* (Diptera: Culicidae) no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro: área de Mata Atlântica receptiva e vulnerável para malária**

**JEAN RICARDO JULES**

**Rio de Janeiro**  
Janeiro de 2017



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

### **Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

***Jean Ricardo Jules***

Aspectos ecológicos de *Anopheles* do subgênero *Nyssorhynchus* (Diptera: Culicidae) no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro: área de Mata Atlântica receptiva e vulnerável para malária

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical

**Orientador:** Prof. Dr. Jeronimo Alencar

**RIO DE JANEIRO**

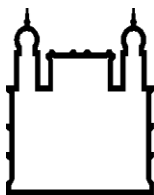
Janeiro de 2017

Jules, Jean Ricardo

Aspectos ecológicos de *Anopheles* do subgênero *Nyssorhynchus* (Diptera: Culicidae) no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro: área de Mata Atlântica receptiva e vulnerável para malária / Jean Ricardo Jules – Rio de Janeiro: Janeiro 2017.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Medicina Tropical, 31 de janeiro de 2017.

1. Aspectos ecológicos. 2. *Anopheles* (*Nyssorhynchus*). 3. Mata Atlântica. 4. Receptividade. 5. Malária.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

**AUTOR: JEAN RICARDO JULES**

### **TÍTULO DA DISSERTAÇÃO**

Aspectos ecológicos de *Anopheles* do subgênero *Nyssorhynchus* (Diptera: Culicidae) no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro: área de Mata Atlântica receptiva e vulnerável para malária

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Jeronimo Alencar**

**Aprovada em: 31/ 01/ 2017**

### **EXAMINADORES:**

**Prof. Dra. Jacenir R. Santos-Mallet – FIOCRUZ- Presidente**

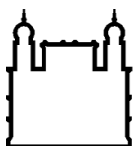
**Prof. Dr. Anthony Érico Guimarães – FIOCRUZ**

**Prof. Dr. José Mario de Almeida - UFF**

**Prof. Dra. Sandra Maria Perreira de Almeida - FIOCRUZ**

**Prof. Dra. Helena Keiko Toma - UFRJ**

Rio de Janeiro, 31 de Janeiro de 2017



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

**Fundação Oswaldo Cruz**

**Anexar a cópia da Ata que será entregue pela SEAC já assinada.**

*À minha querida esposa Naomie Nelson, minha filha amada Gabriela Jules, à meus pais Ivanord Jules e Andréa Célicar, pelo amor e apoio que sempre me deram e a minha amiga Cármen Fátima das Neves Pinheiro que me deu um apartamento para morar de graça com a minha família durante os meus estudos.*

## Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de expressar a minha gratidão a Deus por ter me dado a oportunidade de desenvolver esse trabalho. Agradeço, em seguida:

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelo auxílio financeiro.

Ao meu orientador Dr. Jeronimo Alencar, uma pessoa que eu admiro muito pelo seu jeito de ser. É um grande amigo, que sempre está disposto a ajudar e apoiar. Muito obrigado Dr. Jeronimo, por suas ajudas que nunca me faltaram. Você me tratou como um irmão. Eu adoro você!!!

Aos coordenadores do curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical do IOC, especialmente à Dra. Martha Suárez-Mutis, uma pessoa querida e amável. Dra. Martha é um exemplo para mim.

À Dra. Maria Goreti Rosa-Freitas que me ajudou na hora de me inscrever no mestrado, pois faltaram alguns documentos. Dra. Gorete, a Sra me falou: “Manda um e-mail para a Coordenação do curso explicando a sua situação” e ela mesma me ajudou a redigir o e-mail, pois, meu português ainda era fraco.

À Dra. Nildimar Honorio e Dra. Teresa Fernandes que sempre ajudaram nas horas difíceis. Vocês duas fazem parte desta grande história da minha vida. Não vou detalhar, pois, vocês já sabem por quê.

Ao Dr. Anthony Érico da Gama Guimarães e Rubens Pinto de Mello, por me aceitarem no curso de Especialização em Entomologia Médica em 2013. Foi este curso que me incentivou a fazer esse mestrado.

À Dra Monique que é uma das pessoas que lutaram para eu conseguir vir estudar no IOC em 2012.

Ao meu grande amigo, companheiro de campo, “mon ami et mon frère” Hermano Albuquerque. Yêlêlê!!! Eu aprendi muito contigo meu amigo. Muito obrigado pela amizade. Você é o cara!

À Dra. Sandra Maria Pereira de Oliveira pela sua contribuição neste trabalho. Sandra é aquele doce de pessoa que sempre está disposta a ajudar, tanto nas coletas quanto na identificação do material. Sempre se ofereceu para ajudar. Sandra você é “tudo de bom!!!” Nunca vou perder a sua amizade.

Ao Dr. Hécio Reinaldo Gil-Santana por ter me ajudado na identificação dos anofelinos.

Ao Dr. William Rodrigues pela sua ajuda nas análises estatísticas.

À Dra. Izabel Cristina Reis, minha irmã e amiga querida. Muito obrigado pelo apoio que sempre me deu com a minha família. Contribuiu grandemente nesse grande sucesso da minha vida. Eu te admiro muito!!!

Aos meus colegas do Laboratório de Diptera (LABDIP) pela ajuda tanto na montagem do material quanto a identificação. Gratidão especial a: Agostinho Cardoso Nascimento Pereira, Daniele de Aguiar Maia, Cecilia Ferreira de Mello, Thaiuana Neves e Aline Tátilla. Vocês contribuíram muito para que o meu trabalho seja um sucesso. Valeu!!!

À Carmen Fátima Pinheiro, Fernanda Cristina Morone, Carolina Leite, Cecilia Ferreira de Mello e Dra. Izabel Cristina Reis pela amizade de vocês. Sem os apoios de vocês não iria conseguir concretizar esse sonho.

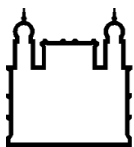
À Igreja Adventista do Sétimo dia (IASD) do Rio de Janeiro principalmente a IASD de Copacabana e a IASD de Moça Bonita. Muito obrigado por ter sustentado a minha família durante o período dos meus estudos.

Aos meus amigos haitianos: Alex Guirand e Claudine Mascary e meu afilhado Alex Andy Mascary Guirand pela convivência que tivemos durante este período.

À minha mãe adotiva, Geiza Santos Oliveira. Muito obrigado, mãe pelo que você fez para trazer a minha família aqui.

Eu gostaria de mencionar todos meus colegas e amigos do Curso de pós-graduação em Medicina Tropical do IOC, em particular a minha turma. Galera, somos vitoriosos!!! Obrigado pelo carinho de cada um de vocês. Nunca vou esquecer os momentos agradáveis que eu passei na companhia de vocês.





Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Aspectos ecológicos de *Anopheles* do subgênero *Nyssorhynchus* (Diptera: Culicidae) no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro: área de Mata Atlântica receptiva e vulnerável para malária.

### RESUMO

#### DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

Jean Ricardo Jules

O estado do Rio de Janeiro, inserido no bioma da Mata Atlântica, foi uma área altamente endêmica para malária no passado. Atualmente, a área de Mata Atlântica é considerada vulnerável e receptiva para a malária, pois possui espécies vetoras potencias, apresenta condições ambientais propícios para a transmissão e recebe viajantes do mundo todo. Existe, neste contexto, um risco de reintrodução da malária no estado que permanecerá enquanto ela persiste em outras regiões do país ou em outras partes do mundo. O presente estudo tem como objetivo estudar a biodiversidade de *Anopheles* do subgênero *Nyssorhynchus* em quatro áreas no município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro, em 16 pontos amostrais. As coletas foram realizadas durante um período chuvoso e um pós-chuvoso sendo os espécimes adultos capturados através do uso de armadilhas luminosas, CDCs automáticas e os imaturos com conchas entomológicas. Durante os dois períodos, foram coletados um total de 3.932 espécimes de *Anopheles* do subgênero *Nyssorhynchus* compreendendo nove espécies: *An. albitarsis* (76,86%), *An. braziliensis* (17%); *An. evansae* (8, 48%); *An. triannulatus* s.l. (8,23%); *An. oswaldoi* (6,43%); *An. strodei/rondoni* (5,40%); *An. argyritarsis* (1,54%); *An. rangeli* (1,28%); *An. aquasalis* (0,51%). *An. albitarsis* s.l. foi dominante e abundante em 93,75% dos pontos de coletas. Os nossos resultados apresentam uma fauna anofélica diversificada no município de Cachoeiras de Macacu com a existência de forte associação de ocorrência entre *An. rangeli* e *An. oswaldoi*; *An. rangeli* e *An. evansae*; *An. evansae* e *An. oswaldoi*; *An. albitarsis* s.l. e *An. braziliensis* no período chuvoso. No entanto, mostram uma correlação fraca entre as espécies registradas no período pós-chuvoso exceto os pares *An. rangeli*-*An. oswaldoi*, *An. triannulatus*, *An. aquasalis* que possuem uma correlação linear moderada. Os resultados desse trabalho evidenciaram as possibilidades de reintrodução da malária no Município de Cachoeiras de Macacu por causa da sua receptividade comprovada pela existência de nove espécies de anofelinos registradas sendo todas elas, vetoras potenciais da malária. Este estudo pode ser empregado para um melhor entendimento da dinâmica da população de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* ocorrendo na área de Mata Atlântica a fim de desenvolver atividades de vigilância entomológica e epidemiológica para diminuir o risco de autoctonia da malária no município de Cachoeiras de Macacu.

**Palavras-chave:** 1. Aspectos ecológicos. 2. *Anopheles* (*Nyssorhynchus*). 3. Mata Atlântica. 4. Receptividade. 5. Malária.

# INSTITUTO OSWALDO CRUZ

## ABSTRACT

Ecological aspects of Anopheles of the subgenus *Nyssorhynchus* (Diptera: Culicidae) in the Municipality of Cachoeiras de Macacu, state of Rio de Janeiro: area of Atlantic Forest receptive and vulnerable to malaria

### MASTER DISSERTATION IN TROPICAL MEDICINE

Jean Ricardo Jules

The state of Rio de Janeiro, inserted into the Atlantic Forest biome, was a highly endemic area for malaria in the past. Currently, the Atlantic Forest area is considered vulnerable and receptive to malaria, as it has potential vectors species, presents favorable environmental conditions for transmission and receives travelers from all over the world. In this context there is a risk of reintroducing malaria into the state that will remain as long as it persists in other regions of the country or in other parts of the world. The present study aims to study the biodiversity of Anopheles of the subgenus *Nyssorhynchus* in four areas in the municipality of Cachoeiras de Macacu, state of Rio de Janeiro, in 16 sampling points. The collection was carried out during a rainy and post-rainy period, with adult specimens being captured through the use of light traps, automatic CDCs and the immature ones with entomological shells. During the two periods, a total of 3,932 specimens of Anopheles of the subgenus *Nyssorhynchus* were collected: 562 in the rainy period (14.29%) and 3,370 in the post-rainy period (85.70%). Of these, 489 were identified, 50 (8.89%) in the rainy period and 439 (13.02%) in the post-rainy period, during which nine anopheles species were recorded : *Anopheles albitarsis* s.l (76.86%), *An. braziliensis* (17%); *An. evansae* (8, 48%); *An. triannulatus* s.l. (8.23%); *An. oswaldoi* (6.43%); *An. strodei / rondoni* (5.40%); *An. argyritarsis* (1.54%); *An. rangeli* (1.28%) e *An. aquasalis* (0.51%). *An. albitarsis* was dominant and abundant in 93.75% of collection points. Our results show a diverse anopheles fauna in the municipality of Cachoeiras de Macacu with a strong association of occurrence between *An. rangeli* and *An. oswaldoi*; *An. rangeli* and *An. evansae*; *An. evansae* and *An. oswaldoi*; *An. albitarsis* s.l. and *An. braziliensis* for the rainy period. However, they show a weak correlation between the species recorded in the post-rainy period except between *An. rangeli* and *An. oswaldoi* and between *An. triannulatus* and *An. aquasalis* that have a moderate linear correlation. The results of this study evidenced the possibilities of reintroduction of malaria in the Municipality of Cachoeiras de Macacu because of its receptivity proven by the existence of nine recorded species of anophelines, all of them potential vectors of malaria. This study can be used to better understand the dynamics of the anopheline population of the subgenus *Nyssorhynchus* occurring in the Atlantic Forest area in order to develop entomological and epidemiological surveillance activities

**Keywords:** 1. Ecological aspects. 2. Anopheles *Nyssorhynchus*. 3. Atlantic Forest. 4. Receptivity. 5. Malaria.



## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
1.1. Os mosquitos .....	16
1.2. Os anofelinos vetores da malária.....	18
1.2.1. Biologia dos anofelinos.....	18
1.2.1.1. Ovo.....	19
1.2.1.2. Larva .....	19
1.2.1.3. Pupa.....	19
1.2.1.4. Adulto .....	20
1.3. Principais anofelinos vetores de malária no Brasil .....	21
1.3.1. <i>Anopheles darlingi</i> Root, 1926.....	22
1.3.2. <i>Anopheles aquasalis</i> Curry, 1932 .....	23
1.3.3. <i>Anopheles albitarsis</i> s.l. Lynch Arribalzaga, 1878.....	24
1.3.4. <i>Anopheles cruzii</i> Dyar & Knab, 1903 .....	25
1.3.5. <i>Anopheles bellator</i> Dyar & Knab, 1906.....	26
1.4. Malária .....	27
1.4.1. Malária no mundo .....	27
1.4.2. Malária nas Américas .....	28
1.4.3. Malária no Brasil.....	29
1.4.4. Malária no estado do Rio de Janeiro .....	31
1.5. A paisagem e a dinâmica da malária .....	31
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	33
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	34
3.1. Objetivo Geral .....	34
3.2. Objetivos Específicos .....	34
<b>4. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS</b> .....	34
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	35
5.1. Descrição da área de estudo: Estado do Rio de Janeiro .....	35
5.2. Coleta dos espécimes .....	36
5.3. Descrição das áreas e dos pontos amostrais.....	39
5.3.1. Reserva Ecológica de Guapiaçu (REGUA) .....	39
5.3.2. Papucaia (Papu).....	41

5.3.3. Gleba Nova Ribeira (CM) .....	44
5.3.4. Japuíba (Jap).....	46
5.4. Análises Ecológicas .....	48
5.4.1. Diversidade de Shanon-Wiener .....	48
5.4.2. Diversidade de Simpson .....	48
5.4.3. Equitabilidade de Hill (Modificado).....	49
5.4.4. Riqueza de Espécies Jackknife 1ª Ordem .....	49
5.4.5. Test t-student adaptado para Diversidade de Shanon-Wiener .....	50
5.5. Seleção das variáveis relacionadas à paisagem.....	51
<b>6. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>
6.1. Correlação entre as espécies.....	58
6.2. Diversidade de Espécies.....	61
6.2.1. Índice de Shannon (H') .....	63
6.2.2. Índice de Simpson (D <sub>s</sub> ) .....	63
6.2.3. Equitabilidade de Hill modificado (EH).....	64
6.2.4. Riqueza de Jackknife 1ª ordem (E <sub>D</sub> ).....	65
<b>7. CONCLUSÃO .....</b>	<b>75</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>76</b>

## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Ciclo biológico de Anopheles. ....	18
<b>Figura 2:</b> Mapa das taxas de incidência da malária no mundo por países de 2000 a 2015. ....	28
<b>Figura 3:</b> Perfil da malária nas Américas em 2015.....	29
<b>Figura 4:</b> Mapa do Estado do Rio de Janeiro, destacando-se o município de Cachoeiras de Macacu.....	35
<b>Figura 5:</b> Localização das áreas e os pontos de amostragem de coleta de anofelinos do subgênero Nyssorhynchus, no município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro.....	36
<b>Figura 6:</b> Fotos dos criadouros nos pontos amostrais da Regua. ....	40
<b>Figura 7:</b> Fotos dos criadouros nos pontos amostrais da Papu.....	42
<b>Figura 8:</b> Fotos dos criadouros nos pontos amostrais da CM. ....	44
<b>Figura 9:</b> Fotos dos criadouros nos pontos amostrais da Jap. ....	46

<b>Figura 10:</b> Comparação dos dois períodos de amostragem em termo de quantidade de imaturos de anofelinos coletados por área amostral no Município de Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro. ....	58
<b>Figura 11:</b> Matriz de gráficos de dispersão com seus respectivos valores de correlação de Pearson do período chuvoso. ....	59
<b>Figura 12:</b> Matriz de gráficos de dispersão com seus respectivos valores de correlação de Pearson do período pós-chuvoso. ....	60
<b>Figura 13:</b> Riquezas Espécies Jackknife 1ª Ordem acumuladas dos dois períodos de amostragem de 18 a 28 de janeiro de 2016 e de 25 de abril a 5 de maio de 2016, no Municio de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro. ....	66
<b>Figura 14:</b> Proporção das espécies registradas durante os dois períodos amostrais no Município de Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro. ....	68
<b>Figura 15:</b> Mapa de distribuição das espécies de anofelinos registradas em Cachoeiras de Macacu durante os períodos do estudo. ....	70
<b>Figura 16:</b> Comparação de quantidade de anofelinos coletados por ordem decrescente em diferentes pontos amostrais nos dois períodos de amostragem. ....	71

## **Lista de tabelas**

<b>Tabela 1:</b> Estrutura das amostragens para coleta das formas imaturas e adultas nas áreas e pontos amostrais do Município de Cachoeiras de Macacu de 27 de outubro de 2015 a 05 de maio de 2016. ....	37
<b>Tabela 2:</b> Teste de positividade dos criadouros nos 16 pontos amostrais. ....	52
<b>Tabela 3:</b> Teste de positividade dos oito pontos de captura com armadilha CDC com o número de adultos capturados. ....	52
<b>Tabela 4:</b> Abundância relativa de espécies de anofelinos do subgênero Nyssorhynchus identificados através de adultos coletados com auxílio de armadilhas luminosas CDC em diferentes áreas amostrais durante a coleta piloto. ....	53

<b>Tabela 5:</b> Dados sobre os criadouros, imaturos de anofelinos coletados e espécies registradas em diferentes pontos de amostral no período chuvoso de 18 a 28 de janeiro de 2016, no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro. ....	53
<b>Tabela 6:</b> Dados sobre os criadouros, imaturos de anofelinos coletados e espécies registradas em diferentes pontos de amostral no período pós-chuvoso de 25 de abril a 5 de maio de 2016, no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro. ....	54
<b>Tabela 7:</b> Abundância relativa e percentual de espécies de anofelinos do subgênero <i>Nyssorhynchus</i> no estágio evolutivo de imaturo, identificados em diferentes áreas amostrais do município, durante o período chuvoso. ....	55
<b>Tabela 8:</b> Abundância relativa e percentual de espécies de anofelinos do subgênero <i>Nyssorhynchus</i> no estágio evolutivo de imaturo, identificados em diferentes áreas amostrais durante o período pós-chuvoso. ....	55
<b>Tabela 9:</b> Diversidade, dominância, equitabilidade e riqueza de espécies de anofelinos do subgênero <i>Nyssorhynchus</i> ocorridas no período chuvoso de 18 a 28 de janeiro de 2016, no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro. ....	62
<b>Tabela 10:</b> Diversidade, dominância, equitabilidade e riqueza de espécies de anofelinos do subgênero <i>Nyssorhynchus</i> ocorridas no período pós-chuvoso de 25 de abril a 5 de maio de 2016, no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro. ....	62
<b>Tabela 11:</b> Teste t para comparação entre duas diversidades de Shannon-Wiener (do período chuvoso e do período pós chuvoso). ....	67

## Lista de quadro

<b>Quadro 1:</b> Repartição das espécies de anofelinos registradas em diferentes pontos e áreas amostrais do município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro, durante os dois períodos do estudo. ....	70
--	----

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Os mosquitos

Os mosquitos têm um papel importante no ecossistema, porém acima de tudo em epidemiologia humana e animal, porque além de ser um incômodo através de picadas que infligem, eles são o maior grupo de vetores transmissores de patógenos para o ser humano, incluindo zoonoses (Medlock et al. 2012). Estes formam uma família de insetos chamada Culicidae classificada na ordem Diptera e subordem Nematocera. Os adultos desta família são caracterizados por antenas longas e finas, compostas de 15 ou 16 segmentos. Possuem um par de asas e um par de “balancins”. As fêmeas dos culicídeos têm longas peças bucais do tipo picador ou pungitivo. O aparelho bucal é constituído por seis estiletos — um par de maxilas e um par de mandíbulas, a hipofaringe e o labro — que se encontram alojados em uma espécie de estojo ou calha alongada, o lábio (Consoli & Lourenço de Oliveira, 1994).

De acordo com Harbach & Kitching (1998), a família Culicidae está subdividida em duas subfamílias: Anophelinae e Culicinae.

Ela reúne mais de 3.450 espécies no mundo (Salum et al. 2000; Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994), sendo que mais de 1000 espécies estão localizadas na Região Neotropical (Papavero & Guimarães 2000; Forattini 2002), das quais, cerca de 450 encontram-se no Brasil (Guimarães 1997; WRBU 2010).

Os mosquitos da família Culicidae têm sido muito estudados devido à sua importância para a saúde pública, tendo em vista o hábito hematófago, a larga e persistente distribuição e por serem importantes vetores de três grupos de agentes patogênicos para os seres humanos tais como: plasmódios (malária), helmintos (filariose linfática) e muitos arbovírus (Forattini 1996). Desses insetos, reconhece-se a existência de cerca de 3600 espécies (<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 endemidade, uma vez que aproximadamente 27% desses grupos são restritos a essa região biogeográfica (Ward 1984).



Os culicídeos se adaptam facilmente a ambientes antrópicos, por isso, o estudo da fauna destes insetos é primordial em áreas onde a intervenção humana provoca alterações ambientais. Em situações de impacto, determinadas espécies podem ser beneficiadas, elevando sua densidade e constituindo uma ameaça à saúde humana. A construção de usinas hidrelétricas exemplifica essa situação de intervenção humana através de obras que envolvem uma série de alterações para o meio ambiente (Silva 2006). Em geral, a maior preocupação dos autores tem se restringido ao estudo dos anofelinos devido à sua importância na transmissão da malária (Goeldi 1905; Cerqueira 1961; Maia, 1962; Ferreira 1964; Tadei 1983; Natal et al. 1992, Guimarães et al. 1997).

A subfamília Anophelinae reúne três gêneros: *Anopheles*, cosmopolita; *Chagasia*, restrito à região neotropical e *Bironella*, existente apenas na região australiana. Dentre eles, o gênero *Anopheles* se destaca, pois apresenta as principais espécies responsáveis pela transmissão de malária (Rey 2010; Deane 1986). O gênero *Anopheles* Meigen, 1818 compreende cerca de 500 espécies no mundo (Harbach 2004), incluindo todas as espécies vetoras (aproximadamente 60) conhecidas da malária humana e de outros primatas sob condições naturais (Pages et al. 2007). Por isso, sua grande importância epidemiológica. Este táxon é encontrado em todas as regiões biogeográficas, especialmente na fauna culicidiana das regiões tropicais. Sob o ponto de vista da Sistemática, eles são distribuídos em sete subgêneros: *Anopheles* Meigen, 1818; *Kerteszia* Theobald, 1905; *Nyssorhynchus* Blanchard, 1902; *Cellia* Theobald, 1905; *Stethomya* Theobald, 1902; *Lophopodomyia* Antunes, 1937 e *Baimaia* Harbach, Rattanarithikul and Harrison, 2005. Entretanto, desses sete subgêneros, somente os três primeiros são de interesse comprovadamente epidemiológico em relação à capacidade vetorial da malária. O subgênero *Nyssorhynchus* inclui os principais vetores neotropicais da malária, tais como: *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 prevalente no México, Caribe e América Central (Pinault & Hunter, 2012), *An. nuñeztovari* Gabaldon, 1940 encontrado na Venezuela e Colômbia (Garcia-Martins et al. 1972; Liu, 1981), *An. darlingi* Root, 1926 e *An. aquasalis* Curry, 1932 prevalente no Brasil (Ferreira 1964; Tadei et al. 1983; Roberts et al. 1981).

