

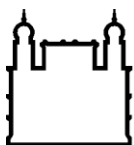
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado em Programa de Pós-Graduação Biodiversidade e Saúde

**BIODIVERSIDADE E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE
MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) VETORES DE PATÓGENOS
EM ÁREAS DO PANTANAL MATOGROSSENSE,
ESTADO DO MATO GROSSO, BRASIL**

VANESSA CRISTINA REZENDE MELANDRI

Rio de Janeiro
Junho de 2015



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ - IOC
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

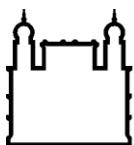
VANESSA CRISTINA REZENDE MELANDRI

**BIODIVERSIDADE E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE
MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) VETORES DE PATÓGENOS
EM ÁREAS DO PANTANAL MATOGROSSENSE,
ESTADO DO MATO GROSSO, BRASIL**

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Biodiversidade e Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Anthony Érico Guimarães

Rio de Janeiro
Junho de 2015



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ - IOC
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

VANESSA CRISTINA REZENDE MELANDRI

**BIODIVERSIDADE E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE
MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) VETORES DE PATÓGENOS
EM ÁREAS DO PANTANAL MATOGROSSENSE,
ESTADO DO MATO GROSSO, BRASIL**

Orientador: Prof. Dr. Anthony Érico Guimarães

Aprovada em: ____/____/____

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Rubens Pinto de Mello - Presidente

Prof. Dr. Suzete Araújo Oliveira Gomez

Prof. Dr. José Mário de Almeida

Prof. Dr. Elizabeth Ferreira Rangel

Prof. Dr. Margarethe Queiroz

Rio de Janeiro, 25 de Junho de 2015

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

M517 Melandri, Vanessa Cristina Rezende

Biodiversidade e aspectos epidemiológicos de mosquitos (Diptera: Culicidae) vetores de patógenos em áreas do pantanal matogrossense, Estado do Mato Grosso, Brasil / Vanessa Cristina Rezende Melandri. – Rio de Janeiro, 2015.

xxii, 136 f. : il. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde, 2015.

Bibliografia: f. 117-133

1. Mosquitos. 2. West Nile. 3. Pantanal. 4. Biodiversidade. 5. Ecologia. I. Título.

CDD 571.986

Aos meus pais pelo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho. Espero um dia conseguir retribuir toda dedicação.

AGRADECIMENTO

Especial agradecimento ao meu orientador Prof. Dr. Anthony Érico Guimarães, que muito mais do que orientador foi um amigo. Obrigada por me receber em seu laboratório, pela orientação, pelo apoio, por todo aprendizado e por toda amizade.

Ao Prof. Dr. Rubens Pinto de Mello pela leitura, revisão e sugestões que contribuíram para melhoria da tese.

À Prof. Dra. Irene Bosch, do Massachusetts Institute of Technology – MIT, Boston, pelo treinamento em análise sorológica por Blocking ELISA em amostras de sangue coletadas em aves e cavalos.

Ao Prof. Dr. Nick Komar, do Centers for Disease Control and Prevention – CDC, Colorado, pelo treinamento em análise sorológica por teste de Neutralização em amostras de sangue coletadas em aves e cavalos.

Ao Prof. Dr. Jerônimo Alencar pela colaboração na identificação taxonômica das espécies de culicídeos do presente estudo.

À equipe do Laboratório de Diptera do Instituto Oswaldo Cruz por todo suporte técnico que possibilitou a realização deste trabalho.

À Associação dos Cavalos Pantaneiros do estado do Mato Grosso, pela indicação e apoio que facilitaram as coletas das amostras de soro realizadas em aves e equinos nas fazendas localizadas ao longo da estrada Transpantaneira.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Saúde do Instituto Oswaldo Cruz pelos conhecimentos fornecidos e pela experiência compartilhada durante as disciplinas.

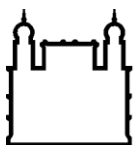
À coordenação do Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Saúde do Instituto Oswaldo Cruz pela possibilidade em realizar o doutorado.

À Furnas Centrais Elétricas pelo apoio financeiro, sem o qual seria inviável a realização dos presentes estudos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa.

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Diptera
do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz,
sob orientação do chefe do laboratório Professor Doutor
Anthony Érico Guimarães.

*“Talvez não tenha conseguido fazer o
melhor, mas lutei para que o melhor
fosse feito. Não sou o que deveria ser,
mas também não sou o que era antes.”*
Marthin Luther King



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ - IOC

**BIODIVERSIDADE E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE
MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) VETORES DE PATÓGENOS
EM ÁREAS DO PANTANAL MATOGROSSENSE,
ESTADO DO MATO GROSSO, BRASIL**

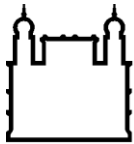
RESUMO

TESE DE DOUTORADO EM BIODIVERSIDADE E SAÚDE

Vanessa Cristina Rezende Melandri

Com a finalidade de conhecer aspectos da biologia e da ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas do Pantanal Matogrossense, onde esses conhecimentos eram escassos para a maioria das espécies ou mesmo inexistentes para outras tantas, foram realizadas capturas bimestrais, diurnas e noturnas, em quatro diferentes pontos, ao longo de 24 meses consecutivos, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011. Foram capturados 17.533 espécimes, abrangendo duas subfamílias, nove gêneros e 44 espécies. Os culicíneos, com cerca de 78% dos espécimes encontrados, foram mais numerosos do que os anofelinos, com destaque de *Culex nigripalpus* que representou 25% do total de mosquitos capturados. De maneira geral, a fauna de culicídeos apresentou maior distribuição sazonal nos períodos quentes e chuvosos, apresentaram correlação positiva com os fatores abióticos: temperatura, umidade relativa do ar e pluviosidade, em especial com o último, exceto *Mansonia titillans*, que, assim como os anofelinos, não apresentaram correlação com esses fatores climáticos, estando influenciados pelos mecanismos de alagamentos regionais. As principais espécies de culicídeos encontradas no Pantanal Matogrossense, demonstraram forte compatibilidade ecológica com ambientes bem preservados e com algum dos biótopos específicos encontrados em, pelo menos, um dos quatro pontos de coleta selecionados.

Anopheles evansae, *An. rondoni* e *An. matogrossensis* apresentam melhor distribuição em ambientes com as características mais silvestres. *An. darlingi*, *An. albitarsis* e *An. triannulatus* em ambientes com grandes coleções d'água e com maior fluxo antrópico. *Cx. nigripalpus* e *Cx. quinquefasciatus* apresentam favoritismo por ambientes com fragmentos de mata e com forte ação e movimentação humana. *Cx. declarator* e *Psorophora albigena*, os mais ecléticos, em áreas silvestres e com alguma ação antrópica. *Ma. titillans* esteve relacionada a ambientes com grande variedade de criadouros naturais adequados ao seu desenvolvimento, onde a cobertura das áreas alagadas por macrófitas é um dos componentes naturais do bioma pantaneiro. As interferências do período de cheias na densidade populacional de anofelinos é intensamente vantajosa, com explosão de incidência total de anofelinos no período de formação de grandes alagados. As espécies da Subfamília Culicinae são fortemente favorecidas em abundância durante o período de cheia na região, em especial o gênero *Culex*. *Ma. titillans* apresenta resistência ao período de estiagem, com boa representação nas coletas iniciais do período de seca, enquanto a vegetação aquática ainda é abundante, oferecendo local para postura dos ovos. A dinâmica ambiental é regulada pelo pulso de inundação, segundo o qual, os períodos de cheias e secas alternadas constituem o principal fator que rege a ecologia da fauna e flora locais, em que o período de cheias contribui para maior riqueza e diversidade de espécies de culicídeos e o período de estiagem para maior equitabilidade na distribuição dos espécimes entre as espécies. A estação de cheias no Pantanal, entre os meses de novembro e maio, é o período em que ocorre maior abundância de culicídeos, a população humana que adentra a região nesta época está sujeita a um maior contato com mosquitos vetores, que podem veicular agentes causadores de doenças como os arbovírus, em especial o vírus causador da Febre do Oeste do Nilo, detectado no presente estudo por soropositividade em equinos e aves residentes.



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

OSWALDO CRUZ INSTITUTE

BIODIVERSITY AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF MOSQUITOES (DIPTERA: CULICIDAE) PATHOGENS VECTORS IN PANTANAL MATOGROSSENSE AREAS, MATO GROSSO STATE, BRAZIL

ABSTRACT

PHD THESIS IN BIODIVERSITY AND HEALTH

Vanessa Cristina Rezende Melandri

In order to know aspects of biology and ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in areas of the Pantanal, where this knowledge were sparse for most species or even non-existent for many others, bimonthly, day and night catches were made, at four different points, over 24 consecutive months between March 2009 until January 2011. A total of 17.533 specimens were captured, including two subfamilies, nine genera and 44 species. The culicíneos, with about 78% of the specimens found, were more numerous than the Anopheles, *Culex nigripalpus* with highlighting which represented 25% of captured mosquitoes. In general, the mosquitoes fauna showed greater seasonal distribution in hot and rainy periods were positively correlated with abiotic factors: temperature, relative humidity and rainfall, especially with the latter, except *Mansonia titillans*, which, like the Anopheles, were not correlated with these climatic factors and are influenced by regional flooding mechanisms. The main species of mosquitoes found in the Pantanal, showed strong ecological compatibility with well preserved and some of the specific environments biotopes found in at least one of the four selected collection points. *Anopheles evansae*, *An. rondoni* and *An. matogrossensis* have better distribution in environments with more wild characteristics. *An. darlingi*, *An. albitarsis* and *An. triannulatus* in environments

with large collections of water and more anthropic flow. *Cx. nigripalpus* and *Cx. quinquefasciatus* show favoritism for environments with forest fragments and with high human action and movement. *Cx. declarator* and *Psorophora albigena*, the most eclectic in wilderness areas and some human action. *Ma. titillans* was related to environments with a variety of natural breeding sites suitable for development, where coverage of the areas flooded by weeds is one of the natural components of the Pantanal biome. Interference of the period of floods in population density of Anopheles is intensely advantageous with exploding overall incidence of Anopheles during formation of large wetlands. The species of the subfamily Culicinae are heavily favored in abundance during the full period in the region, particularly the *Culex* genus. *Ma. titillans* is resistant to drought period, with good representation in the early collections of drought, while the aquatic vegetation is still abundant, offering place for laying eggs. Environmental dynamics are regulated by the flood pulse, according to which periods of alternating floods and droughts are the main factor governing the ecology of the local fauna and flora, the flooding period contributes to greater richness and diversity of species Culicidae and the dry period to greater evenness at distribution of specimens between species. The floods period in the Pantanal, between the months of November and May, is the period in which greater abundance of mosquitoes, the human population that enters the region at this time is subject to greater contact with vector mosquitoes, which can carry disease-causing agents such as arboviruses, especially the virus that causes West Nile, detected in this study by seropositivity in residents horses and birds.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Localização no Brasil e no Pantanal Mato-grossense dos pontos de amostragens de culicídeos: A/B/C/D..... 21
- Figura 2: Configuração geral do Ponto A de amostragens de culicídeos, nos períodos de cheia e estiagem no Pantanal Mato-grossense..... 22
- Figura 3: Configuração geral do Ponto B de amostragens de culicídeos, nos períodos de cheia e estiagem no Pantanal Mato-grossense..... 23
- Figura 4: Configuração geral do Ponto C de amostragens de culicídeos, nos períodos de cheia e estiagem no Pantanal Mato-grossense..... 24
- Figura 5: Configuração geral do Ponto D de amostragens de culicídeos, nos períodos de cheia e estiagem no Pantanal Mato-grossense..... 25
- Figura 6: Captura de culicídeos em armadilha de Shannon, com auxílio e capturador manual, nos pontos de amostragem ao longo da Estrada Parque Transpantaneira no Pantanal Mato-grossense..... 29
- Figura 7: Armadilhas tipo CDC utilizadas para captura de mosquitos no Pantanal Mato-grossense: a) CDC com atrativo humano (Lure – diurna e noturna); b) CDC com gelo seco – CO₂ (diurna); c) CDC com luz incandescente (noturna); d) CDC com LED (noturna)..... 30
- Figura 8: Triagem das armadilhas de CDC em áreas próximas aos pontos de amostragens (A/B/C/D) localizados ao longo da Estrada Parque Transpantaneira..... 31
- Figura 9: Percentual de frequência total das espécies com ocorrência superior a 5% da **A** – subfamília Anophelinae e da **B** – subfamília Culicinae..... 46

Figura 10: Distribuição sazonal em valor absoluto por espécie e seus respectivos intervalos de confiança ao longo das coletas de Março de 2009 até Janeiro de 2011.....	49
Figura 11: Distribuição sazonal em valor absoluto por espécie e seus respectivos intervalos de confiança ao longo das coletas de Março de 2009 até Janeiro de 2011.....	50
Figura 12: Distribuição sazonal em valor absoluto por espécie e seus respectivos intervalos de confiança ao longo das coletas de Março de 2009 até Janeiro de 2011.....	51
Figure 13: Média mensal dos fatores climáticos de temperatura (°C), umidade relativa do ar (%) e pluviometria ao longo das coletas de Março de 2009 até Janeiro de 2011.....	54
Figura 14: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de pluviosidade, segundo estação meteorológica de Caceres – MT, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.....	57
Figura 15: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de pluviosidade, segundo estação meteorológica de Caceres – MT, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.....	58
Figura 16: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de umidade relativa do ar, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.....	59
Figura 17: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de umidade relativa do ar, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.....	60

Figura 18: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de temperatura, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.....	61
Figura 19: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de temperatura, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.....	62
Figura 20: Percentual da distribuição de frequência total das espécies de mosquitos entre os períodos de chuva e de estiagem.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Número absoluto de culicídeos capturados por amostragem no Pantanal entre Mar/09 a Jan/10.....	41
Tabela 2: Número absoluto de culicídeos capturados por amostragem no Pantanal entre Mar/10 a Jan/11.....	42
Tabela 3: Números absolutos, com os respectivos percentuais de cada espécie de culicídeos, em cada ponto de coleta no Pantanal entre Mar/10 a Jan/11.....	43
Tabela 4: Espécies de mosquitos encontrados e a ocorrência em valores absolutos (N), percentuais (%) e médias de Williams (X_w), no período de março de 2009 a janeiro de 2011.....	44
Tabela 5: Espécies de mosquitos acima de 5% dentro de cada subfamília e a ocorrência em valores absolutos (N), percentuais (%) e médias de Williams (X_w)	45
Tabela 6: Média mensal dos fatores climáticos de pluviometria (mm), umidade relativa do ar (%) e temperatura (°C) ao longos das coletas.....	53
Tabela 7: Coeficiente de correlação linear (r) entre abundância de culicídeos e pluviometria (mm), umidade (%) e temperatura (°C).....	56
Tabela 8: Índice de abundância das espécies capturadas. “ <i>Index of species abundance</i> ” (ISA), convertido em “ <i>Standardised index of species abundance</i> ” (SISA) e a posição total das espécies.....	64

Tabela 9: Índice de abundância das espécies capturadas. “ <i>Index of species abundance</i> ” (ISA), convertido em “ <i>Standardised index of species abundance</i> ” (SISA) e a posição das espécies no Ponto A.....	65
Tabela 10: Índice de abundância das espécies capturadas. “ <i>Index of species abundance</i> ” (ISA), convertido em “ <i>Standardised index of species abundance</i> ” (SISA) e a posição das espécies no Ponto B.....	65
Tabela 11: Índice de abundância das espécies capturadas. “ <i>Index of species abundance</i> ” (ISA), convertido em “ <i>Standardised index of species abundance</i> ” (SISA) e a posição das espécies no Ponto C.....	66
Tabela 12: Índice de abundância das espécies capturadas. “ <i>Index of species abundance</i> ” (ISA), convertido em “ <i>Standardised index of specis abundance</i> ” (SISA) e a posição das espécies no Ponto D.....	66
Tabela 13: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos AxB.....	68
Tabela 14: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos AxC.....	68
Tabela 15: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos AxD.....	69
Tabela 16: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos BxC.....	69
Tabela 17: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos BxD.....	70
Tabela 18: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos CxD.....	70

Tabela 19: Valores de riqueza das espécies (S), número de espécimes (N), índice de diversidade de Shannon-Weaner (H), índice de equitabilidade de Shannon (E_H) e Média de Williams (X_w) em cada ponto de coleta.....	71
Tabela 20: Índice de abundância das espécies capturadas. “ <i>Index of species abundance</i> ” (ISA), convertido em “ <i>Standardised index of species abundance</i> ” (SISA) e a posição das espécies nos períodos de estiagem e de chuva.....	73
Tabela 21: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os períodos de chuva e de estiagem.....	75
Tabela 22: Valores de riqueza das espécies (S), número de espécimes (N), índice de diversidade de Shannon-Weaner (H), índice de equitabilidade de Shannon (E_H) e Média de Williams (X_w) em cada coleta dentro do período de chuva.....	76
Tabela 23: Valores de riqueza das espécies (S), número de espécimes (N), índice de diversidade de Shannon-Weaner (H), índice de equitabilidade de Shannon (E_H) e Média de Williams (X_w) em cada coleta dentro do período de estiagem.....	77

LISTA DE ANEXOS

ANEXO I – Resultado de sorologia publicado na Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: <i>Serological detection of West Nile virus in horses and chicken from Pantanal, Brazil. 107(8): 1073-1075, Dec 2012.....</i>	130
--	-----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% - Percentual

Σ – Somatório

°C – Graus Celsius

CDC – *Centers for Diseases Control and Prevention*

E_H - Índice de Equitabilidade

ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

EUA – Estados Unidos da América

H' - Índice de Shannon- Weaner

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

INMET- Instituto Nacional de Meteorologia

IOC - Instituto Oswaldo Cruz

Km - Quilômetro

mm – Milímetro

MS – Mato Grosso do Sul

MT – Mato Grosso

N - Valores absolutos

NT – *Neutralization Test*

OMS – Organização Mundial da Saúde

r - Coeficiente de Correlação

URA - Umidade relativa do ar

UNESCO – Organização Educacional, Científica e Cultural das Nações Unidas

WNV – *West Nile virus*

X_w - Média de Williams

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 – Revisão Bibliográfica.....	3
1.2 – Justificativa	7
2 – OBJETIVOS	9
2.1 – Objetivo Geral:.....	9
2.2 – Objetivos Específicos:	9
3 – MATERIAL E MÉTODO	10
3.1 – Área Estudada	10
3.1.1 – Localização e Características Principais	10
3.1.2 – Vegetação e Fauna	14
3.1.3 – Pontos de Amostragem	18
3.2 – Características e Metodologias das aferições climáticas	26
3.3 – Metodologia das Amostragens.....	27
3.4 – Análise dos dados	32
3.4.1 – Cálculo da Média de Williams (X_w).....	32
3.4.2 – Distribuição Sazonal	33
3.4.3 – Influência dos fatores climáticos na densidade de mosquitos	34
3.4.4 – Índice de abundância ISA/SISA	35
3.4.5 – Coeficiente de Similaridade.....	35
3.4.6 – Índices de Diversidade e Equitabilidade.....	36
4 – RESULTADOS	37
4.1 – Inquérito geral dos dados coletados.....	37
4.2 – Análises dos dados.....	45
4.3 – Distribuição Sazonal	47
4.4 – Fatores Climáticos	52
4.4.1 – Aferição dos dados climáticos	52
4.4.2 – Influência dos fatores climáticos na densidade de mosquitos	55
4.5 – Distribuição por pontos de coleta	63
4.5.1 – Índice de abundância de culicídeos entre os Pontos de coleta.....	63

4.5.2 – Similaridade das espécies de culicídeos entre os Pontos de coleta.....	67
4.5.3 – Índices de diversidade de culicídeos entre os Pontos de coleta.....	71
4.6 – Influência dos períodos de chuva e de estiagem.....	72
4.6.1 – Índice de abundância de culicídeos entre os períodos de chuva e de estiagem.....	72
4.6.2 – Similaridade entre as espécies de culicídeos entre os períodos de chuva e de estiagem....	74
4.6.3 – Índices de diversidade de culicídeos entre os períodos de chuva e de estiagem.....	75
5 – DISCUSSÃO.....	78
5.1 – Inquérito Geral.....	78
5.2 – Distribuição sazonal.....	81
5.3 – Influência dos fatores climáticos.....	88
5.4 – Distribuição em Relação aos Ponto de Coleta.....	96
5.5– Distribuição em relação aos períodos de chuva e de estiagem.....	106
6 – CONCLUSÃO.....	114
7 – REFERÊNCIAS.....	117
ANEXO I.....	134

1 – INTRODUÇÃO

O crescente implemento do ecoturismo em áreas do Pantanal Matogrossense está diretamente relacionado com o aumento do risco de veiculação de doenças emergentes na região. Dentre esse risco potencial, destacam-se aqueles ligados a transmissão de patógenos por vetores que apresentam indistintamente hábitos hematofágicos, tanto em animais silvestre e/ou domesticados, como no homem. Nesse quadro, nos parece fundamental e de grande interesse o conhecimento da biodiversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae), não apenas pelos riscos a saúde pública das comunidades, mas também pela atual carência de informações desse importante grupo de vetores no Pantanal Matogrossense.

São muitos os relatos sobre o diagnóstico de doenças causadas por patógenos transmitidos por mosquitos, em diferentes regiões do Brasil, sem que se tenha os mecanismos adequados para o combate e/ou controle, pelo desconhecimento dos hábitos dos vetores e, muitas vezes, por sequer sabermos quem são esses vetores.

Segundo Guimarães & Arlé (1984), muitos desses vetores, em especial culicídeos, em condições naturais, distribuem-se em comunidades estáveis e completamente equilibradas com as variáveis do ecossistemas como um todo. Dessa forma, o surgimento de muitas epidemias estaria diretamente relacionado a problemas de ecologia humana, como atividades de ecoturismos e/ou extrativismos de recursos da flora e fauna, que causam a introdução, acidental ou planejada, do homem em regiões onde os componentes da cadeia epidemiológica ainda são desconhecidos para ciência, como nos parece ser o caso do Pantanal Matogrossense.

Ávila-Pires (1989) referindo-se aos múltiplos processos que levam à epidemias, observa: *“Na investigação da ecologia das doenças infecciosas e parasitárias destacam-se (...) o estudo das relações biológicas e socioculturais do homem com os demais elementos da comunidade biótica exógena e com os fatores do meio físico.”* Esse mesmo autor, em outro ponto do seu estudo, afirma que *“A correta avaliação do papel de hospedeiros não-humanos na manutenção de focos endêmicos implica (...) estudo da dinâmica de suas populações (...)”*, concluindo que *“A identificação do papel dos hospedeiros não-humanos requer o cálculo estimativo da população (...) e o estudo de sua dinâmica populacional. (...) O controle racional dos vetores requer o conhecimento detalhado de seus hábitos, de sua biologia (...)”*.

A cada dia nos deparamos com fatos que nos mostra a importância da realização de estudos bionômicos da entomofauna vetora de patógenos em qualquer região onde se pretenda, mesmo que em condições especiais, a introdução do homem. No presente estudo, na escolha do Pantanal Matogrossense, levamos em consideração, além dos aspectos mencionados, o risco maior da introdução de agravos a saúde das comunidades humanas pelo intenso fluxo de aves migratórias, muitas delas oriundas de localidades com reais processos epidêmicos em curso, como é o caso da transmissão do vírus causador da Febre do Nilo Ocidental, por mosquitos culicídeos, no continente norte-americano, tendo como principais hospedeiros essas aves (Komar, 2006 e Bosch et al. 2007).

1.1 – Revisão Bibliográfica

Considerando a carência de estudos sobre a fauna culicidéana no Pantanal Matogrossense, foi dado ênfase aos estudos realizados com esse grupo de vetores abrangendo também outras áreas de preservação ambiental no Brasil.

Os primeiros relatos sobre estudos sistematizados da dinâmica populacional de culicídeos em áreas de preservação ambiental foram realizados no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, entre os municípios de Magé, Petrópolis e Teresópolis, no estado do Rio de Janeiro (Davis, 1944, 1945a,b). Na mesma área, entre os anos de 1980 e 1984, pesquisadores do Laboratório de Díptera do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), voltariam a estudar aspectos da ecologia desses vetores, com observações sobre a distribuição estacional (Guimarães e Arlé 1984), distribuição vertical (Guimarães et al. 1985), preferência horária para a hematofagia (Guimarães e Victorio 1986) e preferência alimentar quanto aos hospedeiros (Guimarães et al. 1987).

Embora não exatamente em parques e reservas biológicas oficiais, mas também em áreas silvestres com significativa preservação ambiental, a partir da década de 1970, pesquisadores coordenados pelo Professor Oswaldo Forattini, da Universidade de São Paulo, realizaram uma série de estudos com importantes contribuições ao conhecimento da dinâmica populacional dos culicídeos. Foram levados a efeito análises sobre a ocorrência de culicídeos, preferências para hematofagia, mecanismos de domiciliação e riscos epidemiológicos para as veiculações de patógenos causadores de doenças humanas, em áreas silvestres e peri-urbanas, na região do Vale da Ribeira, litoral do estado de São Paulo (Forattini et al. 1978a/b; Forattini et al. 1981; Forattini et al. 1986a/b; Forattini et al. 1987a/b).

Guimarães e colaboradores, realizaram estudos com a mesma ênfase, relatando observações sobre a frequência intra, peri e extradomiciliar de culicídeos em áreas de Mata Atlântica, no município de Itaguaí, litoral sul do estado do Rio de Janeiro (Guimarães et al. 1989). Em localidades próximas, na planície litorânea da baixada de Jacarepaguá, também no estado do Rio de Janeiro, foram realizados estudos sobre a bionomia de culicídeos de habitats originariamente silvestres, mas sob forte impacto pelo processo de urbanização em curso na região, (Lourenço-de-Oliveira, 1984; Lourenço-de-Oliveira et al. 1985; Lourenço-de-Oliveira & Heyden, 1986). Esses últimos autores, relatam o encontro de mosquitos incriminados com a transmissão de patógenos causadores de malária e febre amarela silvestre, em um inquérito culicideano realizado no Parque Nacional do Xingu, ao norte do estado de Mato Grosso (Lourenço-de-Oliveira, 1989).

A partir dos anos 2000, a equipe do Laboratório de Diptera do IOC, desenvolve uma série de estudos sobre a dinâmica populacional de culicídeos em diferentes parques nacionais e estaduais nas regiões sudeste e sul do Brasil. No Parque Estadual da Serra do Mar, no estado de São Paulo, são relatadas observações sobre a ocorrência de culicídeos em diferentes tipos de habitats, considerando a influência dos fatores climáticos, a frequência mensal, o ritmo diário de hematofagia e a possível influência do ciclo lunar (Guimarães et al. 2000a/b/c). Ainda na região sudeste, no Parque Nacional da Serra da Bocaina, na divisa entre os estados de São Paulo e do Rio de Janeiro, o mesmo grupo descreve a frequência mensal e a influência dos fatores climáticos e dos diferentes biótopos sobre a fauna culicideana (Guimarães et al. 2000d, 2001). Na região sul, no Parque Nacional do Iguaçu, estado do Paraná, os estudos restringiram-se a ocorrência dos culicídeos nos diferentes tipos de habitats encontrados (Guimarães et al. 2003).

Nas mesmas localidades e pontos de amostragens do presente relato, a equipe do Laboratório de Diptera do IOC realizou um estudo com objetivo de avaliar o hábito alimentar dos mosquitos, por testes de precipitina, e como resultado da preferência dos culicídeos por realizar o repasto sanguíneo nas várias fontes alimentares presentes no Pantanal Matogrossense, observou que a presença de sangue de aves foi reagente em 35% das amostras, sangue de roedores em 22%, sangue humano em 9% e sangue equino em 8%. As espécies *Ma. titillans*; *Cx. nigripalpus* e *Ps. albigena* foram as mais frequentes e reagiram para todos os anti-soros utilizados, demonstrando ecletismo alimentar. Os anofelinos identificados neste estudo, *An. albitalarsis*; *An. mattogrossensis* e *An. triannulatus* demonstraram um comportamento essencialmente zoofílico, não tendo sido identificada nestes a presença de sangue humano (Alencar et al. 2005).

Em áreas de Mata Atlântica, ainda bem preservadas na região sul do Brasil, o grupo de pesquisas da Universidade Federal do Paraná, sob a orientação da Profa. Anna Lozovei, realizou uma série de observações sobre abundância, frequência, influência do ciclo lunar e variáveis climáticas, para algumas espécies de culicídeos, apresentando também tendências por diferentes tipos de criadouros (Lozovei & Silva, 1999; Lozovei, 2001; Sant'Ana e Lozovei, 2001a,b)

Na reserva urbana do Parque Ecológico do Tietê, no estado de São Paulo, foram realizados estudos sobre os riscos epidemiológicos da ocorrência de doenças causadas por patógenos transmitidos por culicídeos (Taipe-Lagos & Natal, 2003). Nessa mesma linha, Hutchings e colaboradores, no Parque Nacional de Jaú, no estado do Amazonas, realizaram um inquérito sobre a diversidade da fauna de culicídeos e discutiram as possíveis implicações epidemiológicas e ecológicas das espécies encontradas (Hutchings et al. 2005).

A partir dos encontros no Parque Estadual da Ilha Bela, no estado de São Paulo, Marques e Forattini (2008) avaliaram o risco potencial de espécies de culicídeos que se utilizam de bromélias silvestres como locais de postura dos ovos, se adaptarem a utilização daquelas encontradas em ambientes urbano e peri-urbano.

Recentemente, nos estados do Mato Grosso (Melandri et al. 2012) e Mato Grosso do Sul (Pauvolid-Corrêa et al. 2010, 2011, 2013), foram realizados estudos onde, além de evidências sobre a circulação de arbovírus causadores de doenças ao homem e/ou outros animais, são relatados as possíveis espécies de culicídeos com real potencial de estarem envolvidas na transmissão desses patógenos.

1.2 – Justificativa

Declarado pela Organização Educacional, Científica e Cultural das Nações Unidas (UNESCO) como Herança Natural do Mundo, título consagrado às áreas de valor universal excepcional (UNESCO, 2000), o Pantanal é uma vasta planície sedimentar e está entre as regiões brasileiras com mais significativa diversidade específica e, principalmente nos caso dos culicídeos vetores potenciais de patógenos, ainda pouco conhecida sob o aspecto do risco da veiculação de doenças a população nativa e/ou aos milhares de visitantes que ocorrem na região pelo incremento do ecoturismo local.

A escassez de dados quanto a composição específica da fauna de culicídeos, quanto aos fatores ambientais ou de ecologia humana, que interferem direta ou indiretamente na população de mosquitos, além da necessidade de conhecimento quanto a capacidade vetora desses mosquitos, enquanto espécies endêmicas de uma região com grande potencial de introdução de ciclos arbovirais, assim como a manutenção destes, nos parecem ser importantes lacunas a serem preenchidas pelo presente estudo.

Entendemos que o Pantanal apresenta algumas características ecológicas e geográficas que o sensibilizam à eventual circulação e manutenção de ciclos enzoóticos de doenças, além da presença de culicídeos vetores de patógenos associados a doenças típicas do centro-oeste brasileiro, como a febre amarela silvestre, dengue, encefalites e malária, existem outros aspectos faunísticos, como alta riqueza de vida selvagem, por exemplo a presença de aves com hábitos migratórios que, apesar de atualmente discutível, atribui-se como a principal forma de disseminação de muitos vírus transmitidos por mosquitos, e os aspectos das variáveis

climáticas e ambientais que determinam condições únicas deste bioma e que são altamente favoráveis à proliferação de mosquitos vetores, tornando a região uma área fundamental para a vigilância entomológica, com foco em ciclos enzoóticos, no Brasil.

Dessa forma, considerando a carência e a importância desses estudos, o conhecimento da estrutura biocenótica e as respectivas configurações bioecológicas e, conseqüentemente, aspectos epidemiológicos em localidades onde ainda permanece desconhecida a biodiversidade da fauna de culicídeos e a potencialidade em transmitirem doenças ao homem e/ou a outros animais, é de grande relevância científica e benéfica à população, avaliar novas situações de risco para ocorrência de doenças em áreas onde as características ambientais e a composição das populações de mosquitos sejam favoráveis, como nos parece ser o caso do Pantanal Matogrossense.

2 – OBJETIVOS

2.1 – Objetivo Geral:

Conhecer a biodiversidade e a estrutura bioecológica das comunidades de culicídeos (Diptera: Culicidae), considerando características intrínsecas da região e a possibilidade de transmissão de doenças ao homem e/ou a outros animais em áreas do Pantanal Matogrossense.

2.2 – Objetivos Específicos:

1 – Realizar inquérito da composição da fauna de culicídeos em quatro localidades do Pantanal Matogrossense;

2 – Estabelecer a curva da densidade populacional das principais espécies de mosquitos ao longo dos períodos de coleta;

3 – Verificar correlação entre incidência das espécies de culicídeos com variáveis climáticas locais, em especial: temperatura, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica;

4 – Caracterizar a fauna de culicídeos quanto à riqueza, abundância, diversidade e equitabilidade das espécies, dos quatro pontos de amostragens, considerando os períodos anual das precipitações pluviométricas;

5 – Comparar a similaridade de distribuição da densidade populacional dos culicídeos, entre os quatro pontos de amostragens, nos períodos de chuva e de estiagem;

6 – Detectar a presença de possíveis anticorpos específicos contra vírus da família Flaviviridae nos reservatórios/hospedeiros domésticos (aves e equinos), normalmente mantidos em cativeiro nas fazendas próximas aos locais de amostragens da fauna culicideana (Anexo I).

