

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Instituto de Biologia**  
**Programa de Pós-Graduação em Parasitologia**



Tese

Levantamento de mosquitos (Diptera: Culicidae) e investigação de arbovírus no Sul da Planície Costeira, RS

**Francielly Felchicher**

Pelotas, 2018

**Francielly Felchicher**

**Levantamento de mosquitos (Diptera: Culicidae) e investigação de arbovírus  
no Sul da Planície Costeira, RS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências (área do conhecimento: Parasitologia).

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Jacqueline Thyssen

Coorientadora: Profa. Dra. Élvia Elena Silveira Vianna

Coorientador: Prof. Dr. Marcial Corrêa Cárcamo

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

F312I Felchicher, Francielly

Levantamento de mosquitos (diptera: culicidae) e investigação de arbovírus no sul da planície costeira, RS / Francielly Felchicher ; Patricia Jacqueline Thyssen, orientadora ; Élvia Elena Silveira Vianna, Marcial Corrêa Cárcamo, coorientadores. — Pelotas, 2018.

98 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Mosquitos. 2. Distribuição vertical. 3. Sinantropia. 4. Arbovírus. I. Thyssen, Patricia Jacqueline, orient. II. Vianna, Élvia Elena Silveira, coorient. III. Cárcamo, Marcial Corrêa, coorient. IV. Título.

CDD : 595.771

**Francielly Felchicher**

**Levantamento de mosquitos (Diptera: Culicidae) e investigação de arbovírus  
no Sul da Planície Costeira, RS**

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutora em Ciências (área do conhecimento: Parasitologia). Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 21/08/2018

**Banca examinadora:**

---

Profa. Dra. Patricia Jacqueline Thyssen (orientadora)  
Doutora em Parasitologia pela Universidade Estadual de Campinas

---

Profa. Dra. Daniela Isabel Brayer Pereira  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Prof. Dr. Paulo Bretanha Ribeiro  
Doutor em Entomologia pela Universidade Federal do Paraná - UFPR

---

Prof. Dr. Juliano Lessa Pinto Duarte  
Doutor em Parasitologia pela Universidade Federal de Pelotas – UFPel

---

Prof. Dr. Jader Ribeiro Pinto  
Doutor em Fitossanidade pela Universidade Federal de Pelotas - UFPel

---

Prof. Dr. Luiz Paiva Carapeto (Suplente)  
Doutor em Parasitologia pela Universidade Federal de Pelotas – UFPel

---

Profa. Dra. Camila Belmonte Oliveira (Suplente)  
Doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria - UFSM



## **Agradecimentos**

Primeiramente quero agradecer ao meus pais, Dejanes e Carlos por todo incentivo e carinho, durante todos os momentos. Bia e Junior, pelas horas de conversas, risadas e desabafos. A distância nos separa, mas sempre carregamos nossa família entre os pulmões.

Agradeço à minha orientadora, Patricia Thyssen, pela oportunidade, lá no início do doutorado e pela paciência ao final do mesmo.

Minha coorientadora, Élvia Vianna, agradeço pelas horas de conversas, apoio e oportunidade de realizar esse trabalho, me dando um canto, o “aquário”.

Marcial, além de amigo é agora meu coorientador. Você sempre foi meu orientador, em boa parte de minha formação acadêmica, me incentivou a fazer a licenciatura juntamente com o doutorado, ainda bem que isso eu ouvi. Faço você exercitar a paciência muitas vezes.

Paulino, meu amigo, tu foi essencial para a realização do trabalho, nas coletas, treinamentos e pelas horas sentados na frente das lupas. Rindo ou brigando a gente estava lá, corando o material e ouvindo as xícaras se quebrarem.

Todos que colaboraram com as coletas, com empréstimo de veículo, transporte e/ou parceria nas mesmas, Demetrius, Cibebe, Patricia, Junior, Marcial, Kathleen, agradeço pela confiança e amizade.

Ao pessoal do laboratório, Paulino, Fran, Kathleen, Bruna, Cibebe, Juju, obrigada por todos os momentos, discussões, cafés, apoio, e conversas durante todo esse período. Agradeço à professora Camila Belmonte Oliveira pelas dicas de trabalho e amizade.

Aos técnicos do departamento, Antonieta, Ademir, Cláudio, muito obrigada pela ajuda, empréstimos, conversas, encaminhamentos e cafés.