## 1.2. Os anofelinos vetores da malária

Os mosquitos vetores da malária pertencem ordem Diptera, família Culicidae, sub-família Anophelinae e gênero *Anopheles*. Dentro do gênero *Anopheles* existem sete subgêneros: *Anopheles* Meigen, 1818, *Kerteszia*, *Nyssorhynchus* Blanchard, 1902, *Cellia* Theobald, 1905, *Stethomya* Theobald, 1902, *Lophopodomyia* Antunes, 1937 e *Baimaia* Harbach, Rattanarithikul and Harrison, 2005. O gênero *Anopheles* compreende cerca de 465 espécies oficialmente descritas no mundo (HARBACH, 2004), das quais aproximadamente 70 delas envolvidas na transmissão da malária a humanos da malária humana e outros primatas sob condições naturais (PAGES et al. 2007). A distribuição das espécies de mosquitos está relacionada a fatores ambientais e à topografia de cada localidade. Além dos referidos fatores, tanto a variabilidade climática, quanto o regime de chuvas e a própria ação antrópica podem influenciar diretamente na densidade populacional dos mosquitos (LAPORTA et al 2015).

### 1.2.1. Biologia dos anofelinos

Os anofelinos são holometábolos, cujo ciclo biológico passa por quatro fases sucessivas, três aquáticas: ovo, larva, pupa e uma aérea que é adulto (Figura 1).



Figura 1: Ciclo biológico de Anopheles.

Fonte: Adaptado de Brunhes et al. 1998.

#### **1.2.1.1. Ovo**

Medindo de 0,6 a 0,8 mm de comprimento, os ovos de anofelinos são curvos e contêm flutuadores laterais cheios de ar para mantê-los isolados sobre a superfície da água. Isso favorece também a sua dispersão. A eclosão destes ovos ocorre, em média, após 36 a 48 horas (MOUCHET & CARNEVALE, 1991). Este tempo é reduzido para espécies que depositam seus ovos em águas temporárias. Os ovos da maioria das espécies de anofelinos não resistem à dessecação.

#### **1.2.1.2. Larva**

As larvas de anofelinos são ápodes e não possuem órgãos fixadores, portanto, elas só podem viver em águas calmas, alimentando-se de micro-organismos como algas e bactérias e também de matéria orgânica em decomposição perto da superfície da água. Este estágio de desenvolvimento é composto por quatro fases, de L1 a L4. No estágio de L1, a larva mede aproximadamente de 1 a 2 mm e atinge a fase L4 depois de três mudas sucessivas podendo medir cerca de 12 a 15 mm. CONSOLI & LOURENÇO de OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002; CARNEVALE et al. 2009). As larvas de *Anopheles* vivem nas águas calmas e alimentam-se de micro-organismos (algas e bactérias) e de matéria orgânica em decomposição perto da superfície da água. Contrariamente às larvas de Culicinae, as larvas de anofelinos não possuem sifão respiratório (FORATTINI, 2002). A larva de anofelino possui espiráculos na sua região dorsal que lhe permitem de respirar através na lâmina da água. O período de desenvolvimento das larvas varia de acordo com a espécie. A temperatura da água influencia o tempo de desenvolvimento das larvas o que é mais curta em águas mais quentes (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Forattini 2002).

#### **1.2.1.3. Pupa**

O estágio de pupa ocorre no final da fase larval, no estágio L4 onde a cutícula da larva se abre dorsalmente para sair a pupa. Durante fase de pupa, o inseto é móvel e responde a estímulos, porém não se alimenta. A respiração de pupa é feita por trombetas localizados no cefalotórax. A fase de pupa,

muitas vezes, dura menos de 48 horas, sendo intermediária entre a fase aquática e a fase alada (CARNEVALE et al. 2009).

#### **1.2.1.4. Adulto**

Depois de um a três dias, a pupa emerge em adulto. Seguindo a emergência da pupa, o adulto descansa por algumas horas para o endurecimento do seu exoesqueleto. Em seguida os órgãos reprodutivos do adulto tornam-se gradualmente funcionais entre 12 e 24 horas para a fêmea e entre 24 e 48 horas para o macho (MOUCHET & CARNEVALE, 1991). O acasalamento ocorre geralmente em torno de anoitecer, onde os machos formam grandes enxames e as fêmeas infiltram-se nesses enxames para copular.

Como todos os culicídeos, machos e fêmeas de anofelinos se alimentam de néctar, que é uma fonte de energia. Porém a fêmea necessita também de um maior aporte proteico, para a maturação dos ovários. (MOUCHET & CARNEVALE, 1991; CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA 1994; FORATTINI 2002). Após cada repasto sanguíneo, a fêmea se refugia em um abrigo para repouso, até o cumprimento do ciclo gonotrófico que dura geralmente cerca de 3 a 4 dias, quando procura uma coleção de água para oviposição. O tipo de ambiente aquático adaptado ao desenvolvimento das formas imaturas dos anofelinos varia de uma espécie a outra, mesmo dentro de um mesmo subgênero. Certas espécies preferem coleções hídricas assombreadas, enquanto outras preferem criadouros ensolarados, como por exemplo, *An. gambiae* Giles, 1902 (GILLIES & DeMEILLON 1968, MINAKAWA et al. 1999, GIMNIG et al. 2001). As seguintes características de criadouros são observadas para as diversas espécies: águas poluídas ou límpidas; ambientes aquáticos permanentes como poças, lagoas, margens de rios, lago, ou criadouros temporários; ambientes com vegetação ou sem vegetação. Na maioria das vezes, preferem água doce, não poluída e pouco agitada. Os ovos são colocados na superfície da água em grupos de 50 a 200 (CARNEVALE et al. 2009).

### 1.3. Principais anofelinos vetores de malária no Brasil

No Brasil, as principais espécies vetoras da malária pertencem a dois subgêneros: *Nyssorhynchus* e *Kerteszia* (MS 2005; Forattini 2002). Das espécies do subgênero *Nyssorhynchus*, *Anopheles (Nys.) darlingi*, Root, 1926; *Anopheles (Nys.) aquasalis*, Curry, 1932 e *Anopheles (Nys.) albitarsis s.l.* Lynch Arribalzaga, 1878 são mais frequentemente implicadas na transmissão da doença no país (Flores-Mendoza et al, 2002, Xavier & Rebelo 1999) sendo que o principal vetor é *An. darlingi*, o qual possui um comportamento extremamente antropofílico e endofágico. O subgênero *Nyssorhynchus* tem como característica o desenvolvimento em coleções hídricas pequenas e até em cursos grandes de água, sendo um subgênero muito estudado, pois dele faz parte um grande número de vetores principais e secundários (Consoli & Lourenço de Oliveira, 1994; Forattini 2002).

Os anofelinos do subgênero *Kerteszia* (Theobald 1905) entre os quais *Anopheles (Ker.) cruzii* (Dyar & Knab 1908) e *Anopheles (Ker.) bellator* (Dyar & Knab 1906) (Komp, 1937), são mosquitos de pequeno porte em relação aos outros *Anopheles spp.*, e são considerados vetores primários e importantes no Brasil, desde as investigações de Lutz, (1898) na Serra do Mar, em. As formas imaturas destas espécies são encontradas em bromélias (MS 2005; Portes et al. 2010), por isso são conhecidos como vetores da "malária de bromélias" ou "bromélia-malária. Eles são responsáveis por pequenos surtos de malária humana na Região Sul do Brasil, região inserida na Mata Atlântica, porem só transmitem a doença quando se encontram em elevada densidade populacional (Elliot, 1972). Aparentemente são competentes para se infectarem naturalmente com o plasmódio de humanos e de outros primatas. (Forattini 2002, Consoli & Lourenço de Oliveira 1994).

No Brasil, cinco espécies (três do Subgênero *Nyssorhynchus* e duas do subgênero *Kerteszia*) são classicamente consideradas importantes do ponto de vista epidemiológico e todas elas podem ser envolvidas na transmissão da malária na região extra-amazônica.

- Subgênero *Nyssorhynchus*: *An. (Nys.) darlingi*, Root, 1926; *An. (Nys.) aquasalis*, Curry, 1932 e *An. (Nys.) albitarsis s.l.* Lynch Arribalzaga, 1878

- Subgênero Kerteszia: *An. (Ker.) cruzii*, Dyar et Knab, 1908 e *An. (Ker.) bellator*, Dyar & Knab, 1906.

### **1.3.1. *Anopheles darlingi* Root, 1926**

Além de ser um vetor competente no Brasil, é o principal transmissor da malária especialmente na região amazônica. É descrito em quase todo o país exceto nas regiões secas do Nordeste, no extremo Sul e nas áreas de elevada altitude. O desenvolvimento das formas imaturas sempre está relacionado às margens de grandes coleções hídricas e cursos de águas profundas, limpas ou pouco turvas, ensolaradas ou parcialmente sombreadas ou, com vegetações emergentes e matérias orgânicas de origens vegetais flutuando na superfície. Como estes criadouros são permanentes, funcionam como focos de resistência ao longo da estação mais seca. Todavia, no decorrer da estação chuvosa, *An. darlingi* pode usar coleções hídricas, além de águas profundas e de diferentes tamanhos, tais como: valas, poças e impressões de patas de animais. É uma espécie altamente antropofílica e endofílica. (Forattini, 2002; Consoli & Lourenço de Oliveira 1994), com hábito hématofágico intra e peridomiciliar, picando durante o crepúsculo ou anoitecer. Por exemplo, nas áreas rurais da Amazônia, pode sugar animais de grande porte que passam a noite no peridomicílio, porém em menor quantidade comparando a quando se alimenta em homem (Deane et al., 1949; Oliveira-Ferreira et al., 1992), sendo que seu pico de agressividade ocorre nas horas mais altas da noite. Existem áreas onde *An. darlingi* pode ter um hábito exofágico picando o homem nas primeiras horas da noite. Isso pode ocorrer principalmente em áreas onde as habitações são borrifadas internamente com inseticidas. Porém, existem algumas áreas no país, onde *An. darlingi* pode ser preferentemente exófago (Guedes et al., 1953; Forattini, 1987; Lourenço-de-Oliveira, 1989). De todas as espécies vetoras da malária humana no Brasil, *An. darlingi* é o único anofelino no qual foram detectadas infecções naturais pelos três plasmódios nas Américas: *P. vivax*, *P. falciparum* e *P. malariae* (Rachou, 1958; Deane, 1986; 1989; Arruda et al, 1989; Klein et al., 1991a, b). Em Belém do Pará, *An. darlingi* já foi encontrado com a forma infectante de *W. bancrofti*. Provavelmente, é o vetor secundário ou local da filariose onde a endemicidade

da parasitose era assegurada pelo *Cx. quinquefasciatus* (Causey, 1945; Rachou, 1956).

### **1.3.2. *Anopheles aquasalis* Curry, 1932**

Atua como vetor primário da malária na região costeira do Brasil. Atinge o litoral das Guianas, Venezuela e Colômbia devido a sua preferência por ambientes de águas salobras com um teor um pouco alto de cloreto de sódio (Forattini, 2002). Seus criadouros são as coleções de águas paradas e salobras que podem ser temporários ou semipermanentes, tanto naturais quanto artificiais, ensolaradas ou parcialmente sombreadas, que ocorrem nas áreas de baixadas litorâneas. *An. aquasalis* apresenta comportamento alimentar bastante variável. Numa pesquisa realizada em Belém, (Amazônia brasileira), Galvão et al. (1942) mostrou que *An. aquasalis* é um mosquito zoofílico, essencialmente crepuscular, com grande preferência por animais de grande porte como equinos e bovinos (Flores-Mendoza et al. 1996; Rey, 2010); ao passo que no Nordeste, de clima semi-árido, é mais antropofílico (Deane et al., 1948) especialmente quando sua densidade está elevada e quando há diminuição da fonte alimentar. A exceção está em algumas localidades do litoral nordestino, onde tem costume de atacar o homem dentro das habitações, mesmo nas horas mais altas da noite (Deane et al., 1948; Lucena, 1950; Rachou, 1958; Flores-Mendoza, 1994). Devido a estas variações no comportamento de *An. aquasalis*, é possível que ele seja um complexo de espécies crípticas (Conn et al., 1993).

Apesar de ser um vetor menos importante que *An. darlingi*, *An. aquasalis* é considerado vetor primário da malária nas zonas áridas do Nordeste, em Belém e Amapá, na Amazônia. Também tem sido detectado, várias vezes, naturalmente infectado nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo (Galvão et al., 1942; Deane et al., 1948; Rachou, 1958). Em certas épocas do ano, e em alguns locais, é capaz de transmitir a malária apenas quando está em elevada densidade (Deane, 1986; Forattini 2002, Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Flores-Mendoza et al. 1996).

*An. aquasalis* é também considerado vetor secundário da filariose bancroftiana no Brasil, pois foi encontrado com larvas infectantes de *W.*

*bancrofti*, em Belém, Pará, onde *Cx. quinquefasciatus* é o transmissor primário (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994).

### **1.3.3. *Anopheles albitarsis* s.l. Lynch Arribalzaga, 1878**

É um complexo de espécies crípticas de mosquitos mais amplamente distribuídos no território nacional (Forattini 2002, Consoli & Lourenço de Oliveira 1994). Ocorrem nas áreas de planície e baixada, em toda a região oriental da América do Sul, sendo comum nos planaltos e tornando-se raro a medida que se avança para terrenos mais montanhosos ou para dentro das florestas. Com base nos conhecimentos atuais, este complexo pode ser considerado como um conjunto de cinco espécies crípticas. São elas, *An. albitarsis sensu stricto* Lynch-Arribalzaga, 1878; *An. marajoara* Galvão e Damasceno, 1942; *An. deaneorum* Rosa-Freitas, 1989; *An. albitarsis espécie B* não descrito e possivelmente *An. albitarsis espécie E* (Lehr et al. 2005). Essas espécies distribuem-se desigualmente por quase toda a América do Sul, a leste da Cordilheira dos Andes, chegando até o Uruguai e Norte da Argentina, assim como pela América Central (Consoli & Oliveira, 1994). É grande a variedade de criadouros que essas espécies podem colonizar, podendo se criar em diferentes coleções hídricas, sendo transitórias ou permanentes, tanto pequenas como grandes e são mais abundantes nos campos e pastagens de preferência em água doce e limpa, geralmente exposta à luz solar e com certa preferência por alagadiços que contenham vegetação emergente. A sua densidade aumenta em épocas de chuvas. É um vetor predominantemente zoofílico e exofílico, mas também pode sugar sangue de seres humanos. Já foi encontrado dentro de residências, mas seu papel como vetor é secundário, sendo em alguns lugares considerado como um vetor local. Este anofelino é encontrado durante todo o ano, porém é bem mais abundante no período chuvoso, quando são aumentados os seus criadouros. Em algumas áreas do Brasil, *An. albitarsis* pode ser endofágico e antropofílico, contudo, na maioria das áreas onde essa espécie ocorre, incluindo o Nordeste seco e o sertão das regiões Sudeste e Centro-Oeste, é categoricamente zoofílico e exófilo. Prefere muito mais atacar animais, como equídeos, que o homem e aves (Deane et al., 1948; Deane et al., 1949).



Em relação a seu papel na transmissão da malária, *An. albitarsis* apresenta consideráveis variações morfológicas, bioquímicas e/ou moleculares e comportamentais. Isso se reflete numa heterogeneidade no seu papel na transmissão da doença. Por isso é considerado um complexo de espécies crípticas, cujos membros são ainda indistinguíveis ao utilizar apenas a morfologia, com uma única exceção: *An. deaneorum* Rosa-Freitas, 1989 (Kreutzer et al., 1976; Deane, 1988; Rosa-Freitas et al., 1990; Klein et al., 1990). Como as informações ainda são imprecisas, provisoriamente, *An. albitarsis* é tratado como uma única espécie. A distinção problemática entre as espécies do complexo tem tornado difícil o estudo da transmissão da malária e da ecologia de *An. albitarsis* s.l. I (Motoki et al. 2009). Consequentemente, o envolvimento de espécies do complexo *An. albitarsis* na transmissão de *Plasmodium* humano não é claro em toda sua área de distribuição. Podemos considerá-lo, desta forma, vetor secundário ou, no máximo, local, visto que em poucas localidades foi encarado como o único transmissor (Consoli & Lourenço de Oliveira 1994).

#### **1.3.4. *Anopheles cruzii* Dyar & Knab, 1903**

Bem adaptado a florestas primárias e secundárias, *Anopheles cruzii* cria-se apenas em gravatás, preferencialmente em bromélias epífitas (em árvores) e terrestres, mas situadas em locais protegidos dos raios solares, ou seja, na sombra produzida pelas copas das árvores. Esta espécie está restrita ao litoral brasileiro, do Rio Grande do Sul até os estados nordestinos, possivelmente Sergipe, seguindo predominantemente a distribuição original da Mata Atlântica e as matas de galerias do Sul, por causa da riqueza de ambas em gravatás. É também encontrado, porém com muito menor frequência, em gravatás rupestres e/ou expostos ao sol. *An. cruzii*, tal como os demais *Kerteszia*, é muito oportunista e eclético. Ataca em qualquer horário, mas com forte aumento da atividade hematofágica no crepúsculo vespertino e nas primeiras horas da noite, bastando ser excitado pela presença de uma fonte sanguínea independentemente do tipo de hospedeiro, pois este anofelino ataca, indiscriminadamente, o homem, outros mamíferos e aves (Forattini 2002, Consoli & Lourenço de Oliveira 1994).

*Anopheles cruzii* prefere picar nos níveis elevados das florestas, isto é, junto à copa das árvores, o que chamamos de acrodendrofilia. Ele é considerado um mosquito exófilo. No entanto, em muitas localidades do Sul do Brasil e em épocas do ano de alta densidade, invade principalmente as casas situadas na proximidade das matas onde ele cria, com alta incidência. Segundo Rachou (1958) *An. cruzii* corresponde a mais de 90% dos anofelinos capturados dentro das casas, mantendo uma média de mais de 20 exemplares picando um homem, em cada hora.

*Anopheles cruzii* é incriminado vetor principal e importante da malária no Brasil, desde as investigações de Adolfo Lutz, na Serra do Mar, em 1898. Além de transmitir malária ao homem, ele é o único vetor natural conhecido de malária simiana na região Neotropical inclusive no Brasil e nas Américas, veiculando os dois plasmódios de macacos do Novo Mundo, *P. brasilianum* Gonder & Berenberg-Gossler, 1908 e *P. simium* Fonseca, 1951, ambos infectantes para o homem (Deane et al., 1970). Portanto, o seu ecletismo e a sua mobilidade vertical entre solo e copa das árvores facilitam a ocorrência de infecção humana por plasmódios de macacos (Deane et al. 1984).

### **1.3.5. *Anopheles bellator* Dyar & Knab, 1906**

Encontra-se apenas no litoral, sendo sua distribuição estendida além do território brasileiro, desde o Rio Grande do Sul até a Paraíba, passando pela Guiana, Trinidad e o leste da Venezuela. *Anopheles bellator* tem características semelhantes à *An. cruzii* e outros Kerteszia no que concerne a sua distribuição e seus hábitos em sua reprodução: eclético quanto aos hospedeiros, exófilo e acrodendrófilo. Cria-se no mesmo tipo de criadouro, porém em gravatás rupestres e expostos ao sol. São muito oportunistas e ecléticos como vetores da malária na Mata Atlântica. Ao contrário do *An. cruzii*, prefere os gravatás de maior tamanho, que permitem o acúmulo de maior quantidade de água nas axilas de suas folhas. É raro dentro das matas, onde o *An. cruzii* predomina, mas torna-se abundante nas áreas abertas (fora das florestas do litoral sul e nas encostas de São Paulo e Rio de Janeiro). A presença de uma fonte sanguínea torna-o imediatamente excitado, independentemente do horário ou do tipo de hospedeiro. Este anofelino ataca, indiscriminadamente, o homem, outros mamíferos e aves (Forattini 2002,

Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). *An. bellator* é essencialmente crepuscular vespertino, mantendo a sua atividade hematofágica até as primeiras horas da noite.

A "malária-bromélia" no Brasil é também transmitida à custa desta espécie de anofelino, a qual só foi encontrada infectada com esporozoítos de plasmódios em área endêmica de Santa Catarina (Rachou, 1958). Assim como os demais *Kerteszia*, só transmite malária quando se encontra em elevada densidade populacional (Elliot, 1972).

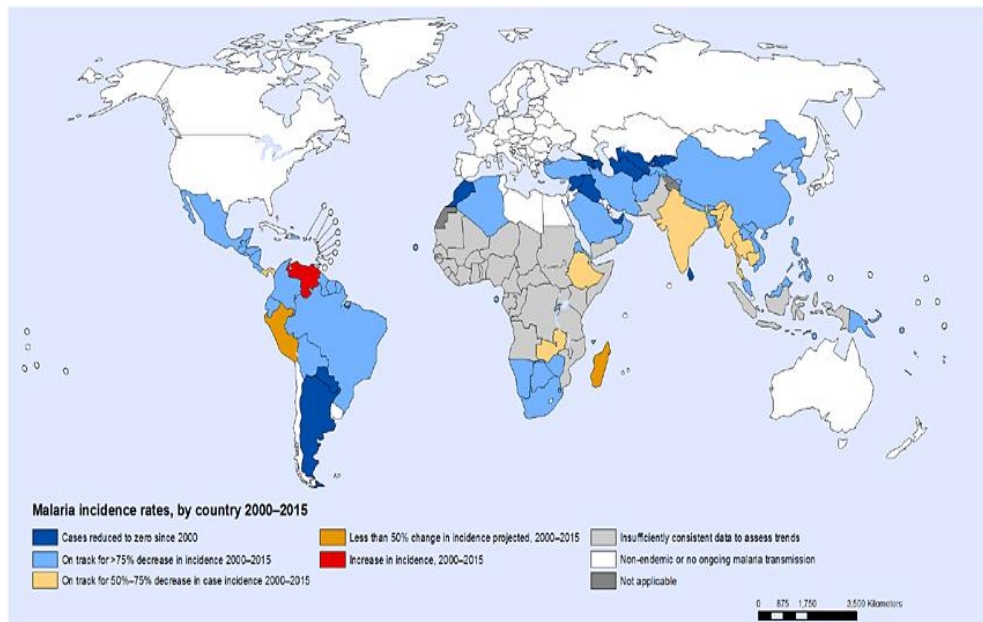
## **1.4. Malária**

### **1.4.1. Malária no mundo**

Conhecida desde a antiguidade como uma doença intimamente relacionada com os seres humanos, a malária continua sendo, nesse século 21, um dos primeiros flagelos sanitários e a mais frequente das infecções parasitárias tropicais no mundo. Os agentes etiológicos são protozoários do gênero *Plasmodium*, os quais são transmitidos ao homem por fêmeas de mosquitos do gênero *Anopheles* Meigen, 1818 (Levine, 1988). No gênero *Plasmodium*, existem cinco espécies responsáveis pela doença em seres humanos: *Plasmodium falciparum* Welch, 1897; *Plasmodium vivax* Grassi e Feletti, 1890; *Plasmodium ovale* Stephens, 1922, *Plasmodium malariae* Laveran, 1881 e *Plasmodium knowlesi* Sinton e Mulligan, 1932. No entanto, as mais comuns destas espécies são: *P. falciparum* e *P. vivax*. Sendo mais patogênica, *P. falciparum* é responsável pela maioria dos óbitos relacionados com malária no mundo todo principalmente no continente africano, já que *P. vivax*, apesar de ter uma ampla distribuição mundial (exceto na África Subsaariana), raramente produz infecções graves. Quanto a *P. knowlesi*, é uma espécie zoonótica causando doença em macacos, porém, pode provocar infecções fatais em humanos (McCutchan, 2008).

Apesar dos grandes progressos da ciência e da medicina contemporânea, a malária continua fazendo um grande número de vítimas nas regiões tropicais e temperadas do planeta. Estima-se que 3,4 bilhões de pessoas em 95 países e territórios através do mundo estejam em risco de

contrair a malária, com 214 milhões de casos clínicos e 438 mil óbitos por ano. A África Subsaariana é a região mais afetada onde 88% dos casos clínicos e 90% de mortes foram registrados, dos quais a maioria são crianças com idade inferior cinco anos (Figura 2).