3 – MATERIAL E MÉTODO

Visando o conhecimento de alguns aspectos da ecologia dos culicídeos vetores potenciais de agentes etiológicos causadores de doenças ao homem e/ou a outros animais em áreas do Pantanal Matogrossense, estado de Mato Grosso, foram realizadas capturas sistematizadas, em armadilhas tipo CDC e Shannon, em períodos diurnos e noturnos, ao longo de 24 horas consecutivas, em ambiente silvestre, em 12 campanhas de campo, por cinco dias sequenciais cada, bimestralmente, de março de 2009 a janeiro de 2011.

3.1 – Área Estudada

3.1.1 – Localização e Características Principais

O Pantanal Matogrossense é uma vasta planície sedimentar de aproximadamente 140.000Km² localizada na América do Sul. A planície é limitada pelo planalto central brasileiro a leste e pela elevação andina a oeste, compreende uma extensa faixa de depressão pré-andina, de origem terciária, tendo a sua estrutura geomorfológica caracterizada a partir do surgimento da Cordilheira dos Andes. A formação atual do Pantanal Matogrossense deveu-se a sucessão de eventos erosivos, provocando o recuo das escarpas e encostas. Essas atividades propiciaram estrutura geológica específica e forneceram os sedimentos formadores as regiões típicas do pantanal, com depósitos aluviais de sedimentos argilosos, argilo-arenosos e areno-conglomeráticos, formando solos com características impermeáveis, com substratos favoráveis a diferentes tipos de coberturas vegetais (IBGE, 1988).

A região pertence à Sub-bacia hidrográfica do rio Paraguai que, por sua vez, integra a bacia hidrográfica do rio da Prata, abrangendo território brasileiro, boliviano

e paraguaio. Entretanto, a cerca de 85% da região pantaneira encontram-se no Brasil em uma área de aproximadamente 600km no sentido Norte-Sul e em alguns pontos 250km no sentido Leste-Oeste. Em território brasileiro, estima-se que 35% da região se localizam no estado de Mato Grosso (MT) e 65% Mato Grosso do Sul (MS) (Alho et al. 1988).

Segundo Sanchez (1977) a grande área denominada de Pantanal Matogrossense é na realidade constituída por várias “sub-bacias pantaneiras”, formando diferentes “pantanais”, com múltiplos fatores de controle variáveis, considerando-se a complexa dinâmica fluvial da região, sendo parte integrante da bacia hidrográfica do alto rio Paraguai.

O rio Paraguai, com origem na chapada dos Parecis, em Diamantino, no estado do Mato Grosso, o segundo mais importante rio de planície brasileiro, superado apenas pelo rio Amazonas, é o principal responsável pela formação do Pantanal Matogrossense. Ao longo dos 1.693km em território brasileiro, o rio Paraguai apresenta dois dos principais segmentos ligados a formação do Pantanal Matogrossense, ou seja: “Paraguai Superior”, onde estão as nascentes, entre as serras, que lhe dão um aspecto mais tormentosos, com inúmeras corredeiras, e o “Alto Paraguai”, onde inicia o seu curso normal, com margens mais baixas e alagáveis, formando uma imensa bacia, como uma “entrada para o pantanal”, a cerca de 300km da nascente. A partir desse ponto, o rio Paraguai apresenta em média quatro metros de profundidade, 100 metros entre as suas margens, formando muitas lagoas e braços d’água (IBGE, 1988).

O complexo relevo da região caracteriza-se por formações típicas, como por exemplo: a- “baías”, que podem ser circulares, muitas vezes com água salobra, podendo atingir a centena de metros entre as margens; b- “cordilheiras”, áreas

elevadas, cerca de 2 metros de altura, geralmente entre as baías, onde geralmente estão as fazendas e locais de abrigo para o gado; c- “vazantes”, locais de escoadouro para as baías e rios, podem ser transitórias ou perenes e atingir alguns quilômetros de extensão; d- “corixos”, são pequenos cursos d’água que interligam as baías e apresentam alta ação erosiva (IBGE, 1988).

Apesar das diferenças climáticas de uma sub-região para outra, do ponto de vista da intensidade e da distribuição de chuva e temperatura, o clima na região apresenta basicamente duas estações climáticas distintas, a estação chuvosa, que vai entre final de novembro até início de maio, e a estação seca. A alternância de fortes estiagens e de grandes enchentes é o mecanismo regulador que exerce um perfeito controle sobre a atividade da maior parte dos abundantes seres vivos que habitam o Pantanal (Moraes et al. 2000).

A partir do século XVIII, a ocupação humana no Pantanal Matogrossense esteve sempre diretamente ligada ao regime hidrológico da região. Inicialmente pela atividade garimpeira, que trazia grandes contingentes, vindos principalmente de São Paulo, pelas vias fluviais formadas pelos rios Paraguai, São Lourenço e Cuiabá, no estado do Mato Grosso. Quase que paralelamente, com intensa exploração das primeiras fontes de riquezas minerais, iniciou-se a atividade pecuária, que permanece como uma das mais importantes do país até os dias de hoje. Se por um lado, o longo período das cheias faz com que os rebanhos de gado tenham de ser deslocados, por centenas de quilômetros, para terrenos mais elevados, a possibilidade do regresso as áreas originais no período de estiagem, com o retorno das águas ao curso normal, favorece significativamente ao surgimento de extensas áreas de pastagem pela renovação da fertilidade dos solos. Com as dificuldades iniciais e naturais do mercado, os rebanhos mantidos no pantanal foram basicamente mestiço, recebendo a

denominação, não muito nobre à época, de “gado pantaneiro”. Nesse período o gado abatido era utilizado para suprir ao mercado de couro e ao consumo de charque no nordeste do país. A partir dos anos de 1930 e 1940 novas técnicas de criação foram introduzidas e reprodutores do tipo Gir deram significativa melhoria aos rebanhos locais. Entre os anos de 1960 e 70, com a introdução do Nelore, raça que predomina hoje em todo Pantanal, os rebanhos atingiram alto padrão para corte e passaram ser intensamente comercializados, especialmente para o oeste do estado de São Paulo (Domingues, 1955; Jesus & Lima 2003).

Recentemente, a partir dos anos de 1970, vem sendo implementada na região estímulos a atividades ligadas ao ecoturismo. Além daquelas diretamente relacionadas ao lazer, como a pesca, observação diurna de pássaros e noturna de répteis e/ou mamíferos de grande porte, encontramos também o comércio de carne e o tradicional de cerâmica artesanal, nas vilas ao redor do município de Poconé. Entretanto, se por um lado essas atividades trazem novas fontes de recursos para as comunidades locais, por outro, intensificam a predação da fauna silvestre e aumenta o risco para o surgimento de doenças causadas por patógenos e transmitidos por culicídeos, como, por exemplo, vírus causador da Febre do Oeste do Nilo (WNV), conforme relatam Melandri et al. 2012 (Anexo I).

3.1.2 – Vegetação e Fauna

A baixa declividade na região dificulta o escoamento das águas que em combinação com o mesorelevo origina ambientes característicos, associados à vegetação em mosaico, como as “cordilheiras” com vegetação arbórea mais densa. A vegetação pantaneira incorpora também elementos das províncias fitogeográficas adjacentes, como o Cerrado a leste, florestas semidecíduas relacionadas com a Amazônia a nordeste e a floresta chaquenha seca a sudoeste da região. De acordo com os aspectos fitofisionômicos foram identificadas 16 classes de vegetação no Pantanal estando entre as principais: campo, cerradão, cerrado, brejo, mata semidecídua, mata de galeria e baceiro (Silva et al. 2000). A essa pluralidade ecológica são atribuídas a grande diversidade e produtividade biológica da região (Britski et al. 1999)

No geral, a configuração fitogeográfica do Pantanal apresenta espécies com características de áreas do Cerrado, com aspecto tortuoso, recobertas com casca de espessa suberificação e com folhas coriáceas e muitas cactáceas, como por exemplo o *Cereus peruvianus*. Nas áreas com fragmentos de Floresta Estacional Decidual, semelhante aquelas encontradas na Amazônica, podemos encontrar árvores de maior porte e também, principalmente nas áreas permanentemente alagadas, espécies típicas, como a vitória-régia (*Victoria amazonica*). Nas áreas de capões de mata, principalmente nos períodos mais secos, encontramos o cambará (*Vochysia divergens*) e as palmeiras de buriti (*Mauritia flexuosa*), entremeadas por diversas formações arbustivas de macaúbas (*Acronomia* sp.) e maior porte, como as piúvas (ipês – *Tecomis* sp.), com florações fortemente amarelas ou arroxeadas (Jesus & Lima, 2003).

Entre as 1.700 espécies de fanerógamas conhecidas do Pantanal, cerca de 150 são tipicamente aquáticas e tem o ciclo das águas como determinante para a sua ocorrência. Nas múltiplas baías do Pantanal se destacam as extensas comunidades de pístias (*Pistia* sp.) e aguapés (*Eichornia* sp.), intercaladas por densos taboais (*Typha* sp.) (Pott, 2011).

Em virtude das características peculiares da planície, foi selecionada ao longo dos séculos a exploração extensiva da pecuária de corte em pasto nativo como a principal atividade econômica na região. A presença de grandes espelhos d'água, principalmente no verão, limita a área de pastejo do gado que associado a composição da flora forrageira do Pantanal, considerada de baixa qualidade, impõe a necessidade de grandes áreas de pasto para o rebanho bovino da planície (Rosa & Melo, 1995 e Moraes et al. 2000). No Pantanal são necessários em média 3,6 hectares para cada cabeça de gado, enquanto no Cerrado do planalto adjacente a média é de um hectare para cada cabeça de gado. Nestas condições, a bovinocultura de corte é desenvolvida extensivamente, em sistemas onde predominam as fases de cria e recria. Atribui-se a isso a atual estrutura fundiária do Pantanal, caracterizada por grandes propriedades (Rosa & Melo, 1995).

A fauna de vertebrados, apesar de constante e duramente castigada pela ação predatória do homem, em atividades extrativistas e/ou pelo ecoturismo de lazer, ainda é expressivamente encontrada, especialmente a ornitofauna residente ou oriunda de processos migratórios, tais como: garças (*Casmerodius* sp.), seriemas (*Cariama* sp.), biguás (*Phalacrocorax brasilianus*), papagaios (*Amazona* sp.), araras (*Ara* sp.), martins-pescador (*Ceryle* sp.), sem falar da principal delas, típica do Pantanal, o tuiuiú (*Jabiru mycteria*), as quais se juntam uma variedade de pássaros canoros com suas vistosas plumagens (Pádua e Coimbra Filho, 1979).

Periodicamente o Brasil é visitado por milhares de aves que realizam movimentos sazonais entre América do Norte e América do Sul. Dentre as espécies que são registradas em território nacional, destacam-se aquelas que migram com a proximidade do inverno no hemisfério Norte, chamado inverno boreal, que ocorre de dezembro a março (Antas, 1994). Estas aves são consideradas as grandes migrantes em virtude das grandes distâncias percorridas entre os pontos de reprodução no Ártico até o Brasil. Para alcançar a Patagônia, ponto principal de concentração dessas aves, entram pelo país pela costa atlântica e pela Amazônia, cruzando a região central da América do Sul através do Pantanal (Sick, 1983).

O Pantanal em sua complexidade ecológica alberga uma das maiores e mais ricas concentrações de aves do planeta, especialmente as aquáticas, mais adaptadas às condições ambientais da planície. As espécies migrantes vêm ao Brasil a procura de locais de invernada, onde encontram alimentação farta, propiciando-lhes a continuidade do seu ciclo de vida (Moraes et al. 2000). Em recente revisão a atualização da listagem de espécies registradas na região, foi reportada a ocorrência de espécimes identificados a 470 espécies sendo 133 de hábitos migratórios. As espécies migrantes observadas no Pantanal apresentam-se taxonomicamente distribuídas em 32 famílias de distintas ordens, contudo 48% destas espécies estão classificadas à ordem Passeriformes (Tubelis & Tomas, 2002 e Nunes & Tomas, 2008). De acordo com o hábito migratório dessas 133 espécies, 34 são migrantes de longa distância setentrionais, oriundas do extremo norte do continente americano, 24 migrantes de longa distâncias meridionais, oriundas do extremo sul da América do Sul, 34 migrantes do sul do continente americano, oriundas de países como Uruguai e Argentina e 41 oriundas de deslocamentos regionais dentro do Brasil (Nunes & Tomas, 2008).

Dentre os mamíferos e répteis de grande porte, destacam-se a ariranha (*Pteronura brasiliensis*), a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), a anta (*Tapirus terrestris*), o veado pantaneiro (*Blastocerus dichotomus*), o jaguar (*Panthera onca*), a suçuarana (*Puma concolor*) e o jacaré do pantanal (*Caiman yacare*). De uma maneira geral a fauna do Pantanal é bastante diversificada, apresentando cerca de uma centena de espécies de mamíferos, 150 de répteis, 250 de peixes, 50 de anfíbios e mais de 700 tipos diferentes de aves (Jesus & Lima, 2003). No caso da alta diversidade das aves, em especial, apresentam a importância de poderem atuar como reservatórios de aborvírus.

3.1.3 – Pontos de Amostragem

As áreas estudadas estão localizadas ao longo da estrada Parque Transpantaneira – EPT (Figura 1), criada em 26 de julho de 1996, através do decreto N°1028, compreendendo cerca de 8.647 hectares, entre as localidades de Poconé no estado de Mato Grosso e Porto Jofre, já na divisa com o estado de Mato Grosso do Sul, na área conhecida como “Pantanal de Poconé (Pantanal do Cuiabá – Bento Gomes – Paraguaizinho).

Foram selecionados quatro pontos de amostragem, A/B/C/D (Figura 1), visando estabelecer a influência exercida pela cobertura vegetal e variações climáticas entre os diferentes biótopos, inseridos em uma mesma região do Pantanal Matogrossense, abrangendo as áreas mais afetadas e/ou impactadas pelos períodos de enchente, cheia, vazante e seca do Pantanal, sendo a vazante caracterizada quando as águas passavam a baixar e correr para os leitos natural dos rios. Os pontos de amostragens foram os seguintes:

Ponto A – Coordenadas: S16° 39’54.3” W56° 47’38.2”

Localizado às margens da estrada Parque Transpantaneira, à 20Km do Posto do IBAMA, na entrada principal do parque, caracterizada por uma área intensamente alagada durante o período das cheias e proporcionalmente árida no período da seca. A vegetação tem configuração semelhante a uma “savana estépica”, com arbustos e árvores de pequeno porte, espinhosos e resistentes ao solo árido, mantendo refúgios para a fauna local. As espécies de culicídeos aí encontradas recebem a influência direta da vegetação aquática, principalmente aguapés verde e roxo, taboas e ninfeáceas, que recobrem totalmente as grandes coleções d’água resultantes dos alagamentos durante as cheias (Figura 2).

Ponto B – Coordenadas: S16° 44' 56.3" W56° 51' 32.6"

Localizado na interseção entre a estrada Parque Transpantaneira e o rio Pixaim, à 65Km do Posto do IBAMA, na entrada principal do parque, esse ponto recebe influência direta da atividade antrópica pela presença do Hotel Pantanal de Mato Grosso. As áreas alagadas são menos intensas pela drenagem das águas para o rio Pixaim. Além da oferta de sangue dos hospedes e funcionários do hotel, a fauna culicídeana também é favorecida pela presença de animais silvestre que se aproximam a busca de alimento (Figura 3).

Ponto C – Coordenadas: S16°51'10.2" W56° 50'06.8"

Localizado às margens da estrada Parque Transpantaneira, à 77Km do Posto do IBAMA, na entrada principal do parque, apresenta vegetação característica de cerrado, com arbustos de porte médio, como os buritis, e árvores, como as piúvas (ipês), que podem alcançar cerca de 10m de altura. Embora a copa da vegetação possa estar interligada em alguns pontos, ao contrário do observado no Ponto D (Figura 5), permite a penetração da luz solar, e conseqüentemente a formação de vegetação arbustiva de menor porte, como as macaúbas. Toda a área é densamente coberta por um vasto tapete de gramíneas (tabocas), que são completamente alagadas durante o período das cheias (Figura 4).

Ponto D – Coordenadas: S16°53'30.1" W56° 50'37.3"

Localizado às margens da estrada Parque Transpantaneira, à 92Km do Posto do IBAMA, na entrada principal do parque, apresenta vegetação com aspecto de mata-de-galeria ou mata ciliar, sendo capaz de manter criadouros de culicídeos, nos vários ocos das árvores de maior porte, mesmo durante os períodos de longa estiagem.

Dentre todos os biótopos onde foram realizadas as amostragens, é a área mais representativa da Floresta Estacional Decidual do Pantanal, com densa vegetação interligadas pela copa arbórea e intensamente ornamentada por bromeliáceas e outras epífitas. Fora do período das cheias, encontramos ainda pequenas coleções pantanosas, garantindo ao solo, ainda bastante arenoso, farto material de folhiço em processo de edafização (Figura 5).

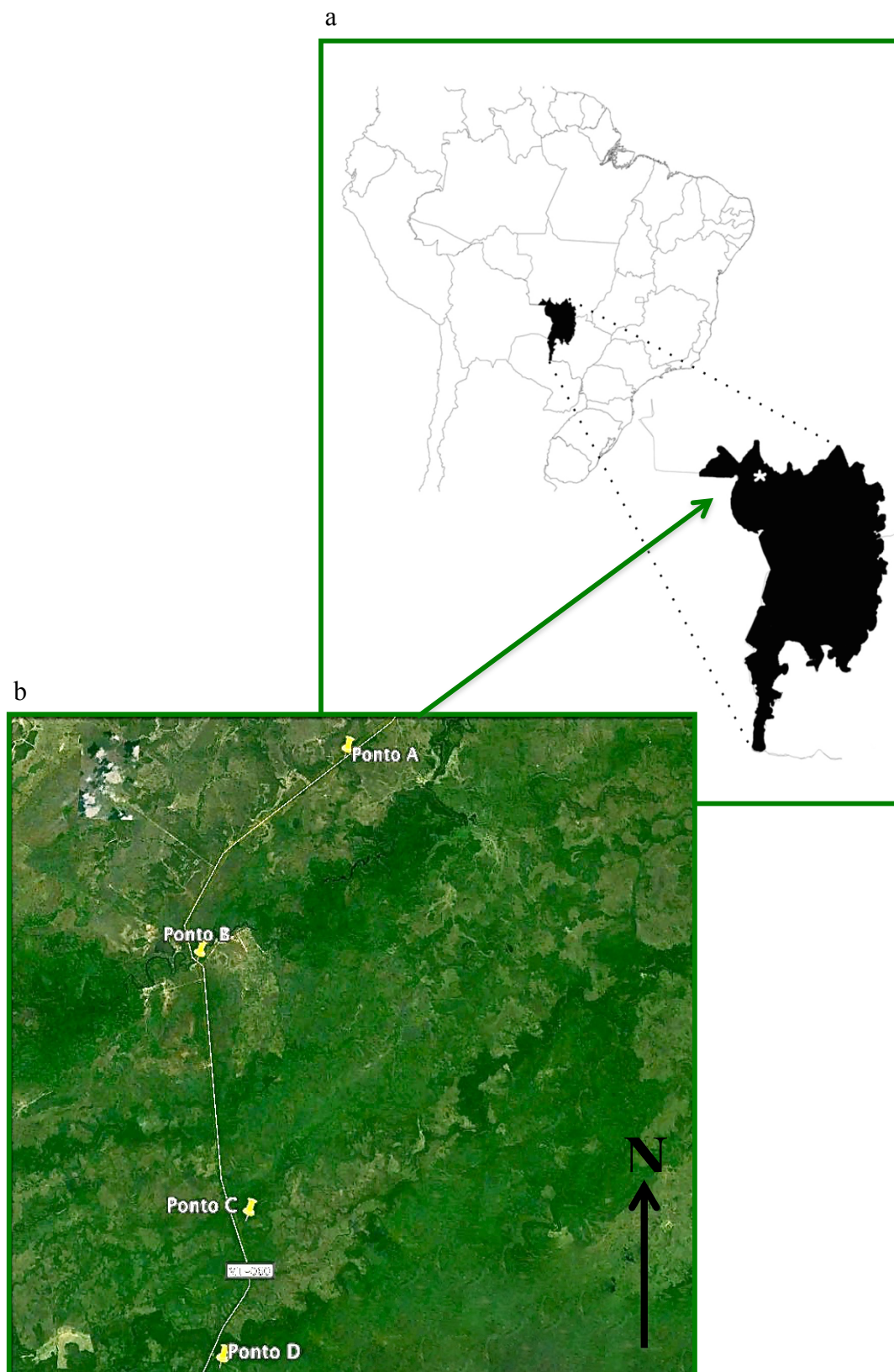


Figura 1: a) Localização no mapa do Brasil e b) na estrada Transpantaneira do Pantanal Matogrossense dos pontos de amostragem de culicídeos: A/B/C/D



Figura 2: a) Configuração geral do Ponto A de amostragens de culicídeos, nos períodos de b/c) estiagem e de d/e) cheia no Pantanal Matogrossense.

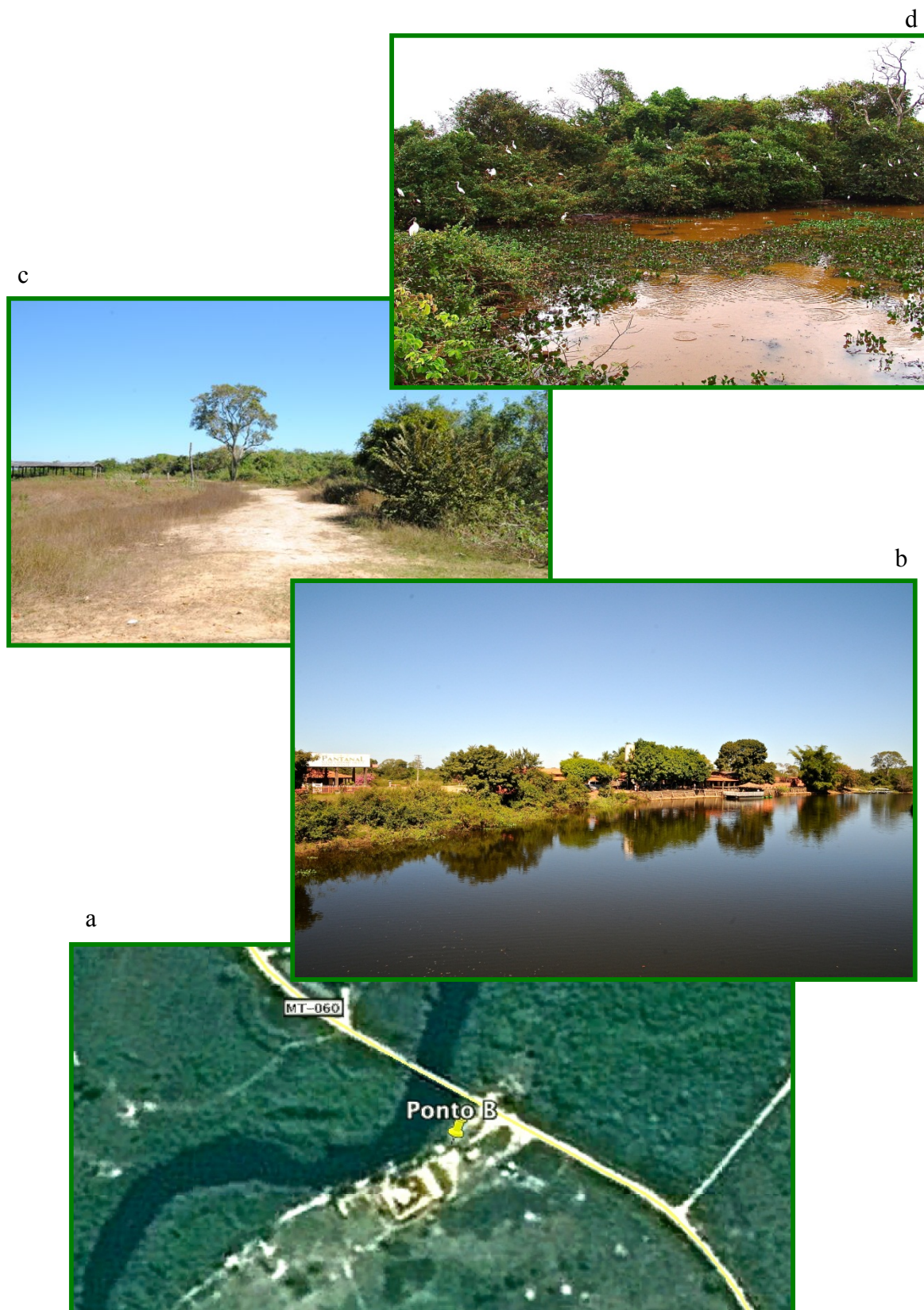


Figura 3: a) Configuração geral do Ponto B de amostragens de culicídeos, nos períodos de b/d) cheia e de c) estiagem no Pantanal Matogrossense.



Figura 4: a) Configuração geral do Ponto C de amostragens de culicídeos, nos períodos de b/c) cheia e de d/e) estiagem no Pantanal Matogrossense.



Figura 5: a) Configuração geral do Ponto D de amostragens de culicídeos, nos períodos de b/c) cheia e de d/e) estiagem no Pantanal Matogrossense.

3.2 – Características e Metodologias das aferições climáticas

Com médias anuais de temperatura em torno de e 24°C o clima geral para a região, onde estão localizados os pontos de amostragem ao longo ETP, pode ser definido como Clima Tropical Quente Subúmido (tU), com estações chuvosas e seca bem marcadas (Nimer, 1972). Excluindo as áreas úmidas e subquentes, onde observamos períodos relativamente frios, durante o período de estiagem a região mantém temperaturas amenas até o início das grandes chuvas, quando, com os solos saturados de umidade, as temperaturas permanecem bastante elevadas (Nimer, 1972; Schults e De-Lamonica-Freire, 2000).

Durante as amostragens foram aferidas as variações de temperatura e de umidade relativa do ar a cada hora. Foram utilizados termo-higrômetros de máxima e mínima, marca Oregon Scientific, com três coletores de dados acionados por tecnologia “radio controle”, fixados no local de captura e a um metro de altura do solo. Os dados climáticos aferidos foram transcritos para fichas de campo, com a descrição do local e data da amostragem. As medições das precipitações pluviométricas e dados complementares de temperatura e umidade foram obtidos junto ao Serviço Nacional de Meteorologia, INMET, através da Estação de CACERES - MT (OMM: 83405).

3.3 – Metodologia das Amostragens

As amostragens foram realizadas bimestralmente, de março de 2009 a janeiro de 2011, em períodos diurnos e noturnos, ao longo de 24 horas consecutivas. A cada período de amostragem, por cinco dias consecutivos, foram capturados os culicídeos atraídos por armadilha Shannon, iluminada com lampião a gás de 100w, e armadilhas tipo CDC: noturnas, mantidas ativas entre as 18h e 6h do dia seguinte, com atração por luz incandescente e/ou Led e diurnas, com atrativo simulador da presença humana (Lure) e CO₂, mantidas ativas em períodos matutinos e vespertinos (Figuras 6 e 7).

Todos os mosquitos capturados, após triagem preliminar ainda no campo (Figura 8), foram mortos pela exposição a baixas temperaturas e acondicionados em caixas padronizadas, segundo as características de cada amostragem. Numeradas sequencialmente e com equivalência às fichas de campo correspondentes, as caixas foram levadas ao laboratório para triagem final e identificação dos mosquitos. Os espécimes foram incorporados a Coleção do Laboratório de Diptera do Instituto Oswaldo Cruz, sob o título de "Coleção Pantanal Matogrossense".

Os estudos taxonômicos foram realizados pela observação direta dos caracteres morfológicos evidenciáveis ao microscópio estereoscópico, marca Zeiss, e baseada nas chaves dicotômicas elaboradas por Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994) e Forattini (2002). As abreviaturas dos nomes genéricos e subgenéricos seguem a proposta de Reinert (2001).

Consideramos para o *Anopheles albitarsis* e *An. triannulatus* o caráter *sensu lato*, pois ambas apresentam populações com variações morfológicas somente distinguíveis através de técnicas de taxonomia bioquímica e/ou molecular, sendo consideradas um complexo de espécies crípticas, cujos espécimes ainda são dificilmente separados (Kreutzer et. al., 1976; Deane, 1988; Rosa-Freitas et al. 1990; Klein et al. 1990).



Figura 6: Captura de culicídeos em armadilha de Shannon, com auxílio e capturador manual, nos pontos de amostragem ao longo da Estrada Parque Transpantaneira no Pantanal Matogrossense.



Figura 7: Armadilhas tipo CDC utilizadas para captura de mosquitos no Pantanal Matogrossense: a) CDC com atrativo humano (Lure – diurna e noturna); b) CDC com gelo seco – CO₂ (diurna); c) CDC com luz incandescente (noturna); d) CDC com LED (noturna).



Figura 8: Triagem das armadilhas de CDC em áreas próximas aos pontos de amostragens (A/B/C/D) localizados ao longo da Estrada Parque Transpantaneira.

3.4 – Análise dos dados

Os dados foram trabalhados de maneira a expressar a relação ecológica existente entre as populações de culicídeos e os fatores ambientais da área estudada. As representações gráficas e análises estatísticas foram realizadas sobre os valores absolutos de todas as espécies de mosquitos que ocorreram em percentuais acima de 5% dentro de cada subfamília (Tabela 2). A seleção dentro das subfamílias é devido ao grau de afinidade existente, evitando possíveis distorções quantitativas e qualitativas se os mosquitos fossem tomados como um todo. Entretanto, para os cálculos dos índices de diversidade, por se tratar de uma avaliação bioecológica, onde é levado em consideração a presença ou ausência das espécies, foi considerada a riqueza total do ambiente, inclusive das espécies que tiveram ocorrência inferior a 5%.

3.4.1 – Cálculo da Média de Williams (X_w)

No tratamento de alguns dados foi utilizado o cálculo da média de Williams (X_w) (Williams, 1937; Haddow, 1960). Este cálculo tem como base os valores das incidências dos mosquitos ao longo dos períodos de estudo da região. Dessa maneira, calculou-se a média de Williams das ocorrências de cada espécie, estabelecendo a frequência média de cada espécie. Este cálculo visa evidenciar a tendência de distribuição natural das espécies dentro do período anual, permitindo relacionar suas ocorrências com a homogeneidade de sua distribuição, sem a interferência acentuada de incidências extremas relacionadas a particularidades de cada momento de coleta.

Cálculo da Média de Williams:

$$\text{Log}(X_w + 1) = \frac{\sum_{i=1}^n \log(n_i + 1)}{N}$$

Onde,

n_i = número de espécimes capturados

N = número de capturas

3.4.2 – Distribuição Sazonal

Foram feitos gráficos das curvas populacionais de cada uma das espécies de mosquitos. Foi estabelecido o intervalo de tolerância para cada um desses gráficos, onde foi considerada uma faixa dentro da qual é esperada a flutuação natural da espécie em questão. Quando a curva populacional se projeta para fora da faixa, tem-se evidenciado um momento fora do padrão normal de flutuação dessa população. O intervalo de tolerância é definido pelo valor médio da curva estabelecendo os limites máximo e mínimo de tolerância para a flutuação da população. O intervalo de confiança foi de 95 %, sendo calculado da seguinte forma:

$$\text{Limite superior } 95\% \text{ IC} = \text{média} + 1,96\text{EP}$$

$$\text{Limite inferior } 95\% \text{ IC} = \text{média} - 1,96\text{EP}$$

$$\text{EP} = \text{DP} / \sqrt{N}$$

Onde,

EP = erro padrão;

DP = desvio padrão e

N = número de dados da amostra.

3.4.3 – Influência dos fatores climáticos na densidade de mosquitos

Para determinar a influência desses fatores climáticos sobre a incidência da fauna de culicídeos foi utilizado coeficientes de correlação linear. Os valores absolutos das espécies de mosquitos coletadas ao longo do estudo foram correlacionados de acordo com valores aferidos de cada variável climática (pluviometria, umidade e temperatura).

Segundo Ayres *et. al.* (2007) a análise de correlação proporciona um meio de se verificar o grau de associação entre duas ou mais variáveis. Tal nível de associação pode ser mensurado através da determinação do coeficiente de correlação linear de Pearson. Os valores resultantes da correlação entre duas variáveis lineares estarão sempre entre +1 e -1; o que irá indicar se a correlação é positiva ou negativa e a força da correlação é confirmada pelo *r* crítico calculado para o limite de confiança de 95%. O coeficiente de correlação linear de Pearson pode ser calculado através da fórmula:

$$r = \frac{\left[\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n} \right]}{\sqrt{\left[\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n} \right] \times \left[\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} \right]}}$$

Onde,

r = coeficiente de correlação;

x e y = observações das variáveis X e Y;

n = número de pares de observações.