Agradeço minha companheira e amiga Tati, pelo apoio, conversas, caronas ao campus, empréstimo de um canto sossegado para estudar e cobranças, assim como pelo carinho e conversas sobre o mundo real, fora do meio acadêmico. Os proprietários das áreas onde foram realizadas as coletas, nos recebendo gentilmente e nos permitindo realizar esta pesquisa, muito obrigada.

Agradeço ao CCULI/FioCruz Manguinhos, RJ, e sua equipe, Dra. Monique de Albuquerque Motta e Maycon Sebastião Alberto Santos Neves pela paciência quando realizamos o treinamento com Culicidae, pelos cafés e boas risadas. À Dra.

Teresa Fernandes da Silva Nascimento e Dr. Ricardo Lourenço-de-Oliveira por nos receberem em seu laboratório.

Ao LACEN/RS, Porto Alegre, ao Dr. Jader da Cruz Cardoso, pela oportunidade de utilizarmos seu material para a identificação dos mosquitos que coletamos, obrigada pela receptividade.

Ao professor Dr. Fernando Rosado Spilki e à doutoranda Paula Rodrigues de Almeida, da Universidade Feevale, agradeço pela disponibilidade e colaboração no trabalho.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia e à CAPES pelo apoio e incentivo em forma de bolsa.

## Resumo

FELCHICHER, Francielly. **Levantamento de mosquitos (Diptera: Culicidae) e investigação de arbovírus no Sul da Planície Costeira, RS.** 2018. 98f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Os Culicidae (Diptera: Culicomorpha) constituem o grupo com maior capacidade vetorial de patógenos entre os artrópodes hematófagos. Por isso, informações sobre a distribuição geográfica de culicídeos e habitat são essenciais para se compreender a dinâmica da transmissão de patógenos. O presente estudo atende a uma carência regional na pesquisa da fauna de culicídeos, além de contribuir com o conhecimento das espécies de importância para a saúde pública no estado. Para tal, foram realizados dois estudos. Primeiramente foram realizadas coletas de mosquitos em ambiente urbano, rural e silvestre nos municípios de Pelotas, Rio Grande e São Lourenço do Sul. Foram utilizadas armadilhas CDC-HP luminosas e aspirador elétrico manual. Sendo colocadas três armadilhas CDC-HP por ambiente (n= 27), que permaneciam instaladas por 24h (1 dia por mês), durante o período de ago. de 2014 a maio de 2015. A aspiração foi realizada uma vez ao mês, por períodos de 10 minutos, na área ao redor de cada ponto em que foi instalada a CDC-HP, durante o período de nov. de 2014 a maio de 2015. Foi calculado o índice de sinantropia, análises de abundância, diversidade beta, variação de riqueza e diversidade entre os ambientes. Para detecção de arbovírus o material foi organizado pela cidade em que foi feita a coleta e espécie, divididos em pools, dos quais foi feita a extração do RNA através do kit comercial TRIzol® e a síntese de cDNA foi realizada com o kit GoScript™ Reverse Transcriptase (Promega®), para a detecção de flavivírus e alphavirus foi feita uma dupla reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase. Nas coletas foram obtidos 7007 espécimes de Culicidae, distribuídos em três gêneros, *Anopheles*, *Culex* e *Uranotaenia*, com um total de 24 espécies identificadas. A maior riqueza de espécies ocorreu no ambiente silvestre, seguido do rural e por último o urbano. As espécies que apresentaram maior índice de sinantropia foram *Culex quinquefasciatus* e *Anopheles albitarsis*. Na análise de detecção de arbovírus, com a metodologia realizada e o número de pools analisados (n=19), não foi detectada a presença de arbovírus. O segundo estudo foi realizado para a verificação da estratificação vertical de Culicidae, em área silvestre do município do Capão do Leão. A armadilha CDC-HP luminosa foi instalada em duas alturas, 1 m (baixo) e 10 m (alto), durante o período de nov. de 2016 a abr. de 2017. No trabalho de estratificação vertical foram coletados 1109 indivíduos no período de seis meses. Os indivíduos coletados foram agrupados em seis gêneros e nove subgêneros, com total de 26 espécies capturadas. Tanto fêmeas quanto machos coletados tiveram maior ocorrência em 1 m. Um total de 18 espécies apresentaram coocorrência, com seis espécies ocorrendo exclusivamente na parte baixa e três na alta. Neste estudo foram identificadas seis espécies que são novas ocorrências para o estado. Conhecer a distribuição geográfica e a diversidade de mosquitos em diferentes áreas da Planície Costeira é importante para entender o comportamento das espécies em ambientes naturais como em ambientes modificados pela ação humana.