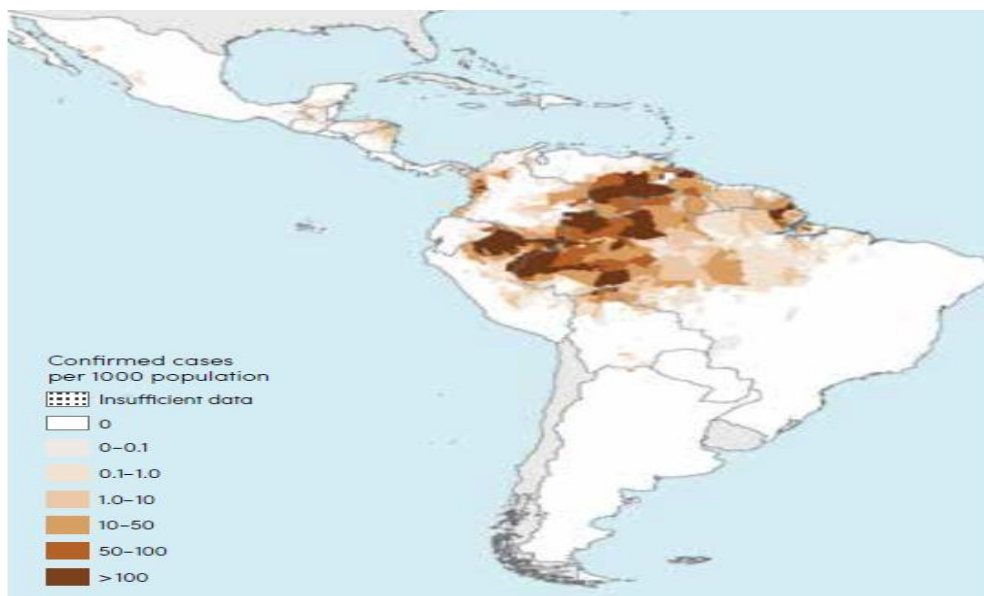


**Figura 2:** Mapa das taxas de incidência da malária no mundo por países de 2000 a 2015.

Fonte: WHO 2016.

### 1.4.2. Malária nas Américas

A transmissão da malária ocorre em 22 países da América, estimando-se que cerca de 112 milhões de pessoas estejam em risco para a doença (Figura 3). A cada ano, 2,7 milhões de pessoas são afetadas na América Latina, dos quais quase a metade no Brasil. *P. vivax* é responsável por mais de 70% dos casos de malária relatados nesta região, embora *P. falciparum* ocorra a mais de 99% na República Dominicana e no Haiti (WHO, 2015). No ano de 2006 foram registrados aproximadamente um milhão de casos de malária nas Américas, e o país com maior contingente de casos notificados foi o Brasil (52,7%), seguido pela Bolívia (20,0%) e Colômbia (11,5%) (WHO, 2008).



**Figura 3:** Perfil da malária nas Américas em 2015.

Fonte: WHO 2016.

### 1.4.3. Malária no Brasil

Até o final do século XIX, a malária ocorria praticamente em todo o território brasileiro, particularmente na costa litorânea (Martins et al., 1985), com exceção de algumas áreas da região Sul (Barcelar 1963). O principal vetor era o *An. darlingi*. Após o Brasil adotar a estratégia de erradicação da malária, preconizada pela Organização Mundial de Saúde, a doença foi eliminada em diversos estados e encontrou seus menores índices no início da década de 1970, quando cerca de 52.000 casos foram registrados (Loiola et al., 2002). Hoje, aproximadamente 5,4 milhões de pessoas vivem em áreas de alto risco de transmissão, principalmente entre os nove estados que integram a Amazônia Legal onde 99,98% dos casos são registrados por todo país (Tadei et al., 2007).

Durante a primeira década do século XXI a malária permanece endêmica na região amazônica, enquanto que na região extra-amazônica ocorrem surtos com casos isolados e esporádicos (Portes et al., 2010; Costa et al., 2010). Na região extra-amazônica, existem dois tipos de malária: a autóctone de Mata Atlântica e a importada. A malária de Mata Atlântica está relacionada à fauna anofélica das áreas de aclive e/ou da serra do Mar e compreende principalmente espécies do subgênero *Kerteszia*, incluindo-se *An.*

*cruzii* e *An. bellator* (Dyar & Knab 1906). Ambas têm características semelhantes no que concerne à sua distribuição e hábitos em sua reprodução, criando-se em bromélias epífitas e terrestres dispostas em locais sombreados (*An. cruzii*) e expostos ao sol (*An. bellator*). São muito oportunistas e ecléticas, pois podem se alimentar no homem, primatas não humanos, outros mamíferos e aves (Forattini 2002; Consoli & Lourenço de Oliveira 1994). Na década de 1940, a malária relacionada à bromélia (bromélia-malária) foi epidemia de grande importância na região sul do país (Deane 1986). Na Mata Atlântica, existem primatas não humanos que são naturalmente infectados com *P. simium* (Deane et al. 1966), semelhante ao *P. vivax*, e com *P. brasilianum* (Contacos et al., 1963), semelhante ao *P. malariae*) que podem também infectar naturalmente o homem. *An. cruzii*, também é considerado como o vetor primário da malária simiana no Brasil (Deane 1992). É importante destacar que aparentemente as espécies do subgênero *Kerteszia* são competentes para se infectarem naturalmente com o plasmódio de humanos além de outros primatas (Forattini 2002; Consoli & Lourenço de Oliveira 1994).

O segundo tipo de malária extra-amazônica é a malária importada, que ocorre quando uma pessoa infectada pelo plasmódio é diagnosticada fora da área onde ela se infectou. Esse tipo de malária não possui dimensão ambiental, pois a pessoa infectada pode se deslocar ou migrar para qualquer região e seu diagnóstico pode ser feito em qualquer lugar de destino do paciente. Porém, essa falta de dimensão ambiental pode constituir um grande problema quando isso ocorre em área de receptividade à infecção (Limongi et al. 2008). Segundo a OMS (2007), a área de receptividade é um local onde o vetor está presente e as condições ambientais são propícias para transmissão da malária. Por exemplo, nas décadas de 70 a 90, o crescimento dos casos de malária nas áreas endêmicas gerou uma grande preocupação pelo ministério da saúde do país por causa da migração de indivíduos destas áreas para regiões em que a malária já estava eliminada. Esta preocupação está relacionada à possibilidade de reintrodução da doença nestes locais livres de malária, pois mais de 80% do território nacional possui a presença de espécies vetores (Tauil et al., 1985). Hoje a situação não é diferente, pois a região extra-amazônica, especialmente as regiões inseridas no bioma da Mata Atlântica ainda contem áreas receptivas para malária pela presença de espécies de

anofelinos potenciais vetores. Isso é também o caso do estado do Rio de Janeiro, região sudeste do Brasil, onde a malária era um grave problema de saúde pública na primeira parte do século XX (Hochman et al., 2002).

#### **1.4.4. Malária no estado do Rio de Janeiro**

Estudos mostram que em 1944, 33 dos 56 municípios do estado do Rio de Janeiro foram considerados endêmicos para malária (Carvalho & Rachou 1950). Um dos maiores focos de malária do país foi a Baixada Fluminense que era um dos locais propícios para a reprodução do principal vetor da malária, o *An. darlingi* (Hochman et al., 2002; Benchimol et al., 2008). Os principais vetores encontrados na região da baixada fluminense são os do subgênero *Nyssorhynchus* das espécies *An. darlingi*, *An. aquasalis* e *An. albitarsis* (MS 2005; Forattini 2002; Carvalho & Rachou 1950).

Assim sendo, a inexistência de dados atuais aliada ao fato de ser uma área com histórico de endemidade para malária, ensejam a proposição do presente estudo que visa avaliar alguns aspectos da bioecologia de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* na área da Reserva Ecológica de Guapiaçu e em diferentes pontos amostrais do município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro. Enfatiza-se que neste município já foi identificado caso de malária autóctone (Miguel et al. 2014; Pina-Costa et al., 2014) podendo ser caracterizado área de malária residual (Carvalho & Rachou, 1950).

#### **1.5. A paisagem e a dinâmica da malária**

A dinâmica da malária está ligada a duas séries de eventos: as mudanças climáticas e as atividades humanas (Gething et al. 2010). Durante anos, o homem continuou usando a terra para agricultura, criação de gado e para habitação se agrupando em cidades que continuam a aumentar, onde mais de 60% da população mundial é hoje urbana (transformações da paisagem). De acordo com Ostfeld et al., (2005) e Reisen et al., (2010), as alterações, naturais ou provocadas pelo homem, na estrutura e na heterogeneidade da paisagem podem criar condições ecológicas e microclimáticas que favorecem algumas espécies de insetos vetores e os parasitos, por exemplo, os plasmódios, que são transmitidos por eles.

As atividades humanas nos ambientes naturais influenciam fortemente no clima em todo o mundo. Elas aumentam a concentração atmosférica de gás sensores de energia, amplificando assim o efeito estufa que faz com que a terra seja habitável. Porquanto, as ações antrópicas também são consideradas como fatores na disseminação da malária. Temos como um grande exemplo, a construção de estradas. Sabe-se que a construção de estradas envolvendo o desmatamento, pode causar uma modificação do ecossistema, afetando a linha divisora hidrográfica e o clima local, dois fatores que influenciam a transmissão da malária (Uneke, 2009; Capelle, 2007). O desmatamento seguido do aumento da população humana pode causar risco elevado de transmissão de plasmódios e arbovírus (Oliva & Sallum, 1996; Forattini & Massad, 1998). Pode também criar condições ecológicas e ambientais associadas a maior abundância de espécies do subgênero *Nyssorhynchus*, de *Anopheles* (Forattini et al., 1993b), e de espécies vetoras de arbovírus, dos gêneros *Mansonia* e *Coquillettidia* (Forattini et al., 1978a,b), dos subgêneros *Ochlerotatus*, de *Aedes* (Forattini et al., 1995a) e *Culex* e *Melanoconion*, de *Culex* (Foratini et al., 1995b,c) e *Aedes albopictus* (Fernández et al., 2003). A aglomeração humana eleva a proporção de hospedeiros suscetíveis, podendo aumentar a probabilidade de introdução de novos parasitos na população (Oliva e Sallum, 1996).

Vittor et al. (2006) mostrou que o desmatamento facilitou o contato entre *An. darlingi* e humanos na Amazônia peruana, aumentando a incidência de malária naquela região. Segundo Olson et al. (2010), 4.3% de mudanças na paisagem natural, provocadas por desmatamento, foi correlacionado com aumento de 48% na incidência de malária no município de Mâncio Lima, Estado do Acre. Então, a remoção de florestas, formação de áreas para agricultura, exploração de madeira e diversas atividades econômicas podem ser a base de uma mudança do clima regional que tem implicações para a saúde humana.



## 2. JUSTIFICATIVA

A Organização Mundial de Saúde recomenda o monitoramento das antigas áreas endêmicas com focos inativos. O Rio de Janeiro era uma área de forte densidade de transmissão para a malária no passado, e atualmente ele é considerado como uma região com receptividade para a doença, pela presença do vetor.

Existem poucos estudos sobre a composição das populações de anofelinos e sobre a receptividade do território nas áreas de baixada do estado do Rio de Janeiro que eram as com maior endemicidade do Estado no passado, tendo *An. darlingi* como o principal vetor.

No município de Cachoeiras de Macacu (nossa área de estudo), adjacente a áreas de baixada do Rio de Janeiro, especificamente na fronteira, há atualmente um empreendimento denominado Complexo Petroquímico do Estado do Rio de Janeiro (COMPERJ), o qual está em um momento de reestruturação do seu funcionamento, não estando em atividade, mas com perspectiva de ativação em breve, o que pode influenciar no risco de reintrodução da doença. A presença de trabalhadores provindos de regiões endêmicas para a malária (como da Amazônia), as modificações no ambiente com a produção de novos criadouros favorecendo o surgimento de novos focos da doença (como a criação de represas), aliado à fragilidade dos sistemas de saúde em detectar e notificar com rapidez os casos de malária são fatores que apontam a necessidade de uma vigilância entomológica e epidemiológica na região.

Até o momento, não existe trabalho publicado onde se tenha avaliado o perfil entomológico das áreas de baixada do município de Cachoeiras de Macacu. Esta região apresenta uma carência de estudos vetoriais sistemáticos que atualmente são indispensáveis para avaliação da receptividade territorial e do possível risco de reintrodução da malária no Estado do Rio de Janeiro.

Podemos considerar ainda que se trata de uma oportunidade proeminente para analisar as configurações bioecológicas da fauna de anofelinos na referido Município.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Estudar a biodiversidade de *Anopheles* do subgênero *Nyssorhynchus* identificados em uma área receptiva para malária do município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Realizar levantamento de *Anopheles* do subgênero *Nyssorhynchus* residente em área de mata primária e secundária da Reserva Ecológica de Guapiaçu e em diferentes pontos amostrais do município de Cachoeiras de Macacu;
- Caracterizar a fauna de anofelinos dessas áreas quanto à riqueza, diversidade, abundância, dominância, constância e similaridade das espécies;
- Investigar a contribuição de corpos d'água naturais e artificiais no desenvolvimento e manutenção de formas imaturas de *Anopheles* spp., e avaliar os efeitos físicos, ecológicos sobre a densidade de imaturos de *Anopheles* spp. no Município de Cachoeiras de Macacu;
- Analisar a influência de diferentes paisagens na ocorrência e densidade de anofelinos capturados.

### **4. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

Considerando que o presente estudo não utilizou pesquisa *in vivo*, seja com animais, nem com humanos, não houve a necessidade da sua aprovação perante um comitê de ética. A licença permanente para coleta, captura e transporte de material zoológico foi concedida pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) sob número: 34911-1 e com data de emissão em 14/06/2012 em todo território nacional, sob a responsabilidade técnica do pesquisador Jeronimo Augusto Fonseca Alencar.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. Descrição da área de estudo: Estado do Rio de Janeiro

O estado do Rio de Janeiro é um dos estados da região sudeste do Brasil, uma área de zona tropical formado por 92 municípios e dividido em seis mesorregiões com cerca de 16 milhões de habitantes, com uma superfície de 43.780 Km<sup>2</sup>, sendo que 97% vivem em área urbana. As seis mesorregiões são: metropolitana, baixada litorânea, centro fluminense, noroeste fluminense, norte fluminense e sul fluminense. Tem fronteira com os estados do Espírito Santo, de São Paulo e de Minas Gerais (IBGE, 2010).

O município de Cachoeiras de Macacu está localizado na base da Serra do Mar, na região de Baixada Litorânea e faz fronteira com os municípios de Rio Bonito, Guapimirim, Itaboraí, Nova Friburgo e Teresópolis. Sua população foi estimada em 54.273 habitantes e a sua superfície é de 953,8 Km<sup>2</sup> (Figura 4).

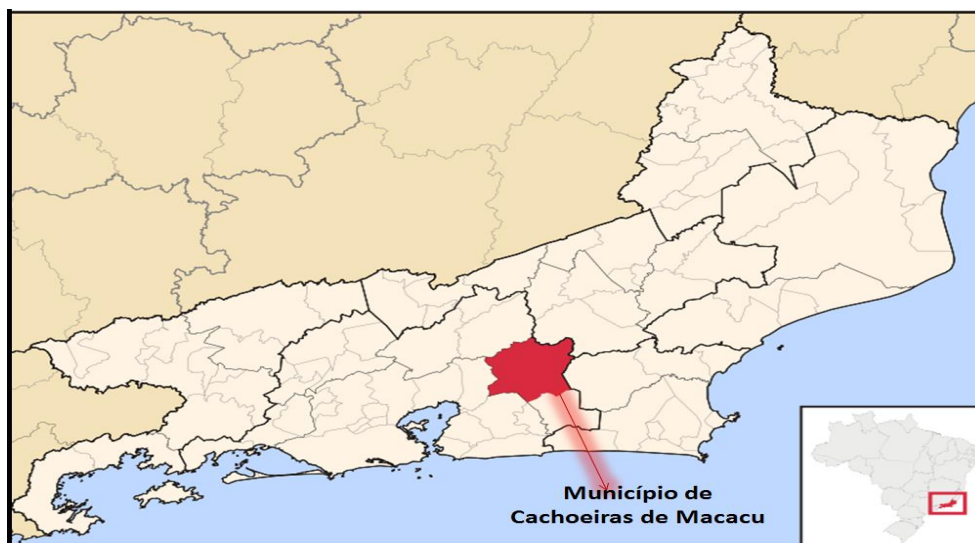
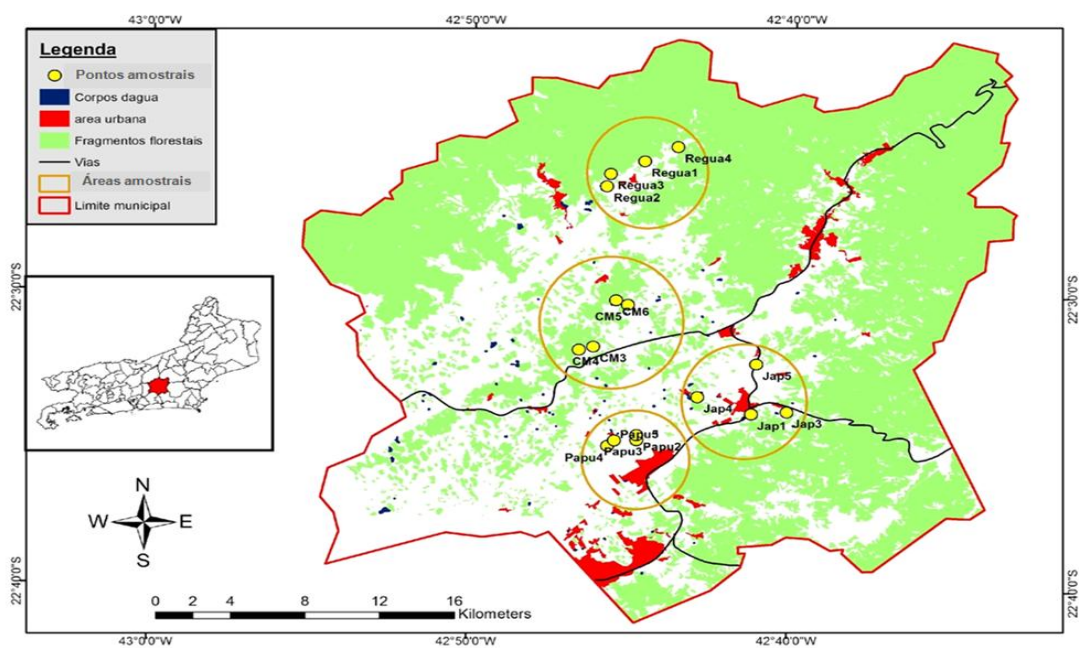


Figura 4: Mapa do Estado do Rio de Janeiro, destacando-se o município de Cachoeiras de Macacu.

Fonte: Adaptado de Wikipédia.

O presente estudo foi realizado em quatro bairros do Município de Cachoeiras de Macacu, os quais chamamos de células ou áreas amostrais, onde foram selecionados 16 pontos de amostragens em razão de quatro pontos em cada área. Estas áreas amostrais são: Gleba Nova Ribeira, Japuíba,

Papucaia e Reserva Ecológica de Guapiaçu que são sucessivamente identificadas por CM, Jap, Papu e Regua. Os quatros pontos da CM são: CM 3, CM 4, CM 5, CM 6; da Jap: Jap 1, Jap 3, Jap 4 e Jap 5 e os da Papu: Papu 2, Papu 3, Papu 4 e Papu 5 (Figura 5). Estes nomes não seguem uma sequência numérica, pois os pontos foram escolhidos a partir da detecção, por satélite, de vários corpos hídricos nas diferentes áreas do estudo. Por exemplo, em cachoeiras de Macacu foram marcados seis pontos e, por critérios metodológicos e de acessibilidade, foram escolhidos preferencialmente CM 3 a CM 6 em vez de CM1 a CM 4. Foi também o caso de Jap e Papu. É importante enfatizar que os quatro bairros escolhidos para o estudo são áreas compostas de Mata Atlântica, fazendas, sítios e chácaras destinadas agricultura, criação de peixe, criação de gado e lazer, sendo Papucaia a área mais urbanizada de todas.



**Figura 5:** Localização das áreas e os pontos de amostragem de coleta de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus*, no município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro.

Fonte: Hermano Albuquerque

## 5.2. Coleta dos espécimes

Foram realizadas três amostragens, sendo que, a primeira foi considerada considerada como piloto, realizado entre 27 de outubro e 6 de

novembro de 2015, referente à estação primavera. As outras duas foram divididas em dois períodos: um chuvoso (de 18 a 28 de janeiro de 2016) e um pós-chuvoso (de 25 de abril a 5 de maio de 2016) correspondente respectivamente às estações verão e outono (Tabela 1). A campanha piloto foi realizada no âmbito de fazer contatos com os moradores das localidades, reconhecer e testar os criadouros através de conchadas para avaliar a positividade de cada criadouro pela presença de formas imaturas de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus*. Também, os pontos de coleta de alados foram testados com o uso de armadilha luminosa do tipo CDC.

**Tabela 1.** Estrutura das amostragens para coleta das formas imaturas e adultas nas áreas e pontos amostrais do Município de Cachoeiras de Macacu de 27 de outubro de 2015 a 05 de maio de 2016.

Estação do ano	Período	Ponto de coleta imaturos	Ponto de coleta adultos (CDC)
Primavera	27/10/2015 à 30/10/2015	Regua1, Regua2, Regua3, Regua4, CM3, CM4, CM5 e CM6	Regua3, Regua4, CM3 e CM4
	03/11/2015 à 06/11/2015	Jap1, Jap3, Jap4, Jap5, Papu2, Papu3, Papu4 e Papu5	Jap1, Jap4, Papu4 e Papu5
Verão	18/01/2016 à 22/01/2016	Regua1, Regua2, Regua3, Regua4, CM3, CM4, CM5 e CM6	Regua3, Regua4, CM3 e CM4
	25/01/2016 à 28/01/2016	Jap1, Jap3, Jap4, Jap5, Papu2, Papu3, Papu4 e Papu5	Jap1, Jap4, Papu4 e Papu5
Outono	25/04/2016 à 29/04/2016	Regua1, Regua2, Regua4, CM3, CM4, CM5, CM6, Jap3, Jap4 e Jap5	Regua3, Regua4, CM3 e CM4
	02/05/2016 à 05/05/2016	Regua3, Jap1, Papu2, Papu3, Papu4 e Papu5	Jap1, Jap4, Papu4 e Papu5

As amostragens dos anofelinos foram obtidas durante duas semanas consecutivas ao longo dos períodos amostrais. Foram selecionados aleatoriamente 16 pontos para a amostragem de imaturos, que são corpos hídricos escolhidos em quatro áreas do município de Cachoeiras de Macacu (Figura 5) e dos 16 pontos selecionados, foram escolhidos 8 pontos para a amostragem de adultos. A coleta de indivíduos adultos foi feita no peri e

extradomicílio (próximo ao criadouro) com as armadilhas luminosas CDC, no horário de coleta (18:00 às 7:00hs), com o auxílio de tubo de sucção oral, em seguida os insetos foram transferidos para “gaiolas”, - pote plástico, com tampa telada com nylon e levados, ao final de cada captura, para base de apoio no campo para serem sacrificados por congelamento durante aproximadamente 20 minutos, com subsequente acondicionamento em pequenas caixas padronizadas até o momento da identificação.

As coletas das formas imaturas *Anopheles* spp. foram realizadas com concha entomológica padrão de 0,5L (Bioquip®, Gardena, CA, EUA), seguindo as recomendações da Ata da SESDEC/RJ obtida na 16ª Reunião de Avaliação do Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) e Oficina para implantação do sistema de informações Vetores-malária nos estados da região extra-amazônica, realizada no Rio de Janeiro em 2007. Foram realizadas dez conchadas em nove microhabitats de cada ponto amostral, adaptando a metodologia do Ministério da Saúde que seria de acordo com o critério sobre a quantidade de conchadas em relação às dimensões dos criadouros: os criadouros com 50 metros de perímetro: amostra completamente com um ponto a cada cinco metros = 5 pontos (45 conchadas); criadouros com até 100 metros: um ponto a cada dez metros = 10 pontos (90 conchadas); mais de 100 metros, faz-se 10 pontos. Os imaturos coletados foram monitorados no campo até o dia de retorno da equipe para o laboratório para evitar o parasitismo por fungos. As larvas de terceiro e quarto instar (L3 e L4) que morreram antes da volta do campo, foram acondicionadas em tubos com álcool a 70% para identificação no Laboratório. Os adultos que emergiram no campo foram sacrificados e guardados em tubos secos (também identificados) contendo sílica gel. No final de cada campanha de campo, todo o material coletado (adultos e imaturos) foi transportado ao Laboratório de Diptera (LABDIP) do Instituto Oswaldo Cruz (IOC). Todas as larvas de terceiro e quarto instar foram montadas em preparações permanentes, entre lâmina e lamínula, com bálsamo do Canadá, para a identificação específica. As larvas de primeiro e segundo instar que não viveram até L3 e L4, assim como as L3 e L4 danificadas foram contadas e identificadas como *Anopheles* spp. Os adultos emergidos da fase de imaturo foram considerados como imaturo mesmo no banco de dados. Isso implica que tanto as larvas montadas quanto os adultos

emergidos das coletas de imaturos (exceto adultos capturados no CDC da coleta piloto) são analisados juntos.