3.4.4 – Índice de abundância ISA/SISA

Para avaliar as espécies mais abundantes de mosquitos em cada área foi utilizado o “Index of species abundance” (ISA), que foi convertido em uma escala entre zero e um pelo “standardised index of species abundance” (SISA), segundo as definições de Roberts & Hsi (1979). Neste índice, o valor 1 corresponde às espécies mais abundantes. Esses índices foram calculados pelas fórmulas:

$$ISA = a + R_j / K$$

$$SISA = c - ISA / c - 1$$

Onde:

a: número de amostragens em que a espécie esteve ausente multiplicado por c;

c: Para cada amostragem, deve-se distribuir as espécies em postos, que variam de 1 a n (atribuindo-se o valor 1 para a espécie mais frequente). O c compreende o maior valor de n obtido, considerando todas as amostragens, acrescido de 1;

R_j: Somatório das posições de cada espécie;

K: número de amostragens.

3.4.5 – Coeficiente de Similaridade

Para avaliar o grau de similaridade existente entre as espécies de mosquitos que ocorreram entre os pontos de coleta e entre os períodos de chuva e de estiagem, foi utilizado o teste de hipóteses *T-student* de comparação entre grupos independentes. O testes estatístico fornece o ***p-valor*** (valor de probabilidade) que permite decidir, com base nos dados, se há evidência suficiente para rejeitar a hipótese da nulidade, que na grande maioria das vezes, afirma não existir diferença entre grupos de dados. Por convenção, se o ***p-valor*** é menor do que 0,05 ($p < 0,05$), a

hipótese da nulidade deve ser rejeitada. Em outras palavras, se $p < 0,05$, os resultados são estatisticamente significantes.

3.4.6 – Índices de Diversidade e Equitabilidade

Estes índices levam em conta tanto a abundância quanto a riqueza de espécies. O índice de Equitabilidade verifica a distribuição homogeneia de espécimes pelas espécies. O aumento do número de espécies ou o aumento da uniformidade das abundâncias entre as espécies interfere também no índice de Diversidade.

Os índices mais utilizados para verificar diversidade e equitabilidade são os índices de Diversidade Shannon-Wiener (H') e o índice de Equitabilidade Shannon-Wiener (E_H), utilizados em situações em que a comunidade inteira não pode ser inventariada, sendo apropriado para amostras aleatórias de espécies de uma comunidade ou subcomunidade de interesse, neste estudo foi utilizado para comparar a fauna culicidiana em cada area de amostragem, sendo estimados através das seguintes equações:

$$H = \sum p_i \ln p_i$$

Onde,

p_i : proporção da espécie em relação ao número total de espécimes encontrados nos levantamentos realizados ; e

$$E_H = H/H_{m\acute{a}x}, \text{ e } H_{m\acute{a}x} = \ln S$$

Onde,

H: índice de Shanon-Weaner e s é o número de espécies amostradas.

4 – RESULTADOS

4.1 – Inquérito geral dos dados coletados

Foram capturados 17.533 espécimes, abrangendo duas subfamílias, nove gêneros e 44 espécies. A subfamília Anophelinae foi representada pelo gênero *Anopheles*, com representantes de 11 espécies. A subfamília Culicinae foi representada por oito gêneros e 33 espécies (Tabelas 1 a 3):

Anopheles (Anopheles) mattogrossensis Lutz & Neiva, 1911

Anopheles (Anopheles) minor Lima 1929

Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis Lynch-Arribalzaga, 1878

Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi Root, 1926

Anopheles (Nyssorhynchus) evansae, (Brethes, 1926)

Anopheles (Nyssorhynchus) galvoi Causey Deane & Deane, 1945

Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi (Peryassú, 1922)

Anopheles (Nyssorhynchus) rondoni (Neiva & Pinto, 1922)

Anopheles (Nyssorhynchus) strodei Root, 1926

Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus (Neiva & Pinto, 1922)

Anopheles (Nyssorhynchus) rangeli Gabald, Covo et Lopez, 1940

Aedeomyia (Aedeomyia) squamipennis (Lynch Arribalzaga, 1878)

Coquilletidia (Coquilletidia) juxtamansonia (Chagas, 1907)

Coquilletidia (Rhynchotaenia) chrysonotum (Peryassu, 1922)

Coquilletidia (Rhynchotaenia) fasciolata Lynch-Arribalzaga, 1891

Coquilletidia (Rhynchotaenia) shannoni Lane e Antunes, 1937

Coquilletidia (Rhynchotaenia) venezuelensis (Theobald, 1912)

Culex (Culex) declarator Dyar and Knab, 1906

Culex (Culex) nigripalpus Theobald, 1901

Culex (Culex) quinquefasciatus Say, 1923

Mansonia (Mansonia) humeralis Dyar & Knab, 1916

Mansonia (Mansonia) indubitans Dyar & Shannon, 1925

Mansonia (Mansonia) titillans (Walker, 1848)

Ochlerotatus (Howardina) fulvithorax (Lutz, 1904)

Ochlerotatus (Ochlerotatus) fluviatilis (Lutz, 1904)

Ochlerotatus (Ochlerotatus) fulvus (Wiedmann, 1828)

Ochlerotatus (Ochlerotatus) rhyacophilus Costa Lima, 1933

Ochlerotatus (Ochlerotatus) scapularis (Rondani, 1848)

Ochlerotatus (Ochlerotatus) serratus (Theobald, 1901)

Psorophora (Janthinosoma) albigenu (Peryassú, 1908)

Psorophora (Janthinosoma) discruciens (Walker, 1856)

Psorophora (Janthinosoma) ferox (Von Humboldt, 1819)

Psorophora (Psorophora) ciliata (Fabricius, 1794)

Sabethes (Sabethes) albiprivus Theobald, 1903

Sabethes (Sabethes) purpureus Theobald, 1907

Sabethes (Sabethoides) chloropterus Humboldt, 1819

Uranotaenia (Uranotaenia) apicalis Theobaldi, 1903

Uranotaenia (Uranotaenia) calosomata Dyar & Knab, 1907

Uranotaenia (Uranotaenia) ditaenionota Prado, 1931

Uranotaenia (Uranotaenia) geometrica Theobald, 1901

Uranotaenia (Uranotaenia) leucoptera (Theobald, 1907)

Uranotaenia (Uranotaenia) pulcherrima Lynch-Arribalzaga, 1891

Uranotaenia (Uranotaenia) lowii Theobald, 1901

Uranotaenia (Uranotaenia) pallidoventer Theobald, 1903

Analisando a fauna total de mosquitos segundo as subfamílias a qual pertencem, foi constatado que os culicíneos foram mais numerosos do que os anofelinos. Cerca de 78% dos espécimes encontrados pertenciam à subfamília Culicinae e destes, 60% eram *Culex*. A subfamília Anophelinae foi representada por 22% do total de espécimes capturados. Dentre os anofelinos, a espécie de maior ocorrência foi o *An. evansae*, com 24,9% dos anofelinos encontrados; e dentre os culicíneos capturados, as espécies de maior ocorrência foram: *Cx. nigripalpus* (24,7%), *Cx. declartator* (23,6%), *Ps. albigenu* (15,8%) e *Cx. quinquefasciatus* (11,6%) (Tabela 4).

Conforme descrito na metodologia de amostragens, não foram realizadas capturas com a utilização de humanos como atrativos para as espécies de mosquitos. Assim, considerando que as fontes atrativas para essas espécies nas amostragens diurnas estiveram restritas as armadilhas CDC, com simulador da presença humana (Lure) e CO₂, praticamente não foram capturados espécimes de sabetíneos, mosquitos essencialmente diurnos. As raras ocorrências, que foram desconsideradas para as análises realizadas, estiveram limitadas as seguintes espécies: *Sabethes albiprivus* Theobald, 1903, *Sabethes purpureus* Theobald, 1907, *Sabethes chloropterus* Humboldt, 1819.

Dentre os culicídeos encontrados nas quatro áreas de estudos no Pantanal Matogrossense, alguns tem sido relatados como vetores de patógenos causadores de doenças ao homem e/ou a outros animais. Destes, destacamos a forte ocorrência de *Culex quinquefasciatus* e *Cx. nigripalpus*, que são os principais vetores do WNV no continente Norte-americano, em especial em áreas urbanas e rurais dos Estados Unidos da América. Visando conhecer o papel epidemiológicos dessas espécies no Pantanal Matogrossense, foi realizada busca ativa, por sorologia, da presença do

WNV em aves e equinos mantidos em cativeiro em algumas das fazenda existentes nas áreas próximas aos pontos onde foram realizadas as capturas dos espécimes adultos de culicídeos (Melandri et al. 2012 – Anexo I).

Tabela 1: Número absoluto de culicídeos capturados por amostragem no Pantanal entre Mar/09 a Jan/10

Espécies	mar/09	mai/09	jul/09	set/09	nov/09	jan/10
Subfamília Anophelinae						
<i>An. albitarsis</i>	208	306	18	0	0	5
<i>An. darlingi</i>	25	130	5	1	0	1
<i>An. evansae</i>	2	120	72	2	0	16
<i>An. galvaoi</i>	0	2	3	2	0	0
<i>An. matogrossensis</i>	3	359	131	8	1	10
<i>An. minor</i>	1	0	0	0	0	0
<i>An. oswaldoi</i>	12	21	0	0	1	0
<i>An. rangeli</i>	1	1	1	0	0	0
<i>An. rondoni</i>	7	187	1	0	0	0
<i>An. strodei</i>	0	4	2	0	0	0
<i>An. triannulatus</i>	161	201	37	8	7	0
Subtotal	420	1331	270	21	9	32
Subfamília Culicinae						
<i>Ad. squamipennis</i>	23	2	1	0	3	74
<i>Cq. chrysonotum</i>	0	0	0	0	6	0
<i>Cq. fasciolata</i>	1	0	2	0	0	0
<i>Cq. juxtamansonia</i>	1	6	0	0	0	0
<i>Cq. shannoni</i>	52	85	5	21	60	169
<i>Cq. venezuelensis</i>	0	0	1	0	0	0
<i>Cx. declartator</i>	723	277	93	215	12	102
<i>Cx. nigripalpus</i>	801	316	106	246	14	98
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	0	38	66	154	9	20
<i>Ma. humeralis</i>	40	48	6	1	0	0
<i>Ma. indubitans</i>	4	32	25	0	0	17
<i>Ma. titillans</i>	227	264	189	78	44	118
<i>Oc. fluviatilis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Oc. fulvithorax</i>	2	0	0	0	0	0
<i>Oc. fulvus</i>	0	1	0	0	0	3
<i>Oc. ryacophilus</i>	0	0	9	0	0	0
<i>Oc. scapularis</i>	6	0	1	4	26	0
<i>Oc. serratus</i>	5	1	0	0	1	8
<i>Ps. albigena</i>	497	32	248	84	9	779
<i>Ps. ciliata</i>	3	0	0	0	0	0
<i>Ps. discruciens</i>	3	0	0	17	0	0
<i>Ps. ferox</i>	0	2	0	0	5	1
<i>Ur. apicalis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Ur. calosomata</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Ur. ditaenionota</i>	24	1	0	0	0	0
<i>Ur. geometrica</i>	0	7	0	0	0	0
<i>Ur. leucoptera</i>	0	0	1	0	0	0
<i>Ur. lowi</i>	0	2	0	0	0	2
<i>Ur. pallidoventer</i>	3	0	6	0	0	0
<i>Ur. pulcherrima</i>	38	269	1	1	0	0
Subtotal	2453	1383	760	821	189	1391
Total	2873	2714	1030	842	198	1423

Tabela 2: Número absoluto de culicídeos capturados por amostragem no Pantanal entre Mar/10 a Jan/11

Espécies	mar/10	mai/10	jul/10	set/10	nov/10	jan/11
Subfamília Anophelinae						
<i>An. albitarsis</i>	112	27	30	1	0	13
<i>An. darlingi</i>	32	34	45	0	0	22
<i>An. evansae</i>	767	5	31	1	0	9
<i>An. galvaoi</i>	0	0	0	0	0	0
<i>An. matogrossensis</i>	30	73	45	0	0	0
<i>An. minor</i>	0	0	0	0	0	0
<i>An. oswaldoi</i>	1	1	0	0	0	0
<i>An. rangeli</i>	0	0	0	0	0	0
<i>An. rondoni</i>	27	20	64	3	0	0
<i>An. strodei</i>	0	0	0	0	0	0
<i>An. triannulatus</i>	60	107	195	23	0	4
Subtotal	1029	267	410	28	0	48
Subfamília Culicinae						
<i>Ad. squamipennis</i>	2	6	0	3	0	13
<i>Cq. chrysonotum</i>	0	2	0	0	0	0
<i>Cq. fasciolata</i>	0	2	0	2	0	10
<i>Cq. juxtamansonia</i>	0	0	0	7	0	93
<i>Cq. shannoni</i>	43	6	0	0	0	0
<i>Cq. venezuelensis</i>	0	0	62	2	0	0
<i>Cx. declartator</i>	325	53	21	23	43	1335
<i>Cx. nigripalpus</i>	103	61	24	26	60	1526
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	110	198	15	16	0	954
<i>Ma. humeralis</i>	6	0	0	16	0	5
<i>Ma. indubitans</i>	1	0	0	0	0	16
<i>Ma. titillans</i>	47	74	92	58	5	17
<i>Oc. fluviatilis</i>	0	0	15	0	0	0
<i>Oc. fulvithorax</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Oc. fulvus</i>	3	0	0	0	0	0
<i>Oc. ryacophilus</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Oc. scapularis</i>	2	1	45	3	50	410
<i>Oc. serratus</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Ps. albigenu</i>	26	10	15	0	0	458
<i>Ps. ciliata</i>	1	0	0	0	0	36
<i>Ps. discruciens</i>	0	1	0	0	93	0
<i>Ps. ferox</i>	0	0	0	0	1	6
<i>Ur. apicalis</i>	0	0	0	2	0	0
<i>Ur. calosomata</i>	0	0	0	4	0	0
<i>Ur. ditaenionota</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Ur. geometrica</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Ur. leucoptera</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Ur. lowi</i>	1	0	0	0	3	0
<i>Ur. pallidoventer</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Ur. pulcherrima</i>	0	0	0	0	0	0
Subtotal	672	414	289	162	255	4879
Total	1701	681	699	190	255	4927

Tabela 3: Números absolutos, com os respectivos percentuais de cada espécie de culicídeos, em cada ponto de coleta no Pantanal entre Mar/10 a Jan/11.

Espécies	Ponto A		Ponto B		Ponto C		Ponto D		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Subfamília Anophelinae										
<i>An. albitarsis</i>	166	23	494	69	58	8	1	0,2	720	100
<i>An. darlingi</i>	145	49	125	42	25	8	0	0	295	100
<i>An. evansae</i>	10	1	40	4	120	12	854	83	1025	100
<i>An. galvaoi</i>	1	14	1	14	5	71	0	0	7	100
<i>An. matogrossensis</i>	115	17	147	22	319	48	80	12	660	100
<i>An. minor</i>	0	0	1	100	0	0	0	0	1	100
<i>An. oswaldoi</i>	2	6	20	56	2	6	12	33	36	100
<i>An. rangeli</i>	1	33	2	67	0	0	0	0	3	100
<i>An. rondoni</i>	60	19	62	20	187	60	0	0	309	100
<i>An. strodei</i>	0	0	1	17	5	83	0	0	6	100
<i>An. triannulatus</i>	284	35	309	38	75	9	135	17	803	100
Sbtotal	784	20	1203	31	795	21	1083	28	3865	100
Subfamília Culicinae										
<i>Ad. squamipennis</i>	40	31	76	60	6	5	5	4	127	100
<i>Cq. chrysonotum</i>	0	0	2	25	1	13	5	63	8	100
<i>Cq. fasciolata</i>	0	0	1	6	5	29	11	65	17	100
<i>Cq. juxtamansonia</i>	4	4	2	2	7	7	94	88	107	100
<i>Cq. shannoni</i>	115	26	58	13	117	27	151	34	441	100
<i>Cq. venezuelensis</i>	22	34	0	0	22	33	22	33	65	100
<i>Cx. declartator</i>	1080	34	893	28	929	29	319	10	3222	100
<i>Cx. nigripalpus</i>	1070	32	1052	31	781	23	478	14	3381	100
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	520	33	461	29	446	28	154	10	1581	100
<i>Ma. humeralis</i>	11	9	53	43	38	31	20	16	122	100
<i>Ma. indubitans</i>	50	53	11	12	32	34	2	2	95	100
<i>Ma. titillans</i>	280	23	411	34	409	34	112	9	1213	100
<i>Oc. fluviatilis</i>	0	0	0	0	0	0	15	100	15	100
<i>Oc. fulvithorax</i>	0	0	2	100	0	0	0	0	2	100
<i>Oc. fulvus</i>	1	14	0	0	1	14	5	71	7	100
<i>Oc. ryacophilus</i>	9	100	0	0	0	0	0	0	9	100
<i>Oc. scapularis</i>	19	3	17	3	235	43	277	50	548	100
<i>Oc. serratus</i>	5	31	2	13	0	0	9	56	16	100
<i>Ps. albigena</i>	878	41	387	18	715	33	179	8	2158	100
<i>Ps. ciliata</i>	0	0	9	23	1	3	30	75	40	100
<i>Ps. discruciens</i>	1	1	4	4	38	33	71	62	114	100
<i>Ps. ferox</i>	0	0	0	0	0	0	15	100	15	100
<i>Ur. apicalis</i>	1	50	0	0	1	50	0	0	2	100
<i>Ur. calosomata</i>	0	0	0	0	4	100	0	0	4	100
<i>Ur. ditaenionota</i>	1	4	23	92	1	4	0	0	25	100
<i>Ur. geometrica</i>	0	0	0	0	8	100	0	0	8	100
<i>Ur. leucoptera</i>	0	0	1	100	0	0	0	0	1	100
<i>Ur. lowi</i>	3	38	2	25	3	38	0	0	8	100
<i>Ur. pallidoventer</i>	0	0	6	67	3	33	0	0	9	100
<i>Ur. pulcherrima</i>	3	1	81	26	223	72	2	1	309	100
Sbtotal	4113	30	3554	26	4026	29	1975	14	13668	100
Total	4897	28	4757	27	4820	27	3058	17	17533	100

Tabela 4: Espécies de mosquitos encontrados e a ocorrência em valores absolutos (N), percentuais (%) e médias de Williams (X_w), no período de março de 2009 a janeiro de 2011.

Espécies	N	%	Xw
	Subfamília Anophelinae		
<i>An. albitarsis</i>	720	17,46	11,84
<i>An. darlingi</i>	295	7,15	7,25
<i>An. evansae</i>	1025	24,86	10,22
<i>An. galvaoi</i>	7	0,17	0,35
<i>An. matogrossensis</i>	660	16,01	10,22
<i>An. minor</i>	1	0,02	0,06
<i>An. oswaldoi</i>	36	0,87	0,91
<i>An. rangeli</i>	3	0,07	0,19
<i>An. rondoni</i>	309	7,49	4,27
<i>An. strodei</i>	6	0,15	0,25
<i>An. triannulatus</i>	803	19,48	21,14
Subtotal	3865	100	66,7
Espécies	N	%	Xw
	Subfamília Culicinae		
<i>Ad. squamipennis</i>	127	0,93	3,39
<i>Cq. chrysonotum</i>	8	0,06	0,29
<i>Cq. fasciolata</i>	17	0,12	0,7
<i>Cq. juxtamansonia</i>	107	0,78	1,16
<i>Cq. shannoni</i>	441	3,23	9,56
<i>Cq. venezuelensis</i>	65	0,48	0,64
<i>Cx. declartator</i>	3222	23,57	108,56
<i>Cx. nigripalpus</i>	3381	24,74	111,35
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	1580	11,56	28,79
<i>Ma. humeralis</i>	122	0,89	3,06
<i>Ma. indubitans</i>	95	0,7	2,43
<i>Ma. titillans</i>	1213	8,87	67,33
<i>Oc. fluviatilis</i>	15	0,11	0,26
<i>Oc. fulvithorax</i>	2	0,01	0,1
<i>Oc. fulvus</i>	7	0,05	0,33
<i>Oc. ryacophilus</i>	9	0,07	0,21
<i>Oc. scapularis</i>	548	4,01	6,7
<i>Oc. serratus</i>	16	0,12	0,66
<i>Ps. albigenu</i>	2158	15,79	35,67
<i>Ps. ciliata</i>	40	0,29	0,61
<i>Ps. discruciens</i>	114	0,83	1,21
<i>Ps. ferox</i>	15	0,11	0,68
<i>Ur. apicalis</i>	2	0,01	0,1
<i>Ur. calosomata</i>	4	0,03	0,14
<i>Ur. ditaenionota</i>	25	0,18	0,39
<i>Ur. geometrica</i>	8	0,06	0,26
<i>Ur. leucoptera</i>	1	0,01	0,06
<i>Ur. lowi</i>	8	0,06	0,43
<i>Ur. pallidoventer</i>	9	0,07	0,32
<i>Ur. pulcherrima</i>	309	2,26	1,43
Subtotal	13668	100	386,81
Total	17533		453,51

4.2 – Análises dos dados

Os dados foram trabalhados de maneira a expressar a relação ecológica existente entre as populações de culicídeos e os fatores ambientais da área estudada. As representações gráficas e análises estatísticas foram realizadas sobre os valores absolutos de todas as espécies de mosquitos que ocorreram em percentuais acima de 5% dentro de cada subfamília (Tabela 5). A seleção dentro das subfamílias é devido ao grau de afinidade existente, evitando possíveis distorções quantitativas e qualitativas se os mosquitos fossem tomados como um todo. Entretanto, para os cálculos dos índices de diversidade, por se tratar de uma avaliação bioecológica, onde é avaliada a presença ou ausência das espécies, foi considerada a riqueza total do ambiente, inclusive das espécies que tiveram ocorrência inferior a 5%.

Tabela 5: Espécies de mosquitos acima de 5% dentro de cada subfamília e a ocorrência em valores absolutos (N), percentuais (%) e médias de Williams (X_w).

Espécies	N	%	X_w
Subfamília Anophelinae			
<i>An. albitarsis</i>	720	18,89	11,84
<i>An. darlingi</i>	295	7,74	7,25
<i>An. evansae</i>	1025	26,89	10,22
<i>An. matogrossensis</i>	660	17,31	10,22
<i>An. rondoni</i>	309	8,11	4,27
<i>An. triannulatus</i>	803	21,07	21,14
Subtotal	3812	100	65
Subfamília Culicinae			
<i>Cx. declartator</i>	3222	27,89	108,56
<i>Cx. nigripalpus</i>	3381	29,26	111,35
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	1580	13,67	28,79
<i>Ma. titillans</i>	1213	10,50	67,33
<i>Ps. albigena</i>	2158	18,68	35,67
Subtotal	11554	100	65
Total	15366		416,64

As espécies da subfamília Anophelinae, estiveram majoritariamente representada por *An. evansae* (26,9%), seguida pelo *An. triannulatus* (21%), *An. albitarsis* (18,9%), *An. matogrossensis* (17,3%), *An. rondoni* (8,1%) e *An. darlingi* (7,7%) (Figura 9-A). Enquanto que para a subfamília Culicinae, mais de 70% dos espécimes presentes são do gênero *Culex*. Esta subfamília foi representada principalmente pelo *Cx. nigripalpus* (29,3%), seguido por *Cx. declartator* (27,9%), *Ps. albigena* (18,7%), *Cx. quinquefasciatus* (13,7%) e *Ma. titillans* (10,5%) (Figura 9-B).

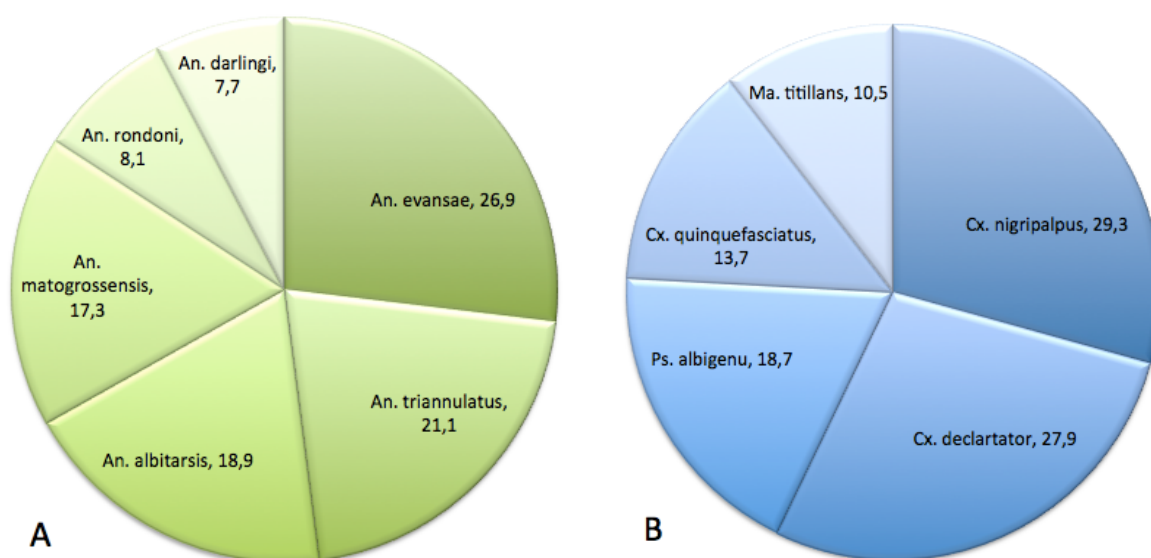


Figura 9: Percentual de frequência total das espécies com ocorrência superior a 5% da **A** – subfamília Anophelinae e da **B** – subfamília Culicinae.

4.3 – Distribuição Sazonal

Considerando os valores absolutos da área de estudo, foi calculada a frequência por coleta para o somatório geral de culicídeos e para o somatório de cada espécie. Analisando o somatório por coleta dos espécimes da área estudada, os meses do ano que se mostraram mais favoráveis aos culicídeos foram Mar/09 (2.654 espécimes) e Jan/2011 (4.338 espécimes), que apresentaram incidência de culicídeos além da faixa de expectativa, em contrapartida os meses de Nov/09 (96 espécimes) e Nov/10 (108 espécimes) foram registrados com menor densidade populacional de culicídeos (Figuras 10-12 e Tabelas 1-2).

Na análise de frequência por coleta individual para cada espécie de mosquito, observou-se que as espécies da subfamília Anophelinae mostraram um padrão de distribuição de densidade populacional. A coleta de Maio/09 foi a de maior incidência, apresentando picos de ocorrência acima do intervalo de tolerância, para *An. albitarsis* (306 espécimes), *An. darlingi* (130 espécimes), *An. matogrossensis* (359 espécimes), *An. rondoni* (187 espécimes) e para *An. triannulatus* (201 espécimes). Já para *An. evansae* a maior incidência, com pico de ocorrência acima do intervalo de tolerância, foi em Mar/10 (767 espécimes). Também houve um padrão de ausência dessas espécies, *An. albitarsis* não ocorreu nas coletas de Set/09; Nov/09 e Nov/10, *An. darlingi* não ocorreu nas coletas de Nov/09; Set/10 e Nov/10, *An. evansae* esteve ausente em Nov/09 e Nov/10, *An. matogrossensis* não teve representante nas coletas de Set/10; Nov/10 e Jan/11, *An. rondoni* não ocorreu nas coletas de Set/09; Nov/09; Jan/10; Nov/10 e Jan/11, *An. triannulatus* esteve ausente em Jan/10 e Nov/10 (Figuras 10-12 e Tabelas 1-2).

A subfamília Culicinae também apresentou certa uniformidade na distribuição de densidade populacional. A coleta de Jan/11 foi a de maior incidência, apresentando picos de ocorrência acima do intervalo de tolerância, para *Cx. declartator* (1335 espécimes), *Cx. nigripalpus* (1526 espécimes) e *Cx. quinquefasciatus* (954 espécimes). Já para *Ma. titillans* a maior incidência, com pico de ocorrência acima do intervalo de tolerância, foi em Mai/09 (264 espécimes) e para *Ps. albigenu* a maior incidência foi em Jan/10 (779 espécimes). As coletas de menor expressividade para esta subfamília também apresentaram determinado padrão, *Cx. declartator* e *Cx. nigripalpus* tiveram menor representatividade nas coletas de Nov/09 e Jul/10 (12 e 21 espécimes para uma espécie e 14 e 24 espécimes para a outra espécie, respectivamente), *Cx. quinquefasciatus* esteve ausente em Mar/09 e Nov/10, *Ma. titillans* esteve pouco representada em Nov/09 (05 espécimes) e Jan/11 (17 espécimes), ficando abaixo do intervalo de tolerância esperado para essa espécie, e *Ps. albigenu* não ocorreu nas coletas de Set/10 e Nov/10 (Figuras 10-12 e Tabelas 1-2).

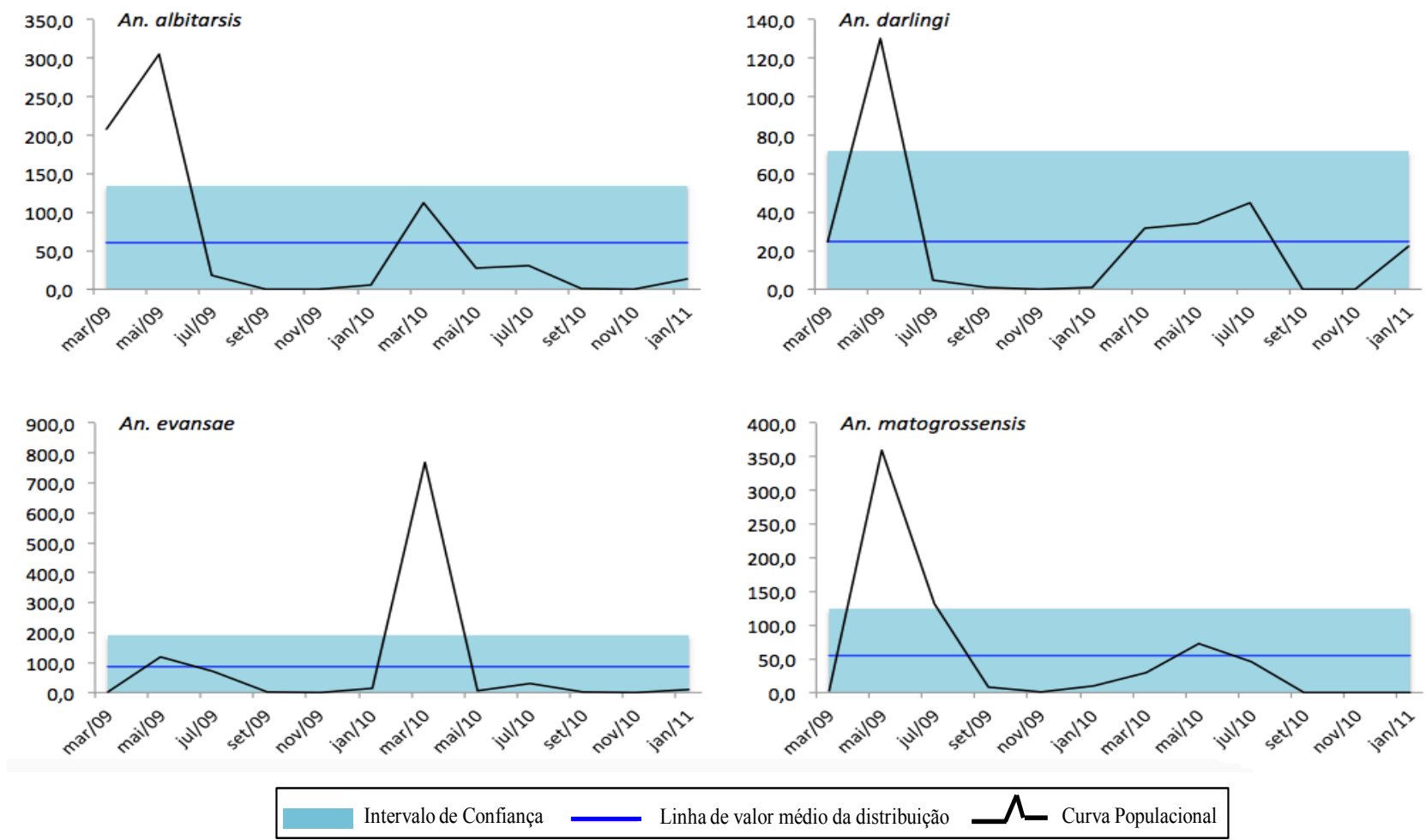


Figura 10: Distribuição sazonal em valor absoluto por espécie e seus respectivos intervalos de confiança ao longo das coletas de Março de 2009 até Janeiro de 2011.