**Palavras-chave:** mosquitos; distribuição vertical; sinantropia; arbovírus.

## Abstract

**FELCHICHER, Francielly. Mosquito survey (Diptera: Culicidae) and arbovirus investigation in Southern Coastal Plain, RS 2018. 98f. Thesis (Doctor in Sciences) – Post-graduation Program of Parasitology, Institute of Biology, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2018.**

Culicidae (Diptera: Culicomorpha) constitute the group with the greatest vector capacity of pathogens among hematophagous arthropods. Therefore, information on the geographic distribution of Culicidae and habitats is essential to understand the dynamics of pathogen transmission. The present study addresses a regional deficiency in the study of culicidae fauna, in addition to contributing to the knowledge of species of importance to public health in the state. Two studies were carried out. First, mosquitoes were collected in urban, rural and wild environments in the municipalities of Pelotas, Rio Grande and São Lourenço do Sul. CDC-HP luminous traps and manual electric aspirator were used. Three CDC-HP traps were used per environment (n = 27), which remained installed for 24 hours (1 day per month) during the period of August. from 2014 to May 2015. The aspiration was performed once a month for periods of 10 minutes in the area around each point where the CDC-HP was installed during the period of November. from 2014 to May 2015. The index of synanthropy, abundance analyzes, beta diversity, richness variation and diversity among environments were calculated. For the detection of arbovirus the material was organized by the city in which the collection and species were made, divided into pools, from which the RNA was extracted through the TRIzol® commercial kit and the cDNA synthesis was performed with the GoScript™ Reverse kit Transcriptase (Promega®), a double reverse transcriptase reaction was performed for the detection of flavivirus and alphavirus, followed by polymerase chain reaction. In the samples, 7007 specimens of Culicidae were obtained, distributed in three genera, *Anopheles*, *Culex* and *Uranotaenia*, with a total of 24 species identified. The greatest species richness occurred in the wild, followed by the rural and finally the urban. The species with the highest index of synanthropy were *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles albitalarsis*. In the analysis of arbovirus detection, with the methodology performed and the number of pools analyzed (n = 19), the presence of arboviruses was not detected. The second CDC-HP luminous trap was installed at two heights, 1 m (low) and 10 m (high), during the first half of the year, in order to verify the vertical stratification of Culicidae, in the wild area of Capão do Leão. period of nov. from 2016 to apr. of 2017. In the work of vertical stratification 1109 individuals were collected in the six-month period. The individuals collected were grouped into six genera and nine subgenres, with a total of 26 species captured. Both females and males collected had the highest occurrence in 1 m. A total of 18 species presented co-occurrence, with six species occurring exclusively in the lower part and three species in the high. In this study were identified six species that are new occurrences for the state. Knowing the geographic distribution and the diversity of mosquitoes in different areas of the Coastal Plain is important to understand the behavior of species in natural environments as in environments modified by human action.

**Keywords: mosquitoes; vertical distribution; synanthropy; arboviruses.**

## Lista de Figuras Manuscrito 1

Figura 1	Locais de coleta de culicídeos nos municípios (Pelotas, Rio Grande e São Lourenço do Sul) que fazem parte do sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul .....	32
Figura 2	Correlação entre a riqueza de Culicinae e temperatura, por ambiente, coletados mensalmente de agosto de 2014 a maio de 2015 no Rio Grande do Sul .....	39

## Lista de Figuras Manuscrito 2

Figura 1	Número de espécies coletadas com CDC-HP nas diferentes alturas e em coocorrência .....	62
----------	--	----

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Principais arbovírus existentes no Brasil .....	27
----------	---	----

## Lista de Tabelas Manuscrito 1

Tabela 1	Sinantropia, abundância absoluta e abundância relativa de espécies de Culicidae em três ambientes, no Rio Grande do Sul, de agosto de 2014 a maio de 2015.....	38
Tabela 2	Estimativa de diversidade de mosquitos coletados com CDC-HP e aspirador manual em três diferentes ambientes, no Rio Grande do Sul, de agosto de 2014 a maio de 2015 .....	38
Tabela 3	Diversidade de mosquitos em três ambientes, do Rio Grande do Sul, de agosto de 2014 a maio de 2015.....	39