Os mosquitos capturados com auxílio das armadilhas luminosas do tipo CDC e os adultos obtidos a partir das larvas e pupas coletadas foram sacrificados pela exposição ao clorofórmio e acondicionados em potes plásticos padronizados segundo as características de cada amostragem. Numerados sequencialmente e com equivalência às fichas de campo correspondentes, esses potes plásticos foram levados ao laboratório para triagem e os mosquitos fixados a pequenos triângulos de papel espetados a alfinetes entomológicos.

A identificação das espécies foi realizada a partir da observação direta dos caracteres morfológicos evidenciáveis ao estereomicroscópio (Zeiss®), microscópio Óptico (Nikon®), e consulta às descrições respectivas das espécies, utilizando chaves dicotômicas elaboradas por Lane (1953), Faran & Linthicum (1981), Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994) e Forattini (2002).

Após a determinação específica todos os espécimes foram incorporados à Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, sob o título de “Coleção Mata Atlântica - Município Cachoeiras de Macacu – Rio de Janeiro”.

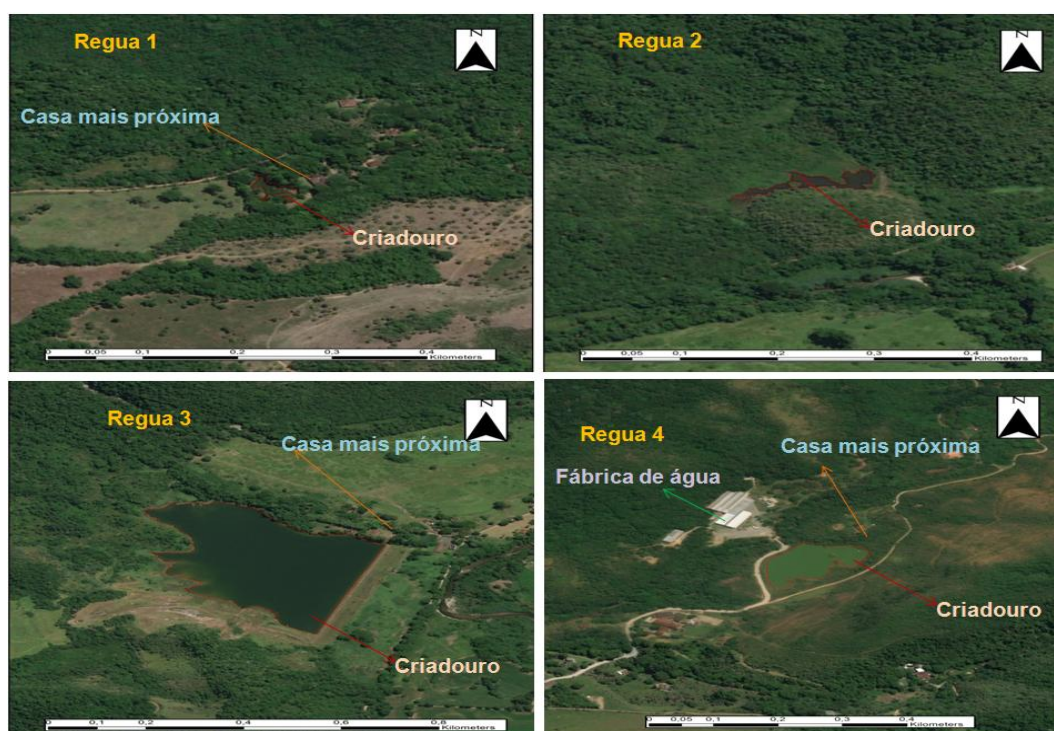
### **5.3. Descrição das áreas e dos pontos amostrais**

#### **5.3.1. Reserva Ecológica de Guapiaçu (REGUA)**

É uma área preservada que contém cerca de 7.385 ha de floresta tropical densa, variando em três fisionomias de plantas diferentes (Velloso et al., 1991). A sua altitude varia de 30 a 2000 m acima do nível do mar. Grande parte desta área, particularmente aquela acima de 700 m, é coberta por florestas não modificadas, onde há uma grande diversidade de plantas e animais. A sua parte inferior consiste em floresta densa de aluviais e pastagens, Planícies, costeiras, terras baixas e encostas mais baixas, com floresta densa e áreas que foram reflorestadas por 3-5 anos (Graham et al. 2009). Os solos desta área são classificados como Fluvisol nas planícies, Oxisol nas encostas levemente onduladas e Cambisol nas colinas. Foram estabelecidos quatro pontos amostrais nesta área: Regua 1, Regua 2, Regua 3

e Regua 4 (Figura 6).

**Regua 1** é uma lagoa que tem um contorno de 199,77 m e uma superfície de 1069,57 m. Cercada por um fragmento de floresta remanescente, ela é localizada a 35,45 metros acima do nível do mar de coordenadas S22°33'.018 WO42°53'.672. As suas margens, parcialmente sombreadas, contém bastante vegetação e matéria orgânica. É um corpo hídrico turvo e permanente, utilizado para criação de peixes. A cerca de 100 m deste criadouro fica a residência do Administrador da reserva. A 200 m da sua parte inferior tem uma grande área desmatada que serve de pastagem para criação de gado. À direita (de baixo para cima) a aproximadamente 600 m, atravessando um fragmento florestal, existe um grande terreno utilizado para agricultura. Existem em toda sua borda vegetações emergentes e matéria orgânica e pouca vegetação flutuante.



**Figura 6:** Fotos dos criadouros nos pontos amostrais da Regua.

Fonte: Hermano Albuquerque via Satélite

**Regua 2** é uma lagoa que se localiza a 33,53 m de altitude dentro de uma floresta fechada a menos de 1km da casa dos Alemãs na REGUA, nas coordenadas S22°43'.283 WO42°76'.237. Tem um perímetro de 457,19 m e



uma área de 2901,39 m. As águas deste criadouro são turvas com muitas vegetações flutuantes, emergentes de pequeno e médio porte dentro e nas margens totalmente sombreadas, com uma grande riqueza em matéria orgânica. Existe também, nestas águas, a presença de peixes e de outros animais aquáticos como girinos e insetos aquáticos como larvas de Odonata. O seu redor é uma floresta bem preservada com a presença de várias espécies de aves e mamíferos de pequeno e grande porte como: ratos e capivaras por exemplo.

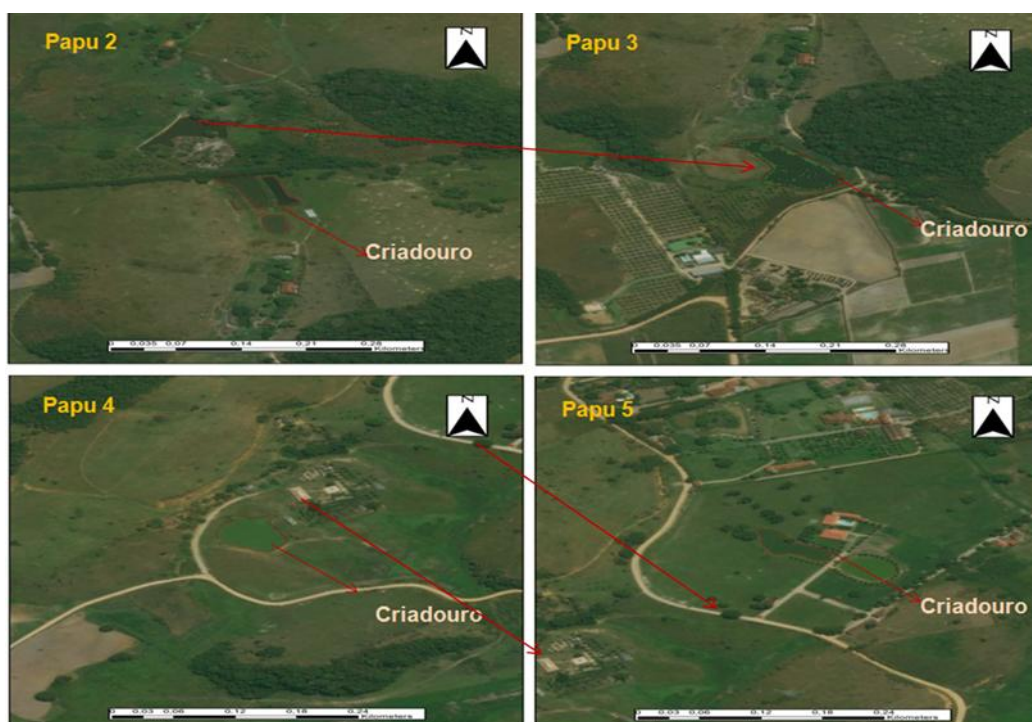
**Regua 3** é uma represa localizada a 49,39 m de altitude nas coordenadas S22°43'.918 WO42°72'.717. Possui um perímetro e uma área de 1920,24 m e 150728,72 m respectivamente. Suas águas são limpas e profundas com pouca vegetação, principalmente na terça parte das suas bordas. A parte Leste é inacessível por falta de caminho causada pela densidade dos fragmentos florestais localizadas na parte Sudeste. A área onde se localiza sofreu um médio grau de entropia causada pela agricultura e criação de gado. A fauna deste local inclui a presença de bois, cavalos e capivaras que podem ser umas das possíveis fontes alimentares dos anofelinos neste ponto. A maior parte das suas margens é ensolarada e em algumas partes delas existem vegetações emergentes e pouca matéria orgânica. Existe também a presença de várias espécies de peixes.

**Regua 4** está situada numa área impactada a 180,85 m acima do nível do mar, próximo á empresa “Persona”, uma fábrica de água em Guapiaçu, nas coordenadas S22°41'.640 WO42°72'.717. É uma lagoa de 13666,63 m de área e 584,82 m de perímetro com águas turvas com a terça parte das suas margens ensolarada, com plantas emergentes. Na parte Oeste desta lagoa, existe uma área com água muito baixa, rica em matéria orgânica contendo muito lama e vegetação aquática. O entorno deste criadouro apresenta grande escassez de cobertura vegetal.

### **5.3.2. Papucaia (Papu)**

Os pontos do **Papu** encontram-se no bairro de **Papucaia**, localizado as margens da rodovia RJ-116 entre Cachoeiras de Macacu e Itaboraí, na Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro. É uma área de grande influência

antrópica com uma população de cerca de 17.000 habitantes, possuindo desenvolvimento comercial contando com lojas de móveis, calçados e supermercados em seu centro. Papucaia é um grande centro de criação de gado e também, o maior produtor de goiabas do Município de Cachoeiras de Macacu. Papucaia é um bairro com grande apelo ecológico, conta com grande área de Mata Atlântica, riachos, cachoeiras, e inúmeras localidades para turismo ecológico. Os quatro pontos amostrais escolhidos nesta área são chamados: Papu 2, Papu 3, Papu 4 e Papu 5 (Figura 7).



**Figura 7:** Fotos dos criadouros nos pontos amostrais da Papu.

Fonte: Hermano Albuquerque via Satélite

### **Papu 2 e Papu 3**

Esses dois pontos estão localizadas na fazenda do proprietário Carlos Germano a 24,15 m e 22,95 m de altitude respectivamente. As coordenadas são S22°58'.014 WO42°74'.643 para Papu 2 e S22°58'.286 WO42°74'.634 para Papu 3. Os dois pontos estão em uma área utilizada como pastagem para criação de gado, porém têm algumas características diferentes. Papu 2 possui um contorno de 404,73 m e uma superfície de 4435,20 m contendo plantas marginais e emergentes nas bordas e quase totalmente coberto de plantas

flutuantes, com presença de peixes. As águas deste criadouro são turvas e completamente ensolaradas, porém, as margens são parcialmente sombreadas por causa da presença das plantas emergentes. Papu 3 possui um contorno de 406,38m e uma área de 7107,45 m contendo um conjunto de plantas marginais, emergentes, submersas com folhas emersas e poucas plantas flutuantes nas bordas, sendo totalmente ensolarado e sujo, contendo muita matéria orgânica nas margens. A uma distância de 30 m, existe na parte Norte, uma montanha com um fragmento florestal bem denso. Entre os dois pontos, fica a residência do caseiro e sua família.

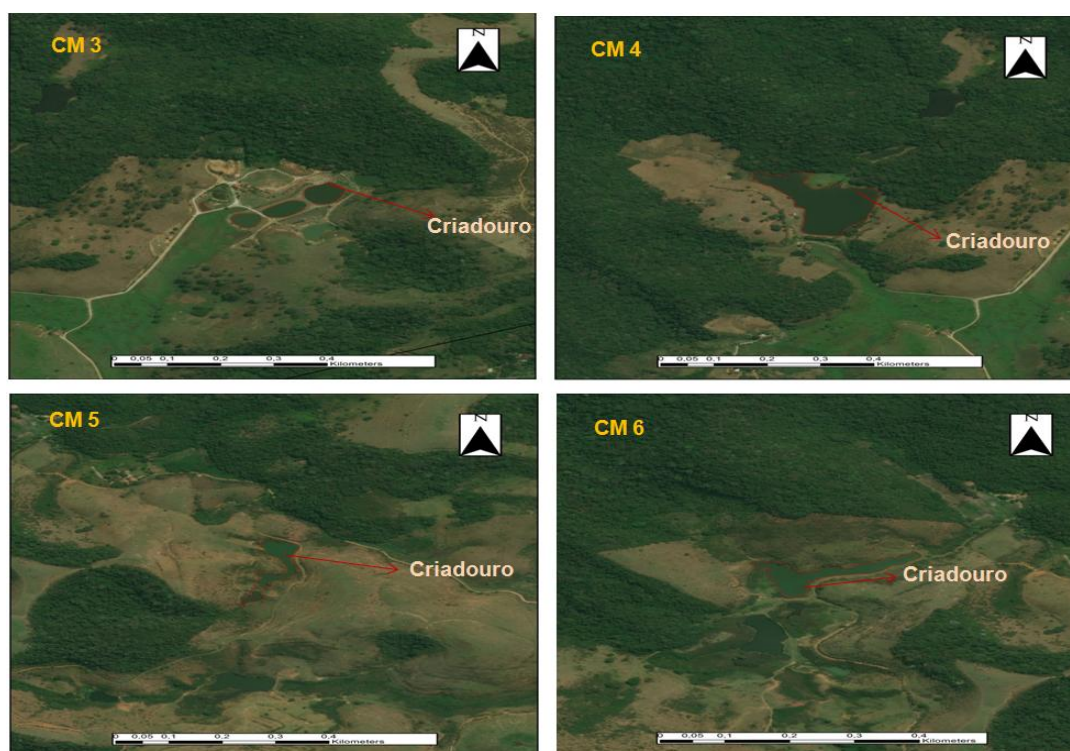
**Papu 4** localiza-se num sítio a 21,99 m de nível do mar. Sua latitude e longitude são S22°58'.649 e WO42°76'.163 respectivamente. Esta área, inclusive o seu entorno, é quase totalmente desprovida de cobertura vegetal (com exceção de alguns fragmentos bem reduzidos e isolados), sendo as terras utilizadas como pastagem. A menos de 150 m fica a casa do caseiro e ao lado é a casa do dono da propriedade. A superfície do criadouro é de 3375,74 m e seu contorno 222,20 m. É um criadouro permanente com finalidade de criação de peixe. Outras características: completamente exposto ao sol, límpida tendo apenas vegetações emergentes e matéria orgânica nas suas margens.

**Papu 5** é composto de duas pequenas lagoas utilizadas para criação de patos. Está situado em um outro sítio pouco distante de Papu 4 a 22,47 m de altitude, coordenadas S22°58'.317 e WO42°75'.805 e medindo 2043,84 m de perímetro e 219,05 m de área. Em relação à paisagem e grau de entropia, este ponto possui características semelhantes às de Papu 3. Está localizada numa área sem cobertura vegetal e o solo é utilizado para agricultura e criação de gado. Na casa mais perto do criadouro (a 50 m) situa-se a moradia do caseiro junto com a sua família no momento da pesquisa. Nessa localidade residem vários funcionários, com criação de galinha, além dos patos, e ao redor do criadouro é a pastagem para bois e cavalos. Assim como no caso de Papu 4, o dono e a sua família vão provavelmente, para passar férias e feriado. A superfície do criadouro é de 3375,74 m e seu contorno 222,20 m. É um criadouro permanente com finalidade de criação de peixe. Outras

características: totalmente ensolarado, a água é mais ou menos turva com muita matéria orgânica, detritos (fezes de bois e patos) e vegetações emergentes nas suas margens.

### 5.3.3. Gleba Nova Ribeira (CM)

Os quatro pontos da **CM** (CM 3, CM 4, CM 5 e CM) são localizados em **Gleba Nova Ribeira** entre a Estrada Rio-Friburgo e a Estrada Quizanga (RJ-122). É uma área mais ou menos preservada, de médio grau antrópico. Não foram achadas informações sobre a sua densidade populacional, porém, ao olhar no mapa do presente estudo (Mapa 2), pode-se observar que é uma área pouca urbanizada. Ali se encontram muitos sítios e fazendas (Figura 8).



**Figura 8:** Fotos dos criadouros nos pontos amostrais da CM.

Fonte: Hermano Albuquerque através de Satélite

O ponto **CM 3**, de coordenadas S22°53'.021 WO42°76'.976, é situado em um sítio a 40,74 m de altitude. As coletas foram realizadas no conjunto de quatro açudes considerados como um criadouro por causa da proximidade entre eles e da semelhança das suas características. De águas turvas, possui

nas margens plantas emergentes (tipo gramados) e plantas emergidas nas margens. Seu entorno é composto de pastos para equinos e bovinos. O sítio onde fica o criadouro é quase totalmente cercado por montanhas onde cerca de 60% é formado por florestas densas e fragmentos florestais. A menos de 100 e 200 m ficam a residência do caseiro. A superfície e o contorno do criadouro são 11576,66 m e 703,77 m respectivamente.

O ponto **CM 4** fica dentro de um sítio a 37,37 m acima do nível do mar (S22°53'.206 WO42°77'.715), cercado de montanhas cobertas por floresta fechada. De águas límpidas, o criadouro é uma lagoa artificial de 29704,50 m em superfície e 873,78 m de contorno. Ele foi fabricado para subsistência e piscicultura. Apenas 40% foi acessível para amostragem. As margens são sombreadas por causa da vegetação que nelas existem e possuem plantas emergentes, algas e muita matéria orgânica. O seu entorno é pasto para cavalos e tem a presença de um galinheiro na sua parte sudoeste próximo à floresta. A casa do dono do sítio fica a menos de 60 m do criadouro.

Os pontos **CM 5 e CM 6** estão localizados na mesma propriedade que é uma grande fazenda, sendo, porém, um pouco distantes em termo de altitude: 5,92 m e 69,82 m respectivamente. As suas coordenadas são: S22°50'.635 WO42°75'.209 (CM 5) e S22°50'.381 WO42°75'.827 para CM 6. O solo da fazenda é utilizado para agricultura e pastagem para criação de gado. A área é sem cobertura vegetal exceto no caso de CM 6 que possui ao seu redor alguns fragmentos florestais de pequeno porte. O criadouro do CM 5 tem uma superfície de 8944,78 m e contorno de 784,92 m. Já CM 6 mede 610614,03 m em superfície, 738,40 m em contorno. Contendo águas límpidas, os dois criadouros são permanentes e contém nas bordas matéria orgânica, algas, plantas marginais e plantas emergentes. O CM 5 é completamente ensolarado, já CM 6 é parcialmente sombreado. A casa mais próxima fica a mais de 300 m de CM 5. Os dois criadouros têm como finalidade: a criação de peixe e bebedouro para os bois e os cavalos da fazenda.

### 5.3.4. Japuíba (Jap)

**Japuíba** é um distrito do município de Cachoeiras de Macacu, situado próximo à rodovia RJ-116 e à margem do Rio Macacu, onde está situada a Igreja de Nossa Senhora de Santana de Japuíba. Além de ser muito urbanizado, Japuíba possui vários pontos turísticos, tais como: Serra do Bertoldo, Terra Santa e Igreja Santana. Os quatro pontos escolhidos nesta área foram: Jap 1, Jap 3, Jap 4 e Jap 5 (Figura 9).



**Figura 9:** Fotos dos criadouros nos pontos amostrais da Jap.

Fonte: Hermano Albuquerque através de Satélite

**Jap 1** localiza-se em um Parque Temático Ambiental chamado Terra Santa. O parque Terra Santa é um grande santuário ecológico, com mais de 1.200.000 m<sup>2</sup> de Mata Atlântica. Neste parque é desenvolvido trabalho de multiplicação de espécies nativas da Mata Atlântica (<http://www.terrasanta.eco.br/parque.html#>). É um espaço bem preservado com mais de 125.000 árvores nativas plantadas. Através das suas atividades culturais e turísticas e da diretriz de conservação do meio-ambiente, a Terra Santa representa uma referência de Sustentabilidade, fator de desenvolvimento social e econômico para a Cidade de Cachoeiras de Macacu e o Estado do Rio

de Janeiro. O criadouro é semi-permanente e fica a 31,12 m de nível do mar, de coordenadas S22°56'.759 WO42°68'.701. A área e o perímetro estimados do criadouro são de 7295,74 m e 461,02 m respectivamente. Neste criadouro tem a presença de peixes de várias espécies inclusive piaba (nome vulgar dos peixes do gênero *Leporinus*). Outras características: parcialmente sombreado, água turva. Suas margens contem vegetações emergentes, muita matéria orgânica, algas e substratos como folhas sobrenadando. A menos de 300 m ficam as casas mais próximas do criadouro.

**Jap 3** localiza-se em uma fazenda quase sem atividades a 19,90 m de altitude (S22°56'.616 WO42°66'.851). Possui uma superfície de 11159,22 m um contorno de 560,64 m. O criadouro é uma lagoa permanente, e provavelmente utilizada para desalutar gado e criar peixes. A sua cobertura vegetal é quase inexistente com um fragmento florestal apenas na parte norte. Aproximadamente 400 m da parte norte até parte leste existe uma floresta mais ou menos fechada. Ele é quase totalmente exposto ao sol, e não tem habitações perto. As terras da vizinhança são usadas para pastagem e agricultura.

**Jap 4** é situado dentro de uma fazenda a 28,72 m, de latitude e longitude 22°55'.815 42°71'.519 respectivamente. O criadouro é constituído por três açudes interligados de medida somada: 10967,69 m de superfície e 710,22 m de comprimento. É totalmente ensolarado, rico em algas e matéria orgânica, sujo e poluído em algumas partes por fezes de cavalos criados no sítio e folhas mortas. As bordas possuem plantas emergentes, submersas com folhas emersas, e flutuantes. Não há cobertura vegetal no seu entorno. A casa mais próxima do criadouro (aproximadamente 50 m) é aquela onde mora o caseiro do sítio com sua família. A finalidade deste criadouro é: criação de peixes e bebedouro dos cavalos do sítio.

**Jap 5** é uma lagoa localizada em uma fazenda com uma fábrica de leite de vaca, com proximidade de uma estrada a 38,33 m do nível do mar de coordenadas S22°53'.928 WO42°68'.477. É um criadouro permanente medindo 4589,82 m de área e 385,45 m de perímetro. Desprovido de cobertura vegetal, é completamente exposto ao sol. Tanto nas margens quanto no meio, existem vários tipos de vegetação aquática, tais como: plantas emergentes de pequeno e médio porte, plantas emersas, flutuantes. Nas suas bordas existe uma

riqueza em algas, matéria orgânica e detritos como folhas mortas. O terreno onde fica este criadouro serve de pasto para criação de bovinos.

## 5.4. Análises Ecológicas

No âmbito de avaliar e comparar diferenças na composição da comunidade em cada área foi realizado o cálculo de Diversidade, Dominância, Equitabilidade e Riqueza utilizando os índices: Shanon-Wiener e Simpson, Equitabilidade de Hill modificado e Riqueza de Espécies de Jackknife 1ª Ordem para avaliar a variação das espécies SV(i) (Couteron & Pélissier 2004) com o auxílio do programa DivEs - Diversidade de Espécies v3.0.7.1385 Codinome (Tocandira) – Copyright© 2004-2015, W.C. Rodrigues Entomologistas do Brasil. Através deste Software, foi também realizado o Teste *t-Student* adaptado para testar se existe diferença entre as diversidades de Shanon-Wiener aos pares de populações.