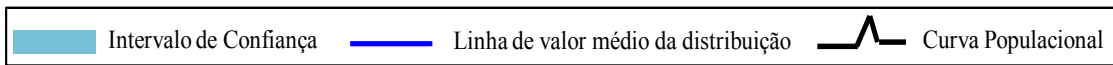
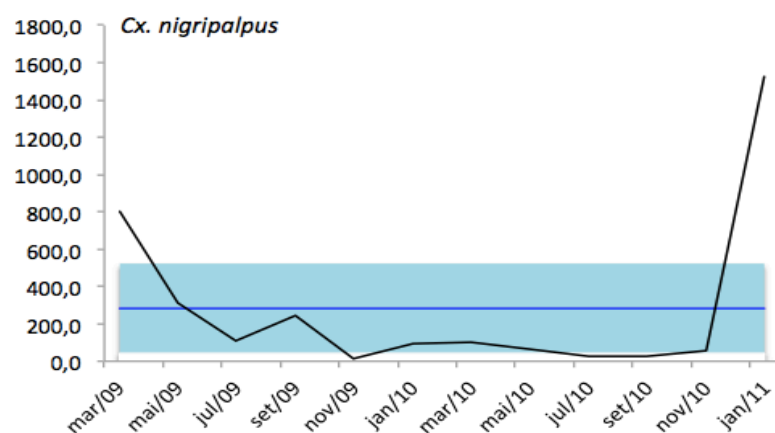
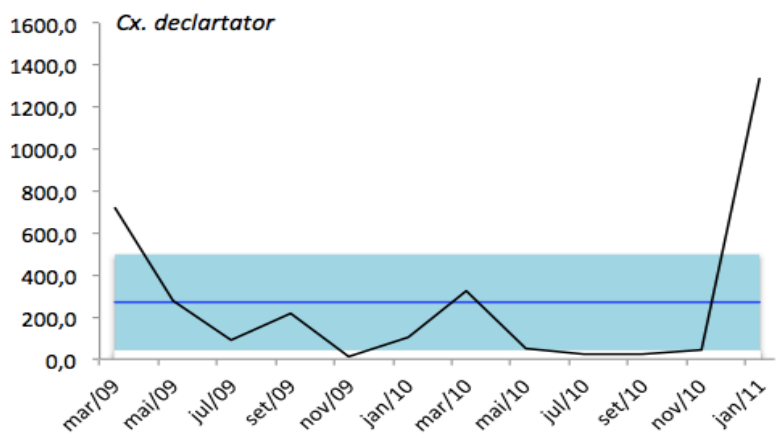
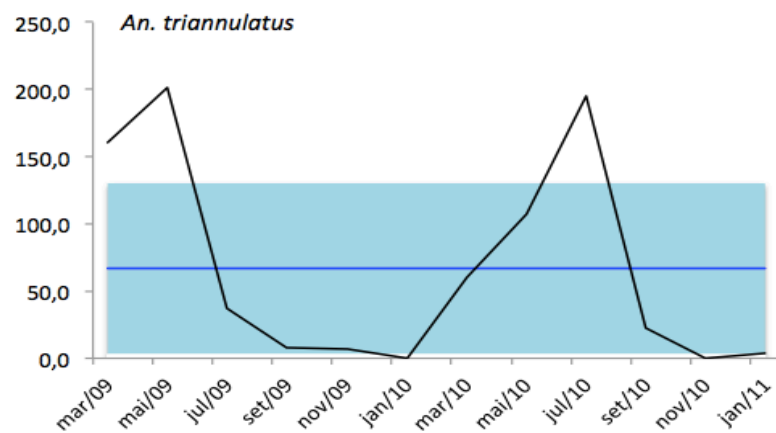
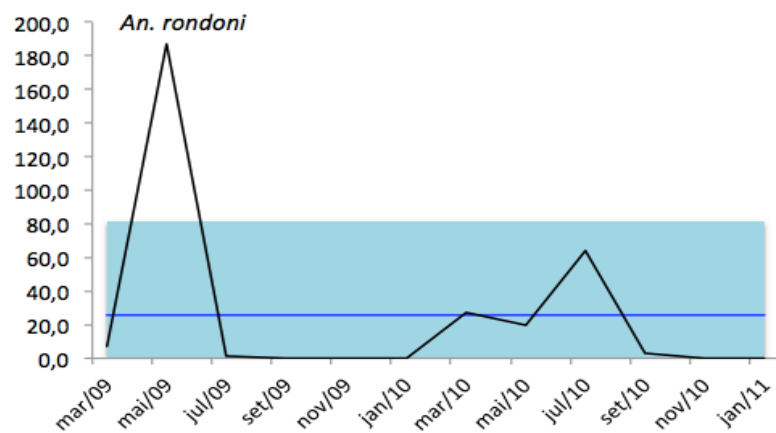


Figura 11: Distribuição sazonal em valor absoluto por espécie e seus respectivos intervalos de confiança ao longo das coletas de Março de 2009 até Janeiro de 2011.

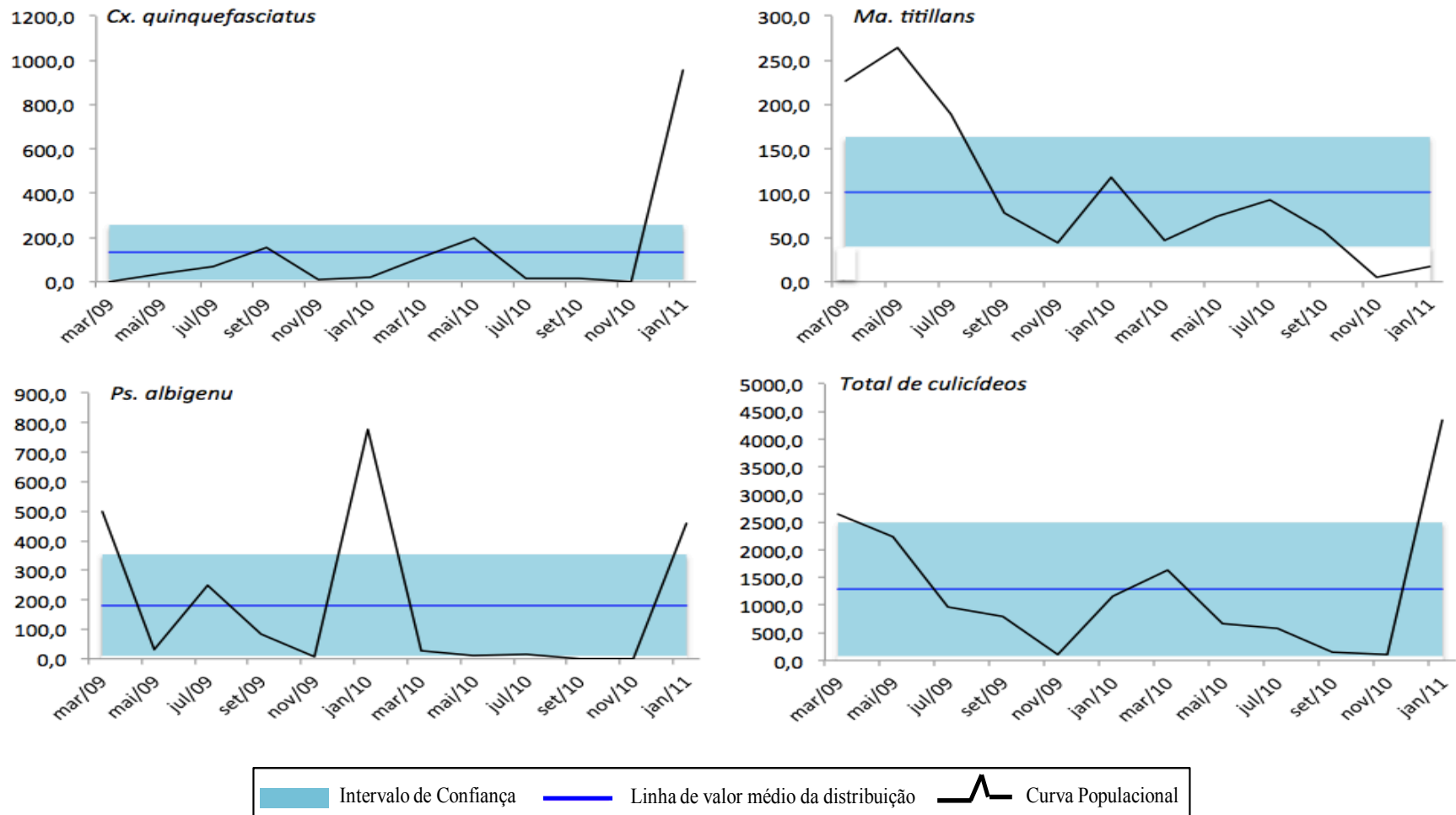


Figura 12: Distribuição sazonal em valor absoluto por espécie e seus respectivos intervalos de confiança ao longo das coletas de Março de 2009 até Janeiro de 2011.

4.4 – Fatores Climáticos

4.4.1 – Aferição dos dados climáticos

Durante as amostragens foram aferidas as variações de temperatura e umidade relativa do ar a cada hora. No primeiro ano de coleta, as médias de temperatura variaram de 22,8°C em Jul/09 até 28,7°C em Nov/09, no segundo ano de coleta as médias de temperatura variaram de 21,4°C em Jul/10 até 28°C em Set/10. A aferição de umidade relativa do ar apresentou oscilação entre 63% e 81%, em Ago/09 e Mar/09 respectivamente, e entre 58% e 81%, em Ago/09 e Fev/10 (Figura 13 e Tabela 6).

De acordo com os dados pluviométricos obtidos junto ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), para as estações mais próximas dos pontos de amostragem, no município de Cáceres (MT), nos 10 anos que antecederam as nossas observações, as médias das precipitações pluviométricas atingiram 1.250mm. Durante os anos do estudo, as maiores precipitações foram observadas em Janeiro de 2011, com 366mm, com outras significativas ocorrências de chuvas em Janeiro de 2010 e Fevereiro de 2010, com respectivamente 326mm e 352mm. Apesar de nas coletas de Junho e Agosto de 2009, dentro do período das maiores estiagens na região, terem sido aferidos precipitações abaixo dos 10mm, foi em igual período em 2010 que constatamos a total ausência de chuvas, impingindo as áreas onde foram realizadas as amostragens cerca de 100 dias consecutivos de seca total (Figura 13 e Tabela 6).

Tabela 6: Média mensal dos fatores climáticos de pluviometria (mm), umidade relativa do ar (%) e temperatura (°C) ao longos das coletas.

Fatores Climáticos	mm	%	°C
jan/09	255	76	26,9
fev/09	149	80	27,1
mar/09	231	81	26,9
abr/09	64,4	80	26,8
mai/09	33,6	79	25,7
jun/09	2,8	74	22,9
jul/09	34,6	72	22,8
ago/09	11	63	25,4
set/09	122,2	72	25,4
out/09	72,5	71	26
nov/09	127,8	75	28,7
dez/09	150,6	79	27,2
jan/10	326	80	27
fev/10	352,7	81	27
mar/10	109,8	79	27,6
abr/10	50,6	74	26,6
mai/10	76,8	78	23,1
jun/10	0	73	24
jul/10	0	66	21,4
ago/10	0	58	24,4
set/10	7,8	61	28
out/10	102,8	71	27,2
nov/10	146,9	73	26,9
dez/10	173,1	74	27,4
jan/11	366,7	83	26,7

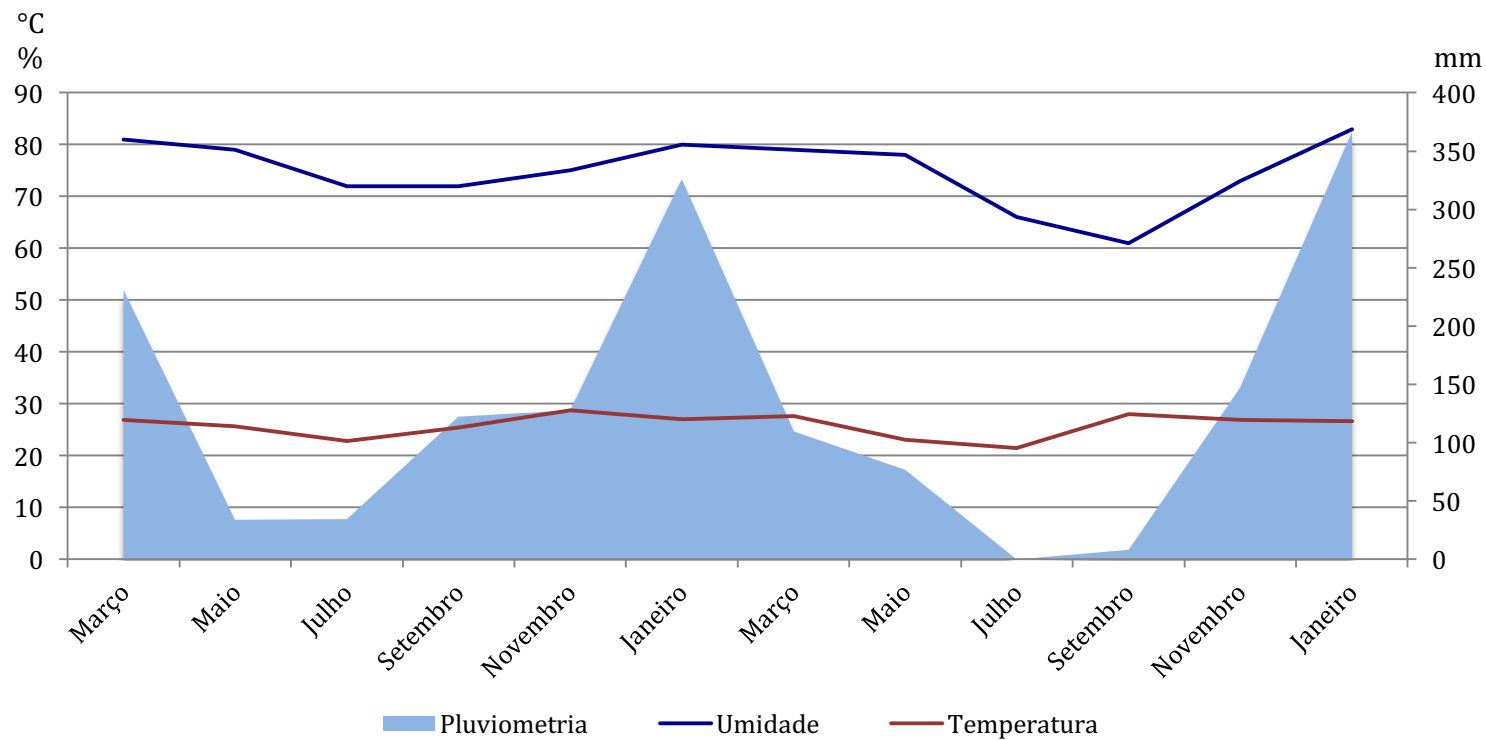


Figure 13: Média mensal dos fatores climáticos de temperatura (°C), umidade relativa do ar (%) e pluviosidade ao longo das coletas de Março de 2009 até Janeiro de 2011.

4.4.2 – Influência dos fatores climáticos na densidade de mosquitos

Para determinar a influência desses fatores climáticos sobre a incidência da fauna de culicídeos e compreender a existência de picos populacionais fora do intervalo de confiança, o significado dessas inter-relações foi analisada utilizando coeficientes de correlação linear. Os valores absolutos das espécies de mosquitos coletadas ao longo do estudo foram correlacionados de acordo com valores aferidos de cada variável climática (pluviometria, umidade e temperatura). Segundo essa análise, a subfamília Anophelinae não apresentou correlação linear com nenhuma das variáveis climáticas testadas (Figuras 14, 16 e 18), todas as espécies desta subfamília apresentaram r de correlação inferior ao r crítico calculado ($r_{0,05(2)12}=0,51$) para o limite de confiança de 95% (Tabela 7).

No entanto, para a subfamília Culicinae a precipitação pluviométrica foi a variável climática que exerceu maior influência na incidência da fauna culicideana (Figura 15). A abundância das espécies de *Culex* e *Psorophora* (*Cx. declarator*; *Cx. nigripalpus*; *Cx. quinquefasciatus* e *Ps. albigena*) foram positivamente correlacionadas com a pluviometria ($r=0,68$; $r=0,67$; $r=0,56$ e $r=0,81$, respectivamente) (Tabela 7), enquanto que *Ma. titillans* não apresentou influência diretamente correlacionável, segundo o teste empregado (Figura 15 e Tabela 7). A variável umidade relativa do ar exerceu influência linearmente correlacionável com a densidade populacional de *Cx. declarator*; *Cx. nigripalpus* e *Ps. albigena* ($r=0,60$; $r=0,56$ e $r=0,53$, respectivamente) (Figura 17 e Tabela 7). Já a variável temperatura não exerceu influência diretamente correlacionável com nenhuma das espécies analisadas neste estudo (Figura 19 e Tabela 7).

Tabela 7: Coeficiente de correlação linear (r) entre abundância de culicídeos e pluviometria (mm), umidade (%) e temperatura (°C).

Subfamília Anophelinae	mm	%	°C
<i>An. albitarsis</i>	0,14	0,40	0
<i>An. darlingi</i>	0,28	0,24	0,24
<i>An. evansae</i>	0,37	0,10	0,35
<i>An. matogrossensis</i>	0,41	0,14	0,30
<i>An. rondoni</i>	0,40	0	0,22
<i>An. triannulatus</i>	0,41	0	0,49
Subfamília Culicinae	mm	%	°C
<i>Cx. declartator</i>	0,68	0,60	0,20
<i>Cx. nigripalpus</i>	0,67	0,56	0,17
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	0,56	0,42	0
<i>Ma. titillans</i>	0,18	0,20	0,26
<i>Ps. albigena</i>	0,81	0,53	0,14

Limite de confiança de 95% para valor crítico de $r_{0,05(2)12}=0,51$

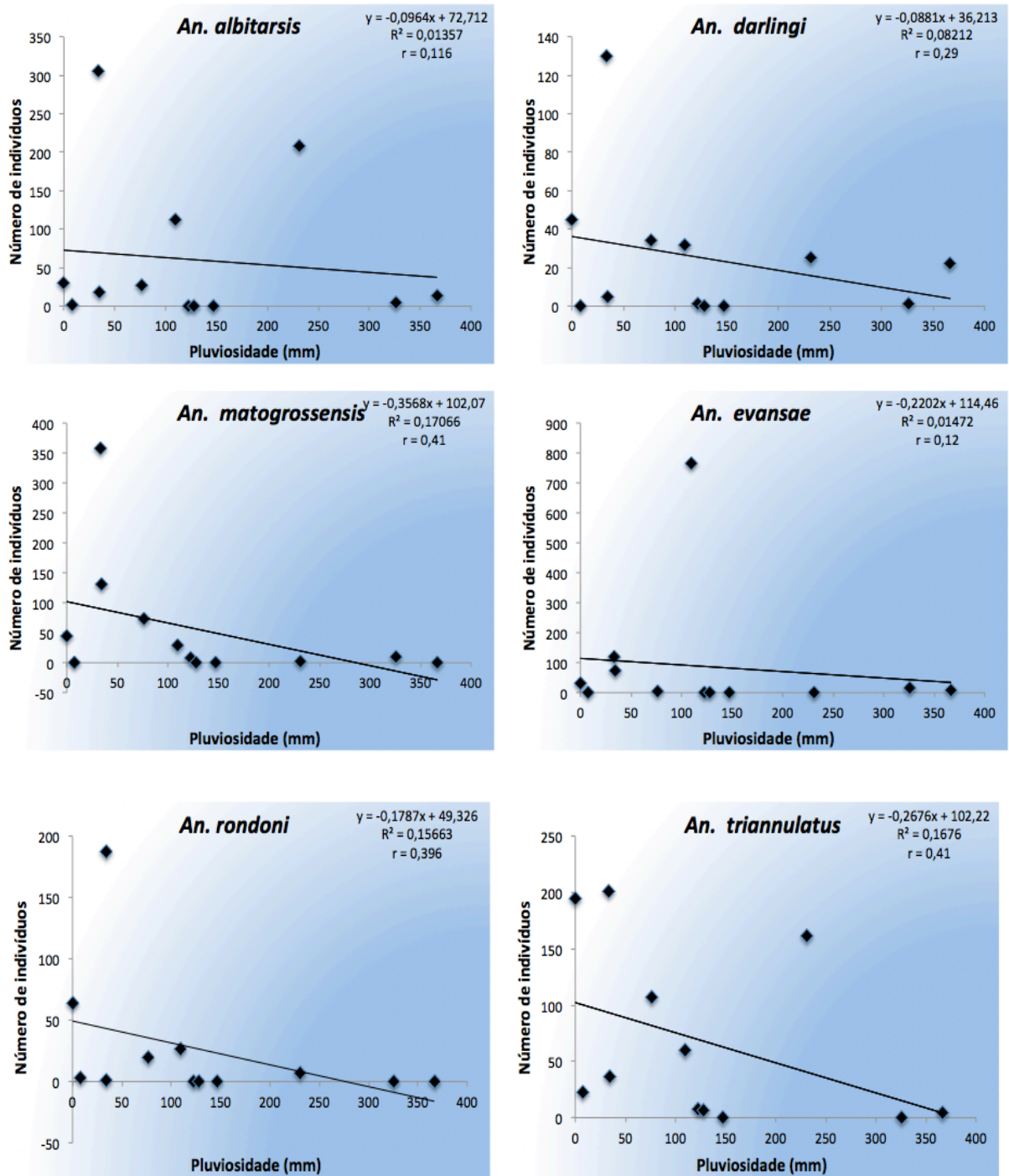


Figura 14: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de pluviosidade, segundo estação meteorológica de Caceres – MT, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.

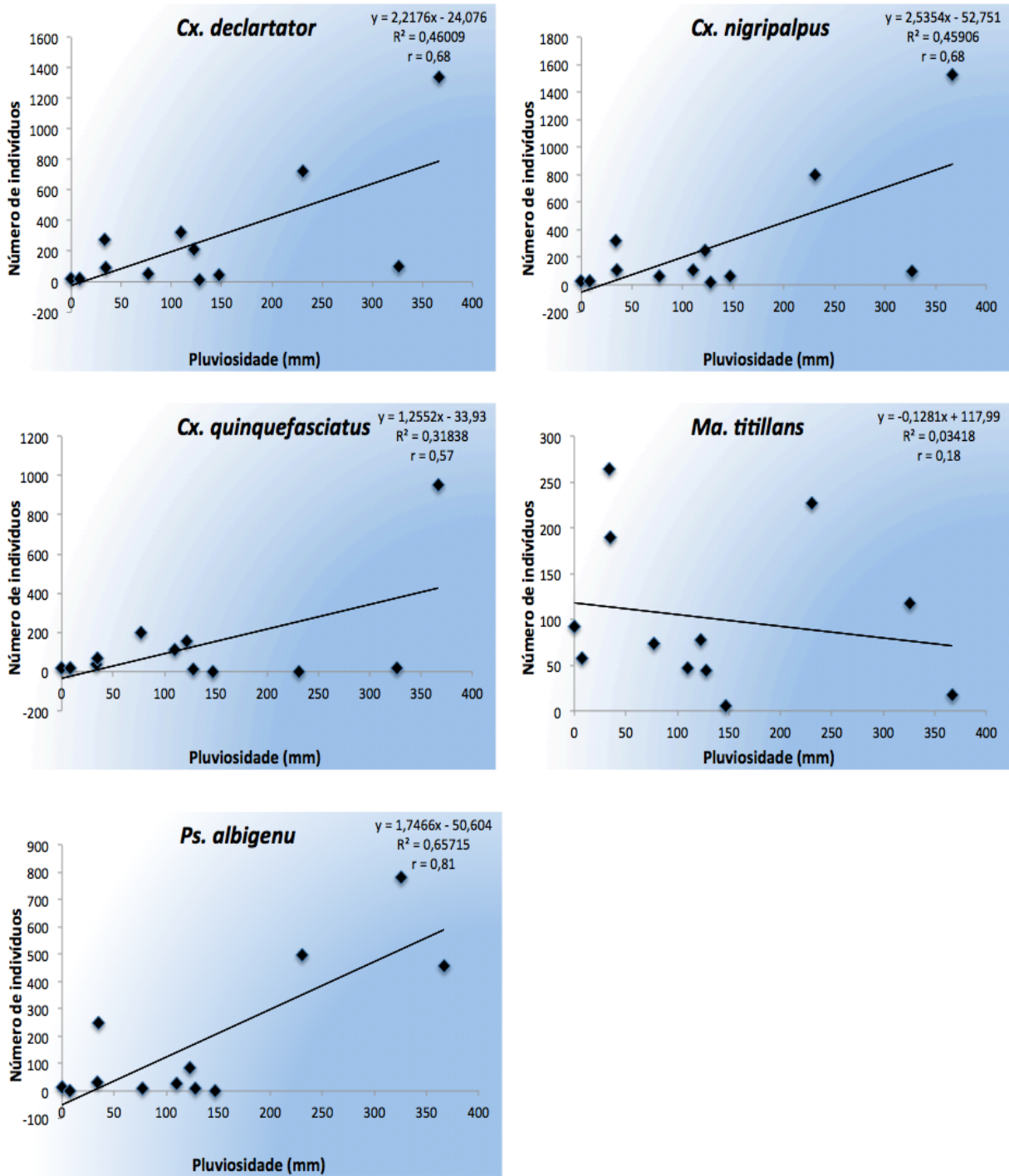


Figura 15: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de pluviosidade, segundo estação meteorológica de Caceres – MT, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.

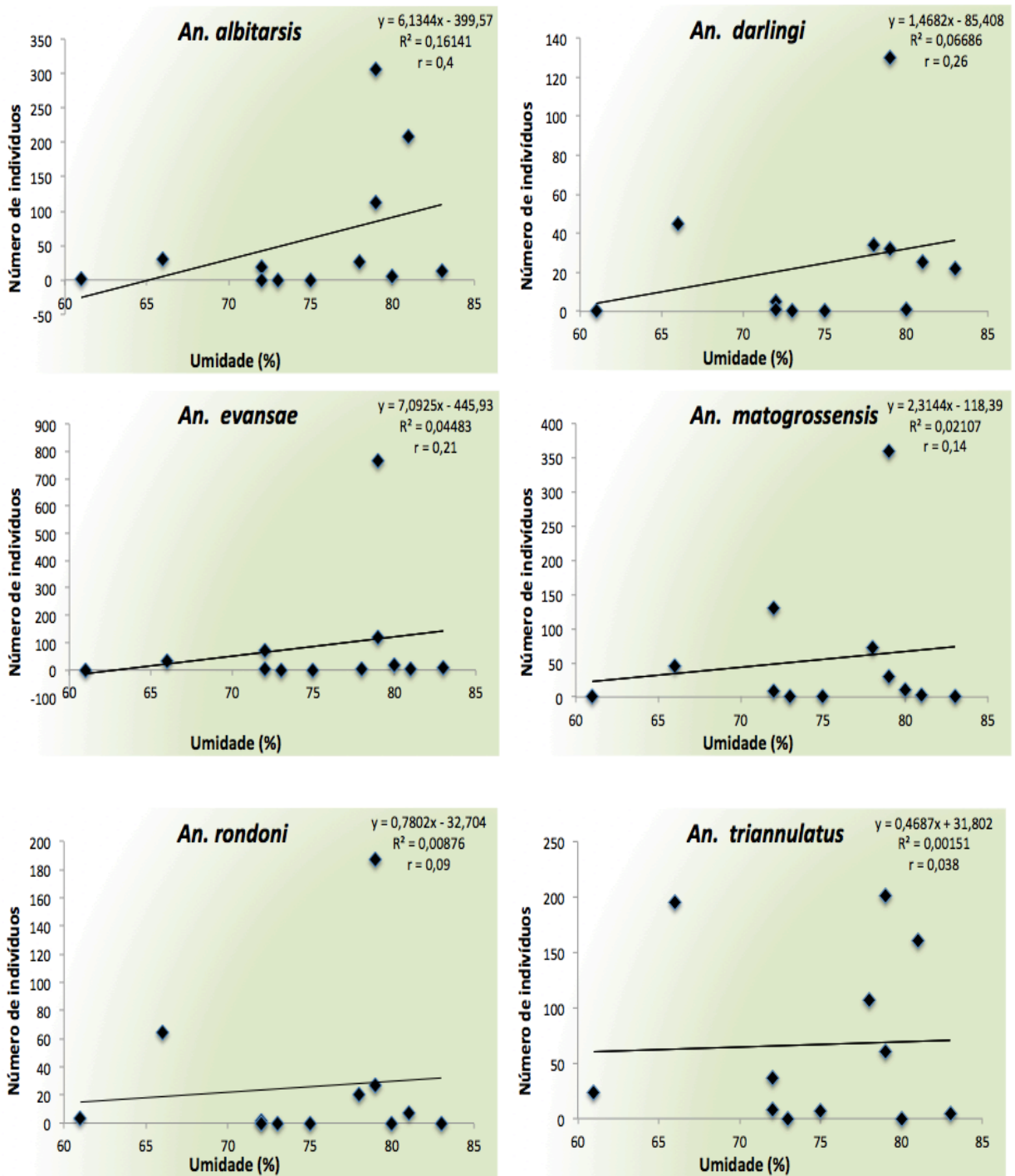


Figura 16: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de umidade relativa do ar, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.

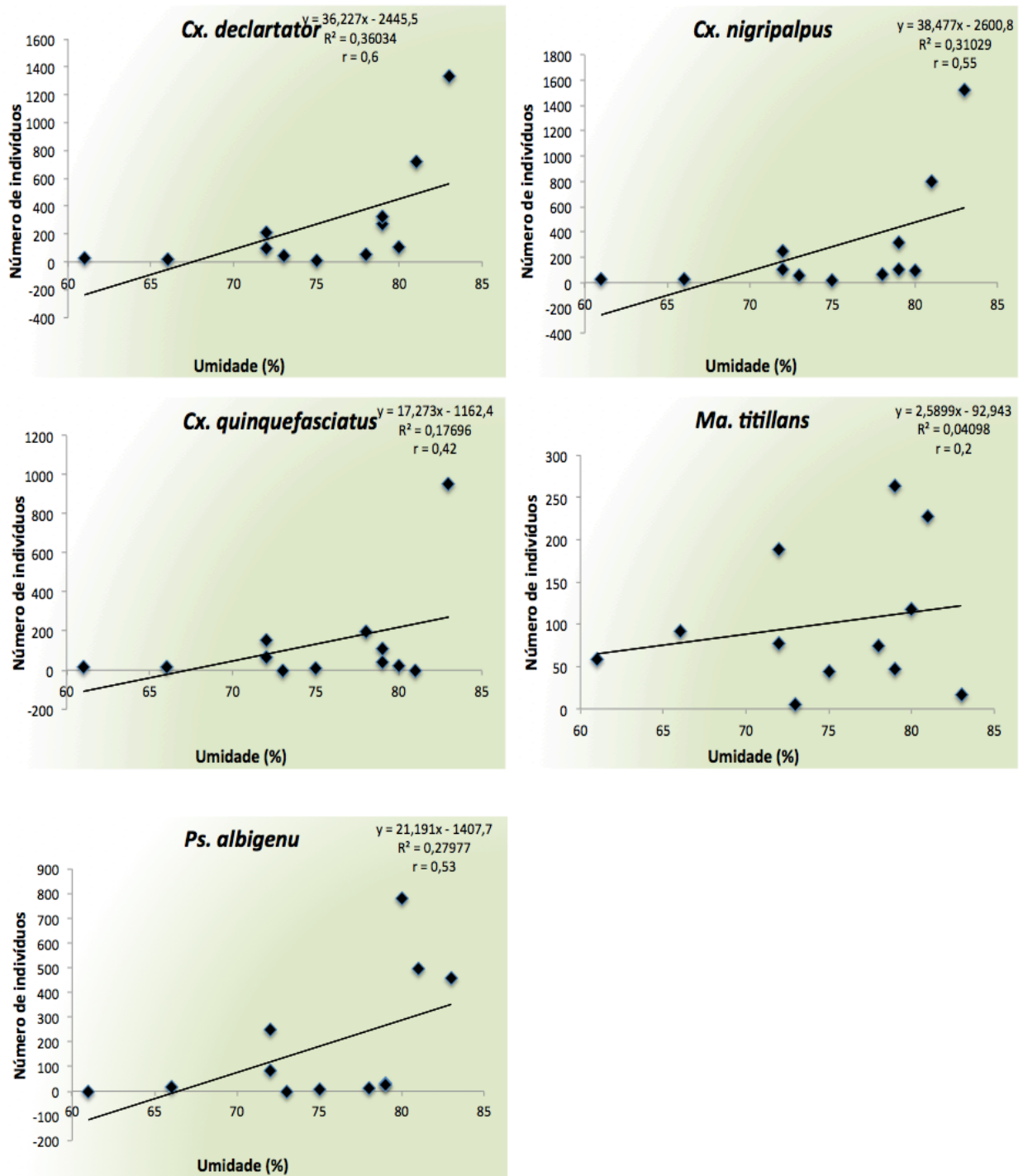


Figura 17: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de umidade relativa do ar, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.

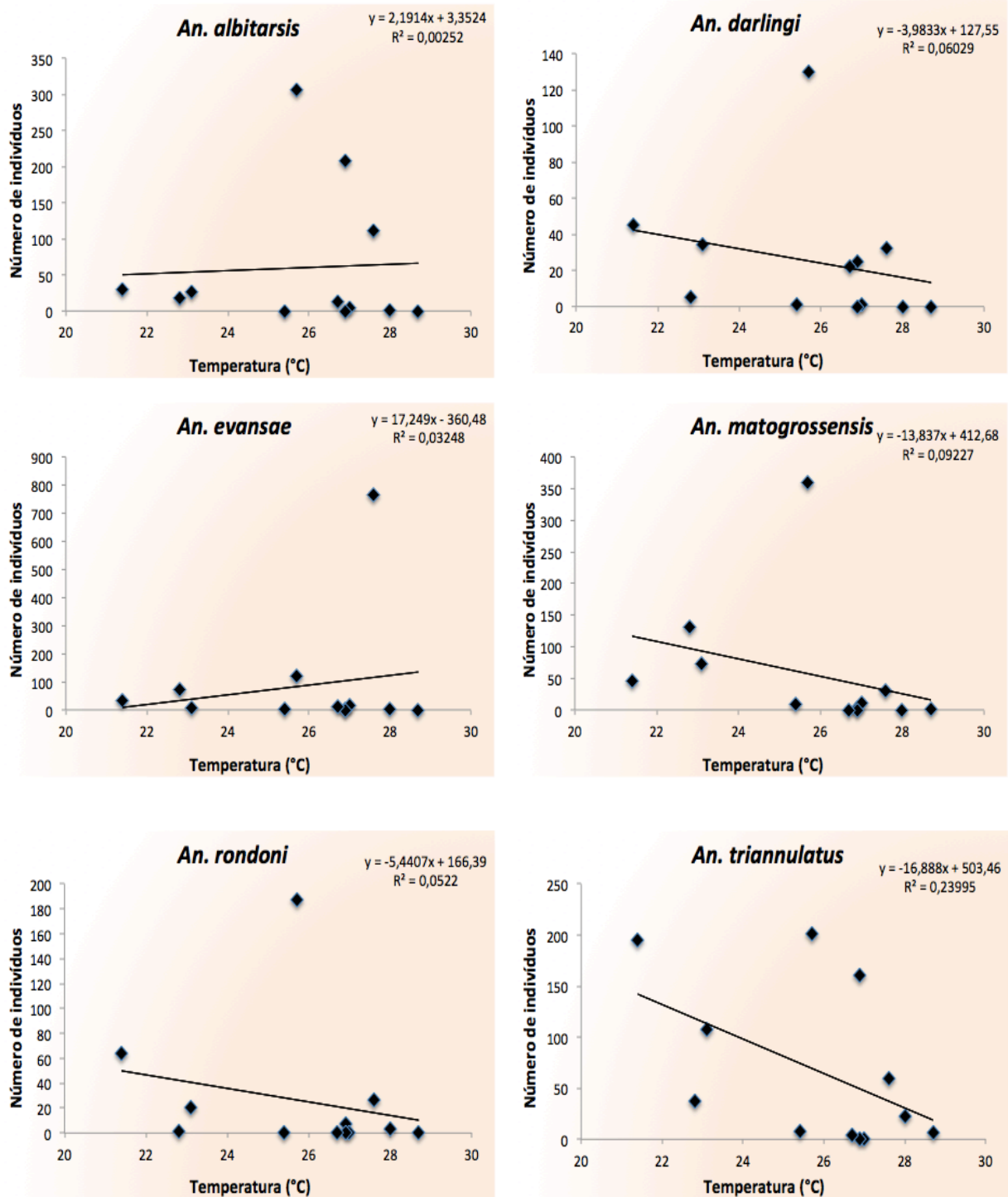


Figura 18: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de temperatura, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.

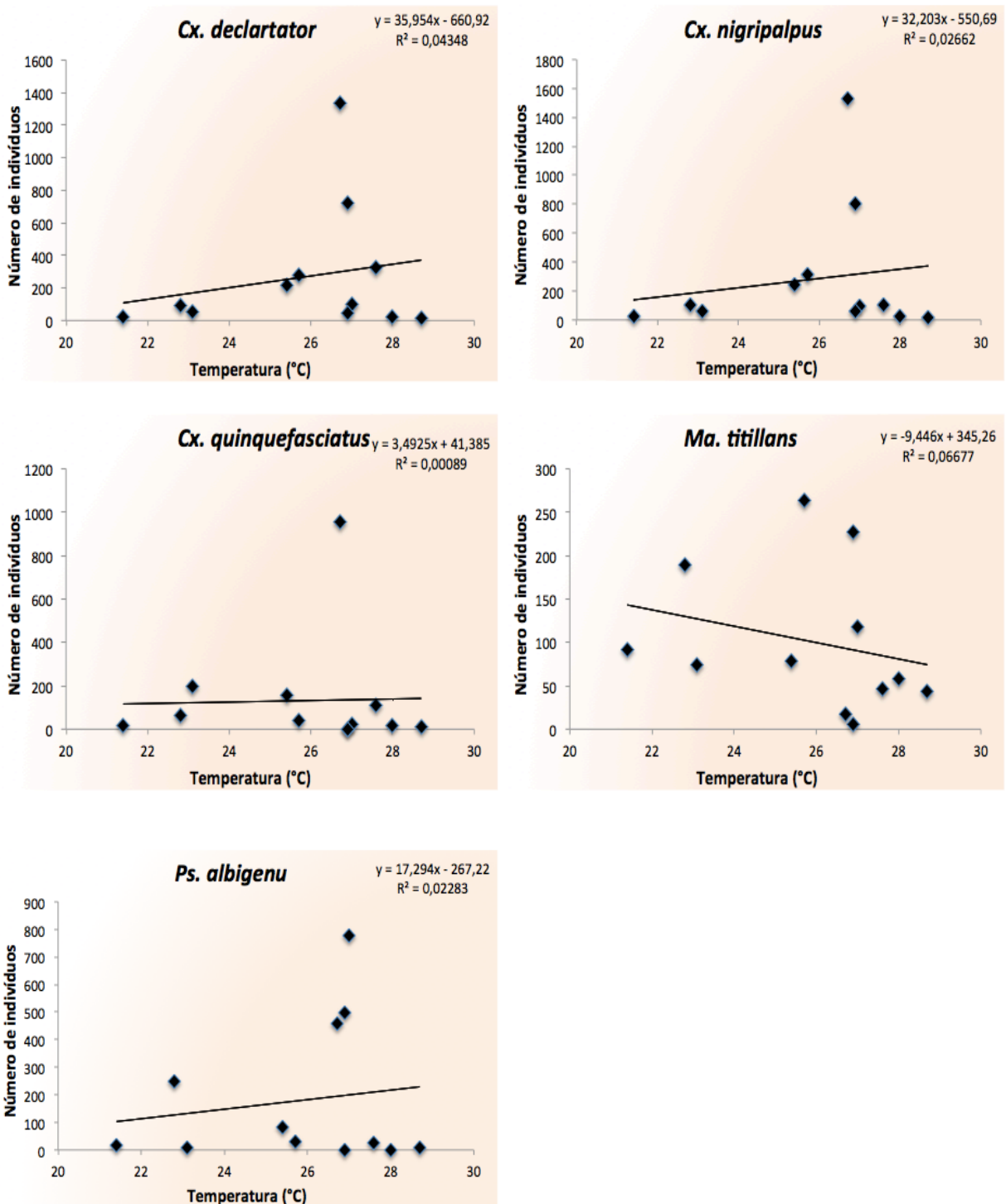


Figura 19: Índice de coeficiente de correlação linear (r) entre espécies de culicídeos e as aferições médias de temperatura, entre Março de 2009 até Janeiro de 2011.

4.5 – Distribuição por pontos de coleta

Os pontos de amostragem foram selecionados de maneira a abranger os principais cenários biogeográficos da região de estudo. A comparação entre os quatro pontos foi realizada através dos cálculos de abundância ISA-SISA; de similaridade por Test-T e de índices de diversidade.

4.5.1 – Índice de abundância de culicídeos entre os Pontos de coleta

Para avaliar quais foram as espécies mais abundantes da área total de estudo e em cada um dos quatro pontos isolados, foi utilizado o “*standardised index of species abundance*” (SISA). O índice de abundância é determinado não só pela quantidade de espécimes, mas também pela maneira com a qual eles se distribuem ao longo das amostragens.

No total de mosquitos coletados na área de estudo as espécies mais abundantes pertenciam à subfamília Culicinae seguida pelas espécies da subfamília Anophelinae. A espécie que ocupou a 1ª posição foi *Cx. nigripalpus* (SISA = 0,73), seguida de *Cx. declartator* (SISA = 0,69) e *Ma. titillans* (SISA=0,65) (Tabela 8).

Tabela 8: Índice de abundância das espécies capturadas. “*Index of species abundance*” (ISA), convertido em “*Standardised index of species abundance*” (SISA) e a posição total das espécies.

Posição	Espécies	ISA	SISA
1	<i>Cx. nigripalpus</i>	2,92	0,73
2	<i>Cx. declarator</i>	3,50	0,69
3	<i>Ma. titillans</i>	3,42	0,65
4	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	7,42	0,42
5	<i>Ps. albigenu</i>	7,75	0,39
6	<i>An. triannulatus</i>	7,33	0,37
7	<i>An. evansae</i>	8,67	0,30
8	<i>An. matogrossensis</i>	8,58	0,24
9	<i>An. albitarsis</i>	8,75	0,14
10	<i>An. darlingi</i>	9,75	0,13
11	<i>An. rondoni</i>	11,67	0,03

Na análise de índice de abundância por ponto de coleta, foi possível observar como as espécies estão distribuídas em cada um dos pontos. No ponto A, a espécie que ocupou a 1ª posição foi *Cx. nigripalpus* (SISA=0,72), seguida de *Ps. albigenu* (SISA = 0,58) e *Cx. declarator* (SISA = 0,50) (Tabela 9). No ponto B, a espécie que ocupou a 1ª posição foi *Cx. nigripalpus* (SISA=0,89), seguida de *An. albitarsis* (SISA = 0,54) e *Cx. declarator* (SISA = 0,50) (Tabela 10). No ponto C, a espécie que ocupou a 1ª posição foi *Cx. declarator* (SISA=0,83), seguida de *Cx. quinquefasciatus* (SISA = 0,54) e *Ps. albigenu* (SISA = 0,53) (Tabela 11). E no ponto D, a espécie que ocupou a 1ª posição foi *Cx. nigripalpus* (SISA=0,73), seguida de *Cx. declarator* (SISA = 0,58) e *An. evansae* (SISA = 0,53) (Tabela 12).

Tabela 9: Índice de abundância das espécies capturadas. “*Index of species abundance*” (ISA), convertido em “*Standardised index of species abundance*” (SISA) e a posição das espécies no Ponto A.

Posição	Ponto A		
	Espécies	ISA	SISA
1	<i>Cx. nigripalpus</i>	2,67	0,72
2	<i>Ps. albigena</i>	2,67	0,58
3	<i>Cx. declarator</i>	2,00	0,50
4	<i>An. triannulatus</i>	5,00	0,50
5	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	4,67	0,39
6	<i>An. darlingi</i>	7,67	0,33
7	<i>Ma. titillans</i>	4,67	0,27
8	<i>An. albitarsis</i>	7,33	0,21
9	<i>An. rondoni</i>	12,67	-0,17
10	<i>An. evansae</i>	14,00	-0,18
11	<i>An. matogrossensis</i>	11,67	-0,19

Tabela 10: Índice de abundância das espécies capturadas. “*Index of species abundance*” (ISA), convertido em “*Standardised index of species abundance*” (SISA) e a posição das espécies no Ponto B.

Posição	Ponto B		
	Espécies	ISA	SISA
1	<i>Cx. nigripalpus</i>	1,67	0,89
2	<i>An. albitarsis</i>	4,67	0,54
3	<i>Cx. declarator</i>	2,00	0,50
4	<i>Ma. titillans</i>	3,67	0,47
5	<i>An. triannulatus</i>	5,67	0,42
6	<i>An. darlingi</i>	7,33	0,37
7	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	5,33	0,28
8	<i>Ps. albigena</i>	5,33	-0,08
9	<i>An. matogrossensis</i>	11,00	-0,11
10	<i>An. evansae</i>	13,33	-0,12
11	<i>An. rondoni</i>	13,00	-0,20

Tabela 11: Índice de abundância das espécies capturadas. “*Index of species abundance*” (ISA), convertido em “*Standardised index of species abundance*” (SISA) e a posição das espécies no Ponto C.

Posição	Ponto C		
	Espécies	ISA	SISA
1	<i>Cx. declarator</i>	1,33	0,83
2	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	4,67	0,54
3	<i>Ps. albigenu</i>	3,33	0,53
4	<i>Cx. nigripalpus</i>	3,00	0,50
5	<i>Ma. titillans</i>	4,67	0,48
6	<i>An. albitarsis</i>	7,57	0,33
7	<i>An. evansae</i>	7,67	0,33
8	<i>An. darlingi</i>	9,33	0,24
9	<i>An. matogrossensis</i>	9,33	-0,04
10	<i>An. rondoni</i>	9,67	-0,08
11	<i>An. triannulatus</i>	12,00	-0,22

Tabela 12: Índice de abundância das espécies capturadas. “*Index of species abundance*” (ISA), convertido em “*Standardised index of species abundance*” (SISA) e a posição das espécies no Ponto D.

Posição	Ponto D		
	Espécies	ISA	SISA
1	<i>Cx. nigripalpus</i>	2,33	0,73
2	<i>Cx. declarator</i>	2,67	0,58
3	<i>An. evansae</i>	3,33	0,53
4	<i>Ps. albigenu</i>	4,33	0,52
5	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	5,00	0,33
6	<i>Ma. titillans</i>	4,67	0,27
7	<i>An. triannulatus</i>	8,67	0,04
8	<i>An. matogrossensis</i>	8,33	-0,05
9	<i>An. albitarsis</i>	14,67	-0,52
10	<i>An. darlingi</i>	-	-
11	<i>An. rondoni</i>	-	-

4.5.2 – Similaridade das espécies de culicídeos entre os Pontos de coleta

Para avaliar o grau de similaridade existente entre as espécies de mosquitos que ocorreram entre os pontos de coleta, foi utilizado o teste de hipóteses *T-student* de comparação entre grupos independentes. Através desse teste, a diferença entre cada espécie dentro dos grupos é significativa se $p\text{ valor} < 0,05$, dentro de um intervalo de confiança de 95%. A análise de similaridade a nível específico entre os pontos de coleta foi realizada de maneira a comparar ponto por ponto na seguinte conformação: AxB; AxC; AxD; BxC; BxD e CxD. Na comparação dos pontos AxB observou-se que apenas a espécie *Ps. albigena* apresentou diferença estatisticamente significativa entre esses pontos ($p=0,046$), todas as outras espécies não apresentaram uma diferença expressivamente detectável pelo teste de comparação de distribuição de médias empregado, sendo assim, a frequência das outras espécies foi considerada similar entre os pontos A e B (Tabela 13). Já na análise de comparação entre os pontos AxC todas as espécies foram consideradas similares, estando dentro dos 95% de chances de distribuição no intervalo de confiança ($p > 0,05$) (Tabela 14). No entanto, no teste de similaridade entre os pontos AxD as espécies *An. albitarsis* ($p=0,048$), *Cx. declartator* ($p=0,023$) e *Ps. albigena* ($p=0,016$) apresentaram diferença estatisticamente significativa, as outras espécies se comportaram de maneira semelhante entre esses pontos de coleta ($p > 0,05$) (Tabela 15). Entre os pontos BxC a única espécie com frequência estatisticamente discrepante foi *Ps. albigena* ($p=0,016$) (Tabela 16). O teste de similaridade entre os pontos BxD verificou diferença significativa apenas na espécie *An. darlingi* ($p=0,035$), todas as outras espécies se comportaram de maneira semelhante ($p > 0,05$) (Tabela 17). Na comparação entre os pontos CxD as espécies *Cx. declartator* ($p=0,029$) e *Ps. albigena* ($p=0,006$) apresentaram diferença estatisticamente comprovável

entre esses pontos, as outras espécies mantiveram o mesmo comportamento ($p>0,05$) (Tabela 18).

Tabela 13: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos AxB

Espécies	Ponto A		Ponto B		<i>p</i> valor
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
<i>An. albitarsis</i>	55,39	44,63	164,55	208,29	0,212
<i>An. darlingi</i>	48,04	40,58	41,40	29,07	0,414
<i>An. evansae</i>	3,41	3,16	13,41	18,10	0,200
<i>An. matogrossensis</i>	38,31	34,26	48,84	46,26	0,384
<i>An. rondoni</i>	19,94	24,92	20,82	18,10	0,481
<i>An. triannulatus</i>	94,82	82,98	103,31	107,04	0,459
<i>Cx. declartator</i>	375,67	153,60	310,46	164,18	0,321
<i>Cx. nigripalpus</i>	358,33	208,01	352,30	206,29	0,487
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	183,67	130,05	162,80	147,58	0,432
<i>Ma. titillans</i>	94,19	74,29	138,11	135,28	0,324
<i>Ps. albigena</i>	315,28	124,22	138,76	60,21	0,046

Tabela 14: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos AxC.

Espécies	Ponto A		Ponto C		<i>p</i> valor
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
<i>An. albitarsis</i>	55,39	44,63	19,30	22,48	0,140
<i>An. darlingi</i>	48,04	40,58	8,22	11,07	0,088
<i>An. evansae</i>	3,41	3,16	40,05	64,05	0,189
<i>An. matogrossensis</i>	38,31	34,26	106,19	161,46	0,258
<i>An. rondoni</i>	19,94	24,92	62,24	78,36	0,212
<i>An. triannulatus</i>	94,82	82,98	24,93	38,27	0,128
<i>Cx. declartator</i>	375,67	153,60	323,00	132,07	0,338
<i>Cx. nigripalpus</i>	358,33	208,01	261,33	151,70	0,275
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	183,67	130,05	157,67	111,64	0,403
<i>Ma. titillans</i>	94,19	74,29	137,35	200,85	0,372
<i>Ps. albigena</i>	315,28	124,22	256,54	54,82	0,248

Tabela 15: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos AxD.

Espécies	Ponto A		Ponto D		<i>p</i> valor
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
<i>An. albitarsis</i>	55,39	44,63	0,40	0,70	0,048
<i>An. darlingi</i>	48,04	40,58	0,00	0,00	0,055
<i>An. evansae</i>	3,41	3,16	284,79	449,49	0,170
<i>An. matogrossensis</i>	38,31	34,26	26,65	26,02	0,332
<i>An. rondoni</i>	19,94	24,92	0,00	0,00	0,119
<i>An. triannulatus</i>	94,82	82,98	45,27	68,29	0,235
<i>Cx. declartator</i>	375,67	153,60	111,00	45,39	0,023
<i>Cx. nigripalpus</i>	358,33	208,01	160,00	92,88	0,103
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	183,67	130,05	54,33	38,47	0,087
<i>Ma. titillans</i>	94,19	74,29	37,69	36,05	0,151
<i>Ps. albigenu</i>	315,28	124,22	64,08	54,22	0,016

Tabela 16: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos BxC.

Espécies	Ponto B		Ponto C		<i>p</i> valor
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
<i>An. albitarsis</i>	164,55	208,29	19,30	22,48	0,148
<i>An. darlingi</i>	41,40	29,07	8,22	11,07	0,069
<i>An. evansae</i>	13,41	18,10	40,05	64,05	0,263
<i>An. matogrossensis</i>	48,84	46,26	106,19	161,46	0,293
<i>An. rondoni</i>	20,82	18,10	62,24	78,36	0,211
<i>An. triannulatus</i>	103,31	107,04	24,93	38,27	0,149
<i>Cx. declartator</i>	310,46	164,18	323,00	132,07	0,461
<i>Cx. nigripalpus</i>	352,30	206,29	261,33	151,70	0,286
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	162,80	147,58	157,67	111,64	0,482
<i>Ma. titillans</i>	138,11	135,28	137,35	200,85	0,498
<i>Ps. albigenu</i>	138,76	60,21	256,54	54,82	0,033

Tabela 17: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos BxD.

Espécies	Ponto B		Ponto D		<i>p</i> valor
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
<i>An. albitarsis</i>	164,55	208,29	0,40	0,70	0,122
<i>An. darlingi</i>	41,40	29,07	0,00	0,00	0,035
<i>An. evansae</i>	13,41	18,10	284,79	449,49	0,178
<i>An. matogrossensis</i>	48,84	46,26	26,65	26,02	0,255
<i>An. rondoni</i>	20,82	18,10	0,00	0,00	0,059
<i>An. triannulatus</i>	103,31	107,04	45,27	68,29	0,236
<i>Cx. declartator</i>	310,46	164,18	111,00	45,39	0,056
<i>Cx. nigripalpus</i>	352,30	206,29	160,00	92,88	0,107
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	162,80	147,58	54,33	38,47	0,143
<i>Ma. titillans</i>	138,11	135,28	37,69	36,05	0,141
<i>Ps. albigenu</i>	138,76	60,21	64,08	54,22	0,093

Tabela 18: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os pontos CxD.

Espécies	Ponto C		Ponto D		<i>p</i> valor
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
<i>An. albitarsis</i>	19,30	22,48	0,40	0,70	0,110
<i>An. darlingi</i>	8,22	11,07	0,00	0,00	0,134
<i>An. evansae</i>	40,05	64,05	284,79	449,49	0,202
<i>An. matogrossensis</i>	106,19	161,46	26,65	26,02	0,224
<i>An. rondoni</i>	62,24	78,36	0,00	0,00	0,120
<i>An. triannulatus</i>	24,93	38,27	45,27	68,29	0,338
<i>Cx. declartator</i>	323,00	132,07	111,00	45,39	0,029
<i>Cx. nigripalpus</i>	261,33	151,70	160,00	92,88	0,190
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	157,67	111,64	54,33	38,47	0,102
<i>Ma. titillans</i>	137,35	200,85	37,69	36,05	0,223
<i>Ps. albigenu</i>	256,54	54,82	64,08	54,22	0,006

4.5.3 – Índices de diversidade de culicídeos entre os Pontos de coleta

Para avaliar a diversidade e se as espécies possuem uma distribuição semelhante ou divergente, foram utilizados os índices de diversidade de Shannon-Weaner (H') e de equitabilidade (E_H) com a totalidade de mosquitos capturados, inclusive os que ocorreram abaixo dos 5%, pois esses índices ecológicos levam em consideração a riqueza (S) e o número de espécimes (N) totais do ambiente estudado. Analisando as quatro áreas de amostragens, não observou-se significativa diferença do índice de diversidade de Shannon-Weaner, o ponto A foi o que apresentou o maior número de espécimes coletados ($N=4897$), entretanto a menor equitabilidade ($E_H=0,31$). Os pontos B e C tiveram a maior riqueza ($S=33$), já o ponto D apresentou a menor riqueza ($S=26$) e o menor número de espécimes capturados ($N=3058$), contudo o maior índice de Equitabilidade ($0,42$), revelando distribuição mais igualitária das abundâncias entre as espécies (Tabela 19).

Tabela 19: Valores de riqueza das espécies (S), número de espécimes (N), índice de diversidade de Shannon-Weaner (H), índice de equitabilidade de Shannon (E_H) e Média de Williams (X_w) em cada ponto de coleta.

Índices Ecológicos	Ponto A	Ponto B	Ponto C	Ponto D
Riqueza S	29	33	33	26
Indivíduos N	4897	4756	4822	3058
Shannon H	2,20	2,38	2,46	2,38
Equitabilidade E_H	0,31	0,33	0,35	0,42
Média de Williams X_w	171,97	104,37	255,36	142,37

4.6 – Influência dos períodos de chuva e de estiagem

As fases de regime anual da região do Pantanal são de grande importância, determinando condições bióticas e abióticas que influenciam o cenário biogeográfico da região de estudo. A comparação entre os períodos de chuva e de estiagem da área estudada foi realizada através dos cálculos de abundância ISA-SISA; de similaridade por Test-T e de índices de diversidade.

4.6.1 – Índice de abundância de culicídeos entre os períodos de chuva e de estiagem

Para avaliar quais foram as espécies mais abundantes em cada fase do regime anual de chuvas, foi utilizado o “*standardised index of species abundance*” (SISA). Este índice leva em consideração, além da quantidade de espécimes por espécie, presença e ausência das espécies ao longo das amostragens.

Utilizando o índice ISA e SISA entre os períodos de regime anual de chuvas, foi possível observar alteração no ranking de posicionamento das espécies entre os períodos de estiagem e de chuva. A espécie mais abundantes no período de seca foi *Cx. nigripalpus* (SISA=0,74), seguido de *Ma. titillans* (SISA=0,73), *Cx. declartator* (SISA=0,65) e *An. triannulatus* (SISA=0,38). No período de chuvas a espécie mais abundante foi *Cx. declartator* (SISA=0,64), seguida de *Cx. nigripalpus* (SISA=0,60), *Ma. titillans* (SISA=0,50) e *Ps. albigenu* (SISA=0,48) (Tabela 20). É digno de nota o destaque de *An. triannulatus*, que ficou na 4^a (quarta) posição no período de estiagem e no período de chuvas ocupou o 9^o (nono) lugar, e *An. albitarsis*, que ficou na 11^a posição no período de estiagem e no período de chuvas ocupou o 5^o lugar (Tabela 20).

Considerando a alternância do regime sazonal de chuva e estiagem, que configura a Planície Pantaneira, e sua influência direta e/ou indireta na flutuação de densidade populacional da fauna culicidéana, é importante salientar que todas as espécies apresentaram frequência superior a 60% no período de chuva, algumas chegando a ter frequência além de 90% no período de cheia, como foi para o *An. albitarsis* (Figura 20).

Tabela 20: Índice de abundância das espécies capturadas. “*Index of species abundance*” (ISA), convertido em “*Standardised index of species abundance*” (SISA) e a posição das espécies nos períodos de estiagem e de chuva.

Espécies	Período de Estiagem			Período de Chuva		
	Posição	ISA	SISA	Posição	ISA	SISA
<i>An. albitarsis</i>	11	2,83	-0,20	5	3,17	0,42
<i>An. darlingi</i>	10	2,33	-0,12	8	3,00	0,30
<i>An. evansae</i>	9	3,83	-0,07	6	4,50	0,41
<i>An. matogrossensis</i>	7	6,00	0,05	10	6,67	0,25
<i>An. rondoni</i>	8	6,83	-0,05	11	5,67	0,01
<i>An. triannulatus</i>	4	8,17	0,38	9	7,50	0,27
<i>Cx. declartator</i>	3	7,67	0,65	1	7,67	0,64
<i>Cx. nigripalpus</i>	1	12,50	0,74	2	7,33	0,60
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	5	8,50	0,35	7	8,33	0,39
<i>Ma. titillans</i>	2	12,17	0,73	3	8,50	0,50
<i>Ps. albigena</i>	6	11,83	0,20	4	11,89	0,48

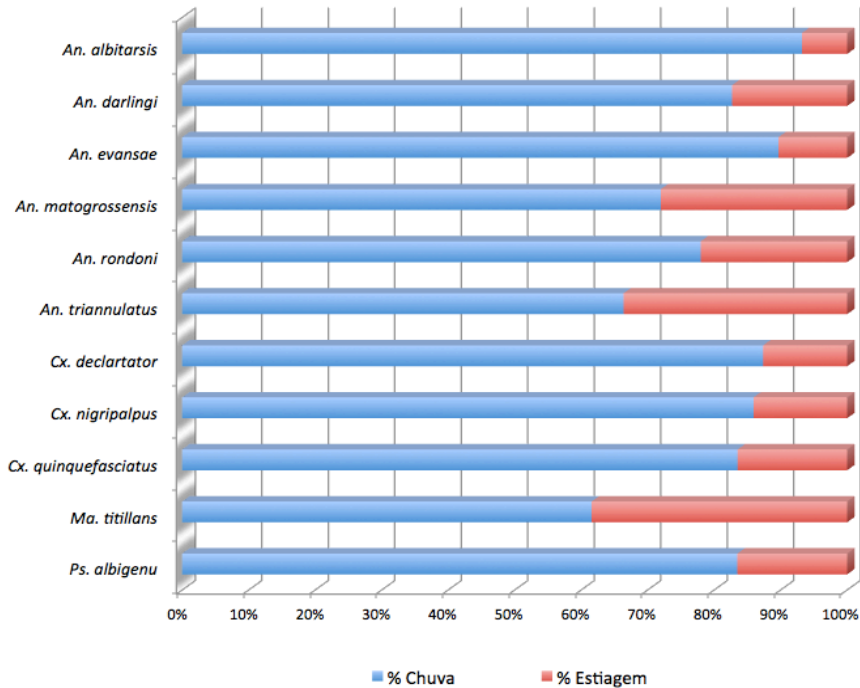


Figura 20: Percentual da distribuição de frequência total das espécies de mosquitos entre os períodos de chuva e de estiagem.

4.6.2 – Similaridade entre as espécies de culicídeos entre os períodos de chuva e de estiagem

Para avaliar o grau de similaridade existente entre as espécies de mosquitos que ocorreram entre os períodos de chuva e de estiagem foi utilizado o teste de hipóteses T-student de comparação entre grupos independentes. Através desse teste, a diferença entre cada espécie dentro dos grupos é significativa se $p\text{ valor} < 0,05$, dentro de um intervalo de confiança de 95%. Na análise de comparação entre os períodos de chuva e de estiagem observou-se que apenas as espécies *An. albitarsis* ($p=0,033$) e *Cx. declartator* ($p=0,037$) apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os períodos, todas as outras espécies não apresentaram uma diferença expressivamente detectável, sendo assim, a

frequência das outras espécies foi considerada similar entre os períodos de chuva e de estiagem pelo teste de comparação de distribuição de médias empregado (Tabela 21).

Tabela 21: Comparação de similaridade na distribuição das espécies entre os períodos de chuva e de estiagem.

Espécies	Período de Chuva		Período de Estiagem		<i>p</i> valor
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
<i>An. albitarsis</i>	111,83	122,74	8,17	12,84	0,033
<i>An. darlingi</i>	40,67	45,32	8,50	17,99	0,069
<i>An. evansae</i>	153,17	304,07	17,67	29,25	0,151
<i>An. matogrossensis</i>	79,17	139,72	30,83	52,05	0,223
<i>An. rondoni</i>	40,17	72,76	11,33	25,83	0,191
<i>An. triannulatus</i>	88,83	82,51	45,00	74,68	0,179
<i>Cx. declartator</i>	469,17	485,76	67,83	77,75	0,037
<i>Cx. nigripalpus</i>	484,17	580,96	79,33	88,36	0,061
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	220,00	366,84	43,33	58,94	0,136
<i>Ma. titillans</i>	124,50	100,12	77,67	62,29	0,177
<i>Ps. albigenu</i>	300,33	323,79	59,33	97,72	0,056

4.6.3 – Índices de diversidade de culicídeos entre os períodos de chuva e de estiagem

Para avaliar a diversidade e se as espécies possuem uma distribuição homogênea, foram utilizados os índices de diversidade de Shannon-Weaner (H') e de equitabilidade (E_H) com a totalidade de mosquitos capturados, inclusive os que ocorreram abaixo dos 5%, pois esses índices ecológicos levam em consideração a riqueza (S) e o número de espécimes (N) totais do ambiente estudado. Analisando as amostragens realizadas em cada estação de regime de chuvas, observou-se diferenças nos índices entres as coletas. O maior valor do índice de diversidade de Shannon-Weaner foi observado em Maio/09 ($H=2,57$),

período de transição entre as estações de chuva e de estiagem, e também apresentou a maior riqueza ($S=27$) e a terceira maior abundância ($N=2714$) em relação aos outros períodos de coleta (Tabela 22). O menor índice de equitabilidade foi observado no período de chuva, na coleta de Mar/09 ($E_H=0,27$) e que apresentou o segundo maior número de espécimes coletado ($N=2873$) (Tabela 22). Enquanto que o menor índice de diversidade foi na coleta de Nov/10 ($H=1,48$), no período de estiagem, com menor riqueza ($S=7$) e segundo menor número de espécimes coletados ($N=255$) (Tabela 23).

Esses índices revelaram que o período de chuva apresentou maior riqueza de espécies e número de indivíduos capturados, no entanto índices de diversidade e de equitabilidade menores do que os do período de estiagem (Tabelas 22 e 23).

Tabela 22: Valores de riqueza das espécies (S), número de espécimes (N), índice de diversidade de Shannon-Weaner (H), índice de equitabilidade de Shannon (E_H) e Média de Williams (X_w) em cada coleta dentro do período de chuva.

Índices Ecológicos	Período de chuva					
	Mar/09	Mai/09	Jan/10	Mar/10	Mai/10	Jan/11
Riqueza S	27	27	16	22	18	17
Indivíduos N	2873	2714	1423	1701	681	4927
Shannon H	1,99	2,57	1,60	1,86	2,17	1,71
Equitabilidade E_H	0,27	0,48	0,31	0,29	0,49	0,33
Média de Williams X_w	554,15	622,54	330,64	225,94	106,10	1215,09

Tabela 23: Valores de riqueza das espécies (S), número de espécimes (N), índice de diversidade de Shannon-Weaner (H), índice de equitabilidade de Shannon (E_H) e Média de Williams (X_w) em cada coleta dentro do período de estiagem.

Índices Ecológicos	Período de estiagem					
	Jul/09	Set/09	Nov/09	Jul/10	Set/10	Nov/10
Riqueza S	25	15	14	14	16	7
Indivíduos N	1030	842	198	699	190	255
Shannon H	2,25	1,81	2,06	2,33	2,16	1,48
Equitabilidade E_H	0,38	0,41	0,56	0,73	0,54	0,63
Média de Williams X_w	188,42	118,01	35,95	116,89	20,46	41,04

5 – DISCUSSÃO

5.1 – Inquérito Geral

No presente estudo foi analisada a fauna de mosquitos do Pantanal Matogrossense, coletados em quatro pontos situados ao longo da estrada Transpantaneira, no estado do Mato Grosso. Foi possível observar a estrutura biocenótica da fauna culicídeana na área estudada e analisar os fatores ambientais mais determinantes para a ocorrência das espécies.