### 5.4.1. Diversidade de Shanon-Wiener

Este índice foi proposto por Shanon (1948), e possui uma vantagem em relação aos índices de Margalef, Gleason e Menhinick, pois é apropriado para amostras aleatórias de espécies de uma comunidade ou sub-comunidade ou sub-comunidade de interesse, e é estimado através da seguinte equação:

$$H' = \sum_{i=1}^n P_i \times \log_b P_i$$

Onde:  $p_i$  é a proporção da espécie em relação ao número total de espécimes encontrados nos levantamentos realizados,  $\log_b$  = logaritmo na base **b** (2 ou 10).

### 5.4.2. Diversidade de Simpson

Proposto por Simpson (1949), este índice possui uma vantagem em relação aos índices de Margalef, Gleason e Menhinick por não considerar apenas o número de espécies ( $s$ ) e o total de números de indivíduos ( $N$ ), mas



também a proporção do total de ocorrência de cada espécie. A diversidade de Simpson é estimada através da seguinte equação:

$$D_s = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n n_i \times (n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

Onde:  $n_i$  é o número de indivíduos de cada espécie;  $N$  é o número de indivíduos.

### 5.4.3. Equitabilidade de Hill (Modificado)

Este índice se refere à distribuição da abundância das espécies, ou seja, a maneira pela qual o número de indivíduos está distribuído entre as espécies numa amostra são igualmente abundantes. Neste caso, o índice de equitabilidade deve assumir o valor máximo e decresce tendendo a zero, à medida que as abundâncias relativas das espécies divergem dessa igualdade. Ele tem como parâmetro os índices de Simpson e Shannon (Uramoto *et al.* 2005).

$$D_s = \left[ \frac{(1/D_s)}{e^{H'} - 1} \right]$$

Onde:  $D_s$  = índice de diversidade de Simpson e  $H'$  índice de diversidade de Shannon-Wiener e é igual 2,718282

### 5.4.4. Riqueza de Espécies Jackknife 1ª Ordem

Este índice é o mais simples que representa a diversidade específica, pois representa o número total de espécies de uma área estudada dando uma ideia da variedade dos nichos ecológicos do período. Estima-se pela equação:

$$E_D = S_{obs} + s_1 \left( \frac{f - 1}{f} \right)$$

Onde:  $S_{obs}$  = número de espécies observadas;  $s_1$  = o número de espécie que está presente em somente um agrupamento (espécie de um

agrupamento) e  $f$  = o número de agrupamento que contém iésima espécie de um agrupamento.

#### 5.4.5. Test t-student adaptado para Diversidade de Shanon-Wiener

O Teste t-Student é usado nessa análise para comparar os índices de Diversidade de Shanon-Wiener aos pares de amostra das quatro áreas amostradas no Município de Cachoeiras de Macacu: Regua, Cachoeiras de Macacu (CM), Papucaia (Papu) e Japuíba (Jap). Os pares foram comparados como o seguinte: Regua- Papu, Regua-Jap, Regua-CM, Papu-Jap, Papu-CM e Jap-CM. Esta comparação permite avaliar se há diferença significativa entre os índices de diversidade. O nível de significância ( $\alpha$ ) 0,05 foi usado neste teste.

Segundo Brower et al., (1997), para comparar a diversidade de Shannon de duas coleções de dados ou dois levantamentos ou amostras ( $H'1$  e  $H'2$ ), é necessário calcular a variância para cada diversidade com a seguinte equação:

$$s^2 = \frac{\sum n_i \log_b^2 n_i - \frac{(\sum n_i \log_b n_i)^2}{N}}{N^2}$$

Onde:  $n_i$  é número de espécies de cada espécie;  $\text{Log}_b$  = logaritmo na base  $b$  (2 ou 10);  $N$  é o número total de indivíduos nos dois levantamentos. O valor de  $t$  é obtido pela seguinte equação:

$$t = \frac{|H'_1 - H'_2|}{\sqrt{s_1^2 + s_2^2}}$$

Onde:  $H'1$  e  $H'2$  diversidade de Shanon-Winer calculada, e  $s_1^2$  e  $s_2^2$  são as variância da diversidade.

Para medir o grau da correlação entre as variáveis (por pares de espécies), foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson usando a seguinte formula:

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{(\sum (x_i - \bar{x})^2)(\sum (y_i - \bar{y})^2)}}$$

Com  $x$  e  $y$  as médias de amostra (matriz1 e matriz2).

## **5.5. Seleção das variáveis relacionadas à paisagem**

As variáveis condicionantes para a presença de anofelinos foram selecionadas a partir de informações da literatura relacionada, observações de campo, da disponibilidade de dados nos sistemas de informação e imagens de satélite de alta resolução espacial. Os locais de coleta foram georreferenciados com o auxílio do Sistema de Posicionamento Global (GPS) para aquisição dos pontos amostrais. Adicionalmente, analisou-se a influência da cobertura florestal em diferentes escalas sobre a composição das populações das espécies de anofelinos estudadas. As escalas utilizadas se basearam em circunferências (Buffers) com raios de 1000, 500, 250 e 100 metros ao redor dos sítios amostrais, dentro das quais se calculou a proporção de cobertura florestal. A composição das populações das espécies de anofelinos estudadas foi feita a partir do método de escalonamento multidimensional (MDS), que segundo Jongman et al. (1995) e Borg e Groenen (2005), é um método capaz de medir a similaridade entre conjuntos de dados, que no presente estudo se referem às composições das populações das espécies de anofelinos estudadas (conjunto de dados) em cada sítio amostral. Para relacionar os dados da composição das populações das espécies de anofelinos estudadas e as proporções de cobertura vegetal, foi realizada uma regressão linear simples entre o resultado do MDS com a proporção de cobertura vegetal de cada circunferência com seus distintos raios (1000,500, 250 e 100 metros). O programa utilizado para se obter as proporções de cobertura florestal foi o ArcGIS 10. Para a construção do escalonamento multidimensional e para o processamento da regressão linear foi utilizado o programa IBM SPSS Statistics 22.

## **6. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Durante a primeira campanha considerada como piloto, os 16 criadouros, selecionados para o estudo, foram testados. Destes, 14 foram testados positivos pela presença de imaturos de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* e dois foram negativos (Tabela 2).

**Tabela 2:** Teste de positividade dos criadouros nos 16 pontos amostrais

<b>Criadouro</b>	<b>Positivo</b>	<b>Negativo</b>
Regua 1	Sim	-
Regua 2	Sim	-
Regua 3	Sim	-
Regua 4	Sim	-
Papu 2	Sim	-
Papu 3	Sim	-
Papu 4	Sim	-
Papu 5	Sim	-
CM 3	Sim	-
CM 4	Sim	-
CM 5	Sim	-
CM 6	Sim	-
Jap 1	-	Sim
Jap 3	Sim	-
Jap 4	Sim	-
Jap 5	-	Sim

Também, foram testados os oito pontos para captura de adultos com a utilização de armadilha luminosa tipo CDC, dos quais quatro pontos foram encontrados positivos pela presença de 20 adultos de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* (Tabela 3), sendo 12 *An. evansae*, seis *An. albitarsis*, e dois *An. triannulatus* (Tabela 4).

**Tabela 3:** Teste de positividade dos oito pontos de captura com armadilha CDC com o número de adultos capturados.

<b>Criadouro</b>	<b>Positivo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Número de adultos</b>
Regua 2	sim		2
Regua 3	-	Sim	0
Papu 2	-	Sim	0
Papu 4	-	Sim	0
CM 3	sim	-	4
CM 4	sim	-	10
Jap 1	-	-	0
Jap 4	Sim	-	4
Total	8	2	20

Regua 2, Regua 4, Papu 2, Papu 4, CM 3, CM 4 Jap 1 e Jap 4 são os oito pontos de coleta Testados.

**Tabela 4:** Abundância relativa de espécies de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* identificados através de adultos coletados com auxílio de armadilhas luminosas CDC em diferentes áreas amostrais durante a coleta piloto.

<b>Espécies</b>	<b>Regua</b>	<b>CM</b>	<b>Jap</b>	<b>Papu</b>	<b>Total</b>
	<b>N</b>	<b>N</b>	<b>N</b>	<b>N</b>	<b>N</b>
<i>An. (Nys.) albitarsis s.l.</i>	1	3	2	0	6
<i>An. (Nys.) evansae</i>	0	12	0	0	12
<i>An. (Nys.) triannulatus s.l.</i>	1	0	1	0	2
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>15</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>20</b>

Durante os dois períodos de amostragem (chuvoso e pós-chuvoso) foram coletados um total de 3.932 imaturos de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* sendo 562 no período chuvoso (14,29%) e 3.370 no período pós-chuvoso (85,70%). Este número total de imaturos foi obtido com um esforço amostral de 2.880 conchadas, sendo obtido uma média de 1,36 imaturos por conchada. Conforme mostrado na Tabela 5, do total de imaturos coletados (562) no período chuvoso nos diferentes pontos amostrais, apenas 50 espécimes (8,89%) foram identificados e no período pós-chuvoso, sob um total de 3.370 imaturos de anofelinos coletados, apenas 439, ou seja, 13,02% foram identificados (Tabela 6).

**Tabela 5:** Dados sobre os criadouros, imaturos de anofelinos coletados e espécies registradas em diferentes pontos de amostral no período chuvoso de 18 a 28 de janeiro de 2016, no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro.

<b>Ponto amostral</b>	<b>Metros de altitude</b>	<b>Área de criadouro</b>	<b>Perímetro de criadouro</b>	<b>Data de coleta</b>	<b>Imaturos coletados</b>	<b># anofelinos identificados</b>	<b># espécies registradas</b>
Regua 1	35,45	1069,57	199,77	18/01/2016	48	12	5
Regua 2	33,53	2901,39	457,19	25/01/2016	40	4	4
Regua 3	49,39	150728,72	1920,24	27/01/2016	43	0	0
Regua 4	180,85	13666,63	584,82	27/01/2016	4	0	0
Papu 2	24,15	4435,2	404,73	21/01/2016	72	2	1
Papu 3	22,95	7107,45	406,38	21/01/2016	7	0	0
Papu 4	21,99	3375,74	222,2	21/01/2016	12	1	1
Papu 5	22,47	2043,84	219,05	21/01/2016	16	0	0
CM 3	40,74	11576,66	703,77	20/01/2016	138	5	3
CM 4	37,37	29704,5	873,78	20/01/2016	8	2	2
CM 5	5,92	8944,78	784,92	19/01/2016	8	2	2

CM 6	69,82	10614,03	738,4	19/01/2016	73	0	0
Jap 1	31,12	7295,74	461,02	26/01/2016	12	8	3
Jap 3	43,62	11159,22	560,64	26/01/2016	26	3	1
Jap 4	28,72	10967,69	710,22	26/01/2016	30	7	2
Jap 5	38,33	4589,82	385,45	26/01/2016	25	4	0
<b>Total</b>					<b>562</b>	<b>50</b>	<b>24</b>

**Tabela 6:** Dados sobre os criadouros, imaturos de anofelinos coletados e espécies registradas em diferentes pontos de amostral no período pós-chuvoso de 25 de abril a 5 de maio de 2016, no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro.

Ponto amostral	Metros de altitude	Área de criadouro	Perímetro decriadouro	Data de coleta	Imaturos coletados	# anofelinos identificados	# espécies registradas
Regua 1	35,45	1069,57	199,77	25/04/2016	228	14	3
Regua 2	33,53	2901,39	457,19	26/04/2016	41	5	4
Regua 3	49,39	150728,72	1920,24	04/05/2016	87	14	1
Regua 4	180,85	13666,63	584,82	26/04/2016	13	2	1
Papu 2	24,15	4435,2	404,73	03/05/2016	327	14	5
Papu 3	22,95	7107,45	406,38	03/05/2016	41	16	2
Papu 4	21,99	3375,74	222,2	03/05/2016	248	26	5
Papu 5	22,47	2043,84	219,05	03/05/2016	330	78	3
CM 3	40,74	11576,66	703,77	27/04/2016	224	44	4
CM 4	37,37	29704,5	873,78	27/04/2016	116	30	3
CM 5	5,92	8944,78	784,92	26/04/2016	254	25	3
CM 6	69,82	10614,03	738,4	26/04/2016	93	3	2
Jap 1	31,12	7295,74	461,02	04/05/2016	530	32	6
Jap 3	43,62	11159,22	560,64	28/04/2016	293	57	4
Jap 4	28,72	10967,69	710,22	27/04/2016	335	35	5
Jap 5	38,33	4589,82	385,45	28/04/2016	210	44	6
<b>Total</b>					<b>3370</b>	<b>439</b>	

Os resultados sobre a abundância relativa e proporção de espécies de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* identificados em diferentes áreas amostrais, para cada período, são apresentados na Tabela 7 e na Tabela 8. Dos 8,89% de anofelinos identificados pelo período chuvoso, foram registradas seis espécies de *Anopheles* do subgênero *Nyssorhynchus*: 17 *An. (Nys.) albitarsis* s.l., ou seja, 34%; 12 *An. (Nys.) braziliensis* (24%); 8 *An. (Nys.) evansae* (16%); 7 *An. (Nys.) oswaldoi* (14%); 3 *An. (Nys.) triannulatus* s.l. (6%) e 3 *An. (Nys.) rangeli*, ou seja, (6%).

**Tabela 7:** Abundância relativa e percentual de espécies de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* no estágio evolutivo de imaturo, identificados em diferentes áreas amostrais do município, durante o período chuvoso.

Espécies	REGUA		CM		JAP		PAPU		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>An. (Nys.) albitarsis</i>	3	18.5%	5	55.5%	8	0.0%	1	18.2%	17	34.0%
<i>An. (Nys.) braziliensis</i>	2	12.5%	1	11.1%	9	0.0%	0	0.0%	12	24.0%
<i>An. (Nys.) evansae</i>	4	25.0%	1	11.1%	1	0.0%	2	36.4%	8	16.0%
<i>An. (Nys.) triannulatus</i>	0	0.0%	0	0.0%	3	60.0%	0	27.3%	3	6.0%
<i>An. (Nys.) rangeli</i>	3	18.7%	0	0.0%	0	20.0%	0	0.0%	3	6.0%
<i>An (Nys.) oswaldoi</i>	4	25.0%	2	22.2%	1	20.0%	0	18.2%	7	14.0%
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>100%</b>	<b>9</b>	<b>100%</b>	<b>22</b>	<b>100%</b>	<b>3</b>	<b>100%</b>	<b>50</b>	<b>100%</b>

N, o número de anofelinos por espécie.

Dos 13,02% espécimes identificados por este período pós-chuvoso, nove espécies do subgênero *Nyssorhynchus* foram registradas: 282 *An. (Nys.) albitarsis s.l.* (64,24%); 54 *An. (Nys.) braziliensis* (12,30%); 29 *An. (Nys.) triannulatus s.l.* (6,60%); 25 *An. (Nys.) evansae* (5,69%); 21 *An. (Nys.) strodei/rondoni* (4,78%) ;18 *An. (Nys.) oswaldoi* (4,10%); 6 *An. (Nys.) argyritarsis* (1,36%); 2 *An. (Nys.) aquasalis* (0,45%), e 2 *An. (Nys.) rangeli* (0,45%) (Tabela 8).

**Tabela 8:** Abundância relativa e percentual de espécies de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* no estágio evolutivo de imaturo, identificados em diferentes áreas amostrais durante o período pós-chuvoso.

Espécies	Regua		CM		Jap		Papu		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>An. (Nys.) albitarsis s.l.</i>	18	51.4%	55	53.9%	104	61.9%	105	78.4%	282	64.2%
<i>An. (Nys.) braziliensis</i>	1	2.7%	22	21.6%	18	10.7%	13	9.7%	54	12.3%
<i>An. (Nys.) evansae</i>	6	17.2%	0	0.0%	17	10.1%	2	1.5%	25	5.7%
<i>An. (Nys.) triannulatus s.l.</i>	0	0.0%	4	3.9%	16	9.5%	9	6.7%	29	6.6%
<i>An. (Nys.) rangeli</i>	2	5.7%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	2	0.4%
<i>An (Nys.) oswaldoi</i>	8	22.7%	4	3.9%	6	3.6%	0	0.0%	18	4.1%
<i>An (Nys.) argyritarsis</i>	0	0.0%	1	1.0%	1	0.6%	4	3.0%	6	1.4%
<i>An (Nys.) strodei/rondoni</i>	0	0.0%	16	15.7%	5	3.0%	0	0.0%	21	4.8%
<i>An (Nys.) aquasalis</i>	0	0.0%	0	0.0%	1	0.6	1	0.7%	2	0.4%
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>100%</b>	<b>102</b>	<b>100%</b>	<b>168</b>	<b>100%</b>	<b>134</b>	<b>100%</b>	<b>439</b>	<b>100%</b>

N, o número de anofelino por espécie.

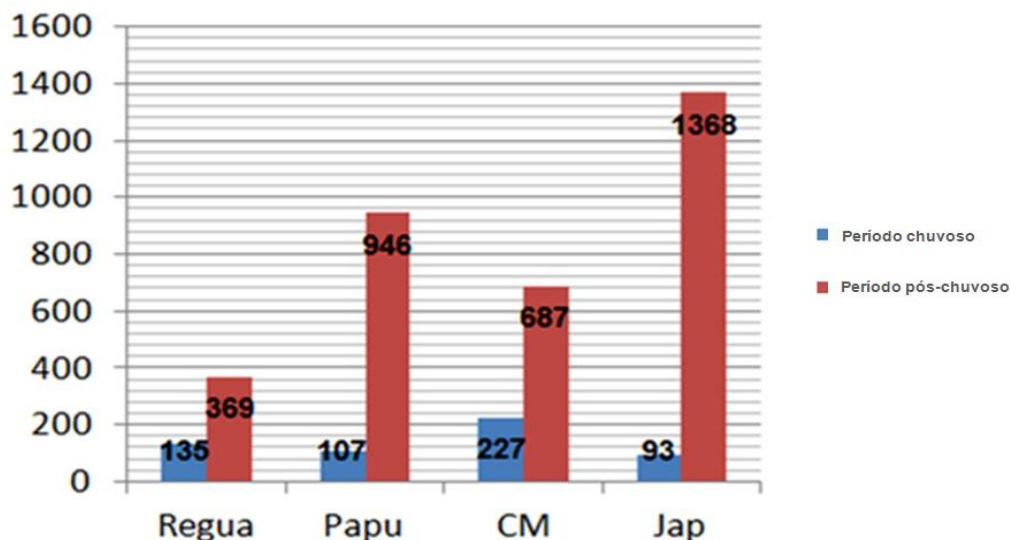
Na **Tabela 5** que apresenta o número de anofelinos identificados e espécies registradas no período chuvoso, notou-se que o número de espécies registradas nos pontos amostrais Regua 3, Regua 4, Papu 3, Papu 5, CM 6 e Jap 5 foi zero. Isso ocorreu por causa da mortalidade das amostras destes pontos nas fases entre L1 e L3. Como elas morreram antes de chegar à fase L3 e L4, não houve possibilidade de identificar quais foram as espécies para estes pontos e definir a riqueza específica. Também, como apresentado na **Tabela 7**, apenas 50 espécimes de anofelinos são identificados do total de 562 coletados. O que significa que 518 larvas de anofelinos morreram na fase L1 e L3 e não puderam ser identificadas. Na **Tabela 8**, observamos a ocorrência da mesma situação do período chuvoso, onde um número pequeno dos imaturos coletados foi identificado: 13.02% dos espécimes. Isto aconteceu pelo mesmo fato de que foi este número que chegou ao estágio L3 e L4. Dos 2.931 espécimes, cerca de 90% morreram na fase L1 e L2 e o restante foi danificado o que impossibilitou a sua identificação. Nos dois casos, provavelmente, a mortalidade foi devida a fatores relacionados à fragilidade das larvas deste gênero. Algumas observações foram feitas no campo em relação a isto: foi visto que algumas larvas ficaram presas no fundo do recipiente usado para o transporte devido à presença de muitas algas e matéria orgânica acumuladas durante a pipetagem, formando um tipo rede que as prendem no fundo. O fato de que elas não conseguiram subir para respirar o ar atmosférico na lâmina da água pode ter causado sua morte por asfixia. Também, durante a logística do campo para o laboratório, os movimentos bruscos do transporte podem ter ocasionado a morte dos imaturos. Mesmo que não seja mencionado nas tabelas, os anofelinos que não foi identificado em nível de espécie foram considerados como "*Anopheles (Nyssorhynchus) spp.*" e o número "0" mencionado na tabela 3 é considerado como "pelo menos uma espécie". Ficou evidente que os anofelinos que foram coletados em cada ponto, independente do período amostral, pertencem ao subgênero *Nyssorhynchus*.

Os resultados de coleta com o uso de Armadilhas luminosas tipo CDC foram negativos durante os dois períodos do estudo. O que significa que não foi capturado nenhum mosquito do gênero *Anopheles* a pesar de ser positivos em três pontos na coleta piloto.



Sabe-se que as variáveis ambientais podem influenciar fortemente as atividades dos culicídeos. Principalmente durante o verão, nas regiões tropicais, as variáveis abióticas são geralmente favoráveis aos culicídeos, pois com a ocorrência de chuvas, a oferta de criadouros é aumentada, e as temperaturas elevadas facilitam o ciclo de desenvolvimento dos insetos. Guimarães et al. (2000) relatam que as variações da temperatura e umidade relativa do ar influenciam diretamente nos mosquitos e estes podem chegar a desaparecer totalmente durante os meses mais secos do ano. No entanto, a partir de análises descritivas de correlações entre a abundância dos anofelinos e as variáveis ambientais, os nossos resultados não apresentaram esta associação. Portanto, o período chuvoso, no qual se esperou encontrar maior abundância de imaturos correlacionando-se positivamente com a precipitação e a temperatura do verão, apresentou maior densidade anofélica em todas as áreas de coleta no período pós-chuvoso. Apesar da precipitação ser um fator diretamente relacionado com a produtividade desses insetos (aumentando o número de criadouros potenciais para as populações de anofelinos), a ocorrência de excesso de chuva pode ser bastante desfavorável ao seu desenvolvimento, causando a destruição dos ovos e imaturos (Keita, 2005), pois, as condições físicas, químicas e/ou biológicas estabelecidas, adequadas à procriação nos criadouros podem ser alteradas. Por exemplo, enxurradas podem arrastar larvas e gotas espessas de chuva podem atingi-las ou arremessá-las para fora do criadouro, podendo matá-las ou danificá-las (Paaijmans et al., 2007). A baixa densidade de imaturos no período chuvoso pode ser relacionada a estes fatores. É interessante ressaltar que todos os criadouros amostrados são grandes corpos hídricos permanentes e semipermanentes. Durante o período chuvoso, além da possível alteração das condições biofísicas e químicas destes, pode haver uma lavagem dos microhabitats necessários para a reprodução dos culicídeos. Esta lavagem ocorre principalmente nas margens causadas pela formação de correntes por transbordamento das águas. Isto pode carregar não apenas ovos e imaturos presentes nas bordas, mas também substratos e matéria orgânica e até as vegetações flutuantes propícias a certas espécies. O aumento da abundância no período pós-chuvoso poderia provavelmente ser explicado pelo restabelecimento da configuração natural dos criadouros após algumas

semanas e meses pós-chuva. Por exemplo, após um período de chuva ocorrem o reaparecimento, em maior densidade, da vegetação aquática e das fontes alimentares potencializando o desenvolvimento dos imaturos.