Analisando comparativamente as ocorrências de culicídeos no presente estudo com aqueles levados a efeito em outras áreas de preservação ambiental brasileiras, constatamos que a diversidade específica da fauna culicídeana é influenciada tanto pela cobertura vegetal de cada bioma, como também pelos fatores climáticos locais, em especial pelo regime anual de chuvas em cada área, pois o momento e quantidade dessas precipitações são determinantes a estrutura e características dos criadouros desses mosquitos de uma maneira geral.

Guimarães et al. (1989), na áreas de Mata Atlântica, no litoral do estado do Rio de Janeiro, encontraram 45 espécies de culicídeos distribuídas em 13 gêneros; Guimarães et al. (2000a/b/c), no Parque Estadual Serra do Mar no estado de São Paulo, encontraram 57 espécies distribuídas em 14 gêneros; Guimarães et al. (2000d, 2001) no Parque Nacional Serra da Bocaina, próximo a divisa dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro, encontraram 28 espécies distribuídas em 11 gêneros; Guimarães et al. (2003) no Parque Nacional do Iguaçu, no estado do Paraná, encontraram 57 espécies distribuídas em 14 gêneros; Correa et al. (2014) no Parque Municipal de Nova Iguaçu, no estado do Rio de Janeiro, encontraram

31 espécies distribuídas em 12 gêneros e Alencar et al. (2015) na Reserva Ecológica de Guapiaçu, também no estado do Rio de Janeiro, encontraram 48 espécies distribuídas em 14 gêneros.

Do total de espécimes encontrados no Pantanal, a maior densidade populacional foi de representantes da subfamília Culicinae, principalmente pela alta incidência de *Cx. nigripalpus* com 25% do total de mosquitos capturados para esta subfamília.

Diferente do que acontece em muitos outros biomas brasileiros, como as regiões de Cerrado e da Floresta Atlântica e Amazônica, a fauna do Pantanal não se caracteriza pela presença de muitas espécies endêmicas. Entretanto, pelas especificidades da cobertura vegetal e o regime anual de chuvas, que provocam longos períodos de cheias e seca, com farta oferta de refúgios naturais e alimento, o Pantanal representa importante área para repouso e reprodução para muitas espécies migratórias, em especial aves. A presença dessas aves, originárias de outros países e mesmo continentes, alguns deles com a ocorrência de doenças relacionadas a presença desses hospedeiros e causadas por patógenos transmitidos por mosquitos, faz com que os estudos da ocorrência e ecologia desses vetores ganhe importância.

Esse real risco vem sendo comprovado recentemente pelos artigos publicados por Melandri et al. (2012), Anexo I, e parte do presente estudo no Pantanal de Mato Grosso, e por Pauvolid-Corrêa et al. (2010, 2011, 2013), em áreas semelhantes no estado do Mato Grosso do Sul, quando relatam evidências sobre a circulação de arbovírus causadores de doenças ao homem e/ou outros animais, tendo espécies de culicídeos como responsáveis pela transmissão desses patógenos.

Dentre as espécies de culicídeos encontradas no presente estudo, as ocorrências de *Cx quinquefasciatus*, *Cx. nigripalpus*, *Ma. titillans*, *Ps. ciliata* e *Ps. ferox*, frequentemente citados como vetores do WNV na América do Norte (Turell et al. 2001 e CDC, 2013) e de *Cq. venezuelensis*, já encontrada infectada pelo vírus na Venezuela (Velásquez et al. 2013), nos parece merecer destaque e com reais possibilidades de, em especial os dois primeiros, desempenhar significativo papel epidemiológico na circulação desse arbovírus no Pantanal Matogrossense.

5.2 – Distribuição sazonal

Considerando o somatório geral das espécies e analisando essa distribuição ao longo do intervalo total calculado, observa-se que as maiores frequências foram obtidas em Mar/09 e Jan/11, quando atingiram picos acima do limite superior esperado. Essas altas ocorrências nesses períodos, provavelmente estiveram relacionadas a significativa presença das espécies de *Culex* nessas coletas, indicando o favorecimento dessas espécies ao período de chuvas, que ocorreram com maior intensidade nesses meses. De uma maneira geral, a distribuição sazonal da fauna culicidéana diminuiu durante os períodos com menos chuva (Figuras 10-12 e Tabelas 1-2).

Alguns autores relatam que existe uma forte associação entre a disponibilidade de criadouros, ideais para postura de ovos e desenvolvimentos das larvas, as chuvas e, conseqüentemente, a presença da fauna culicidéana (Forattini et al. 1968; Hayes & Charlwood, 1979 e Guimarães et al. 2000a/b/d, 2001).

Comparando-se os intervalos de tolerância esperados para a manifestação da distribuição mensal de cada uma das espécies, com os picos observados em determinados meses, constatou-se que algumas dessas incidências estiveram acima ou abaixo dessa faixa, apresentando picos de incidência com grandes amplitudes seguido de redução desses picos para valores próximos da média. Forattini et al. (1968) e Guimarães e Arlé (1984) observaram que certas espécies de mosquitos, após o aumento na densidade em um determinado mês, diminuem significativamente nas amostragens realizadas no mês subsequente, podendo até mesmo desaparecer.

A subfamília Anophelinae apresentou padrão semelhante de distribuição, com picos em Mai/09 e Mai/10, tendo ainda se destacado acima do limite superior do intervalo de tolerância em alguns períodos (Figuras 10 e 11). O período de Abril a Maio sinaliza o final da incidência das fortes chuvas na região (Tabela 6 e Figura 13), podendo ser considerado como uma etapa de transição entre os períodos de cheia e seca, mantendo por algum tempo extensas áreas com o seu potencial máximo de alagamento. Esse cenário faz com que essa fase se apresente como muito favorável para espécies que se utilizam dos alagados para ovoposição e criação das suas formas imaturas (Berti et al. 1993; Natal et al. 1995; Forattini, 2002; Xavier & Rebêlo, 1999). Vale observar, que no caso do *An. triannulatus*, além do padrão de ocorrência em Mai/09, também constatou-se um acentuado pico em Jul/10 (Figura 11), em pleno período de estiagem na região. Essa ocorrência vem de encontro os relatos de Deane et al. (1948), que se referem ao fato de que algumas espécies de anofelinos podem apresentar picos de ocorrência em estação de seca, pois os riachos ficam reduzidos a córregos menores e mais lentos ou a poças isoladas, onde suas larvas criam-se bem.

O cálculo da média de Williams (X_w), proposta por Williams (1937) e adaptada por Haddow (1960), possui como base os valores das incidências dos mosquitos e visa evidenciar a tendência de distribuição natural das espécies dentro do período total, sem a interferência acentuada de incidências extremas relacionadas a particularidades. Assim, diferente da média aritmética, a média de Williams identifica e corrige valores com desvios muito acima do padrão esperado de distribuição, possibilitando a correção de picos muito acentuados ao longo da média histórica.

Uma dessas situações pode ser observada para o *An. triannulatus*, que apresentou X_w de 21,14 (a mais expressiva X_w observada) (Tabela 5), o que significa que o total de 803 espécimes coletados dessa espécie proporcionaram melhor distribuição ao longo das coletas, embora tenham ocorrido dois picos acima do limite superior do intervalo de tolerância esperado, contudo sem grande amplitude da média (pouco mais de 100 espécimes acima da média em cada pico) (Figura 11).

An. evansae, o mais abundante dos anofelinos, com 1025 espécimes capturados, apresentou mesmo valor de média de Williams que *An. matogrossensis* ($X_w=10,22$) que teve menos espécimes capturados (660 indivíduos) (Tabela 5). Isso porque o pico de ocorrência de *An. evansae* em Mai/10 foi muito acentuado, alcançando uma amplitude de mais de 600 indivíduos acima da média neste pico (Figura 10), fazendo com que a X_w fizesse essa correção.

Cabe ressaltar o comportamento uniforme dos anofelinos com picos acima do intervalo de tolerância em meses de alagamentos, devido altos índices pluviométricos antecedentes, ficando em conformidade com outros estudos que verificaram aumento de abundância dos anofelinos nesses períodos, como Quintero et al. (1996), que observaram aumento na população de anofelinos em estudo realizado após a formação do reservatório da Usina Hidrelétrica de Balbina, no estado do Amazonas; Zeilhofer et al. (2007) relataram o mesmo comportamento para esses culicídeos no Aproveitamento Hidrelétrico de Manso, no estado de Mato Grosso; Gomes et al. (2010) registraram os mesmos resultados para anofelinos em área de implantação de empreendimento hidrelétrico, na divisa dos Estados do Mato Grosso do Sul e São Paulo e Melandri et al. (2015) correlacionaram a explosão em abundância de anofelinos com a formação do alagamento em estudo antes e após a

formação da represa da Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa, no estado de Goiás.

Além disso, esse período de transição entre estações de cheia e seca, em que houve maior densidade dos anofelinos, é também período de retorno do gado da região, que fora manejado para outras áreas antes do período de chuva, para evitar problemas com esses animais durante a fase de alagamento, e que retorna para a região no fim do período chuvoso. Esse fato garante maior oferta de fonte alimentar para essas espécies de anofelinos que apresentam grande preferência de repasto sanguíneo em bovino. Dessa forma, a união de todos esses fatores, grande oferta de criadouros e de fonte alimentar, contribui fortemente para a grande explosão populacional de anofelinos nesse período.

Na subfamília Culicinae, as espécies do gênero *Culex* apresentaram alguma semelhança em sua distribuição mensal de densidade populacional, com picos acima do limite superior do intervalo de tolerância em Mar/09, para *Cx. declarator* e *Cx. nigripalpus*, e em Jan/11, para as duas espécies anteriores e *Cx. quinquefasciatus* (Figuras 11 e 12). A coleta de Jan/11 foi a mais rentável para as espécies do gênero *Culex*, com mais de 1.300 *Cx. declarator* e mais de 1.500 *Cx. nigripalpus* capturados em um único mês (Tabelas 1 e 2).

Guimarães & Arlé (1984), Guimarães et al. (2000a) e Forattini et al. (1995b) relataram o mesmo tipo de distribuição encontrada no presente estudo para *Cx. nigripalpus* e *Cx. declarator*, ou seja: quedas na ocorrência nos meses mais frios e secos e pico de incidência das amostragens realizadas no período de fortes chuvas. Guimarães & Arlé (1984), em dois anos de observações no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, e Lourenço-de-Oliveira et al. (1985) constataram que ocorre explosão populacional de *Cx. nigripalpus* nos períodos do ano em que, historicamente, ocorreram as maiores chuvas na região. Nayar

(1982) ressaltou que essa espécie é completamente controlada pelo regime anual das chuvas, estando condicionado a elas o número de posturas e gerações. Com base nesses relatos, associou-se a essas precipitações a incidência acima do limite máximo de tolerância observada nas coletas de Mar/09 e de Jan/11(Figura 11).

Entretanto, essa grande explosão em uma única coleta, fez com que o cálculo de média de Williams produzisse uma maior correção e, assim, espécies como *Cx. nigripalpus*, com número de representantes superior ao dobro do número de *Ma. titillans*, não ficasse com valor de X_w tão acima dos limites esperados (Tabela 5).

A espécie *Ma. titillans*, exibiu pico de incidência acima do limite superior do intervalo de tolerância em Mar/09 e em Mai/09 e queda com incidência abaixo do limite inferior em Nov/10 (Figura 12). É imperativo associar a ocorrência dessa espécie com a vegetação aquática, quando se trata de espécies que, como *Ma. titillans*, apresentam característica biológica de as formas imaturas, após o primeiro estágio larval, fixarem-se na vegetação aquática, para retirarem diretamente do parênquima aerífero o oxigênio necessário à respiração (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994 e Forattini, 2002). Dessa maneira, o pico de ocorrência acima do intervalo de tolerância em Mar/09 e em Mai/09 é explicado devido a região estar em seu auge em alagamentos, decorrente da alta pluviometria anterior, com maior oferta de áreas alagadas com vegetação aquática e, assim, maior oferta de criadouros para esta espécie, ocasionando o sucesso nesse período.

Da mesma forma, na contramão deste cenário, houve ocorrência abaixo do limite inferior na coleta de Nov/10 (Figura 12), período de transição entre seca e cheia que, com diminuição e perda de áreas alagadas, em consequência da estiagem precedente, o que resulta em diminuição da oferta de criadouros para essa espécie. Forattini et al. (1981)

encontraram este mesmo padrão de distribuição mensal para *Ma. titillans* em área de mata no Vale da Ribeira, no estado de São Paulo, e Silva & Lozovei (1998), no estado do Paraná. Em área de planície no estado do Rio de Janeiro, Lourenço-de-Oliveira et al. (1985) observaram que essa espécie foi mais frequente entre o outono e o inverno. Klein et al. (1992) relataram que *Ma. titillans* com picos populacionais tanto em estações secas como chuvosas, podendo indicar uma única população bimodal ou podem refletir diferenças dentro do complexo de espécies. Ou seja, um tipo pode ser mais comum durante a estação chuvosa e outra na estação seca.

Analisando o número total de espécimes capturados de *Ma. titillans* (1.213 indivíduos) e o resultado em média de Williams ($X_w = 67,3$) (Tabela 5), percebe-se que exibiu uma dispersão melhor distribuída ao longo das coletas, tanto com picos acima quanto abaixo do intervalo de tolerância, sem grande amplitude entre esses picos e o valor da média aritmética (Figura 12). Enquanto que a espécie *Cx. quinquefasciatus*, embora tenha apresentado maior abundância (1.580 indivíduos), exibiu um resultado de média de Williams mais baixo ($X_w = 28,8$) (Tabela 5), provavelmente devido a correção ao pico muito acentuado na coleta de Jan/11, onde foi possível capturar 954 espécimes, apenas nesta coleta, do total de 1.580 indivíduos capturados ao longo das 12 amostragens (Tabelas 1 e 2).

A espécie *Ps. albigenu*, exibiu picos de incidência acima do limite superior do intervalo de tolerância em Mar/09, em Jan/10 e em Jan/11 (Figura 12), meses de maiores índices pluviométricos (Tabela 6 e Figura 13). Os mosquitos *Psorophora*, como todos os representantes de *Aedes*, apresentam diapausa do ovo antecedendo a eclosão, permanecendo viáveis nos locais de postura até que esses se tornem criadouros, com o

advento das condições favoráveis, com breve período de desenvolvimento larval, já que esses criadouros são efêmeros e transitórios resultantes do acúmulo de água de chuva (Forattini, 2002). O comportamento da biologia desse mosquito contribui a compreensão do seu aparecimento súbito e de elevada densidade de adultos nos meses que apresentaram grandes picos de ocorrência, em períodos de chuvas, e outros meses onde houve baixa densidade ou mesmo ausência, quando houve pouca ou nenhuma chuva.

5.3 – Influência dos fatores climáticos

Considerando os fatores abióticos da região, observou-se que as temperaturas médias variaram entre a mínima de 22,8°C em Jul/09 e a máxima de 28,7°C em Nov/09, no primeiro ano de coleta, e entre a mínima de 21,4°C em Jul/10 e a máxima de 28°C em Set/10, no segundo ano de coleta. Ou seja, não apresentou grande oscilação na média sazonal de temperatura (Tabela 6 e Figura 13). Enquanto que a umidade relativa do ar apresentou maior variação, com mínima de 63% e máxima de 81%, em Ago/09 e Mar/09 do primeiro ano de coleta, e mínima de 58% e máxima de 81%, em Ago/09 e Fev/10, do segundo ano de coleta. Já a pluviosidade, a variável climática que apresentou maior oscilação, sendo mais alta durante os verões, tanto no primeiro ano de coleta, com presença de maiores picos em Jan/09 (255mm) e Mar/09 (231mm), quanto no segundo ano de coleta, com picos em Jan/10 (326mm); Fev/10 (352mm) e em Jan/11 (366mm). Em contrapartida, os menores índices pluviométricos foram no inverno, em Jun/09 (2,8mm) e Ago/09 (11mm), no ano de 2010 durante os meses de Jun/10; Jul/10 e Ago/10 não houve registro de chuvas na região do estudo, apresentando índice de precipitação pluviométrica zerado (Tabela 6 e Figura 13).

Para analisar a influência desses fatores climáticos na distribuição sazonal de cada uma das espécies que ocorreram com percentual acima de 5% em relação à sua subfamília, foram calculados os coeficientes de correlação linear para cada um dos fatores climáticos aferidos.

Conforme essa análise, a subfamília Anophelinae não apresentou correlação linear com nenhuma das variáveis climáticas testadas (Tabela 7 e Figuras 14, 16 e 18). É

importante salientar que o teste de coeficiente de correlação de Pearson (r) empregado mede o grau da correlação linear entre duas variáveis quantitativas, de maneira a verificar uma correlação entre resultado de uma em resposta ao momento da outra variável. Assim, quando o valor de r calculado foi menor do que o valor do r crítico (de acordo com o limite de confiança de 95% para a realização deste teste), significou que as duas variáveis não dependem linearmente uma da outra. No entanto, não significa que não há uma relação entre as variáveis, significa que pode existir uma outra dependência que seja não linear.

De acordo com a biologia e ecologia das espécies de anofelinos encontradas, tendo como subsídio importantes referências na área como Bates (1949), Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994) e Forattini (2002), em geral, seus criadouros são representados por grandes alagados, com certa profundidade e com vegetação flutuante e/ou emergente. Assim sendo, entendemos a importância determinante das chuvas para a formação desses alagados que serviram de criadouros, entretanto é compreensível que não é uma resposta da ocorrência de anofelinos imediata ao aumento das chuvas, uma vez que é necessário um determinado tempo até a formação dessas áreas inundadas, havendo uma correlação *a posteriori* dos altos índices pluviométricos com a densidade populacional dos anofelinos na área de estudo. Essa não correlação direta entre anofelinos e fatores climáticos também é observada em áreas de alagamentos artificiais pela barragem de cursos de rios em empreendimentos hidrelétricos, como o estudo realizado por Melandri et al. (2015) com anofelinos no entorno da represa da Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa, no estado de Goiás.

Neste estudo, foi realizada análise de correlação entre população de anofelinos com os fatores climáticos – com mesmas espécies do presente estudo: *An. albitarsis*, *An. darlingi*, *An. triannulatus* e *An. evansae* – antes e depois da formação do reservatório, tendo

como resultado correlação com os fatores climáticos no primeiro momento, em ausência do reservatório, no entanto, a análise realizada após a formação do reservatório não apresentou nenhuma correlação, o que significa que, mesmo em áreas onde existia essa influência das variáveis climáticas na população de anofelinos, em presença de grande alagados essa influência deixa de existir. Guimarães et al. (1997), em estudo sobre prevalência de anofelinos no Usina Hidrelétrica de Itaipu, relatam que em áreas sobre influência de reservatório de hidrelétricas, as populações de anofelinos sofrem influência do nível do reservatório, se tornando os fatores climáticos de influência secundária, pois a estabilidade do reservatório é um criadouro de resistência para a esses anofelinos.

Segundo Forattini (2002), as coletas com anofelinos costumam ser mais rentáveis quando ocorrem posteriormente a grandes chuvas, especialmente para as espécies *An. albitarsis* e *An. darlingi*. Aparentemente, fortes chuvas produzem elevada mortalidade entre pupas e larvas, conseqüentemente diminuição da densidade de adultos, devido enxurradas que “lavam” e arrastam seus criadouros.

Enquanto que para a subfamília Culicinae a alternância entre períodos de cheia, onde a oferta de criadouros é mais abundante, e os período da seca, quando permanecem ativas apenas pequenas coleções d'água em ocos de árvores e/ou em pequenas poças resultantes da vazante, faz com que as precipitações pluviométricas sejam determinantes para a maioria das espécies de culicídeos presentes nas amostragens.

As espécies da subfamília Culicinae capturadas no Pantanal estiveram influenciadas pelos fatores climáticos e regionais (Tabela 7 e Figuras 15, 17 e 19), já observadas por diferentes autores em áreas de preservação ambiental: Causey & Santos (1949), Forattini et al. (1968), Forattini et al. (1978a/b), Guimarães & Arlé (1984) e Guimarães et al. (2000a).

A única exceção foi a ocorrência de *Ma. titillans*, que esteve mais influenciada pelos processos de alagamentos, por se utilizar de macrófitas como local para a fixação dos ovos e primeiros estádios larval.

Forattini et al. (1968), Guimarães & Arlé (1984) e Guimarães et al. (2000a) relatam que as variações de temperatura e umidade relativa do ar influenciam diretamente os mosquitos e que estes podem chegar a desaparecer durante os meses mais secos do ano. Esses autores afirmam que determinadas espécies de mosquitos aumentam proporcionalmente com o regime regional de chuvas.

Seja pela influência direta de um ou mais fatores climáticos ou pelo cenário biogeográfico do meio como um todo, a subfamília Culicinae apresentou oscilações na frequência ao longo das amostragens realizadas de Mar/2009 a Jan/2011 (Figura 11 e 12). Para algumas espécies, observam-se picos de distribuição em mais de um mês de coleta: *Cx. nigripalpus* e *Cx. declarator*, em Mar/2009 e outro, muito acentuado, em Jan/2011 (Figuras 11 e 12). Guimarães et al. (2000a) e Forattini et al. (1995b) relataram o mesmo tipo de distribuição mensal para essas espécies de *Culex*, com menores ocorrências nos meses mais frios e secos e pico de incidência das amostragens realizadas no período das chuvas. Guimarães et al. (2001), em estudo realizado no Parque Nacional da Serra da Bocaina, no estado do Rio de Janeiro, concluíram que essa espécie é completamente controlada pelo regime anual das chuvas, estando condicionado a elas o número de posturas e gerações. Com base nesses relatos, associou-se aos índices pluviométricos a incidência acima do limite máximo de tolerância observados no meses de Mar/2009 e Jan/2011 (Figura 11 e 12), conforme constatado pelo coeficiente de correlação linear, a influência direta da precipitação e da umidade na frequência dessa espécies (Tabela 7).

Comparando os intervalos de tolerância esperados para a distribuição sazonal, constatou-se que algumas incidências estiveram acima ou abaixo das faixas de confiança. *Cx. declarator*, *Cx. nigripalpus* e *Cx. quinquefasciatus*, principais espécies vetoras do WNV nos EUA, e que foram representadas com considerável abundância no presente estudo, estiveram muito acima do intervalo de confiança esperado durante a captura no mês de Jan/2011 (Figura 11 e 12), aferido como um dos meses mais quentes e de maior índice pluviométrico (Tabela 6 e Figura 13).

Outros autores também demonstraram que essas condições climáticas, com altos índices pluviométricos, são fortemente favoráveis para espécies de *Culex* em regiões de preservação ambiental, como o Parque Estadual da Serra do Mar (Guimarães et al. 2000a) e áreas da Floresta Atlântica do estado do Rio de Janeiro (Alencar et al. 2011). Enquanto que *Ma. titillans*, durante o mesmo período, apresentou pico abaixo do intervalo de confiança esperado, sugerindo que as condições desse período não tenham sido favoráveis (Figura 12).

A ocorrência de *Mansonia* certamente esteve diretamente relacionada à variedade de criadouros naturais formados pelas extensas áreas alagadas durante o período de cheia no Pantanal. As áreas inundáveis, cobertas por vegetação aquática, nos parece ter favorecido a proliferação *Ma. titillans*, que são geralmente muito numerosas e agressivas onde ocorrem (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994). Diferente do que ocorre em outras regiões do país, onde a presença de *Mansonia* é decorrente de alterações ambientais, que favorecem o surgimento de macrófitas oportunistas, como no caso dos represamentos pela construção de usinas hidrelétricas (Tadei, 1996).

No presente estudo, a significativa presença de *Ma. tittilans* esteve relacionada a grande variedade de criadouros naturais adequados ao seu desenvolvimento, onde a cobertura das áreas alagadas por macrófitas é um dos componentes naturais do bioma pantaneiro, isso explica a não ocorrência de correlação direta pelos fatores climáticos aferidos (Tabela 7). Pois, embora obviamente tenha ocorrido uma influência das chuvas para formação de um habitat favorável à vegetação aquática que serve de criadouro a esta espécie, isso se deu por uma via secundária e indireta.

Por outro lado, espécies de Culicinae, como e *Ps. albigenu*, que possui criadouros transitórios em coleções hídricas no solo, também podem ter sido favorecidas pelas pequenas coleções d'água resultantes das áreas alagadas pelas chuvas ou por transbordamento de cursos d'água no período da cheia e subseqüente períodos de vazante, incluindo-se nesse caso os vários tipos de depressão no solo, desde pequenas poças d'água até coleções de maiores extensões, como pântanos temporários e extensas impressões de roda de veículos no solo argiloso (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994 e Forattini, 2002). Afinal, os ovos de *Ps. albigenu*, como característica dos representantes da tribo Aedini, possuem significativa capacidade de diapausa do ovo, sendo assim, uma vez feita a ovoposição em locais potencialmente viáveis para se transformar em criadouro, onde as fêmeas teriam sido atraídas pela umidade do local – fato que explica o resultado de correlação positiva entre a variável umidade do ar com esta espécie – esses ovos podem permanecer viáveis por longo período em estado de quiescência para que, finalmente, com o advento das condições favoráveis, possa ocorrer a eclosão quando em contato com a água.

Essa característica faz com que esse *Aedini* apresente uma explosão populacional em períodos chuvosos, como no presente estudo, em que *Ps. albigenu* apresentou picos de incidência acima do intervalo de tolerância esperado em Mar/09, Jan/10, Mar/10 e Jan/11 (Figura 12), que foram os meses com as maiores precipitações pluviométricas (Tabela 6 e Figura13).

Forattini et al. (1981) encontraram as maiores ocorrências de *Ps. albigenu* nos meses de março e dezembro e assinalam a influência positiva da chuva e umidade para a espécie, em concordância com nossos resultados, em que os picos de ocorrência além da tolerância esperada foram nos meses de novembro e janeiro (Figura 12), apresentando correlação linear positiva com índices de precipitação pluviométrica e com umidade relativa do ar (Tabela 7).

A significativa influência de fatores geográficos e climáticos na ocorrência das espécies de culicídeos no Pantanal, foram também observadas por diferentes autores em outras áreas de preservação ambiental, conforme estudos de Forattini et al. (1978a/b), Guimarães et al. (2000a e 2001) e Alencar et al. (2011). Esses autores descrevem que algumas espécies de mosquitos aumentam proporcionalmente com o regime regional de chuvas, sendo controlados principalmente pela precipitação pluviométrica, corroborando com nossos resultados, onde a frequência sazonal da maioria das espécies indicou uma relação entre a ocorrência de culicídeos e aspectos particulares do clima regional, especialmente pluviometria. Analisando os dados de coeficientes de correlação linear de pluviosidade, observou-se que ela foi significativa para o aumento do número de espécimes no período de chuvas, apresentando resultado de correlação positiva para a maioria das espécies da subfamília Culicinae analisadas, exceto para *Ma. titillans*, que não apresentou

correlação positiva com nenhuma das variáveis climáticas analisadas (Tabela 7).

Segundo Forattini (2002), essa espécie possui hábitos de ovoposição preferencialmente em vegetação aquática, sendo assim, altos índices pluviométricos, especialmente quando antecedidos por grande período de seca, parece ser prejudicial para seus criadouros, a princípio, até que se reestabeleça um ecossistema favorável entre criadouros alagados e macrófitas, para que a ocorrência dessas espécies se normalize.

5.4 – Distribuição em Relação aos Pontos de Coleta

As principais espécies de culicídeos encontradas no Pantanal Matogrossense, demonstraram forte compatibilidade ecológica com ambientes bem preservados e com algum dos biótopos específicos encontrados em, pelo menos, um dos quatro pontos de coleta selecionados: A, B, C e D (Figuras 1 – 5), sugerindo que nas localidades onde foram realizadas essas amostragens, embora cada vez mais presente, em especial nos pontos A e B, a ação antrópica não se apresentou como o fator mais determinante. As principais exceções foram as ocorrências das espécies de *Culex*, que, por se utilizar dos muitos utensílios domiciliares para postura dos ovos e criadouros das formas imaturas, foram coletadas principalmente nesses pontos (A e B), onde se encontram locais de exploração pecuária e hospedagem para os muitos turistas que visitam anualmente o Pantanal Matogrossense.

A ocorrência da subfamília Anophelinae e das tribos Aedini e Mansoniini certamente esteve diretamente relacionada à variedade de criadouros naturais formados pelas extensas áreas alagadas durante o período de cheia no Pantanal.

Espécies como *An. evansae* e *An. rondoni* tem as ocorrências ligadas a ambientes silvestres, o que de certa maneira coincide com as presentes observações nos Pontos C e D. Por esse motivo e por não ter hábitos alimentares tipicamente antropofílicos, esses anofelinos tem raros relatos de envolvimento com a epidemiologia na transmissão de patógenos humanos, inclusive da malária, sendo portanto de pouca importância epidemiológica. Entretanto, segundo Guimarães et al. (2004), muitos anofelinos, mesmo sem grande importância epidemiológica, podem sofrer alterações na dinâmica populacional

e comportamento mediante novas circunstâncias ambientais de maneira a modificar sua condição enquanto vetor.

Pouco são os relatos na literatura sobre sua ecologia ou mesmo ocorrência do *An. matogrossensis*. Causey & Santos (1949), referem-se a espécie como típica de florestas, se utilizando de pequenos depósitos como ocos de árvores como criadouros das formas imaturas, o que pode explicar as maiores ocorrências nas presentes amostragens terem sido observadas no Ponto C.

As outras três espécies de anofelinos analisadas foram coletadas preferencialmente nos Pontos A e B: *An. darlingi*, *An. albitarsis* e *An. triannulatus*, estando as duas primeiras entre os principais vetores do *Plasmodium* causador da malária no Brasil. O *An. triannulatus*, embora seja considerado por grande parte dos autores como um anofelino silvestre e zoófilo (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994 e Forattini et al. 1994), tem sido encontrado também em ambientes urbanos e peri-urbanos em diferentes regiões da Amazônia (Tadei et al. 1988 e Tadei et al. 1993) e na Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa, no estado de Goiás (Guimarães et al. 2004). Apesar de ter observada sua capacidade de forma experimental e natural, a espécie *An. triannulatus* não tem sido responsabilizada como vetora de malária, a não ser em condições especiais e de elevada densidade (Arruda et al. 1986, Deane 1988 e 1989, Oliveira-Ferreira et al. 1990, Rosa-Feitas et al. 1998). Segundo Forattini (2002), as formas imaturas do *An. triannulatus* são encontradas em criadouros expostos à luz e com abundante vegetação aquática, como no caso das grandes coleções d'água existentes nos Pontos A e B. Ressaltamos ainda que, por preferirem áreas de maior insolação, mesmo nos períodos de seca, quando houve diminuição do nível de água desses criadouros, a ocorrência manteve-se expressiva.

O *An. darlingi* é altamente susceptível aos plasmódios causadores da malária humana no Brasil, com registro de altas taxas de infecção, grande capacidade de transmissão em ambiente silvestre e domiciliar, mesmo quando em baixa densidade. Por esse motivo, mesmo não tendo sido o anofelino mais abundante no Pantanal Matogrossense, deve ser fortemente considerada a sua ocorrência nos Pontos A e B, onde observamos a maior presença do homem na região. Provavelmente, a sua incidência nesses pontos, deve-se ao fato de ser o anofelino que melhor e mais rapidamente se beneficia das alterações que o homem produz ao ambiente, como a alteração de áreas silvestres por outras para exploração agrícola, pecuária ou mesmo atividades de ecoturismo, como temos observado nas últimas décadas no Pantanal. Deane (1989), Tadei et al (1985) e Oliveira-Ferreira et al. (1990) citam a alteração no comportamento do *An. darlingi* em regiões de colonização recente na Amazônia, quando passaram a demonstrar forte tendência para picar o homem indistintamente dentro e fora dos domicílios. Tal flexibilidade ecológica potencializa sua competência enquanto vetor e confere destaque especial à necessidade de constante verificação e monitoramento do comportamento de suas populações.

Destacando-se como o anofelino de maior abundância nas amostragens no Ponto B, o *An. albiparvus* é considerado como o principal vetor secundário dos patógenos causadores de malária em todo Brasil, inclusive na região sudeste, principalmente onde já tenha ocorrido a transmissão pelo *An. darlingi* (Deane 1986, Forattini et al. 1993a/b/c, Forattini et al. 1995a, Teodoro et al. 1995, Guimarães et al. 1997 e Tadei & Thatcher 2000). Mais recentemente tem sido incriminado como vetor primário de malária em determinadas localidades, como em áreas da Serra do Navio, no estado do Amapá (Póvoa et al. 2001) e região de Boa Vista, no estado de Roraima (Silva-Vasconcelos et al. 2002).

Para essa expressiva presença no Ponto B, deve ter colaborado diretamente o ecletismo quanto aos criadouros para as formas imaturas, pois realizam postura dos ovos nos mais variados tipos de pequenas coleções d'água: sejam elas temporárias ou permanentes, naturais ou artificiais, expostas à luz ou sombreadas (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994). Entretanto, as larvas não são tão abundantes nos grandes alagados de água doce, perene e limpa, como ocorre nos Pontos C e D. A preferência alimentar de *An. albitarsis* pode variar de região para região, de uma maneira geral é considerada zoófila (Deane et al. 1988, Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994 e Forattini et al. 1994). Entretanto, em áreas onde tem-se observado a introdução do homem, como nos Pontos A e B, Lourenço-de-Oliveira et al. (1989) também capturaram a espécie picando o homem no intra e peridomicílio. Diversos autores comentam sobre o comportamento antropofílico intenso de *An. albitarsis*, em especial na ausência de animais de grande porte nas imediações das habitações (Consolim 1974, Klein & Lima 1990, Rubio-Palis & Curtis 1992, Forattini et al. 1994, Forattini et al. 1995a, Guimarães et al. 1997).