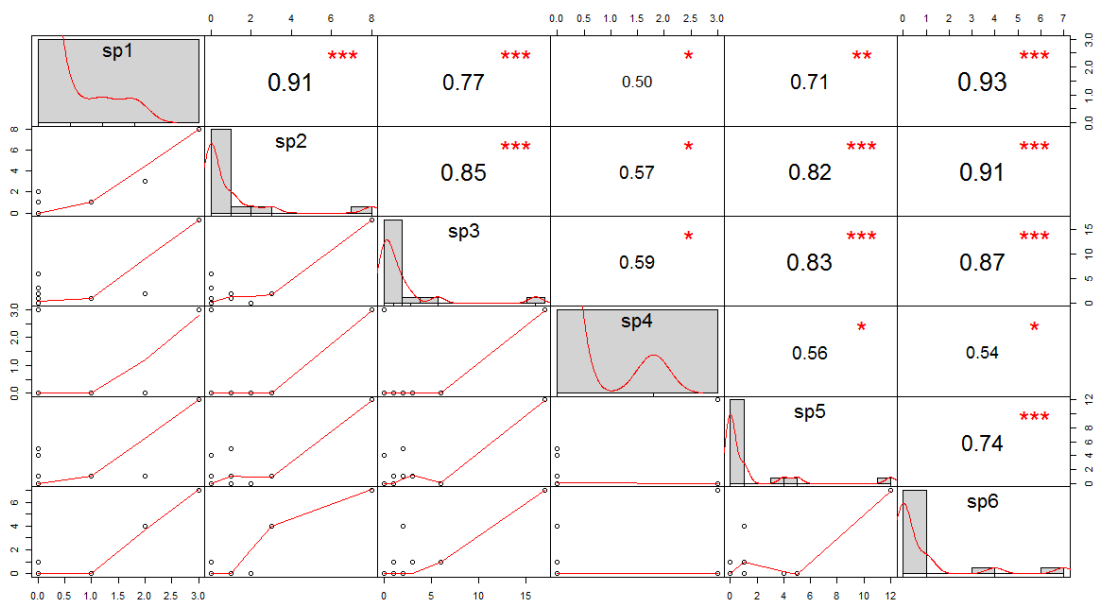


**Figura 10:** Comparação dos dois períodos de amostragem em termo de quantidade de imaturos de anofelinos coletados por área amostral no Município de Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro.

## 6.1. Correlação entre as espécies

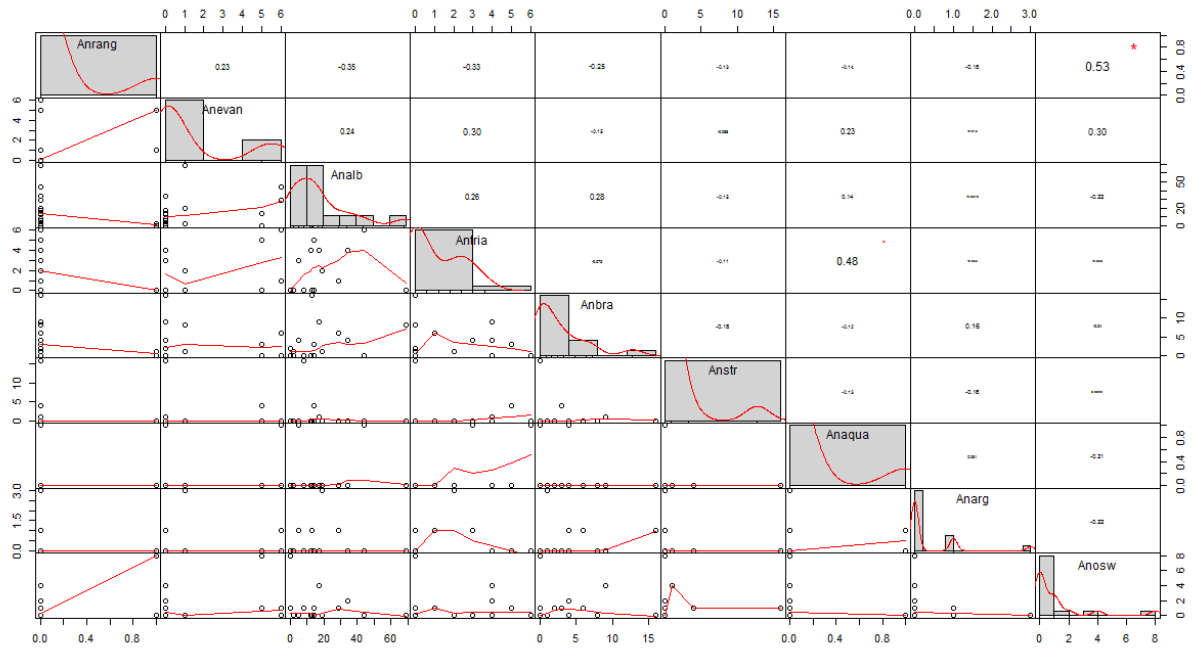
A correlação entre as espécies de anofelinos registradas no período chuvoso e no período pós-chuvoso está apresentada na **Figura 11** e na **Figura 12** respectivamente. Os gráficos de dispersão e as correlações amostrais estão representados nestas figuras. Na matriz de dispersão são apresentados: o diagrama de dispersão abaixo da diagonal principal, os histogramas que mostram a distribuição de cada variável na matriz, as covariâncias; de baixo do diagonal; indicando se as relações entre as variáveis são positivas, negativas ou nulas e os coeficientes de correlação ( $r$ ) entre as variáveis acima do diagonal principal. Entre todas as espécies para o período chuvoso, verifica-se que existe teoricamente correlação com nível de significância: \*0,05, \*\*0,01, \*\*\*0,001. Por exemplo, o histograma para *An. rangeli* aparece na célula superior esquerda, o histograma para *An. oswaldoi* aparece na célula inferior direita e as outras espécies aparecem nas células entre *An. rangeli* e *An. oswaldoi*. As associações mais fortes existem entre sp1 e sp6 ( $r=0,93$ ); sp1 e

sp2 ( $r=0,91$ ); sp2 e sp6 ( $0,91$ ); sp3 e sp6 ( $r=0,87$ ); sp2 e sp3 ( $r=0,85$ ); sp3 e sp5 ( $r=0,83$ ); sp2 e sp5 ( $r=0,82$ ), sp1 e sp3 ( $0,77$ ); sp5, sp6 ( $r=0,74$ ). As espécies sp1 e sp4 apresentam a menor correlação ( $r=0,50$ ). Em relação a magnitude ou grau de significância, a relação entre os pares de espécies como: *An. rangeli* e *An. oswaldoi*; *An. rangeli* e *An. evansae*; *An. evansae* e *An. oswaldoi*; *An. albitarsis s.l.* – *An. braziliensis* é muito forte, quase positiva perfeita.



**Figura 11.** Matriz de gráficos de dispersão com seus respectivos valores de correlação de Pearson do período chuvoso.

onde sp1= *An. rangeli*; sp2= *An. evansae*; sp3= *An. albitarsis s.l.*; sp4= *An. triannulatus s.l.*; sp5= *An. braziliensis*; sp6= *An. oswaldoi*.



**Figura 12.** Matriz de gráficos de dispersão com seus respectivos valores de correlação de Pearson do período pós-chuvoso.

onde Anrang= *An. rangeli*, Anevan= *An. evansae*, Analb= *An. albitarsis s.l.*, Anria= *An. triannulatus s.l.*, Anbra= *An. braziliensis*, Anstr= *An. strodei*, Anaqua= *An. aquasalis*, Anarg= *An. argyritarsis* e Anosw= *An. oswaldoi*.

Nos histogramas de ambos os períodos, observa-se que a distribuição estatística dos dados não apresenta comportamento normal, ou seja, nenhum dos histogramas lembra uma curva de sino. Porém, todas as correlações amostrais pelo período chuvoso são positivas e variam de 0,50 a 0,93, correspondendo aos pares (sp1, sp4) e (sp1, sp6), respectivamente. Já que no período pós-chuvoso apenas os pares *An. rangeli*-*An. oswaldoi* de  $r = 0,53$  e *An. triannulatus*-*An. aquasalis* de  $r = 0,48$  possuem uma correlação linear positiva moderada. As magnitudes de correlação positiva entre os outros pares de variáveis para este período são muito fracas (com o valor de  $r \leq 0,19$ ) com por exemplo, os pares *An. albitarsis s.l.*, *An. aquasalis* e *An. braziliensis*-*An. argyritarsis* de  $r$  igual a 0,14 e 0,16 respectivamente. Os outros pares apresentam correlação fraca com  $r \geq 0,20 \leq 0,39$ . São eles: *An. rangeli*-*An. evansae* ( $r = 0,23$ ); *An. evansae*-*An. albitarsis* ( $r = 0,24$ ); *An. albitarsis s.l.*-*An. triannulatus* ( $r = 0,26$ ); *An. albitarsis s.l.*-*An. braziliensis* ( $r = 0,28$ ) *An. evansae*-*An. triannulatus s.l.* ( $r = 0,30$ ) e *An. evansae*-*An. oswaldoi* ( $r = 0,30$ ). As espécies que apresentam correlação linear negativa mais destacada são os pares *An. rangeli*-*An. triannulatus s.l.* ( $r = -0,33$ ); *An. rangeli*-*An. albitarsis s.l.* ( $r = -0,35$ );

*An. rangeli*-*An. braziliensis* ( $r = -0,25$ ). Entre as espécies que não apresentam correlação linear podemos destacar *An. albitarsis s.l.*-*An. triannulatus s.l.*; *An. albitarsis s.l.*-*An. braziliensis*; *An. triannulatus s.l.*-*An. braziliensis*; *An. triannulatus s.l.*-*An. argyritarsis*, *An. triannulatus s.l.*-*An. aquasalis* e *An. albitarsis s.l.*-*An. oswaldoi*. Tanto no período chuvoso quanto no período pós-chuvoso, a maior correlação linear foi observada entre *An. rangeli* e *An. oswaldoi*. Ao olhar para o histograma de todas as espécies, tanto no período chuvoso quanto no pós-chuvoso, observamos que nenhuma das variáveis parece normalmente distribuída. Ou seja, nenhum dos histogramas lembra uma curva de sino, como já foi mencionado anteriormente. Sabe-se que correlação não implica necessariamente causalidade. Por isso, podemos deduzir que o fato de que as espécies são matematicamente correlacionadas, possuem provavelmente mesmo padrão de ocorrência de indivíduos durante o período de estudo, no entanto não significa que isso absolutamente ocorre na vida real ou na natureza.

## 6.2. Diversidade de Espécies

Com base na análise ecológica dos dados, as comunidades de anofelinos *Nyssorhynchus* em cada área amostral apresentaram diferenças nas suas composições faunísticas. As tabelas seguintes relatam diversidade dos 16 pontos amostrais no período chuvoso (**Tabela 9**) e no período pós-chuvoso (**Tabela 10**).

**Tabela 9.** Diversidade, dominância, equitabilidade e riqueza de espécies de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* ocorridas no período chuvoso de 18 a 28 de janeiro de 2016, no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro.

Amostra	Índices			
	Diversidade	Equitabilidade		Riqueza
	Shannon (H')	Simpson (D <sub>s</sub> )	Hill modificado (EH)	Jackknife 1ª ordem (E <sub>D</sub> )
Regua 1	0,6589	0,8333	0,2145	5
Regua 2	0,6021	1	0	4
Regua 3	0	-	-	0
Regua 4	0	-	-	0
Papu 2	0	0	∞	1
Papu 3	0	-	-	0
Papu 4	0	0	∞	1
Papu 5	0	-	-	0
CM 3	0,4127	0,7	0,8389	3
CM 4	0,301	1	0	2
CM 5	0,301	1	0	2
CM 6	0	-	-	0
Jap 1	0,391	0,6071	1,3525	3
Jap 3	0	0	∞	1
Jap 4	0,1781	0,2857	12,8233	2
Jap 5	0	0	∞	1

**Tabela 10.** Diversidade, dominância, equitabilidade e riqueza de espécies de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* ocorridas no período pós-chuvoso de 25 de abril a 5 de maio de 2016, no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro.

Amostra	Índices			
	Diversidade	Equitabilidade		Riqueza
	Shannon (H')	Simpson (D <sub>s</sub> )	Hill modificado (EH)	Jackknife 1ª ordem (E <sub>D</sub> )
Regua 1	0,3804	0,5824	0,5768	3
Regua 2	0,5786	0,9	0,1418	4
Regua 3	0	0	∞	1
Regua 4	0	0	∞	1
Papu 2	0,6222	0,8333	0,3057	5
Papu 3	0,2442	0,4	5,4225	2
Papu 4	0,4023	0,4615	2,3557	5
Papu 5	0,1728	0,2095	20,0094	3
CM 3	0,3369	0,3932	3,8519	4
CM 4	0,3522	0,5448	2,9787	3
CM 5	0,3383	0,5067	2,4186	3
CM 6	0,2764	0,6667	1,5702	2
Jap 1	0,6653	0,7581	0,3377	6
Jap 3	0,2902	0,3885	4,1225	4
Jap 4	0,5634	0,6908	0,5916	5
Jap 5	0,4674	0,5391	1,4349	6

### 6.2.1. Índice de Shannon ( $H'$ )

No período chuvoso a maior diversidade em relação ao índice de Shannon se encontrou nos pontos Regua 1 ( $H'=0,6589$ ) e Regua 2 ( $H'=0,6021$ ), enquanto no período pós-chuvoso o índice diminuiu nestes dois pontos para 0,3804 e 0,5786 respectivamente. As comunidades mais diversas no período pós-chuvoso se encontraram nos pontos Jap 1 ( $H'=0,6653$ ), Papu 2 ( $H'=0,6222$ ). No primeiro período, o índice de Shannon para Papu 2, Papu 4, Jap 3 e Jap 5 teve o valor de zero e os demais pontos apresentaram um índice de Shannon muito baixo entre 0,1781 e 0,4127, ou seja, menor que 0,50. No período pós-chuvoso, dois pontos apresentaram um índice de Shannon igual à zero (Regua 3 e Regua 4). Sabe-se que quando é registrada apenas uma espécie numa comunidade, o índice de Shannon deixa de existir ( $H'=0$ ) e quando ele é muito baixo ( $H' \leq 0,50$ ) significa que a comunidade está perdendo em riqueza. Portanto, os baixos valores do índice de Shannon observados no presente trabalho evidenciaram a baixa diversidade das comunidades estudadas.

### 6.2.2. Índice de Simpson ( $D_s$ )

No período chuvoso, o índice de Simpson atingiu o valor máximo “1” para as comunidades de Regua 2, CM 4 e CM 5 o que indica que a probabilidade de dois indivíduos escolhidos ao acaso e independentes pertencerem à mesma espécie foi de 100%. Quanto ao período pós-chuvoso, as comunidades que mais se aproximaram do valor máximo foram as do Regua 2 ( $D_s=0,9$ ) e do Papu 2 ( $D_s=0,83$ ). Para o período chuvoso, o índice de Simpson foi considerado muito alto em Regua 2 ( $D_s=0,83$ ), CM 3 ( $D_s=0,70$ ) e Jap 1 ( $D_s=0,61$ ) indicando que probabilidade de aceitar em cada uma destas amostras dois indivíduos, e que cada um deles pertence a uma mesma espécie foi de 83%, 70% e 61% respectivamente. Entretanto, no segundo período (além do Regua 2 e Papu 2), três outros pontos apresentaram um  $D_s$  relativamente alto: Jap 1 ( $D_s=0,76$ ); Jap 5 ( $D_s=0,69$ ); CM 6 ( $D_s=0,67$ ). As comunidades com menor índice de Simpson no período pós-chuvoso foram: Papu 5 ( $D_s=0,21$ ); Jap 3 ( $D_s=0,39$ ); CM 3 ( $D_s=0,39$ ); Papu 3 ( $D_s=0,40$ ) e Papu 4 ( $D_s=0,46$ ). No

período chuvoso, o ponto Jap 4 apresentou um valor de índice de Simpson praticamente baixo e, além disso, em alguns pontos, não se verificou a relação da diversidade de espécies devido à ausência de espécies registradas. Por exemplo, em Regua 3, Regua 4, Papu 3, Papu 5 e CM 6 o cálculo de índice de Simpson não foi aplicável no período chuvoso. Pois, apresentaram um número zero de espécies. Note-se que o índice de Dominância de Simpson varia de 0 a 1 e quanto mais alto for, maior a probabilidade de os indivíduos serem da mesma espécie, ou seja, maior a dominância e menor a diversidade.

### 6.2.3. Equitabilidade de Hill modificado (EH)

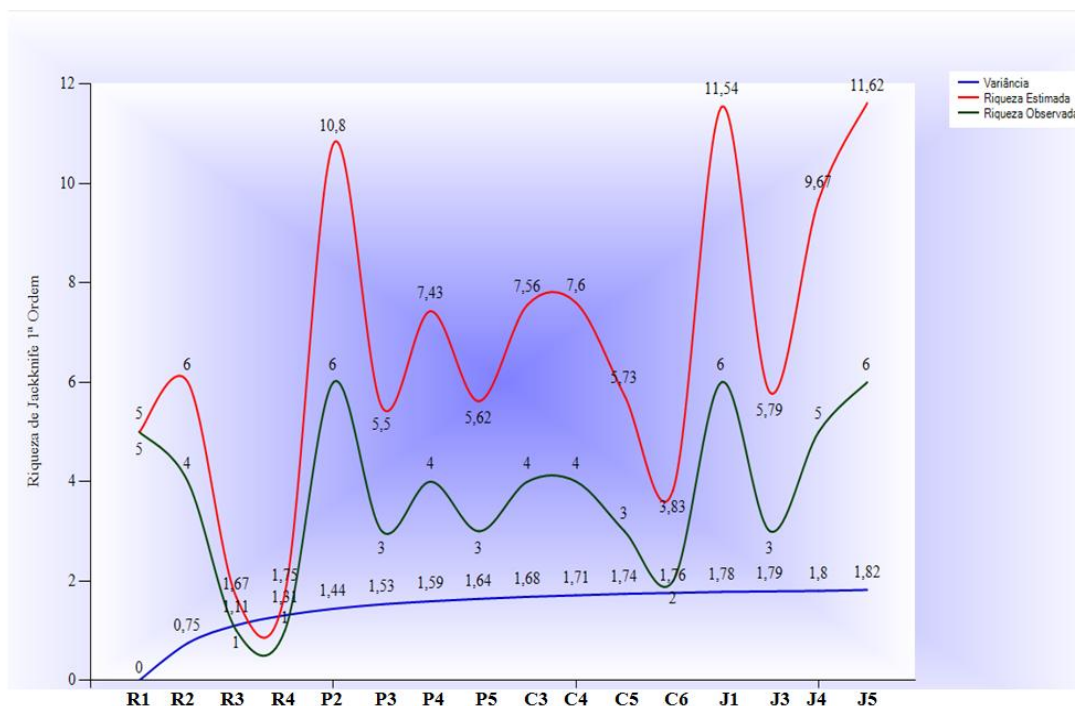
Quanto ao índice de equitabilidade (Hill modificado), os valores mais baixos no período chuvoso foram encontrados em Regua 1 (EH=0,21); CM 3 (EH=0,84) entanto, no pós-chuvoso foram encontrados em Regua 2 (EH=0,14); Papu 2 (EH=0,31); Jap 1 (EH=0,34); Jap 4 (EH=0,59). Os baixos valores indicam que a distribuição das frequências entre as espécies coletadas nestes pontos não foi uniforme. Isso se deve provavelmente à alta frequência e dominância de *An. albitarsis*. Os valores da equitabilidade de Papu 2, Papu 4, Jap 3 e Jap 5 no período Chuvoso e Regua 3 e Regua 4 no período pós-chuvoso são inumeráveis, ou seja, se estendem ao infinito (EH= $\infty$ ). Foi mostrado, nos resultados deste trabalho, que as espécies de todas as comunidades tiveram abundância diferente por isso nós observamos uma equitabilidade tão mínima em vários pontos amostrais.

Os índices de dominância para o período chuvoso e pós-chuvoso foram considerados elevados pela dominância de *An. albitarsis* em relação às demais espécies nestes períodos. Quanto ao índice de diversidade de Shannon, os valores encontrados foram inferiores a um, denotando baixa diversidade de espécies nos dois períodos, em consequência da reduzida frequência de algumas ou a maioria das espécies capturadas. As espécies de *Anopheles* mais frequentes e de maior densidade são *An. albitarsis* s.l. e *An. braziliensis*. A primeira sendo um complexo possui um comportamento eclético que pode ser à base da sua ocorrência em quase todos os pontos amostrais. Existe provavelmente uma associação direta destas espécies com a oferta de criadouros, presentes nas áreas.



#### 6.2.4. Riqueza de Jackknife 1ª ordem ( $E_D$ )

A Riqueza de Jackknife 1ª ordem é o parâmetro que mais influência os índices de diversidade inclusive a equitabilidade. Conforme observado na Tabela 9 e na Tabela 10, os pontos amostrais onde foi registrada apenas uma espécie possuem um índice de Shannon e Simpson com valor zero e uma equitabilidade que se estende ao infinito. Na **Figura 13** que mostra as variações de riquezas específicas acumuladas nos dois períodos de estudo, foi observado que entre as populações da Regua, Papu, CM e Jap, os pontos Regua 1 e Regua 2, com variância zero e 0,75 respectivamente, possuem a riqueza específica mais uniforme do que os demais pontos. Assim como a riqueza de espécies de Jap 5, Jap 4 e Jap 1 (de variância 1,82; 1,81 e 1,79 respectivamente) são mais variadas do que as outras populações. Ainda, ao olhar pela curva da variância no gráfico, pode-se notar que os valores de quase todos os pontos amostrais são variados, pois quanto maior é a variância, mais distantes estão os valores entre a riqueza estimada e a riqueza observada e quanto menor é a variância, mais próximos estão os valores. Revela-se necessário salientar que a interpretação completa destes gráficos baseando-se apenas sobre os valores da variância é dificultada pelo fato que é uma medida de dispersão muito influenciada por valores que estão muito distantes da média, em algumas situações. Aliás, o fato de a variância ser calculada “ao quadrado” causa certa simulação dos valores. Neste caso seria necessária a análise pelo menos do desvio padrão nesta amostragem. O que não foi possível na hora de gerar os gráficos de riqueza específica no presente estudo, pois, o programa de estatística utilizado para esta análise não ofereceu esta opção.



**Figura 13:** Riquezas Espécies Jackknife 1ª Ordem acumuladas dos dois períodos de amostragem de 18 a 28 de janeiro de 2016 e de 25 de abril a 5 de maio de 2016, no Município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro.

R1: Regua, R2: Regua 2, R3: Regua 3, R4: Regua 4, P2: Papu 2, P3: Papu 3, P4: Papu 4, P5: Pau5, C3: CM 3, C4: CM 4, C5: CM 5, C6: CM 6, J1: Jap 1, J3: Jap 3, J4: Jap 4 e J5: Jap 5

A riqueza de espécies consiste simplesmente no número de espécies presente numa determinada comunidade ou área de interesse (Peet 1974, Wilsey et al. 2005). Ela é dependente do tamanho amostral – quanto maior a amostra, maior o número de espécies que poderão ser amostradas. Assim, a riqueza de espécies diz pouco a respeito da organização da comunidade de mosquitos, aumentando em função da área, mesmo sem modificação do habitat (Gomes & Ferreira, 2004). Provavelmente, a presença das espécies muito dominantes em alguns dos pontos, leva matematicamente à raridade de outras. O máximo da diversidade não foi atingido neste estudo, pois a distribuição das espécies foi muito irregular. De acordo com Marcon (2015), a riqueza de espécies é aparentemente um índice de diversidade extremamente simples que, na prática, pode ser influenciada pela escolha da superfície do ponto amostral e pela quantidade de indivíduos coletados. Numa área que possui muitas espécies raras, a probabilidade de não as encontrar através de uma amostragem de certo tamanho não é desprezível.

No período chuvoso não foi registrada nenhuma espécie nos pontos Regua 3, Regua 4, Papu 3, Papu 5, CM 6 e Jap 5. Mas, isso não significa que

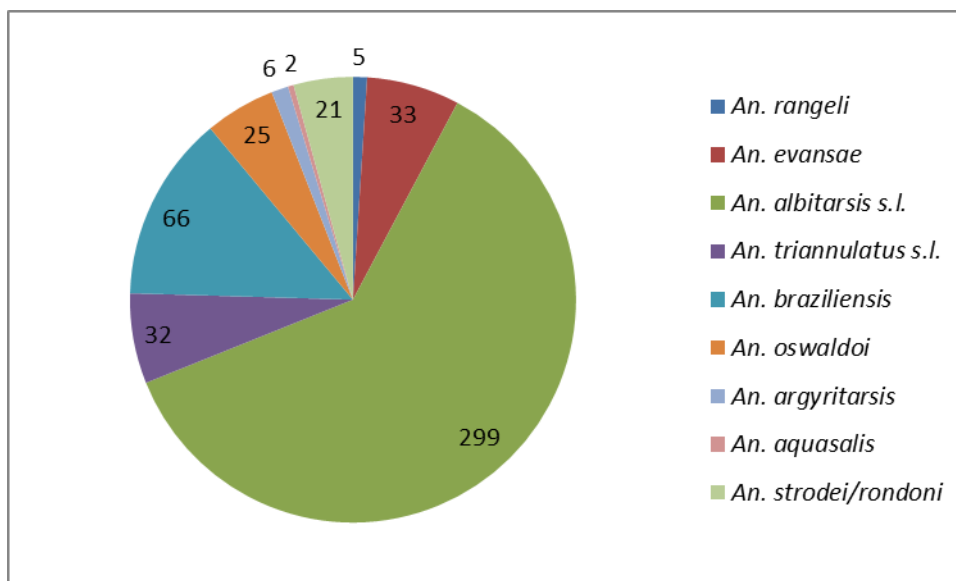
a riqueza foi zero. Sabemos, por dedução, sobre a existência de pelo menos uma espécie em cada ponto onde foram coletados imaturos de anofelinos. A hipótese de que poderia haver mais de uma espécie nestes pontos, também, não é nula. Portanto, a possibilidade de ter uma comunidade mais diversa do que está na presente pesquisa não pode ser desconsiderada. Basta observar a porcentagem dos espécimes que não foram identificados no período chuvoso e no período pós-chuvoso que é 91.11% e 86.98% respectivamente (Tabela 5 e Tabela 6). Baseando-se na quantidade de espécimes não identificados, podemos enfatizar que a frequência das espécies observadas poderia ser utilizada para deduzir, por extrapolação, as espécies não registradas nos outros pontos amostrais.

Os nossos resultados mostram que existe uma fauna diversificada no município de Cachoeiras de Macacu (Tabela 11) com um total de nove espécies de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* registradas durante os dois períodos de estudo (**Figura 14**).

**Tabela 11.** Teste t para comparação entre duas diversidades de Shanon-Wiener (do período chuvoso e do período pós chuvoso).

	n H'1	n H'2	Variância (S²H'1)	Variância (S²H'2)	Diversidade (H'1)	Diversidade (H'2)	Diferença de SH'1 e SH'2	Valor de P	Valor de t calculado	Grau de Liberdade	Valor de t tabelado
<b>Regua-Jap</b>	16	22	0,0006	0,0039	0,6865	0,5586	0,0673	0,05	1,9021	29	2,045
<b>Regua-Papu</b>	16	3	0,0006	0,0067	0,6865	0,2764	0,0857	0,05	4,7867	4	2,776
<b>Regua-CM</b>	19	9	0,0006	0,0094	0,6865	0,499	0,1	0,05	1,8752	10	2,228
<b>CM-Jap</b>	9	22	0,0094	0,0039	0,499	0,5586	0,1152	0,05	0,5171	17	2,11
<b>Papu-CM</b>	3	9	0,0067	0,0094	0,2764	0,499	0,1268	0,05	1,7552	10	2,228
<b>Papu-Jap</b>	3	22	0,0067	0,0039	0,2764	0,5586	0,103	0,05	2,7393	7	2,365

Não há diferença significativa entre as diversidades dos pares Papu-CM, CM-Jap, Regua-CM, Regua-Jap, segundo o teste t para H' a 5% de probabilidade, porem há diferença significativa entre as diversidades entre os pares Regua-Papu e Papu-Jap, segundo o teste t para H' a 5% de probabilidade.



**Figura 14:** Proporção das espécies registradas durante os dois períodos amostrais no Município de Cachoeiras de Macacu, Estado do Rio de Janeiro.

A diversidade de espécies engloba riqueza específica e equitabilidade. Por outro lado, depende do tamanho da área amostrada e do número total de indivíduos coletados (Melo, 2008). Com apenas duas amostragens em dois períodos e somente em 16 pontos de quatro áreas, ficou difícil, até mesmo impossível, afirmar que apenas nove espécies de anofelinos ocorrem no Município de Cachoeiras de Macacu. Pois, nesta região existem muitos corpos hídricos e aqueles que foram amostrados apresentaram microhabitats muito variados, propícios para diversas espécies de anofelinos. Isto é considerado como um dos limites do presente trabalho. Os nossos resultados apresentam apenas uma estimativa da diversidade na área. Como a maioria dos nossos pontos amostrais apresentam certos graus de antropização, podemos adotar a hipótese que já foi testada por Sousa (1984) e Begon et al. (2007) segundo a qual existe maior diversidade em locais com frequência ou intensidade média de perturbações para supor que ocorreram provavelmente mais de nove espécies de anofelinos do subgênero *Nyssorhynchus* no Município de Cachoeiras de Macacu.

Admite-se que os criadouros de algumas espécies de anofelinos sejam representados por coleções de águas límpidas, dotadas de vegetação que só aparece numa determinada época do ano. Desta forma, considera-se, que algumas espécies não foram coletadas por falta desta vegetação típica, ou

seja, específica para o seu desenvolvimento. Existem espécies que preferem vegetação mais velha (Neves, 1972) e outras com vegetação emergente. As características do tipo de vegetação podem modificar de acordo com a estação climática ou época do ano.

Foi observado que, no período pós-chuvoso, a riqueza específica aumentou pela presença de três espécies não registradas anteriormente. São elas: *An. argyritarsis*, *An. aquasalis* e *An. strodei*. A ausência destas no período chuvoso pode ser explicada por vários fatores tais como: o regime de chuva, a qualidade da água (as características físico-químicas, turbidez), a temperatura que varia de acordo com o período ou estação, a presença de predadores, vegetação natural e a agricultura (Tadei et al., 1998; Rubio-Palis et al., 2007; Vittor et al., 2009; Barros et al., 2010; Araújo et al., 2012; Arcos, 2012).

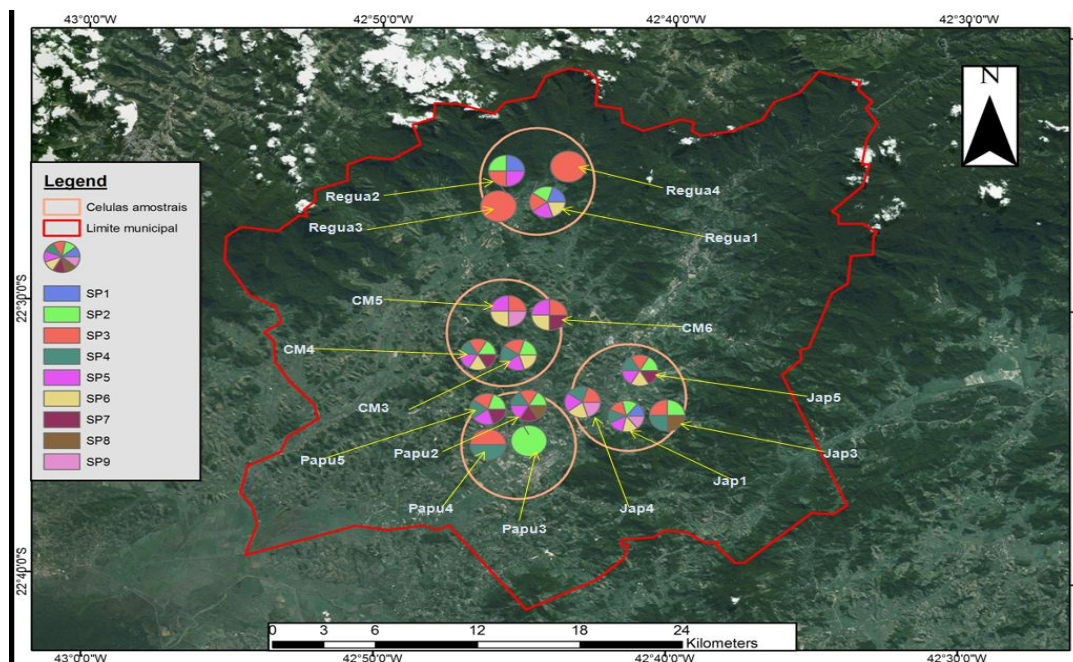
Todos esses fatores fazem dos criadouros mais favoráveis a certas espécies e condicionam a sua reprodução em um determinado ecossistema. Por exemplo, no caso de *An. aquasalis* que se cria em água salobra, durante um período de chuva, os seus criadouros devem perder o teor em sal o que os faz inapropriados para o seu desenvolvimento. Alguns autores observaram a associação entre a disponibilidade de criadouros com as chuvas (Forattini et al., 1968e Guimarães et al., 2000). Segundo Causey & Santos (1949), Neves (1972), Guimarães et al. (2001), consideram que a fauna culicidiana é influenciada pelos fatores abióticos de cada ecossistema. A evolução da vegetação permite a algumas espécies de suceder a outras ao longo das estações do ano. Assim na África, nos campos de arroz, as espécies heliófilas do complexo *gambiae* proliferam durante o transplante do arroz e são substituídos, à medida que as mudas de arroz crescem, por outras espécies ombrófilas tais: *An. funestus* e *An. pharoensis* (Pages et al.2007).

A distribuição das espécies registradas nas áreas estudadas durante os dois períodos de estudo é mostrada no Quadro 1 e na Figura 15.

Pontos amostrais	Áreas amostrais	Espécies por ponto	Espécies por área
Regua 1	Regua	Sp1, sp2, sp3, sp5, sp6	Sp1, sp2, sp3, sp5, sp6
Regua 2		sp1, sp2, sp3, sp5	
Regua 3		sp3	
Regua 4		sp3	
Papu 2	Papu	sp2, sp3, sp4, sp5, sp7, sp8	sp2, sp3, sp4, sp5, sp7, sp8
Papu 3		sp2	
Papu 4		sp3, sp4	
Papu 5		sp2, sp3, sp4, sp5, sp7	
CM 3	CM	sp2, sp3, sp4, sp5, sp6	sp2, sp3, sp4, sp5, sp6, sp7, sp9
CM 4		sp2, sp3, sp4, sp5, sp6, sp7	
CM 5		sp3, sp5, sp6, sp7	
CM 6		sp3, sp5, sp6, sp9	
Jap 1	Jap	sp2, sp3, sp4, sp5, sp6, sp9	sp2, sp3, sp4, sp5, sp6, sp7, sp8, sp9
Jap 3		sp2, sp3, sp4, sp8	
Jap 4		sp3, sp4, sp5, sp6, sp9	
Jap 5		sp2, sp3, sp4, sp5, sp6, sp7	

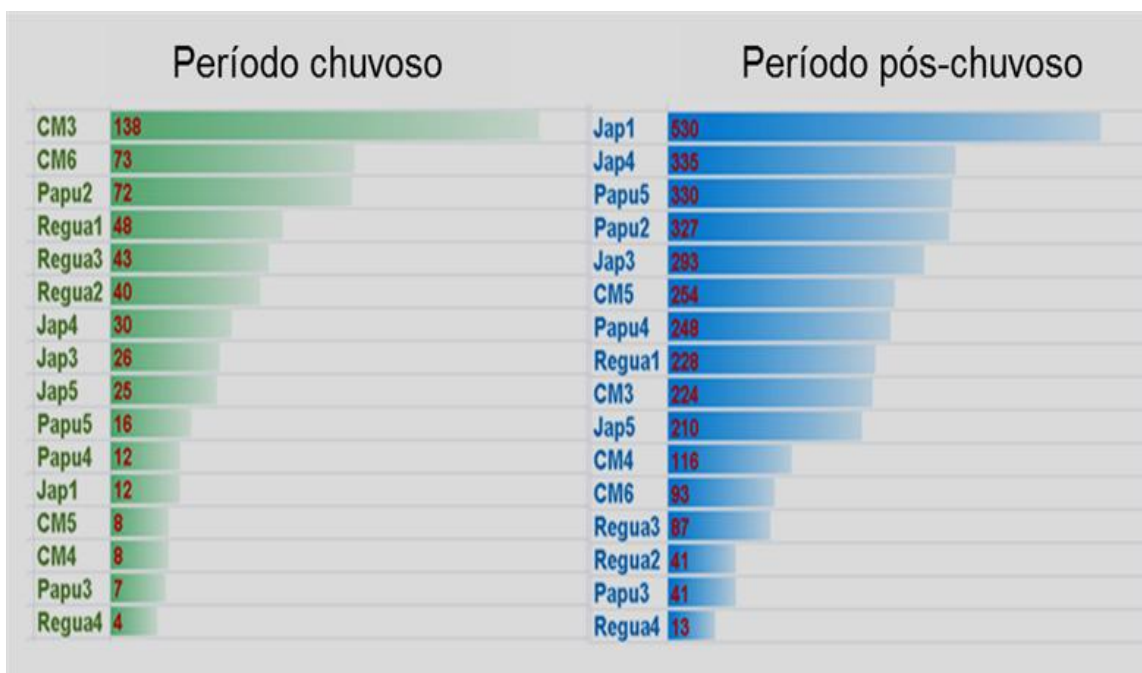
**Quadro 1:** Repartição das espécies de anofelinos registradas em diferentes pontos e áreas amostrais do município de Cachoeiras de Macacu, estado do Rio de Janeiro, durante os dois períodos do estudo.

Onde sp1= *An. rangeli*, sp2= *An. evansae*, sp3= *An. albicansis s.l.*, sp4= *An. triannulatus s.l.*, sp5= *An. braziliensis*, sp6= *An. oswaldoi*, sp7= *An. argyritarsis*, sp8= *An. aquasalis*, sp9= *strodei/rondoni*.



**Figura 15:** Mapa de distribuição das espécies de anofelinos registradas em Cachoeiras de Macacu durante os períodos do estudo.

A **Figura 16** evidencia por ordem decrescente o número total de anofelinos coletados em diferentes pontos amostrais nos dois períodos de estudo. Vimos que o número de imaturos capturados no período chuvoso foi maior no CM 3 e CM 6, enquanto a maior coleta foi realizada no Jap 1 (n=530), Jap 4 (n=335), Papu 5 (n=330) e Papu 2 (n=327). O ponto Regua 4 foi o menos abundante dos demais pontos durante os dois períodos, encontrou-se menor número de imaturos com um número total de 17 imaturos.



**Figura 16:** Comparação de quantidade de anofelinos coletados por ordem decrescente em diferentes pontos amostrais nos dois períodos de amostragem.

Esta baixa densidade populacional registrada no Regua 4 pode estar relacionada às características do criadouro ou à sua altitude que é de 180,85 m acima do nível do mar. É uma lagoa de 13666,63 m apresentando uma área de 584,82 m de perímetro com águas turvas com a terça parte das suas margens ensolarada, com plantas emergentes. Na parte Oeste desta lagoa, existe uma área com água muito baixa, rica em matéria orgânica contendo muito lama vegetação aquática. No contorno deste criadouro apresenta grande escassez de cobertura vegetal. Não é uma área preservada. Convém destacar também que o ponto Jap 1 representa um risco natural para a reintrodução da malária no município, o que é preocupante, pois é o ponto mais abundante em anofelinos e é um dos pontos onde foi registrada a maior riqueza específica.

Na coleta piloto que ocorreu entre o dia 27 de outubro e 6 de novembro de 2015 os pontos Jap 1 e Papu 5 foram negativas para imaturos de anofelinos. Segundo o gerente do sitio onde se encontra Jap 1, essa ausência de imaturos de anofelinos neste criadouro foi provavelmente causado pela presença de peixes do gênero *Leporinus*, conhecido popularmente como piaba. É uma espécie de peixe que se alimenta, além de vegetais superiores, de insetos aquáticos (Hahn et al., 1997) e cujo o período reprodutivo é relativamente curto, o que o caracteriza como um peixe de desova total e migrador; esse período reprodutivo se estende de novembro a janeiro (Godoy, 1975; Barbieri e Garavello, 1981; Barbieri e Santos, 1988) em alguns casos pode se situar de outubro a fevereiro (Braga e Gomiero, 1997). Porém, nos resultados, observamos que, apesar de ser positivo nos dois períodos de amostragem, neste ponto foi coletada a maior quantidade de imaturos (**Figura 16**).

Evidentemente, um criadouro grande possui uma variedade de biótopos propícios para a reprodução de cada espécie de acordo com a sua bioecologia. A diversidade das espécies pode ser influenciada pela área e a superfície do criadouro. Apesar da diferença entre os criadouros em relação a suas dimensões, foi realizada a mesma quantidade de conchadas em cada um como explicado na metodologia do presente trabalho. De acordo com a metodologia do Ministério da Saúde, a quantidade de conchadas deveria variar segundo o tamanho dos criadouros. Considerando a falta de completa acessibilidade aos contornos dos criadouros e a ausência de micro-habitat propício (vegetação e substratos) ao longo de algumas partes das margens, não houve possibilidade de usar esse tipo de padronização nas amostragens. Por isso, esta metodologia de coleta de imaturos sofreu uma mudança em relação a essas realidades do campo. Como um dos nossos focos era coletar maior quantidade de imaturos possível para o melhor conhecimento da fauna das áreas amostrais, nós fizemos essa pequena adaptação para minimizar a influência sobre a diversidade de espécies que de qualquer maneira não teria como evitar.

Dos 16 pontos estudados no município, o que chamou mais a atenção do ponto de vista epidemiológico e entomológico foi o Jap 1. Conforme descrito na metodologia, este localiza-se dentro de um Parque Temático chamado



“Terra Santa”. Consideramos este o ponto de maior relevância para nosso trabalho, devido à sua atração turística, à abundância em anofelinos e a riqueza em espécies vetoras potenciais da malária. O potencial turístico do parque Terra Santa pode ser a base de um grande fluxo humano com a possível chegada de pessoas do mundo inteiro, inclusive portadores assintomáticos da forma infectante de plasmódios humanos, vindo de regiões e países endêmicos para malária. Outro fator que pode ser levado em conta é a presença das habitações muito próximas a este ponto. Esta proximidade das casas com o criadouro aumenta a possibilidade do contato homem-vetor. Tudo isso pode favorecer, através deste ponto, a reintrodução da doença no município que já era, há décadas, um grande problema nesta área.

Do mesmo modo, podem ser consideradas as ações antrópicas ocorridas nos outros pontos como no caso de Papu 2, Papu 3, Papu 4 e Papu 5, aumentando a vulnerabilidade da área. De acordo com Martins e Hall (2000) pode-se aumentar o risco de adquirir a doença através de mudanças nos ambientes e novas tecnologias introduzidas, por exemplo, o desmatamento, agricultura, piscicultura e criação de gado. Tal como já foi relatado anteriormente, entre os prováveis fatores de riscos associados à reintrodução de malária nas áreas de estudo pode-se destacar: a presença de espécies de anofelinos com competência vetorial, a chegada de visitantes de regiões e países endêmicas, existência de habitações próximas aos criadouros facilitando o acesso dos anofelinos; no caso de Papucaia e Japuíba, por exemplo, pode-se destacar um desequilíbrio ambiental devido à ocupação humana. Conforme os resultados do nosso estudo, estes distritos são destacados como duas áreas mais receptivas e vulneráveis para malária. Comparando com as outras áreas amostradas, elas parecem sofrer de maior grau antrópico tais como: desmatamentos e expansão urbana mais ou menos acentuada, represamento de águas para criação de peixes, barragens para agricultura, criação de gado. Isto proporciona a formação de criadouros permanentes potenciais para o vetor, viabilizando a permanência de reservatórios do Plasmódio, a intensificação do processo migratório aliada à precária vigilância epidemiológica e entomológica no Município. Estes são fatores determinantes para eventual reintrodução e a permanência da malária, podendo resultar na reintrodução da transmissão.

A estrutura da paisagem é o possível determinante da riqueza de espécies de uma determinada área (Burel et Baudry, 1999, Burel et al., 2004). De acordo com Tadei *et al* (1998) e Assis (2011), as alterações da paisagem, seja agricultura, pecuária, piscicultura, extrativismo vegetal e mineral e/ou atividades relacionadas à economia urbana, apresenta características capazes de influenciar a disseminação e propagação de anofelinos e os níveis de incidência da malária. Mudanças climáticas, modificações no uso da terra e super-exploração dos recursos ecossistêmicos têm efeito sobre a riqueza, abundância e dominância de espécies de mosquitos (Dorvillé, 1996; Forattini e Massad, 1998). Sabe-se que as vastas cortes rasas em florestas tropicais podem criar condições que promovam o crescimento de mosquitos. Áreas desmatadas, com corpos de água mais abertos banhados pelo sol, representam um habitat ideal para esses mosquitos (Bockarie et al.1995), principalmente os anofelinos. Assim os processos de transformações da paisagem podem fazer do município de Cachoeiras de Macacu uma área receptível e de grande risco de reintrodução da malária, pois, cada transformação da paisagem, seja para atividades ligadas à economia urbana, apresentando características que podem influenciar a disseminação e propagação de anofelinos e os níveis de incidência da malária no Estado do Rio de Janeiro.

Sabe-se que, com a globalização, atualmente a malária ameaça principalmente os viajantes nos trópicos, e as possibilidades de uma reintrodução numa área de receptividade comprovada como o Município de Cachoeiras de Macacu, área de Mata Atlântica é muito preocupante, pois, todas as nove espécies de anofelinos que foram registradas nesta pesquisa são vetoras potenciais da malária. Como é uma área de grande atração turística, sem contar alguns locais de grande empreendimento, através de um fluxo migratório pode haver a importação de plasmódios humanos compatíveis a esses vetores. Portanto, a frequência dessas espécies de anofelinos no Município representa um grande risco de autoctonia da malária.

Baseando-se nos resultados do presente trabalho pode-se ver a correlação entre os diferentes níveis de modificações ambientais as quais estão expostos os diferentes sítios amostrais, e a composição das populações de anofelinos na região analisada.

## 7. CONCLUSÃO

- O nosso trabalho mostra que diversidade de espécies de anofelinos, com potencial vetorial, coletadas no município, combinado com um fluxo intermitente de visitantes nacionais e internacionais na área de estudo, cria a possibilidade de reintrodução da malária no Município de Cachoeiras de Macacu, área inserida no bioma da Mata Atlântica do Rio de Janeiro.
- De acordo com os resultados do presente trabalho, o uso de armadilhas CDC luminosa sem gelo seco não é eficiente para a captura de anofelinos adultos, pois foi positivo apenas em três pontos de coleta durante a campanha piloto.
- O trabalho mostra a necessidade da realização de estudos complementares com o intuito de avaliar o status nutricional das espécies de *Anopheles* através de análise molecular, assim como analisar a infecção natural nas espécies de anofelinos capturadas por meio de técnicas de biologia molecular.
- O referente trabalho enfatiza, em fim, a necessidade de desenvolver atividades de vigilância entomológica e epidemiológica de maneira contínua incluindo o monitoramento da dinâmica populacional das comunidades de anofelinos vetores e a avaliação de situações de risco para ocorrência de malária no município de Cachoeiras de Macacu, onde as características ambientais e a composição das populações de mosquitos mostram-se favoráveis a essas possibilidades.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo MS, Gill HS, Silva AA. Larval Food Quantity Affects Development Time, Survival and Adult Biological Traits That Influence the Vectorial Capacity of *Anopheles Darlingi* under Laboratory Conditions. *Malaria Journal* 2012; 11(1): 261.
- Arcos AN. Caracterização de Criadouros Artificiais de *Anopheles* Spp. (Diptera: Culicidae) na Área Metropolitana da Cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Amazonas 2012; (X): pp. 118.
- Arruda ME, Nardin EH, Nussenzweig RS, Cochrane AH. Sero-epidemiological studies of malaria in indian tribes and monkeys of the Amazon basin of Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1989 (41):379-385.
- Assis MC. Abordagens espaciais para caracterização dos condicionantes socioambientais associados ao risco de malária em novas fronteiras na amazônia: o caso de Lábrea, Amazonas. Dissertação de mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos 2011; pp.164.
- Barbieri G, Garavello JC. Sobre a dinâmica da reprodução e da nutrição de *Leporinus friderici* (Bloch, 1794) na represa do Lobo, Brotas-Itirapina (SP)(Pisces, Anostomidae). *An. Sem. Reg. Ecol.* 1981(III): 347-387.
- Barbieri G, Santos EP dos S. Análise comparativa do crescimento e de aspectos reprodutivos da piava, *Leporinus friderici* (Bloch, 1794) (Osteichthyes, Anostomidae) da represa do Lobo e do rio Mogi-Guaçu, Estado de São Paulo. *Cienc. Cult., São Paulo* 1988; 40(7): 693-697.
- Barcelar RC, Farquhar A. Brazil's contribution to tropical medicine and malaria: personalities and institutions; 1963.
- Barros FSM, Honório NA, Arruda ME. Mosquito anthropophily: implications on malaria transmission in the Northern Brazilian Amazon. *Neo Entomol.* 2010 (39): 1039-1043.