De uma maneira geral, a subfamília Anophelinae teve como seus principais criadouros das formas imaturas, coleções líquidas de grande porte, como as grandes áreas alagadas encontradas em todos os pontos de amostragens no Pantanal, estando a escolha por um desses pontos ligadas a características específicas de cada espécie, como a presença de hospedeiros para a hematofagia. Por outro lado, as espécies da subfamília Culicinae encontradas no presente estudo, além desses, também se utilizaram de vários tipos de criadouros transitórios, em pequenas coleções d'água no solo, resultantes das áreas alagadas pelas chuvas ou por transbordamento de cursos d'água no período da cheia e subsequente períodos de vazante, restritas coleções por escavações em solos, como

processos artificiais pela passagem veículos ou ainda os múltiplos reservatórios resultantes da atividade humana na região.

Em áreas da Mata Atlântica, no estado do Rio de Janeiro, com relativa intervenção antrópica, Guimarães et al. (1989) encontraram *Cx. nigripalpus* no peri e intradomicílio de habitações localizadas em meio a ambientes de mata bem preservados. Entretanto, em áreas de preservação ambiental, também em áreas litorâneas de Mata Atlântica, mas no estado de São Paulo, esses mesmos autores relatam exclusiva presença da espécie em ambiente silvestre, não tendo sido coletado em áreas sob ação antrópica, mesmo quando se localizavam no interior da mata (Guimarães et al. 2000b). Lourenço-de-Oliveira et al. (1984), em áreas altamente alteradas no estado do Rio de Janeiro, relatam a presença da espécie em coletas realizadas em áreas alagadas, semelhantes as encontradas nos pontos de amostragem no Pantanal, e no entorno dos domicílios localizados em áreas de invasão humana.

No presente estudo, *Cx. nigripalpus* apresentou favoritismo pelos pontos A e B, os quais, além de estarem circundados por ambiente com fragmentos de mata, são compostos basicamente por áreas recobertas de gramíneas de grande porte, intensamente alagadas durante o período das grandes cheias e com forte ação antrópica, quer seja pela existência de fazendas de gado (Ponto A) ou pela frequente presença de turistas em práticas de ecoturismos (Ponto B – em áreas do Hotel Pantanal de Mato Grosso). Essa incidência pode estar relacionada ainda à alta ornitofilia, sendo atraída pela presença de aves domésticas no Ponto A e pelas muitas aves residentes e/ou migratórias que são encontradas nas extensas áreas alagadas do Ponto B, principalmente durante os períodos de reprodução. Essa preferência por sugar aves e a pouca avidez por sangue humano é relatada em Guimarães et

al. (1984) e Forattini et al. (1993a), que cita que muitos espécimes permaneciam pousados por longo tempo na vegetação circundante antes de investirem sobre a isca humana. Forattini et al. (1995b) ressaltam que essa proximidade ao domicílio faz aumentar a importância epidemiológica da espécie, que tem sido incriminada como transmissora de arboviroses como ESL (Encefalite de São Luís) e EEL (Encefalite equina do Tipo Leste).

A única espécie verdadeiramente sinantrópica encontrada nas amostragens no Pantanal Matogrossense, *Cx. quinquefasciatus* foi coletado em todos os pontos, com maior abundância no Ponto A, mas também com significativa presença nos Pontos B e C. As fazendas que mantêm em cativeiro aves domésticas e exploram a pecuária de corte em áreas próximas ao Ponto A e a rotina de visitantes que se hospedam para atividades de ecoturismo no Hotel Pantanal no Ponto B, nos parecem justificar plenamente a significativa ocorrência desse culicíneos nas amostragens aí realizadas, apresentando uma grande importância a nível de vigilância epidemiológica esses encontrso. Entretanto, no Ponto C, área tipicamente formada por vegetação arbustiva e extensamente alagada no períodos das cheias, a presença do *Cx. quinquefasciatus* em tão expressiva abundância, pode estar relacionada ao acesso ao rio Cuiabá, feito por estrada secundária, completamente inundada durante as cheias, mas que corta os locais onde são colocadas as armadilhas de coleta da fauna culicidéana, e que vem sendo utilizada para pesca esportiva e observação de répteis de grande porte que tem visitado a região nos últimos anos. Apesar das recomendações dos guias locais e da vigilância dos coordenadores das expedições, muitos desses visitantes descartam no local utensílios que podem ser utilizados como criadouros por esse mosquito, favorecendo a presença, como observado nas coletas realizadas em 2011.

Apesar de Lourenço-de-Oliveira & Heyden (1986), observarem que em áreas rurais no estado do Rio de Janeiro, onde as casas são distantes umas das outras, o *Cx. quinquefasciatus* pode se tornar mais escasso, pelos presentes resultados e pelos relatos de Guimarães et al. (1989) e de Natal et al. (1991), nos parece que a hipótese de Forattini et al. (1968), de que esse mosquito se adapta rapidamente a essas áreas, mesmo em localidades onde a presença do homem se apresenta de forma eventual, vem de encontro ao comportamento observado no Ponto C.

As ocorrências encontradas para *Cx. declarator* e *Ps. albigenu* nas coletas realizadas tanto nos Pontos A e B, áreas com alguma ação antrópica e principalmente no Ponto C e Ponto D, áreas exclusivamente silvestres, demonstram o possível ecletismo da espécie em relação a seleção dos hospedeiros para a hematofagia, ficando a escolha da área influenciada pela oferta de locais de postura, considerando os momentos em que são mais favoráveis ao longo do ano. Forattini (2002) observa que ambas as espécies possuem certa tendência em adaptar-se ao meio antrópico, devido o encontro de formas imaturas em coleções líquidas de uso doméstico e artificiais, frequentemente encontrado em matas residuais e secundárias. Cabe ressaltar ainda que, apesar das fêmeas *Cx. declarator* serem preferencialmente ornitófilas, a espécie foi incriminada como um dos principais vetores natural do vírus da encefalite de São Luís, na região amazônica, podendo exercer papel semelhante no Pantanal Matogrossense (Vasconcelos et al. 1991). *Ps. albigenu* ainda não foi encontrado infectado naturalmente, mas experimentalmente tem se mostrado suscetível ao vírus da Encefalite Equina do Oeste (Turell et al. 2008).

As áreas inundáveis, cobertas por plantas aquáticas, nos parece ter favorecido particularmente a proliferação de espécies da tribo Mansoniini, que são geralmente muito

numerosas e agressivas onde ocorrem (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994 e Forattini, 2002). Entretanto, diferente do que ocorre em outras regiões do país, onde a presença de *Mansoniini* é decorrente de alterações ambientais que favorecem o surgimento de macrófitas oportunistas, como no caso dos represamentos pela construção de usinas hidrelétricas, nas amostragens aqui relatadas, a significativa presença de *Ma. titillans* esteve relacionada a grande variedade de criadouros naturais adequados ao seu desenvolvimento, onde essa vegetação é componente natural do bioma pantaneiro, como aqueles encontrados nos Pontos A, B e C.

De acordo com Forattini (2002), a alteração ambiental de origem antrópica favorece o aparecimento de *Ma. titillans*. Esse fenômeno tem sido observado com a derrubada da vegetação primitiva e subsequente aparecimento de espaços abertos. Em vista disso, o mosquito fora coletado em proximidades de habitações em ambientes silvestres (Lourenço-de-Oliveira, 1989).

Apesar de estarem inseridos em extensas áreas de planície, com cobertura vegetal semelhante e regidos climaticamente pela forte alternância entre as estações chuvosas e de estiagem, os quatro pontos de amostragens no Pantanal podem ser diferenciados pelo grau de similaridade que apresentam entre a composição da fauna culicidiana. Basicamente, pela estrutura e cenário florístico dos quatro pontos, podemos considerar que, agrupados dois a dois, os Pontos A e B são mais similares entre si, assim como os Pontos C e D. Pelos mesmos critérios, qualquer um dos pontos do primeiro grupo (A ou B) estariam afastados daqueles reunidos no segundo grupo (C ou D) (Figuras 1 a 5). Entretanto, pelo teste de hipóteses *T-student* para comparação entre grupos independentes, o grau de similaridade existente entre as espécies que ocorreram nesses pontos de coleta demonstram que,

excetuando *Ps. albigenu* na relação entre os Pontos A – B e B – C, todas as demais espécies de culicídeos analisadas apresentam significativo grau de similaridade com as ocorrências verificadas no Pontos A, B e C.

Se considerarmos os valores obtidos pelo *T-student*, respectivamente para relação de similaridade entre os pontos A – C e A – D, constatamos que, apesar da composição florística e estrutura biocenótica serem semelhantes nos pontos C e D, a ocorrência das espécies de culicídeos entre esses pontos foi similar entre os Pontos A e C e com menor similaridade entre os Pontos A e D, principalmente se considerarmos a presença de espécies como: *An, albitarsis, Cx. declarator* e *Ps. albigenu*. Por esses dados, a ocorrência dessas espécies nesses pontos esteve ligada a fatores comuns aos pontos A e C e que não estiveram presentes no Ponto D, apesar das semelhanças gerais entre esse ponto e o Ponto C. Dentre esses fatores, possivelmente, a ação antrópica, mesmo que eventual, encontrada no Ponto C, fez com que essas espécies, pelo menos em determinados momentos, encontrassem similaridades para contemplar as ocorrências em ambos os pontos (Tabelas 13 – 18).

Conceitualmente, segundo definição de Richardson (1999), biomas estáveis e equilibrados são caracterizados por apresentar altos índices de diversidade específica. No caso do Pantanal Matogrossense, em especial nos pontos de amostragens A e B, o forte estresse a que está submetido, tanto pelo constante manejo do gado devido a alternância entre as estações de cheia e vazante, como pela cada vez maior ação antrópica causada pelo ecoturismo, a diversidade a estrutura faunística em geral estaria sensivelmente prejudicada. Entretanto, no caso da fauna culicidéana, que muitas vezes podem ser favorecidas por essas mesmas situações de estresse, não nos parece que os índices de diversidade e equitabilidade possam ser muito diferentes entre os quatro pontos de amostragens estudados. Pelos índices

de Shannon (H) aferidos para os quatro pontos, a diversidade se manteve próxima em todos os pontos, sendo inclusive a mesma nos pontos B e D, que apresentam as maiores divergências quanto a composição do cenário florístico e as alterações submetidas pela ação antrópica (Tabela 19).

5.5– Distribuição em relação aos períodos de chuva e de estiagem

O Pantanal Matogrossense é uma grande planície, com dinâmica ambiental regulada principalmente pelo pulso de inundação, segundo o qual os períodos de cheias e secas alternadas constituem o principal fator que rege a ecologia da fauna e flora locais. A variabilidade pluviométrica anual atua sobre a biota com diferentes intensidades e em diferentes escalas de tempo. Considerando a influência direta das áreas alagadas do Pantanal, fatores climáticos como temperatura, pluviosidade e umidade relativa do ar nos parecem ter influência secundária, em especial na presença da subfamília Anophelinae.

De acordo com índice de abundância ISA-SISA, os anofelinos subiram de posição no ranking do período de cheia em relação ao período de estiagem, com destaque para *An. albitarsis* que ocupou a 11^a posição na seca, com 7% de seus representantes, e a 5^a posição na cheia, com 93% de seus representantes (Tabela 20). As exceções ficaram por conta de *An. rondoni* e *An. triannulatus*, que desceram de posição no ranking do período de cheia em relação ao período de estiagem, onde *An. rondoni* foi da 8^a para a 11^a posição no período de cheia e *An. triannulatus* foi da 4^a para 11^a posição (Tabela 20). Embora também tenham ocorrido em maior número de espécimes no período de chuva (78% e 66% respectivamente) (Figura 20) deve-se entender que este índice ISA-SISA utiliza o valor absoluto total coletado em cada espécie apenas para a construção de um ordenamento dentro de cada amostragem, tendo maior peso, neste cálculo, a posição das espécies nesses rankings de amostragens, o somatório das posições nesses pré-rankings e o número de vezes em que a espécie esteve ausente.

Levando-se em consideração as características biogeográficas da região da planície Pantaneira e suas conformações ambientais regidas pelos processos de enchentes e secas, consequentes do regime de chuvas anual, pode-se considerar que essas interferências na densidade populacional de anofelinos são processos análogos aos ocorridos em áreas de construção de empreendimentos hidrelétricos. Melandri et al. (2015) observaram um aumento de 37 vezes na incidência total das espécies de anofelinos, influenciadas por grandes alagados, no momento de formação da represa artificial da Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa, quando comparado ao momento anterior ao alagamento. Esses resultados estão em conformidade com os encontrados no Pantanal, em que as espécies de anofelinos analisadas ocorreram majoritariamente durante o período de cheia, principalmente espécies como *An. albitarsis* (93%), *An. evansae* (90%) e *An. darlingi* (83%) (Figura 20).

Por outro lado, ao contrário dos criadouros de anofelinos em represas artificiais de empreendimentos hidrelétricos, que podem ser considerados criadouros de resistência, no Pantanal, muitas dessas áreas alagadas são transitórias. Por isso, passado os períodos de grandes índices pluviométricos, tendo como consequência grande seca na região, esses criadouros são extintos fazendo com que as coletas no períodos de maiores secas apresentem baixas incidências ou zeradas, como aconteceu com a maioria das espécies de anofelinos nas coletas de Setembro e Novembro, em ambos os anos do estudo (Figura 10 e 11), quando nos meses que antecederam essas coletas tiveram índices próximos a zero de pluviometria (Tabela 6 e Figura 13). Essas coletas zeradas ou muito próximas a zero para as espécies de anofelinos no período seca, contribuíram para essas espécies tivesse ocorrência preponderantemente durante o período de chuva.

No caso da subfamília Culicinae, algumas espécies não apresentaram diferença significativa entre os índices de SISA entre os períodos de chuva e de estiagem, como *Cx. declartator* (SISA 0,64 para chuva e 0,65 para estiagem) e *Cx. quinquefasciatus* (SISA 0,39 para chuva e 0,35 para estiagem) (Tabela). *Ma. titillans* teve SISA maior (0,73) do que *Cx. declarator* (0,65), por exemplo, isso foi possível devido *Ma. titillans* ter melhor ocorrência em época de estiagem (38%) do que *Cx. declarator* (13%) (Tabela 20).

As espécies de *Mansonia* diferem-se dos demais culicídeos por realizarem as posturas dos ovos sob as folhas de plantas aquáticas (*Eichornia*, *Typha*, etc.) e, após a eclosão na água, as larvas de segundo estágio fixam-se a essas plantas, sendo essencial, dessa maneira, a presença de alagados com vegetação aquática (Forattini, 2002). Por isso, a ocorrência de *Ma. titillans* certamente esteve diretamente relacionada à variedade de criadouros naturais formados pelas extensas áreas alagadas durante o período de altos índices pluviométricos no Pantanal. Entretanto, da mesma forma que é necessário algum tempo para que se atinja todo o potencial de alagamento da região, esse processo ainda resiste aos primeiros meses sem chuva até que a seca e/ou diminuição de volume d'água se faça presente, fazendo com que os criadouros de *Ma. titillans* apresentem certa resistência, permanecendo nas coletas iniciais do período de estiagem.

Em número de espécimes coletados, todas as espécies tiveram representação muito maior no período de chuvas (Figura 20), embora tenha ocorrido alguma discrepância nos índices SISA. Conforme supramencionado, o que tem maior peso neste cálculo é a posição das espécies nesses rankings de amostragens, o somatório das posições nesses pré-ranckings e o número de vezes em que a espécie esteve ausente, isso significa que os mosquitos devem ter apresentado algumas coletas com

explosão numérica em espécimes em algumas coletas do período de chuva, fato que pode ser confirmado pelos gráficos de intervalo de tolerância (Figura 11 e 12), com espécies de altíssimo número de representantes nas coletas Mar/09 e de Jan/11, o que implicou na configuração da curva de distribuição do total de culicídeos (Figura 12).

Durante a estação climática em que essas espécies ocorrem em maior abundância, a população humana que adentra a essas áreas de mata está sujeita a um maior contato com mosquitos vetores, que podem veicular agentes causadores de doenças como os arbovírus. O período de cheia no Pantanal ocorre durante os meses mais chuvosos e quentes, dezembro a maio, no Hemisfério Sul (Alho et al. 1988), mesmo período em que as aves migratórias oriundas do Hemisfério Norte chegam ao Pantanal. Segundo Nunes & Tomas (2008), anualmente chegam ao Brasil milhões de aves de várias espécies. Essas aves realizam migrações sazonais da América do Norte para a América do Sul e vice-versa. A partir dos meses de setembro e outubro, as aves deixam suas áreas de reprodução rumo aos sítios de invernada, onde permanecem até março e abril do ano seguinte, ou seja, início da primavera em sua área de reprodução no Hemisfério Norte.

Segundo Kilpatrick (2011), a infecção por WNV é considerada uma doença emergente e sua propagação em áreas endêmicas é facilitada por aves migratórias. É importante ressaltar que essas aves chegam à Planície Pantaneira em período de maior abundância dos culicídeos, em especial os que são considerados principais vetores do WNV nas Américas (Turell et al. 2001 e CDC, 2013), e que espécies do gênero *Culex*, em especial o *Cx. nigripalpus* – que foi o mais numeroso em espécimes da região – são essencialmente ornitófilas. Em estudos sobre preferência alimentar de mosquitos na mesma região do presente relato, Alencar et al. (2005) observaram que os culicídeos fêmeas, testados por precipitina, apresentaram maior resposta para aves

como fonte alimentar, com destaque para *Cx. nigripalpus* (38,6%) e *Ma. titillans* (43,8%). Assim, todos esses fatores atuando em conjunto contribuem fortemente para a propagação do WNV no Pantanal Matogrossense, em especial no período de chuvas, em que ocorre explosão na densidade populacional desses vetores, que coincide com período de maior movimentação de ecoturismo na região.

Considerando o grau de similaridade existente entre as espécies de culicídeos, calculado através do teste de hipóteses *T-student*, de comparação entre grupos independentes, de uma maneira geral, não houve grande divergência das espécies entre os períodos de chuva e seca, sendo as únicas exceções para *An. albitarsis* e *Cx. declarator* em que demonstraram discrepância dos seus limites de distribuição entre os períodos.

O teste empregado calcula uma faixa limite superior e uma faixa de limite inferior para cada espécie de acordo com sua dispersão em cada período de chuva, a sobreposição dessas faixas faz com que o valor de p calculado seja maior que 0,05 quanto maior essa interpolação, para um intervalo de confiança de 95%, da mesma forma que será menor que 0,05 o quão distante estiver essa sobreposição, sendo considerados, assim, comportamento de distribuição diferente da espécie entre os períodos.

Devido a variação contínua do ambiente como um todo, ao longo dos movimentos de flutuação anual de precipitação pluviométrica, percebe-se um gradiente na abundância dos mosquitos que são mais ou menos imediatamente afetados de acordo com a biologia de cada espécie. Entretanto, no caso da ocorrência dos culicídeos, os valores aferidos pela análise estatística, não consegue discernir essas variações ao longo dos períodos de cheia, de seca e de suas respectivas transições, sendo limitada à frieza dos números, tornando indispensável a

sensibilidade e visão holística do analista. Assim, observando os percentuais relativos, onde a maioria das espécies ocorreram acima de 80% no período de chuvas (Figura 20), apoiado nos dados sobre a ecologia e biologia das espécies encontrados na literatura, constatamos que a grande maioria das espécies foram diretamente favorecidas no período de chuva, em especial pela presença maciça e constante de criadouros e pela maior oferta de fontes para a realização dos repastos sanguíneos.

A comunidade biológica tem um atributo denominado de diversidade específica e, de uma maneira geral, diversas formulações matemáticas têm sido sugeridas para determinar este conceito. Assim como têm sido despertadas atenções para minimizar as constantes agressões ao meio ambiente, visando o conhecimento e a conservação das comunidades bioecológicas, vem aumentando também o interesse em como avaliar a biodiversidade nas comunidades ainda existentes. É importante salientar que a biodiversidade tem um significado mais amplo do que a diversidade de espécies, incluindo também a diversidade genética e a diversidade do ecossistema. Apesar disso, a diversidade de espécies é em grande parte o foco da biodiversidade numa escala local ou regional.

De acordo com a análise dos índices ecológicos de diversidade e de equitabilidade de Shannon, com a totalidade de espécies encontradas, a coleta com maior riqueza e diversidade foi durante o período de chuva (Mai/09: $S=27$ e $H=2,57$), entretanto, de uma maneira geral, o período de estiagem apresentou maiores índices de equitabilidade, como Jul/10, com $E_H=0,73$, e Nov/10, com $E_H=0,63$, além de apresentar quatro coletas com diversidade acima de $H = 2$ (Jul/09: $H=2,25$; Nov/09: $H=2,06$; Jul/10: $H=2,33$ e Set/10: $H=2,16$), quando comparado com apenas duas coletas com diversidade acima do índice de número dois no período de chuva (Mai/09: $H=2,57$ e Mai/10: $H=2,17$) (Tabelas 22 e 23).

Esses índices revelaram que o período de chuva apresentou maior riqueza de espécies e número de indivíduos capturados, no entanto índices de diversidade e de equitabilidade menores, analisando as coletas de uma maneira geral, do que os do período de estiagem (Tabelas 22 e 23). Quando ocorre esse tipo cenário ecológico, significa que algumas espécies se beneficiaram fortemente das condições no período amostral da estação de chuva e tiveram um grande sucesso em relação a maioria das outras espécies, isso explica a baixa equitabilidade, quando comparada com os índices de equitabilidade das coletas realizadas no período de estiagem, apesar de alta riqueza e abundância no período de chuva. Ou seja, houve maior heterogeneidade na distribuição do total de espécimes capturados entre as espécies coletadas, denotando grande dominância de algumas espécies sobre as outras.

O índice de diversidade mensura se as espécies estão bem ou não representadas, se raras ou não, levando em consideração riqueza e abundância, enquanto que o índice de equitabilidade verifica se existe maior ou menor homogeneidade na distribuição do número total de espécimes coletados entre as espécies do ambiente. Segundo Krebs (1998), um ambiente com alta riqueza de espécies e com baixo números de espécimes, exibirá um índice de diversidade menor do que outro ambiente com riqueza menor, porém com número de espécimes maior, se bem distribuído entre as espécies, pois este índice analisa se as espécies estão diminuindo em número de representantes, se existem espécies raras ou vulneráveis, não sendo bem consolidadas ou bem representadas, o que poderá implicar em redução da riqueza e, conseqüentemente, na diminuição da diversidade do ambiente.

Várias hipóteses têm sido propostas para explicar as diferenças de riqueza e diversidade de espécies. Uma dessas é a hipótese de nicho diversificação, em que a diversidade é uma função da variedade de habitats e do grau de especialização das

espécies residentes; nesta hipótese ecossistemas mais estáveis, como as florestas, apresentam maiores diversidades de espécies. Já a hipótese de perturbação intermédia afirma que a diversidade de espécies local é maximizada quando perturbação ecológica não é muito rara e nem muito frequente, permitindo espécies tanto competitivas quanto oportunistas coexistirem (Connell, 1978). Sendo o Pantanal considerando uma área de reserva ambiental, entretanto com algum grau de perturbação de nicho de habitat com significativa alteração ecológica, ainda que de origem natural, devido movimentos anuais de cheia e seca, podemos entender que em determinados momentos se encaixaria na primeira hipótese e em outros momentos na segunda hipótese. Por isso, a maior riqueza registrada nos períodos de chuva e alta diversidade de espécie, apesar da baixa riqueza, no período de estiagem, poderia ser explicado pela perturbação hipótese intermédia (Connell, 1978), o que sugere que os períodos moderadamente afetados permitem a coexistência da maioria das espécies sensíveis e tolerantes.

6 – CONCLUSÃO

Inquérito geral:

- Foi constatado que a diversidade específica da fauna culicidéana é influenciada tanto pela cobertura vegetal como também pelos fatores climáticos locais do bioma, em especial pelo regime anual de chuvas.
- A maior densidade populacional de culicídeos, nos quatro pontos estudados no Pantanal, é de representantes da subfamília Culicinae, principalmente da espécie *Cx. nigripalpus*.
- Dentre as espécies de mosquitos existentes no Pantanal estão os principais vetores do vírus do Oeste do Nilo na América do Norte.
- A detecção de soropositividade em equinos e aves residentes para o vírus causador da Febre do Oeste do Nilo evidenciam a circulação local do flavivírus, considerado de importância médica e veterinária (Melandri et al, 2012 – ANEXO I).

Distribuição sazonal:

- A Subfamília Culicinae apresenta pico de ocorrência durante a estação chuvosa do Pantanal, em especial o gênero *Culex* que é fortemente beneficiado nos meses chuvosos.
- Os maiores picos dos anofelinos é observado nos meses em que ocorrem os maiores alagamentos na Planície.

Influência dos fatores climáticos:

- A Subfamília Anophelinae não apresenta correlação com as variáveis climáticas, como temperatura, umidade e pluviometria, em presença de grandes áreas alagadas, esses fatores, possuem importância secundária.
- Os representantes da Subfamília Culicinae do Pantanal são diretamente influenciados pelos fatores climáticos, em especial pela precipitação pluviométrica.
- *Ma. titillans* não é influenciada diretamente pelas variáveis climáticas e sim pelo potencial regional em manter a vegetação aquática.

Distribuição em Relação aos Ponto de Coleta:

- *An. evansae*, *An. rondoni* e *An. matogrossensis* apresentam melhor distribuição em ambientes com as características mais silvestres.
- *An. darlingi*, *An. albitarsis* e *An. triannulatus* são observados, preferencialmente, em ambientes com grandes coleções d'água, com abundante vegetação aquática e com maior fluxo antrópico.
- *Cx. nigripalpus* e *Cx. quinquefasciatus* apresentam preferência por ambientes com fragmentos de mata, principalmente o primeiro, compostos por áreas recobertas de gramíneas de grande porte e com forte ação e movimentação humana.
- *Cx. declarator* e *Ps. albigenu*, embora ocorram frequentemente em áreas com alguma ação antrópica, têm preferência pelas áreas exclusivamente silvestres, demonstrando grande ecletismo destas espécies.
- *Ma. titillans* esta relacionada a grande variedade de criadouros naturais adequados ao seu desenvolvimento, onde a vegetação aquática, rica em macrófitas, é componente natural do bioma pantaneiro.

Distribuição em relação aos períodos de chuva e de estiagem:

- As interferências do período de cheias na densidade populacional de anofelinos são processos análogos aos que ocorrem em áreas de construção de empreendimentos hidrelétricos, com explosão de incidência total de anofelinos frente a formação de grandes alagados.
- As espécies da Subfamília Culicinae são fortemente favorecidas em abundância durante o período de cheia na região, em especial o gênero *Culex*.
- *Ma. titillans* apresenta resistência ao período de estiagem, com boa representação nas coletas iniciais do período de seca, enquanto a vegetação aquática ainda é abundante, oferecendo local para criação das formas imaturas.
- O período de fortes chuvas é o de maior riqueza e diversidade de espécies de culicídeos e o período de estiagem de maior equitabilidade na distribuição dos espécimes entre as espécies.
- A estação de cheias no Pantanal é o período em que ocorre maior abundância de culicídeos; a população humana que adentra a região nesta época está sujeita a um maior contato com mosquitos vetores, que podem veicular agentes causadores de doenças como os arbovírus.

7 – REFERÊNCIAS

- Alencar J, Ferreira ZM, Lopes CM, Serra-Freire NM, de Mello RP, Silva JS, Guimarães AE 2011. Biodiversity and times of activity of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the biome of the Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Entomol* 48(2): 223-31.
- Alencar J, Lorosa ES, Silva JS, Lopes CM, Guimarães AE 2005. Observations on feeding patterns among mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Pantanal, MT, Brazil. *Neotrop Entomol* 34(4): 681-687.
- Alencar J, Mello CF, Guimarães AE, Gil- Santana HR, Silva JS, Santos-Mallet JR, Gleiser RM 2015. Culicidae Community Composition and Temporal Dynamics in Guapiaçu Ecological Reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS One* 10(3): 1-16.
- Alho CJR, Lacher TE, Gonçalves HC 1988. Environmental Degradation in the Pantanal Ecosystem. *BioScience* 38(3): 164-171.
- Antas PTZ 1994. Migration and other movements among the lower Paraná River valley wetlands, Argentina, and the South Brazil/Pantanal wetlands. *Bird Conserv Int* 4(2): 181-190.
- Arruda M, Carvalho MB, Nussenzweig RS, Maracic M, Ferreira AW, Cochrane AH 1986. Potential vectors of malaria and their different susceptibility to Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax in Northern Brazil identified by immunoassay. *Am J Trop Méd Hyg* 35: 873-881.
- Ávila-Pires FD 1989. Ecologia das doenças infecciosas e parasitárias. *Cad. Saúde Públ* 5: 210-218.

- Ayres M, Ayres Júnior M, Ayres DL, Santos AA 2007. *BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas*. Belém: Sociedade Civil Mamirauá.
- Bates M 1949. *The Natural History of Mosquitoes*. The MacMillan Company, New York, 379 pp.
- Berti J, Zimmerman R, Amarista J 1993. Spatial and temporal distribution of anophelinae larvae in two malarious áreas in Sucre State, Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 88: 353-62.
- Bosch I, Herrera F, Navarro JC et al 2007. West Nile virus, Venezuela. *Emerg Infect Dis* 13: 651–3.
- Britski HA, Silimon KZS, Lopes BS 1999. *Peixes do Pantanal: Manual de identificação*. Brasília: Embrapa-SPI.
- Causey OR, Santos GV 1949. Diurnal mosquitoes in na área of small residual forests in Brazil. *Ann Ent Soc Am* 42: 471-482.
- CDC Centers for Disease Control and Prevention 2013. List of all mosquito species in which West Nile virus has been detected. Disponível em: [<http://www.cdc.gov/westnile/resources/pdfs/Mosquito%20Species%201999-2012.pdf>]
- Connell JH 1978. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science* 199: 1302–1310.
- Consoli RAGB & Lourenço-de-Oliveira R 1994. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro.
- Consolim J 1974. Sobre os anofelinos do Rio Paraná. II – Comportamento do inseto em relação ao homem e a habitação. *Arq Biol Tecnol* 17: 24-29

- Correa FF, Gleiser RM, Leite PJ, Fagundes E, Gil-Santana HR, Mello CF, et al. 2014. Mosquito (Diptera: Culicidae) communities in Nova Iguaçu Natural Park Rio de Janeiro, Brazil. *J Am Mosquito Control Assoc* 30(2): 83–90.
- Davis DE 1944. A comparison of mosquitoes captured with an avian bait at different vegetations levels. *Rev Ent* 15: 209-215.
- Davis DE 1945a. A comparison of mosquitoes captured with avain bait and with human bait. *Proc Ent Soc Wash.* 47(8): 252-256.
- Davis DE 1945b. The annual cycle of plants, mosquitoes, birds and mammals in two Brazilian forests. *Ecol Monog* 15(3): 243-295.
- Deane LM 1986. Malaria factors in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 81: 5-14.
- Deane LM 1988. Malaria studies and control in Brazil. *Am J Trop Méd Hyg* 38: 223-230.
- Deane LM 1989. A cronologia da descoberta dos transmissores da malária na Amazônia Brasileira. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 84: 149-156.
- Deane LM 1998. Malaria studies and control in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 38: 223-230.
- Deane LM Causey OR Deane MP 1948. Notas sobre a distribuição e a biologia dos anofelinos das regiões nordestina e amazônica do Brasil. *Rev Ser Esp de Saúde Pública* 1(4): 827-965.
- Domingues AJP 1955. *As enchentes da bacia Paraná-Uruguai*. In: Condições Geográficas e Aspectos Econômicos da Bacia Paraná-Uruguai. Comissão Estadual da Bacia Paraná-Uruguai, São Paulo 1: 94-103.
- Faran ME & Linthicum KJ 1981. A handbook of the amazonian species of Anopheles (Nyssorhynchus) (Diptera, Culicidae). *Mosq Syst* 13(1): 1-81.

- Forattini OP 2002. *Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia*. Vol. II, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 860pp.
- Forattini OP, Gomes AC, Galati EAB, Rabelo EX, Iversson LB 1978a. Estudos ecológicos sobre mosquitos Culicidae no Sistema Serra do Mar, Brasil. 1- Observações no ambiente extradomiciliar. *Rev Saúde Pública 12*: 297-325.
- Forattini OP, Gomes AC, Galati EAB, Rabelo EX, Iversson LB 1978b. Estudos ecológicos sobre mosquitos Culicidae no Sistema Serra do Mar, Brasil. 2- Observações no ambiente domiciliar. *Rev. Saúde Pública 12*: 476-496.
- Forattini OP, Gomes AC, Natal D, Karitani L, Marucci D 1987a. Preferências alimentares de mosquitos Culicidae no Vale da Ribeira, São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública 21*: 171-187.
- Forattini OP, Gomes AC, Natal D, Karitani L, Marucci D 1987b. Frequência domiciliar e endofilia de mosquitos Culicidae no Vale da Ribeira, São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública 21*: 188-192.
- Forattini OP, Gomes AC, Natal D, Karitani L, Marucci D 1989. Preferências alimentares e domiciliação de mosquitos Culicidae no Vale da Ribeira, São Paulo, Brasil, com especial referência a *Aedes scapularis* e a *Culex (Melanoconion)*. *Rev. Saúde Pública 23*: 9-19.
- Forattini OP, Gomes AC, Natal D, Karitani L, Marucci D 1990. Frequência ao ambiente humano e dispersão de mosquitos Culicidae em área adjacente à Mata Atlântica primitiva da planície. *Rev. Saúde Pública 24*: 101-107.
- Forattini OP, Gomes AC, Natal D, Santos JLF 1986a. Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae em mata primitiva da encosta no Vale da Ribeira, São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública 20*: 1-20.