- Barros FSM, Honório NA, Arruda ME. Mosquito Anthropophily: Implications on Malaria Transmission in the Northern Brazilian Amazon. *Neotrop Entomol* 2010; (39):1039-1043.
- Begon M, Townsend CR, Harper JL. *Ecologia de indivíduos a ecossistemas*. 4ª ed. Artmed Editora S/A. Porto Alegre; 2007.
- Benchimol JL, Silva AFCD. *Ferrovias, doenças e medicina tropical no Brasil da Primeira República*; 2008.
- Borg I, Groenen PJ. *Modern multidimensional scaling: Theory and applications*. Springer Science & Business Media; 2005.
- Braga FM de S, Gomiero LM. Análise da pesca experimental realizada no reservatório de Volta Grande, Rio Grande (MG-SP). *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo* 1997; (24): 131-138.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saude. *Guia de Vigilância Epidemiológica / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde – 6. Ed. – Brasília: Ministério da Saúde* 2005. 816 p. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
- Bockarie MJ, Barnish G, Touré YT. Vectorial capacity and entomological inoculation rates of *Anopheles gambiae* in a high rainfall forested area of southern Sierra Leone. *Tropical medicine and parasitology: official organ of Deutsche Tropenmedizinische Gesellschaft and of Deutsche Gesellschaft fur Technische Zusammenarbeit (GTZ)* 1995; 46(3):164-171.
- Brower JE, Zar JH, von Ende CN. *Field and Laboratory Methods for General Ecology*. 4th ed WCB Mc-Graw-Hill 1997; p.273.
- Burel F, Baudry J. *Ecologie du paysage – Concepts, méthodes et applications*. Editions Tec et Doc, Lavoisier 1999; p. 360.
- Burel F, Butet A, Delettre Y, Millàn de la Peña N. Differential response of selected taxa to landscape context and agricultural intensification. *Landscape and Urban Planning* 2004 (67): 195-204.
- Capelle A. *Paludisme et réchauffement climatique*. Certificat international d'Ecologie Humaine. Option Ecologie Humaine et Santé. Mémoire de 2è année 2007.

- Carnevale P, Robert V, Manguin S, Corbel V, Fontenille D, Garros C et al. Les anophèles: Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle; 2009.
- Carvalho FF, Rachou RG. Considerações sobre a malária no Estado do Rio de Janeiro com especial referência ao Vale do Rio Pirai. Rev Bras Malariol Doencas Trop. 1950; (3): 473-487.
- Causey OR. Description of Anopheles (Nyssorhynchus) dunhami, a new species from the upper Amazon Basin. J Natl Malar Soc. 1945 (4): 231-234.
- Causey OR, Santos GV. Diurnal mosquitoes in area of small residual forest in Brazil. Ann. Ent. Soc. Am. 1949;42 (4): 471-472.
- Cerqueira NL. Distribuição geográfica dos mosquitos da Amazônia. Rev. Bras. Entomol. 1961 (10): 111-68.
- Coetzee M, Craig M, Le Sueur D. Distribution of African malaria mosquitoes belonging to the Anopheles gambiae complex. Parasitol. Today 2000;16:74-7.
- Conn J, Cockburn AF, Mitchell SE. Population differentiation of the malaria vector Anopheles aquasalis using mitochondrial DNA. J Hered 1993 (84): 248-253.
- Consoli R, Lourenço de Oliveira R. Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. Ed. Fiocruz, Rio de Janeiro 1994; p. 225.
- Contacos PG, Lunn JS, Coatney GR, Kilpatrick JW, Jones FE. Quartan-type malaria parasite of new world monkeys transmissible to man. American Association for the Advancement of Science. Science 1963;142.
- Costa AP, Bressan CS, Pedro RS, Valls R, Silva S, Souza PR et al. Diagnóstico tardio de malária em área endêmica de dengue na extra-Amazônia brasileira: experiência recente de uma unidade sentinela no Estado do Rio de Janeiro. Rev Soc Bras Med Trop. 2010 (43): 571-574.
- Couteron P, Pélissier, R. Additive apportioning of species diversity: towards more sophisticated models and analyses. Oikos 2004;107(1): 215-221.
- Deane LM, Causey OR, Deane MP. Notas sobre a distribuição e a biologia dos anofelinos dos regiões Nordeste e Amazônica do Brasil. Rev Serv Esp Saúde Púb. 1948 (1): 827-966.

- Deane LM, Vernin CS, Damasceno RC. Avaliação das preferências alimentares das fêmeas de *Anopheles darlingi* e *Anopheles aquasalis* em Belém, por meio de provas de precipitina. *Rev Serv Esp Saúde Públ.*1949 (2): 793-808.
- Deane LM, Deane MP, Neto JF. Studies on transmission of simian malaria and on a natural infection of man with *Plasmodium simium* in Brazil. *Bulletin of the World Health Organization* 1966; 35(5): 805.
- Deane LM, Ferreira-Neto J, Deane MP, Silveira IPS. *Anopheles* (*Kerteszia*) *cruzi*, a natural vector of the monkey malaria parasites, *Plasmodium simiunt* and *Plasmodium brasilianum*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1970; (64):647.
- Deane MP, Lenzi HL, Jansen A. *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host, the opossum *Didelphis marsupialis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1984; 79(4): 513-515.
- Deane LM. Malaria vectors in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1986; 81 (Suppl. II): 5-14.
- Deane LM. A cronologia da descoberta dos transmissores da malária na Amazônia Brasileira. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1989; 84 (Supl. IV): 149-156.
- Deane LM. Simian malaria in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1992; 87(Suppl.3):1-20
- Doby JM, Mouchet J : Ecologie larvaire de quelques espèces de culicidae dans la région de Yaoundé (Sud Cameroun). *Bull. Soc. Path. exot.*1957 (50): 945-957.
- Dorvillé LF Mosquitoes as bioindicators of forest degradation in southeastern Brazil, a statistical evaluation of published data in the literature. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 1996; 31(2): 68-78.
- Elliott R. The influence of vector behavior on malaria transmission. *Am J Trop Med Hyg.* 1972 (21): 755-763.
- Flores-Mendoza C. Um Estudo sobre Alguns Aspectos Comportamentais, Morfológicos e Bioquímicos de *Anopheles aquasalis* Curry 1932, MSc Thesis, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro1994; p. 172.

- Flores-Mendoza C, Lourenço-de-Oliveira R. Bionomics of *Anopheles aquasalis* Curry 1932, in Guaraí, State of Rio de Janeiro, southeastern Brazil - I. Seasonal distribution and parity rates. Mem Inst Oswaldo Cruz 1996 (91): 265-270.
- Flores-Mendoza CE, Nascimento ED, Castilho AV. A crítica desinformada aos testes de inteligência. Estudos de Psicologia (PUCCAMP) 2002; 19(2): 17-36.
- Faran ME, Linthicum KJ. Handbook A of the Amazonian species of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera:Culicidae). Mosquito Syst. 1981; 13 (1):1-81.
- Fernandez Z, Moncayo AC, Carrara AS, Forattini OP, Weaver SC. Vector competence of rural and urban strains of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Diptera: Culicidae) from Sao Paulo State, Brazil for IC, ID, and IF subtypes of Venezuelan equine encephalitis virus. Journal of medical entomology 2003; 40(4): 522-527.
- Ferreira E. Distribuição geográfica dos anofelinos no Brasil e sua relação com o estado atual da erradicação da malária. Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais 1964 (16):329-348.
- Forattini OP, Lopes OS, Rabelo EX 1968. Investigações sobre o comportamento de formas adultas de mosquitos silvestres no Estado de São Paulo. Brasil. Ver Saúde Publ 2: 111-173.
- Forattini OP, Comes AC, Galati EAB, Rabello EX, Iversson LB. Estudos ecológicos sobre mosquitos Culicidae no Sistema da Serra do Mar, Brasil. I. Observações no ambiente extradomiciliar. Rev. Saúde Públ., S. Paulo 1978 a(12):297-325.
- Forattini OP, Comes AC, Galati EAB, Rabello EX, Iversson LB. Estudos ecológicos sobre mosquitos Culicidae no Sistema da Serra do Mar, Brasil. 2. Observações no ambiente domiciliar. Rev. Saúde Públ., S. Paulo 1978 b(12):476-496.
- Forattini OP Comportamento exófilo de *Anopheles darlingi* Root, em região meridional do Brasil. Revista de Saúde Pública, S. Paulo 1987 (21): 291-304.
- Forattini OP, Kakitani I, Massad E, Marucci D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment: 4-Survey of resting adults and



- synanthropic behaviour in South-Eastern, Brazil. *Revista de Saúde Pública* 1993b; 27(6): 398-411.
- Forattini OP, Sallum MAM, Kakitani I, Massad E, Marucci D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment: 8-Survey of adult behaviour of Spissipes Section species of Culex (Melanoconion) in South-Eastern Brazil. *Revista de Saúde Pública* 1995; 29(2): 100-107.
- Forattini OP, Kakitani I, Massad E, Marucci D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 9 Synanthropy and epidemiological vector role of Aedes scapularis in Southeastern Brazil. *Rev Saúde Pública* 1995a (29): 199-207.
- Forattini OP, Kakitani I, Massad E, Marucci D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 10 Survey of adult behaviour of Culex nigripalpus and other species of Culex (Culex) in SouthEastern Brazil. *Rev Saúde Pública* 1995b (29): 271-278.
- Forattini OP. *Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia*. Edusp. 1996; 2.
- Forattini OP. Mosquitos Culicidae como vetores emergentes de infecções. *Rev Saúde Pública* 1998 (32): 497-502.
- Forattini OP. *Culicidologia Médica vol. 2: Identificação, Biologia, Epidemiologia*. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo; 2002.
- Garcia-Martin G. Status of malaria eradication in the Americas. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 1972; 21(5 Suppl): 617-633.
- Galvao AA, Damasceno RG, Marques AP. Algumas observações sobre a biologia dos anofelinos de importância epidemiológica em Belém do Pará. *Arq Hig Saúde Pública* 1942 (12): 51-111.
- Gething PW, Smith DL, Patil AP, Tatem AJ, Snow RW, Hay SI et al. Climate change and the global malaria recession. *Nature* 2010; 465 (7296): 342-345.
- Godoy MP. Peixes do Brasil: subordem Characoidei. *Editora Franciscana, Piracicaba*. 1975.
- Goeldi E. Excavações Archeologicas em 1895. 1ª parte: As Cavernas funerarias atificiaes dos indios hoje extinctos no rio Cunany (Goanany) e sua ceramica. *Série Memórias do Museu Goeldi*; 1905.

- Gomes AS, Ferreira, SP. Análise de dados ecológicos. Universidade Federal Fluminense; 2004.
- Graham ES, Tuzzolino DM, Burrell RB, Breitburg DL. Interannual variation in gelatinous zooplankton and their prey in the Rhode River, Maryland. *Smithsonian Contributions to the Marine Sciences* 2009 (38): 369-377.
- Guedes SS, Freitas JR, Xavier SB. Contribuição ao conhecimento da distribuição geográfica dos anofelinos e algumas observações sobre a biologia do *Anopheles darlingi*. *Rev. Bras. Malariol. D. Trop.* 1953 (5):157-165.
- Guimarães JH. Systematic database of Diptera of the Americas South of the United States (family culicidae). São Paulo: Plêiade/FAPESP; 1997.
- Guimarães AE, de Mello RP, Lopes CM, Gentile C. Ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. I - Monthly frequency and climatic factors. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000 (95):1-16.
- Guimarães AE, Gentile C, Lopes CM, Sant'Anna A. Ecologia de mosquitos em áreas do Parque Nacional da Serra da Bocaina: II-Freqüência mensal e fatores climáticos. *Rev Saúde Pública* 2001 35(4): 392-9.
- Hahn NS, Andrian IDF, Fugii R, Almeida VD, Vazzoler AEAM, Agostinho AA, Hahn NS. Ecologia trófica. *Vazzoler A. EAM et al.* 1997; 209-228.
- Harbach RE. The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull Entomol Res.* 2004 (94): 537-553.
- Hochman G, Melo MTB, Santos PRE. A malária em foto: imagens de uma campanha e ações no Brasil na primeira metade do século XX. *Casa de Oswaldo Cruz* 2002; 9 (suplemento):233-73.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Primeiros resultados do censo 2010; 2010. Available from: [ibge.gov.br/estadossat/perfil.php?sigla=rj](http://ibge.gov.br/estadossat/perfil.php?sigla=rj).
- Jongman RHG, ter Braak CJF, van Tongeren OFR. Data analysis in community and landscape ecology. Cambridge University Press, Cambridge; 1995.

- Keita M variation saisonnière des aspects epidemiologiques et clinique du paludisme à Missira (cercle de kolokani) en 2004- 2005 thèse de méd FMPOS –BAMAKO; 2005.
- Klein TA, Lima JB, Toda-Tang A. Colonization and maintenance of *Anopheles deaneorum* in Brazil. *J Am Mosq Control Assoc* 1990 (6): 510-513.
- Klein TA, Lima JB, Tada MS. Comparative susceptibility of anopheline mosquitoes to *Plasmodium falciparum* in Rondônia, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1991a (44): 598-603.
- Klein TA, Lima JB, Tada MS, Miller R. Comparative susceptibility of anopheline mosquitoes in Rondônia, Brazil to infection by *Plasmodium vivax*. *Am J Trop Med Hyg.* 1991b (45): 463-470.
- Kreutzer RD, Kitzmiller JB, Rabbani MG. Cytogenetically distinguishable populations of the mosquito *Anopheles albitarsis*. *Acta Amazonica* 1976 (6): 473-481.
- Lane J. Neotropical Culicidae. São Paulo, Brasil, Universidade de São Paulo 1953; p.548.
- Lehr MA, Kilpatrick CW, Wilkerson RC, CONN JE. Cryptic Species in the *Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis* (Diptera: Culicidae) Complex: Incongruence Between Random Amplified Polymorphic DNAPolymeraseChain Reaction Identification and Analysis of Mitochondrial DNA COI Gene Sequences. *Annals of Entomological Society of America* 2005; 98 (6): 908-917.
- Limongi JE, Chaves KM, Paula MB, Costa FC, Silva AA, Lopes IS et al. Malaria outbreaks in a non-endemic area of Brazil, 2005. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008 (41): 232-237.
- Liu SY. Problemas asociados com el vetor: resistencia fisiologica y compledos de especies. *In: Malaria en las Americas.* Washington, Publicações Científicas 405, 1981.
- Loiola CCP, da Silva CJM, Tauil PL. Controle da malária no Brasil: 1965 a 2001. *Revista Panamerica de Salud Pública* 2002; 11 (4): 235-244.
- Lucena DT. Hábitos domiciliares do *Anopheles tarsimaculatus* Goeldi, 1905. *Rev. Brasil Mal.* 1950 (2): 239-260.
- Lutz A. A febre amarela em S. Paulo. *O Brasil-Médico* 1898 (47): 416-7.

- Maia MIS. Distribuição geográfica dos culicídeos do Estado do Pará- Brasil (DipteraNematocera). Rev. do Serv. Espec. de Saúde Publica, São Paulo; 1962.
- Marcon E. Mesures de la biodiversité (Doctoral dissertation, AgroParisTech); 2015.
- Martens P, Hall L. Malaria on the move: human population movement and malaria transmission. *Emerging infectious diseases* 2000; 6(2): 103.
- McCutchan TF, Piper RC, Makler MT. Use of malaria rapid diagnostic test to identify Plasmodium knowlesi infection. *Emerging infectious diseases* 2008; 14(11):1750-1752.
- Medlock JM, Hansford, KM, Schaffner F, Versteirt V, Hendrickx G, Zeller H et al. A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options. *Vector-borne and zoonotic diseases* 2012; 12(6): 435-447.
- Melo AS. O que ganhamos 'confundindo'riqueza de espécies e equabilidade em um índice de diversidade. *Biota Neotropica* 2008; 8(3): 21-27.
- Miguel RB, Peiter, PC, Albuquerque HD, Coura JR, Moza PG, Costa ADP et al. Malaria in the state of Rio de Janeiro, Brazil, an Atlantic Forest area: an assessment using the health surveillance service. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2014; 109(5): 634-640.
- Motoki MT, Wilkerson RC, Sallum MAM. The Anopheles albitarsis complex with the recognition of Anopheles oryzalimnetes Wilkerson and Motoki, n. sp. and Anopheles janconnae Wilkerson and Sallum, n. sp. (Diptera: Culicidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 2009; 104(6): 823-850.
- Mouchet J, carnevale P. Les vecteurs et la transmission. In *Paludisme*. Edited by Ellipses/Aupelf; 1991: 35-59
- Natal D, Barata JMS, Lagos CBT, Rocha RM. Nota sobre culicídeos (Diptera: Culicidae) da bacia do rio Purus, Acre, Amazônia (Brasil). *Revista de saúde pública* 1992; 26(2): 129-131.
- Neves DP. Alguns Aspectos da Ecologia dos Culicídeos no Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte (MG), MSc Thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais 1972; 75.

- Oliveira-Ferreira J, Nakaie CR, Daniel-Ribeiro C: Low frequency of anti-*Plasmodium falciparum* circumsporozoite repeat antibodies and rate of high malaria transmission in endemic areas of Rondonia State in northwestern Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1992, 46:720-726.
- Olson SH, Gangnon R, Silveira GA, Patz JA. Deforestation and malaria in Mancio Lima County, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2010 (16): 1108-1115.
- Ostfeld RS, Glass GE, Keesing F. Spatial epidemiology: an emergenging (or re-emergeng) discipline. *Trends Ecol Evol.* 2005 (20): 328-336.
- Paaijmans KP, Wandago MO, Githeko AK, Takken W. Unexpected High Losses of *Anopheles Gambiae* Larvae due to Rainfall." *PLoS ONE* 2007; 2:11.
- Papavero N, Guimarães JH. The taxonomy of Brazilian insects vectors of transmissible diseases (1900-2000)-Then and now. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2000 (95): 109-118.
- Pages F, Orlandi-Pradines E, Corbel V. Vecteurs du paludisme: biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. *Médecine et maladies infectieuses* 2007; 37(3): 153-161.
- Peet RK. The measurement of species diversity. *Ann Rev Ecol System* 1974 (5): 285-307.
- Pina-Costa AD, Brasil P, Santi SMD, Araujo MPD, Suárez-Mutis MC, Oliveira-Ferreira et. Al. Malaria in Brazil: what happens outside the Amazonian endemic region. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2014; 109(5): 618-633.
- Pinault LL, Hunter FF. Characterization of larval habitats of *Anopheles albimanus*, *Anopheles pseudopunctipennis*, *Anopheles punctimacula*, and *Anopheles oswaldoi* sl populations in lowland and highland Ecuador. *Journal of Vector Ecology* 2012; 37(1): 124-136.
- Portes MDGT, Rossi JCN, Nascimento JCD, Zeccer S, Silva LA. Anophelines of Santa Catarina (Diptera: Culicidae), Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2010; 43(2): 156-160.
- Rachou RG. Anofelinos do Brasil: comportamento das espécies vetoras de malária. *Rev Bras Malariol Doenoas Trop.* 1958 (10):145-81.
- Reisen WK. Landscape epidemiology of vector-borne diseases. *Annual review of entomology.* 2010 (55): 461-483.

- Rey S, Zuza I, Martínez-Mondéjar B, Rubio JM, Merino FJ. Imported malaria in an area in southern Madrid, 2005-2008. *Malaria journal* 2010 9(1): 1.
- Roberts DR, Hoch AL, Peterson ME, Pinheiro FP. Programa multidisciplinario de vigilância de lãs enfermidades infecciosas en zonas colindantes con la carretera transamazônica en Brasil. IV. Estudio Entomológico. *Boletim Oficina Sanitaria Panamá* 1981 (91): 379-398.
- Rosa-Freitas MG, Deane L, Momen H. A morphological, behavioural and isoenzymatic study in *Anopheles albitarsis* from 10 populations. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1990 (85): 275-289.
- Rubio-Palis Y, Menare C, Quinto A, Magris M, Amarist M. Caracterización de criaderos de anofelinos (Diptera: Culicidae) vectores de malaria del Alto Orinoco, Amazonas, Venezuela. *Entomotropica*, 20(1), 29-38.
- Salum NC, Prado MLD. Educação continuada no trabalho: uma perspectiva de transformação da prática e valorização do trabalhador (a) de enfermagem. *Texto & contexto enferm* 2000; 9(2): 298-311.
- Shannon CE. BA mathematical theory of communication Bell System Tech.1948.
- Silva ALMD. Direito do meio ambiente e dos recursos naturais; 2006.
- Simpson EH. Measurement of species diversity. *Nature* 1949; 163: 688.
- Smallegange RC Qiu YT, van Loon JJ, Takken W. Synergism between ammonia, lactic acid and carboxylic acids as kairomones in the host-seeking behaviour of the malaria mosquito *Anopheles gambiae sensu stricto* (Diptera: Culicidae). *Chemical senses* 2005; 30(2): 145-152.
- Sousa WP. The role of disturbance in natural communities. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 1984 (15): 353-391.
- Tadei WP, Rodrigues IB, Santos JMM, Rafael MS, Passos RA, Costa FM et. al. Entomologia e controle de vetores: o Papel da entomologia no controle da Malária. X Reunião Nacional de Pesquisa em Malária. *Rev Bras Med Trop.* 1983; 40(suppl II): 22-26.
- Tadei W P, Mascarenhas B M, Podestá M G. Biologia de anofelinos amazônicos VIII. Conhecimentos sobre a distribuição de espécies de

- Anopheles na região de Tucuruí-Marabá (Pará). *Acta Amazon* 1983 (13): 103-140.
- Tadei WP, Thatcher BD, Santos JM, Scarpassa VM, Rodrigues IB, Rafael MS. Ecologic observations on anopheline vectors of malaria in the Brazilian Amazon. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 1998; 59(2): 325-335.
- Tadei WP, Rodrigues IB, Santos JMM, Rafael MS, Passos RA, Costa FM, Pinto RC, Oliveira AEM. O Papel da Entomologia no Controle da Malária. X Reunião Nacional de Pesquisa em Malária. *Revista Brasileira de Medicina Tropical* 2007 (40):22-26.
- Tauil P, Deane L, Sabroza P, Ribeiro C. A malária no Brasil. *Cadernos de Saúde Pública* 1985; 1(1): 71-111.
- Uneke CJ, Ogbonna A. Malaria and HIV co-infection in pregnancy in sub-Saharan Africa: impact of treatment using antimalarial and antiretroviral agents. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2009; 103(8): 761-767.
- Uramoto K, Walder JM, Zucchi RA. Análise quantitativa e distribuição de populações de espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) no campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. *Neotropical Entomology* 2005; 34(1): 33-39.
- Veloso HP, Rangel-Filho ALR, Lima JCA. Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. IBGE, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, Rio de Janeiro, Brazil; 1991.
- Vittor AY, Gilman RH, Tielsch J, Glass G, Shields TIM, Lozano WS et al. The effect of deforestation on the human-biting rate of *Anopheles darlingi*, the primary vector of falciparum malaria in the Peruvian Amazon. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2006; 74(1): 3-11.
- Vittor A, Pan W, Gilman R, Tielsch J, Glass G, Shields T et al. Linking deforestation to malaria in the Amazon: characterization of the breeding habitat of the principal malaria vector, *Anopheles darlingi*. *Am J Trop Med Hyg.* 2009 81(1):5-12.
- Ward RA. Second supplement to "A catalog of the mosquitoes of the world" (Diptera: Culicidae). *Mosq. System.* 1984 (16): 227-270.

- Williams J, Pinto J. Training Manual on Malaria Entomology; For Entomology and Vector Control Technicians (Basic Level) In. USAID. Washington, DC 2012;78.
- Wilsey BJ, Chalcraft DR, Bowles CM, Willig MR. Relationships among indices suggest that richness is an incomplete surrogate for grassland biodiversity. *Ecology* 2005; 86(5):1178-1184.
- World Health Organization. Guidelines on the elimination of residual foci of malaria transmission (No. 33). World Health Organization; (2007). World Health Organization. World malaria report 2008. World Health Organization; 2008.
- World Health Organization. WHO global malaria programme: world malaria report 2015.
- WRBU-Walter Reed biosystematics Unit. Mosquito classification- online catalog. 2010. <[www.mosquitocatalog.org](http://www.mosquitocatalog.org)>. (Acesso em /2016).
- Xavier MMSP, Rêbello JMM. Espécies de Anopheles (Clucidae, Anophelinae) em área endêmica de malária, Maranhão, Brasil. *Rev Saúde Pub* 1999 (33): 535-41.