Forattini OP, Gomes AC, Natal D, Santos JLF 1986b. Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae em mata primitiva da planície e perfis epidemiológicos de vários ambientes no Vale da Ribeira, São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública* 20: 178-203.

Forattini OP, Gomes AC, Santos JLF, Galati EAB, Rabelo EX, Natal D 1981. Observações sobre a atividade de mosquitos Culicidae, em mata residual do Vale da Ribeira, São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública* 15: 557-586.

Forattini OP, Karitani L, Massad E, Gomes AC, 1993a. Studies on mosquitos (Diptera: Culicidae) and anthropic and environment. 1- Parity of blood seeking *Anopheles (Kerteszia)* in SouthEastern, Brazil. *Rev. Saúde Pública* 27: 1-8.

Forattini OP, Karitani L, Massad E, Marucci D 1993b. Studies on mosquitos (Diptera: Culicidae) and anthropic and environment. 3- Survey of adult stages at the rice irrigation system and the emergence of *Anopheles albitarsis* in SouthEastern, Brazil. *Rev. Saúde Pública* 27: 313-325.

Forattini OP, Karitani L, Massad E, Marucci D 1993c. Studies on mosquitos (Diptera: Culicidae) and anthropic and environment. 4- Survey of resting adult and synanthropic behaviour in SouthEastern, Brazil. *Rev. Saúde Pública* 27: 398-411.

Forattini OP, Karitani L, Massad E, Marucci D 1994. Studies on mosquitos (Diptera: Culicidae) and anthropic and environment. 5- Breeding of *Anopheles albitarsis* in flooded rice fields in SouthEastern, Brazil. *Rev. Saúde Pública* 28: 329-331.

Forattini OP, Karitani L, Massad E, Marucci D 1995a. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 7 - Behaviour of adults

- Nyssorhynchus* anophelines with special reference to *Anopheles albitarsis* s.l. in SouthEastern Brazil. *Rev Saúde Pública* 29: 20-26.
- Forattini OP, Karitani L, Massad E, Marucci D 1995b. 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* 29: 271-278.
- Forattini OP, Lopes OS, Rabelo EX 1968. Investigações sobre o comportamento de formas adultas de mosquitos silvestres no Estado de São Paulo. Brasil. *Rev Saúde Pública* 2: 111-173.
- Forattini OP, Massad E 1998. Culicidae vectors and anthropic changes in a southern Brazil natural ecosystem. *Ecosyst Health* 4: 9-19.
- Gomes AC, Natal D, Paula MB, Urbinatti PR, Mucci LF, Bitencourt MD 2007. Riqueza e abundância de Culicidae (Diptera) em área impactada, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Saúde Pública* 41(4): 661-664.
- Gomes AC, Paula MB, Natal D, Gotlieb SLD 2010. Ecologia de *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *darlingi* Root em área de implantação de empreendimento hidrelétrico, na divisa dos Estados do Mato Grosso do Sul e São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop* 43: 272-276.
- Guimarães AE & Victório VMN 1986. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. III- Preferência Horária para Hematofagia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 81: 93-103.
- Guimarães AE, Arlé M 1984. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I- Distribuição Estacional. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 79: 309-323.

- Guimarães AE, Arlé M, Machado RNM 1985. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. II – Distribuição vertical. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 80: 171-185.
- Guimarães AE, Arlé M, Machado RNM 1987. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. IV- Preferência Alimentar. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 82: 277-285.
- Guimarães AE, Gentile C, Alencar J, Lopes CM, Mello RP 2004. Ecology of Anophelinae (Diptera: Culicidae) vectors of malaria in area of Serra da Mesa dam, state of Goiás, Brazil. I. Frequency and climatic factors. *Cad Saude Publica* 20: 109-118.
- Guimarães AE, Mello RP, Lopes CM, Gentile C 2000a. 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* 95(1): 1-16.
- Guimarães AE, Gentile C, Lopes CM, Mello RP 2000b. Ecology of mosquitoes (Diptera-Culicidae) in areas of Serra do Mar State, State os São Paulo, Brazil. II- Habitat Distribution. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 95(1): 17-28.
- Guimarães AE, Gentile C, Lopes CM, Mello RP 2000c. Ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. III- Daily biting rhythms and lunar cycle influence. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 95(6): 753-760.
- Guimarães AE, Gentile C, Lopes CM, Sant’Ana AL, Jovita AM 2000d. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas do Parque Nacional da Serra da Bocaina, Brasil. Distribuição por habitat. *Rev. Saúde Pública* 34(3): 243-250.

- Guimarães AE, Gentile C, Lopes CM, Sant'Ana AL. 2001. Ecologia de mosquitos em áreas do Parque Nacional da Serra da Bocaina. II- Frequência mensal e fatores climáticos. *Rev. Saúde Pública* 35(4): 392-399.
- Guimarães AE, Lopes CM, Mello RP, Alencar J 2003. Ecologia de mosquitos (Diptera, Culicidae) em áreas do Parque Nacional do Iguaçu, Brasil. 1- Distribuição por hábitat. *Rev. Saúde Pública* 19(4): 1107-1116.
- Guimarães AE, Lopes CM, Mello RP, Alencar J 2003. Ecologia de mosquitos (Diptera, Culicidae) em áreas do Parque Nacional do Iguaçu, Brasil. 1 – Distribuição por hábitat. *Rev. Saúde Pública* 19(4): 1107-1116.
- Guimarães AE, Mello RP, Lopes CM, Alencar J, Gentile C 1997. Prevalência de Anofelinos (Diptera: Culicidae) no crepúsculo vespertino em áreas da Usina Hidrelétrica de Itaipu, Estado do Paraná, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92: 745-754.
- Guimarães AE, Motta M, Arlé M, Machado RNM, Gonçalves LD 1989. Bionomia de Mosquitos (Diptera-Culicidae) em Áreas da Mata Atlântica no município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I- Frequência Intra, Peri e Extradomiciliar. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 84: 243-254.
- Haddow AJ 1960. Studies on the biting-habits and medical importance of eats African mosquitoes in the genus *Aedes*. I. Subgenera *Aedimorphus*, *Bankisinella* and *Dunnius*. *Bull Ent Res* 50: 759-779.
- Hayes J & Charlwood D 1979. Dinâmica estacional de uma população de *Anopheles darlingi* numa área endêmica de malária no Amazonas. *Acta Amaz* 9: 79- 86.
- Hutchings RSG, Sallum MAM, Ferreira RLM, Hutchings RW 2005. Mosquitoes of the Jaú National Park and their potential importance in Brazilian Amazonia. *Med. Vet. Entomol.* 19: 428-441.

- IBGE 1988. *Geografia do Brasil, Região Centro-Oeste*. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, Brasil, Vol. I, 268p.
- Jesus F, Lima SF 2003. *Plano de Manejo do Parque Nacional do Pantanal Mato-grossense*. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente, Brasília, Brasil, 544p.
- Kilpatrick AM 2011. Globalization, land use, and the invasion of West Nile virus. *Science* 334: 323–327.
- Klein TA, Lima BP, Tang AT 1992. Seasonal distribution and diel biting patterns of Culicine mosquitoes in Costa Marques, Rondônia, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 87(1): 141-148.
- Klein TA, Lima JBP 1990. Seasonal distribution and biting patterns of *Anopheles* mosquitoes in Costa Marques, Rondônia, Brazil. *J Am Mosq Control Assoc* 6: 700-707
- Klein TA, Lima JBP, Toda-Tang A 1990. Colonization and maintenance of *Anopheles deaneorum* in Brazil. *J. Am. Mosq. Control Assoc* 6: 510-513.
- Komar N, Clark GG 2006. West Nile activity in Latin America and the Caribbean. *Rev Panam Salud Publica* 19: 112–7.
- Krebs CJ 1998. *Ecological Methodology*. Editora Benjamin Cummings (2nd Edition). 624 pp.
- Kreutzer RD, Kitzmiller JB, Rabbani MG 1976. Cytogenetically distinguishable sympatric and allopatric populations of the mosquito *Anopheles albitarsis*. *Acta Amazônica* 6: 473-481.
- Lourenço-de-Oliveira R & Heyden R 1986. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Díptera: Culicidae) de uma área de planície (Granjas Calábria) em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. IV- Preferências alimentares quanto ao hospedeiro e frequência domiciliar. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 81: 15-27.

- Lourenço-de-Oliveira R 1984. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera, Culicidae) de uma área de planície (Granjas Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro, I. Frequência comparativa das espécies em diferentes ambientes e métodos de coleta. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 79(4): 479-490.
- Lourenço-de-Oliveira R 1989. Some observations on the mosquitoes of Indian settlements in Xingu National Park, Mato Grosso State, Brazil, with emphasis on malaria vectors. *Rev Bras Biol* 49: 393–397.
- Lourenço-de-Oliveira R, Silva TF, Heyden R 1985. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma área de planície (Granjas Calábria) em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. II- Frequência mensal e ciclo lunar. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 80: 123-133.
- Lozovei AL 2001. Microhabitats de mosquitos (Diptera, Culicidae) em internódios de taquara na Mata Atlântica, Paraná, Brasil. *Iheringia, Sér. Zool.* 90: 3-13.
- Lozovei AL e Silva MAN 1999. Análise comparativa entre métodos alternativo e convencional para amostras de mosquitos obtidos a partir de habitats fitotélmicos (Bromeliaceae) na Floresta Atlântica, Serra do Mar, Paraná, Brasil. *Revt. bras. Zool.* 16(4): 957-966.
- Marques GRAM, Forattini OP 2008. Culicídeos em bromélias: diversidade de fauna segundo influência antrópica, litoral de São Paulo. *Rev. Saúde Pública* 42(6): 979-985.
- Melandri V, Alencar J, Guimarães AE 2015. The influence of the area of the Serra da Mesa Hydroelectric Plant, State of Goiás, on the frequency and diversity of anophelines (Diptera: Culicidae): a study on the effect of a reservoir. *Rev Soc Bras Med Trop* 48(1): 33-38.

- Melandri V, Guimarães AE, Komar N, Nogueira M, Mondini A, Alencar J, et al. 2012. Serological detection of West Nile virus in horses and chicken from Pantanal, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107: 1073- 75.
- Moraes AS, Rezende EK, Rodrigues CAG, Mauro RA, Galdino S, Oliveira MD, Crispim SAA, Vieira LM, Soriano BMA, Abreu UGP, Mourão GM 2000. *Embrapa Pantanal: 25 anos de pesquisas em prol da conservação do pantanal*. In: III Simpósio sobre recursos naturais e sócio-econômicos do Pantanal, Corumbá.
- MS – Ministério da Saúde. *Ministério da Saúde confirma primeiro caso de Febre do Nilo*. Portal da Saúde. Acessado em Dez de 2014. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/15962-saude-confirma-primeiro-caso-de-febre-do-nilo>
- Natal D, Barata EAMF, Urbinatti PR, Barata JMS 1995. Contribuição ao conhecimento da fauna de imaturos de mosquitos (Diptera: Culicidae) em área de implantação de hidrelétrica na bacia do rio Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Entomol* 39: 897-9.
- Natal D, Paganelli CH, Santos JLF 1991. Composição da população adulta de *Culex* (*Culex*) *quinquefasciatus* Say, 1823 em ecótopos próximos à Represa Edgard de Souza, no município de Santana de Parnaíba, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Bras Entomol* 35: 539-43.
- Nayar JK 1982. Bionomics and physiology of *Culex nigripalpus* (Diptera: Culicidae) of Flórida: An important vector of disease. *Fla Agric Exp Stn* 827: 1- 73.
- Nimer E 1972. Climatologia da Região Centro-Oeste do Brasil: introdução a climatologia dinâmica, subsídios à geografia regional do Brasil. *Revista Brasileira de Geografia*, 34(4): 3-30.

- Nunes AP, Tomas WM 2008. *Aves migratórias e nômades ocorrentes no pantanal*. Corumbá: Embrapa Pantanal. Acessado em Dez de 2014. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/Livro033.pdf>.
- Oliveira-Ferreira J, Lourenço-de-Oliveira R, Teva A, Deane LM, Daniel-Ribeiro CT 1990. Natural malaria infections in anophelines in Rondônia state, Brazilian Amazon. *AM J Trop Méd Hyg* 43: 6-10
- Pádua MTJ, Coimbra-Filho AF 1979. *Os Parques Nacionais do Brasil*. Instituto de la Casa Fotografica y Ciencias de la Naturaleza (INCAFO). Madri, Espanha, 233pp.
- Paula MB, Gomes AC, Natal D, Duarte AMRC, Mucci LF 2012. Effects of Artificial Flooding for Hydroelectric Development on the Population of *Mansonia humeralis* (Diptera: Culicidae) in the Paraná River, São Paulo, Brazil. *J Trop Med* ID:598789.
- Pauvolid-Corrêa A, Kenney JL, Couto-Lima D, Campos ZMS, Schatzmayr HG, Nogueira RMR, Brault AC, Komar N 2013. Ilheus Virus Isolation in the Pantanal, West-Central Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 7(7): e2318.
- Pauvolid-Corrêa A, Tavares FN, Alencar J, Silva JS, Murta M, Serra-freire NM, Pellegrini AO, Gil-Santana H, Guimarães AE, Silva EE 2010. Preliminary investigation of culicidae species in south Pantanal, Brazil and their potential importance in arbovirus transmission. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 52(1):17-23.
- Pauvolid-Corrêa A, Morales MA, Levis S Figueiredo LTM, Couto-Lima D, Campos Z, Nogueira MF, da Silva EE, Nogueira RMR, Schatzmayr HG 2011. Neutralising antibodies for West Nile virus in horses from Brazilian Pantanal. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 106: 467-74.

- Pott A, Oliveira AKM, Damasceno-Junior GA, Sila JSV 2011. Plant Diversity of the Pantanal Wetland. *Braz. J. Biol* 71: 265-273.
- Póvoa MM, Wirtz RA, Lacerda RNL, Miles MA, Deane LM, Daniel-Ribeiro CT 2001. Natural vectors in the municipality of Serra do Navio, State of Amapá, Amazon Region, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 179-184.
- Quintero LO, Thatcher BD, Tadei P 1996. Biologia de anofelinos amazônicos. XXI. Ocorrência de espécies de *Anopheles* e outros culicídeos na área de influência da hidrelétrica de Balbina - cinco anos após o enchimento do reservatório. *Acta Amaz* 26(4): 281-296.
- Reinert JF 2001. Revised list of abbreviations for genera and subgenera of Culicidae (Diptera) and notes on generic and subgeneric changes. *J Am Mosq Control Assoc* 17(1): 51-55.
- Richardson BA 1999. The bromeliad microcosm and the assessment of fauna diversity in a neotropical forest. *Biotropica* 31: 321-36.
- Roberts DR & Hsi BP 1979. An index of species abundance for use with mosquito surveillance data. *Environm. Entomol* 8:1007-1013.
- Rosa AN & Melo J 1995. *Levantamento da situação atual da produção de touros para o Pantanal Matogrossense*. (Comunicado Técnico, 14) Corumbá: Embrapa Pantanal.
- Rosa-Freitas MG, Deane LM, Momem H 1990. A morphological, isoenzymatic and behavioural study of ten populations of *Anopheles albitarsis* Lynch-Arribalzaga, 1878 (Diptera : Culicidae) including from the type-locality – Baradero, Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 85: 275-289.

- Rosa-Freitas MG, Lourenço-de-Oliveira R, Carvalho-Pinto CJ, Flores-Mendonza C, Silva-do-Nascimento TF 1998. Anopheline species complexes in Brazil. Current knowledge of those related to malaria transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93(5): 651-655
- Rubio-Palis Y, Curtis CF 1992. Biting and resting behaviour of anophelines in western Venezuela and implications for control of malaria transmission. *Med Vet Entomol* 6: 325-334.
- Sanchez RO 1977. *Estudio geomorfológico del pantanal; regionalización, subregionalización y sectorización deográfica de la depression de la alta Cuenca del rio Paraguay*, Convênio Governo Brasileiro/UNDP/OECA, 50p.
- Sant'Ana AL, Lozovei AL 2001a. Influência do ciclo lunar na atividade de vôo de *Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis* (Theobald) (Diptera, Culicidae) na Mata Atlântica, Serra do Marumbi, Morretes, Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Zool.* 18(2): 365-374.
- Sant'Ana AL, Lozovei AL 2001b. Influência do ciclo lunar na captura de *Aedes scapularis* (Diptera, Culicidae) na Mata Atlântica do Paraná. *Iheringia, Sér. Zool.* 90: 175-182.
- Schults, F.P. & De-Lamonica-Freire, E.M. 2000. Desmídias (Chlorophyta, Zygnemaphyceae) do Pantanal de Poconé, Mato-Grosso, Brasil. *Diversidades* 1: 111- 123.
- Sick H 1983. *Migrações de aves na América do Sul Continental*. (Publicação Técnica, 2). Brasil. Ministério de Agricultura - Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Forestal-Centros de Estudos de Migrações de aves.

- Silva MAN & Lozovei AL. 1998. Mosquitos (Diptera, Culicidae) capturados com isca humana em área preservada de Curitiba, Paraná. *Revta bras. Zool.* 15(4): 965-976.
- Silva MP, Mauro R, Mourão G, Coutinho EM 2000. Distribuição e quantificação de classes de vegetação do Pantanal através de levantamento aéreo. *Rev Bras Bot* 23(2):143-152.
- Silva-Vasconcelos A, Kató MYN, Mourão EM, Souza RTL, Lacerda RNL, Sibajev A, Tsiuris P, Povia MM, Momen H, Rosa-Freitas MG 2002. Biting Índices, Host-seeking Activity and natural Infection Rates of Anopheline Species in Boa Vista, Roraima, Brazil from 1996 to 1998. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 151-161
- Tadei WP & Thatcher BD 2000. Malaria vectors in the the bazilian Amazon: *Anopheles* of the subgenus *Nyssorhynchus*. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 42: 87-94.
- Tadei WP 1996. O gênero *Mansonia* (Diptera: Culicidae) e a proliferação de mosquitos na Usina Hidrelétrica de Tucuruí. In Magalhães et al, *Energia na Amazônia*, Museu Paraense Emílio Goeldi, Universidade do Pará, Associação das Universidades Amazônicas, Pará, p.311-318.
- Tadei WP, Costa WLS 1985. Estudos das espécies de *Anopheles* da área da hidrelétrica de Samuel (Rondônia). *Ciên e Cult* 37(7): 751.
- Tadei WP, Santos JMM, Costa WLS 1988. Biologia de anofelinos amazônicos. XII. Ocorrência de espécies de *Anopheles*, dinâmica da transmissão e controle da malária na zona urbana de Ariquemes (Rondônia). *Rev Inst Med Trop* 30: 221-251.
- Tadei WP, Santos JMM, Scarpassa VM, Rodrigues IB 1993. *Incidência, distribuição e aspectos ecológicos de espécies de Anopheles (Diptera: Culicidae), em regiões naturais e sob impacto ambiental da amazônia brasileira*. Bases Científicas para Estratégicas de Prevenção e Desenvolvimento da Amazônia. Vol 2. p 167-196.

- Taipe-Lagos CB & Natal D 2003. Abundância de culicídeos em área metropolitana preservada e suas implicações epidemiológicas. *Rev. Saúde Pública* 37(3): 275-279.
- Teodoro U, Guilherme ALF, Lozovei AL, Salvia Filho V, Fukushigue Y, Spinosa RP, Ferreira MEMC, Barbosa OC & Lima EM 1995. Culicídeos do lago de Itaipu no rio Paraná, sul do Brasil. *Rev Saúde Públ* 29: 6-14.
- Tubelis DP, Tomas WN 2002. Revisão e Atualização da Listagem de Espécies de Aves Registradas na Planície do Pantanal. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 39). Corumbá: Embrapa Pantanal.
- Turell MJ, O'Guinn ML, Dohm O, Zyzak M, Watts D, Fernandez R, Calampa C, Klein TA, Jones JW 2008. Susceptibility of Peruvian Mosquitoes to Eastern Equine Encephalitis Virus. *J. Med. Entomol.* 45: 720-725.
- Turell MJ, Sardelis MR, Dohm DJ, O'Guim ML 2001. Potential North American vectors of west Nile virus. *Ann NY Acad Sci* 951: 317-24.
- UNESCO – United Nations Educational, Scientific, and Cultural Organization 2000. *World heritage committee 61 news sites on world heritage list*. Pantanal Conservation Area. Disponível em: <http://whc.unesco.org/en/list/999>
- Vasconcelos PF, Travassos da Rosa JF, Travassos da Rosa Apde A, Degallier N, Pinheiro F de P, Sá Filho GC 1991. Epidemiologia da encefalites por arbovírus na Amazônia brasileira. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 33: 465-76.
- Velásquez G, Ulloa A, Montañez H, Guimarães AE, Maldonado AJ, Bastardo JW 2013. Evidence of the presence of West Nile Virus in mosquito pools in North Eastern Region of Venezuela. *Journal of Medicine and Medical Sciences* 2(1): 020-025.
- Williams CB 1937. The use of logarithms in the interpretation of certain entomological problems. *Ann App Biol* 24: 404-444.

Xavier MMSP & Rebêlo JMM 1999. Espécies de *Anopheles* (Culicidae, Anophelinae) em área endêmica de malária, Maranhão, Brasil. *Rev. Saúde Pública* 33(6): 535-541.

Zeilhofer P, Santos ES, Ribeiro ALM, D'Junco RM, Santos MAD 2007. Habitat suitability mapping of *Anopheles darlingi* in the surroundings of the Manso hydropower plant reservoir, Mato Grosso, Central Brazil. *Int J Health Geogr* 6: 1-24.

Serological detection of West Nile virus in horses and chicken from Pantanal, Brazil

Vanessa Melandri¹*, Anthony Érico Guimarães¹, Nicholas Komar², Maurício L Nogueira³,
Adriano Mondini⁴, Ana Fernandez-Sesma⁵, Jeronimo Alencar¹, Irene Bosch⁶

¹Laboratório de Díptera, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil ²Centers for Disease Control and Prevention,

Fort Collins, CO, USA ³Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brasil

⁴Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP, Brasil

⁵Mount Sinai School of Medicine, New York, NY, USA ⁶Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA, USA

In an effort to detect West Nile virus (WNV) in Brazil, we sampled serum from horses and chickens from the Pantanal region of the state of Mato Grosso and tested for flavivirus-reactive antibodies by blocking ELISA. The positive samples were further confirmed for serological evidence of WNV infection in three (8%) of the 38 horses and one (3.2%) of the 31 chickens using an 80% plaque-reduction neutralisation test (PRNT₈₀). These results provide evidence of the circulation of WNV in chickens and horses in Pantanal.

Key words: WNV - b-ELISA - PRNT - Brazil

West Nile virus (WNV) genus *Flavivirus*; family *Flaviviridae*) was first detected in the Western Hemisphere during an outbreak of encephalitis in the state of New York in 1999. The virus rapidly spread through North America and later to Latin America (Komar & Clark 2006). In South America, the first serological evidence of WNV activity was detected in horses in Colombia (Mattar et al. 2005) and later in birds in Venezuela (Bosch et al. 2007) and in Argentina (Diaz et al. 2008). In Brazil, early efforts to detect WNV activity were unsuccessful (MS/SVS 2003, 2004). The first occurrence was documented in 2010 by detection of seropositive horses in the state of Mato Grosso do Sul (Paurvolid-Corrêa et al. 2011). However, WNV has not yet been associated with human illness in Brazil (Soares et al. 2010).

The intent of the present study was to investigate the natural circulation of WNV by serological tests in domestic birds and equines in the north Pantanal Region, Mato Grosso (MT), to more completely document the area in which WNV may be transmitted within Brazil.

Study site - The study area included two farms in the Pantanal Region, between the cities of Porto Jofre and Poconé (Figure). Site A was Beira Farm (S16°44'56.3" W56°51'32.6"). Site B was Campo Largo Farm (S16°39'54.3" W56°47'38.2"). Both sites are characterized by large wet pastures with patches of secondary

forest, with a rainy season from October-April and prolonged droughts in other months.

Sample collection - Blood samples were collected from the jugular vein of horses and the ulnar vein of chickens, centrifuged for separation of serum and stored at 4°C or -20°C until being processed. All of the samples were obtained during July 2010 from clinically normal domestic animals lacking history of travel outside of the region and of vaccination against WNV.

Epitope-blocking ELISA (b-ELISA) - Chicken and horse serum samples were screened for flavivirus-reactive antibodies using b-ELISA with monoclonal antibody 6B6C-1 as described previously. Any sera with inhibition > 30% was retested for specific WNV-reactive antibodies using the same protocol with WNV-specific monoclonal antibody 3.1112g (Blitvich et al. 2003).

Plaque-reduction neutralization tests (PRNT) - The ELISA-positive sera were confirmed with PRNT using WNV strain NY99-4132 and St. Louis encephalitis virus (SLEV) strain TBH-28 (Beatty et al. 1995). We required that 80% neutralization titres be at least four-fold greater for WNV than SLEV, a native cross-reactive flavivirus, to be considered indicative of WNV infection.

Of the 38 equine serum samples tested, 23 (60.5%) were positive for flavivirus-reactive antibodies by b-ELISA. Of these, six also tested positive for WNV-specific antibodies by b-ELISA. Three of these were corroborated by the neutralization assays (Table). In addition, of 31 chickens tested for flavivirus-reactive antibodies by b-ELISA, two were positive and one was confirmed positive for WNV-reactive antibodies by both b-ELISA and PRNT (Table).

The rate of detection of WNV seroprevalence (8%) among the horses in our study is similar to the values reported for horses in other studies within South America, such as Colombia with a prevalence of 9% (Mattar et al. 2005) and 5% (Mattar et al. 2011), Venezuela 4% (Bosch

Financial support: Furnas Centrais Elétricas, ANEEL, INCT-Dengue/CNPq, PRONEX-Dengue/CNPq, Panthers Foundation

VM is a recipient of the scholarship of CAPES in the Doctor of Biodiversity and Health Program at Fiocruz.

This work is part of VM's PhD Thesis at the Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz-Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

* Corresponding author: melandri@ioc.fiocruz.br

Received 24 July 2012

Accepted 6 November 2012

ANEXO I (CONTINUAÇÃO)

1074 WNV antibodies in horses and chicken • Vanessa Melandri et al.



Location of sampling in the Pantanal ecological reserve, state of Mato Grosso, Brazil.

TABLE

Percentage inhibition by blocking-ELISA (b-ELISA) and 80% neutralization titres against West Nile virus (WNV) and St. Louis encephalitis virus (SLEV) for 23 equine sera and two chicken sera that were flavivirus-reactive by b-ELISA

Serum sample	b-ELISA		PRNT ₈₀		Flavivirus type
	Inhibition 6B6C-1 (%)	Inhibition 3.1112g (%)	WNV	SLEV	
HS ^A 1	79.3	33.5	20	<10	WNV
HS ^A 2	71.3	18.2	NT	NT	UN
HS ^A 3	61.9	15.9	NT	NT	UN
HS ^A 4	69.2	47.1	320	40	WNV
HS ^A 5	72	2.3	NT	NT	UN
HS ^A 6	38.1	17.9	NT	NT	UN
HS ^A 7	69.2	65.7	<10	<10	UN
HS ^A 8	57.6	15.5	NT	NT	UN
HS ^A 9	75.2	18.18	NT	NT	UN
HS ^A 10	35.6	53.4	<10	<10	UN
HS ^A 11	67.5	58.7	40	<10	WNV
HS ^B 12	53.5	19.7	NT	NT	UN
HS ^B 13	54.3	11.3	NT	NT	UN
HS ^B 14	64.6	33.8	NT	NT	UN
HS ^B 15	66.4	19.1	NT	NT	UN
HS ^B 16	63.4	23.2	NT	NT	UN
HS ^B 17	36.8	20.8	NT	NT	UN
HS ^B 18	75.7	13.8	NT	NT	UN
HS ^B 19	61	12.4	NT	NT	UN
HS ^B 20	74.4	22.8	NT	NT	UN
HS ^B 21	55	27.3	NT	NT	UN
HS ^B 22	62.1	26.1	NT	NT	UN
HS ^B 23	68	19.1	NT	NT	UN
CS ^A 1	78.5	75.4	80	<10	WNV
CS ^A 2	54.3	10.5	NT	NT	UN

CS^A: chicken serum site A; HS^A: horse serum site A; HS^B: horse serum site B; NT: not tested; PRNT₈₀: 80% plaque-reduction neutralisation test; UN: undetermined.

et al. 2007), Brazil 3% (Pauvolid-Corrêa et al. 2011) and Argentina 16% (Tauro et al. 2012).

Because the chickens sampled in this study were less than one year old, we concluded that the seropositive chicken had seroconverted recently indicating active transmission of WNV, corroborating recent activity of WNV reported in the southern region of the Pantanal (Pauvolid-Corrêa et al. 2011).

We also collected some specimens of *Culex nigripalpus* and *Culex quinquefasciatus* (unpublished observations), two mosquito species that are known to be competent WNV vectors in North America (Turell et al. 2005). Potential vectors and vertebrate reservoir hosts for WNV are abundant in the vast marshes and swamps of the Pantanal ecological preserve. Limited efforts to detect WNV in local mosquitoes have been unsuccessful throughout South America.

Our data suggest that WNV is already established in Brazil. More studies are needed to assess the public health burden of WNV in Brazil, as well as the finer details of the ecology of transmission, such as the identities of vectors and vertebrate reservoirs.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the Associação dos Cavalos Pantaneiros (Poconé, MT), for access to field sites, to Ginger Young and Nicholas Panella, for helping with laboratory testing, and to Lee Gehrke and Laura Kramer, for facilitating this research.

REFERENCES

- Beatty BJ, Calisher CH, Shope RE 1995. Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections. In: EH Lennette, DA Lennette, ET Lennette, *Arboviruses*, American Public Health Association, Washington DC, p. 189-212.
- Blitvich BJ, Bowen RA, Marleneo NL, Hall RA, Bunning ML, Beatty BJ 2003. Epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assays for detection of West Nile virus antibodies in domestic mammals. *J Clin Microbiol* 41: 2676-2679.
- Bosch I, Herrera F, Navarro J, Lentino M, Dupuis A, Maffei J, Jones M, Fernandez E, Pérez N, Pérez-Eman J, Guimarães AE, Barrera R, Valero N, Ruiz J, Velásquez G, Martínez J, Comach G, Komar N, Spielman A, Kramer L 2007. West Nile virus, Venezuela. *Emerg Infect Dis* 13: 651-653.
- Díaz LA, Komar N, Visintin A, Juri MJD, Stein M, Allende RL, Spinsanti L, Konigheim B, Aguilar J, Laurito M, Almiron W, Contigiani M 2008. West Nile virus in birds, Argentina. *Emerg Infect Dis* 14: 689-691.
- Komar N, Clark GG 2006. West Nile virus activity in Latin America and Caribbean. *Rev Panam Salud Publica* 19: 112-117.
- Mattar S, Edwards E, Laguardo J, Gonzalez M, Alvarez J, Komar N 2005. West Nile virus antibodies in Colombian horses. *Emerg Infect Dis* 9: 1497-1498.
- Mattar S, Komar N, Young G, Alvarez J, Gonzalez M 2011. Seroconversion for West Nile and St. Louis encephalitis viruses among sentinel horses in Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 106: 976-979.
- MS/SVS - Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde Brasil 2003. Primeiro inquérito sorológico em aves migratórias e nativas do Parque Nacional da Lagoa do Peixe/RS para detecção do vírus do Nilo ocidental. *Boletim eletrônico epidemiológico* 3: 3-12.
- MS/SVS - Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde Brasil 2004. Inquérito sorológico em aves migratórias e residentes de Galinhos/RN para detecção do vírus da febre do Nilo ocidental e outros vírus. *Boletim eletrônico epidemiológico* 4: 1-12.

ANEXO I (CONTINUAÇÃO)

Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 107(8), December 2012 1075

- Pauvolid-Corrêa A, Morales MA, Lewis S, Figueiredo LTM, Couto-Lima D, Campos Z, Nogueira MF, da Silva EE, Nogueira RMR, Schatzmayr HG 2011. Neutralising antibodies for West Nile virus in horses from Brazilian Pantanal. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 106: 467-474.
- Soares CN, Castro MJ, Paralta JM, Freitas MR, Puccioni-Sohler M 2010. Is West Nile virus a potential cause of central nervous system infection in Brazil? *Arq Neuropsiquiatr* 68: 761-763.
- Tauro L, Marino B, Diaz LA, Lucca E, Galloso D, Spinsanti L, Contigiani M 2012. Serological detection of St. Louis encephalitis virus and West Nile virus in equines from Santa Fe, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107: 553-556.
- Turell MJ, Dohm DJ, Sardelis MR, O'guinn ML, Andreadis TG, Blouin JA 2005. An update on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *J Med Entomol* 42: 57-62.