## Lista de Tabelas Manuscrito 2

Tabela 1	Número de mosquitos coletados nas duas alturas, separados por sexo (em parênteses a porcentagem total por espécie), em uma mata, Rio Grande do Sul, Brasil.....	61
Tabela 2	Estimativa de diversidade de mosquitos coletados com CDC-HP em duas alturas, no Rio Grande do Sul, Brasil, de novembro de 2016 a maio de 2017. ....	62

## Sumário

1 Introdução.....	15
2 Objetivos.....	17
2.1 Objetivo geral.....	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
3 Revisão da Literatura.....	18
3.1 Culicidae.....	20
3.2 Tribos de Culicidae .....	20
3.2.1 Aedeomyiini Theobald, 1901 .....	20
3.2.2 Aedini Neveu-Lemaire, 1902 .....	21
3.2.3 Culicini Meigen, 1818 .....	21
3.2.4 Mansoniini Belkin, 1962 .....	22
3.2.5 Uranotaeniini Lahille, 1904 .....	23
3.3 Potencial Epidemiológico de Culicidae .....	23
3.3.1 Arboviroses .....	25
4 Manuscritos.....	28
4.1 Manuscrito 1.....	28
4.2 Manuscrito 2.....	46
5 Conclusões Gerais.....	63
Referências .....	64
Apêndices.....	74

Anexos..... 79

## **1. Introdução**

Insetos vetores de doenças representam uma ameaça à saúde, especialmente, quando presentes em áreas densamente povoadas, por estas apresentarem uma alta concentração de hospedeiros, facilitando a manutenção de propagação de doenças (ROBINSON, 2005). Além disso, alterações no ambiente rural, devido às atividades agrícolas, e à ação humana em zonas silvestres podem favorecer o desenvolvimento de certas espécies e suprimir outras, as quais são extintas ou se deslocam para outros ambientes, aumentando assim o risco de disseminação de doenças (POPE et al., 2005).

Os Culicidae (Diptera: Culicidiomorpha) constituem o grupo com maior capacidade vetorial de patógenos entre os artrópodes hematófagos (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). Por isso, informações sobre a distribuição geográfica de culicídeos, de seu habitat são essenciais para se compreender a dinâmica da transmissão de patógenos e o papel das diferentes espécies como vetores de doenças ao homem e a outros animais.

Pelo fato de se tratarem de insetos de ciclo holometábolo e dependentes da água na fase imatura para completarem seu desenvolvimento, torna-se relevante o registro sobre as espécies de culicídeos associados com ambientes de áreas alagadas e banhados, até porque este ambiente também é um habitat apropriado para aves migratórias (BELTON, 1994), que podem ser hospedeiras de muitos vírus (PAUVOLID-CORRÊA et al., 2010). Os mosquitos, particularmente por meio da hematofagia, podem constituir desse modo a ponte de transmissão de arboviroses ao homem e a outros animais.

Tendo em vista as questões descritas acima, neste estudo buscou-se levantar informações acerca do número de espécies de Culicidae de potencial importância médica e veterinária presentes na região sul da Planície Costeira do Rio Grande do

Sul. O estudo foi realizado para avaliar a sinantropia, riqueza, diversidade, e a presença de arbovírus em diferentes ambientes (urbano, rural e silvestre) de Pelotas, Rio Grande e São Lourenço do Sul e também foi avaliado o comportamento de deslocamento vertical de Culicidae em uma área silvestre, do município Capão do Leão.

## **2 Objetivos**

### **2.1- Objetivo geral**

Levantar informações acerca do número de espécies de Culicidae que ocorrem no sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul e avaliar a ocorrência de arboviroses nas espécies predominantes.

### **2.2- Objetivos específicos**

1. Levantar as espécies de Culicidae presentes em diferentes ambientes (urbano, rural e silvestre;
2. Comparar a abundância de espécies de mosquitos em diferentes ambientes;
3. Analisar a diversidade, similaridade, riqueza e sinantropia de espécies que ocorrem em distintos ambientes e municípios que fazem parte da Planície Costeira;
4. Avaliar a influência da temperatura na abundância e riqueza de espécies presentes nos diferentes ambientes;
5. Avaliar os culicídeos predominantes na Planície Costeira para detecção de arbovírus;
6. Analisar a influência de diferentes alturas sobre diversidade e riqueza de Culicidae em ambiente silvestre.

### **3 Revisão da Literatura**

Os Culicidae (Diptera: Culicidiomorpha) constituem o grupo com maior capacidade vetorial de patógenos entre os artrópodes hematófagos, podendo ser veiculadores de arboviroses, transmissores de filarioses e malária, além de causarem alergias e desconforto (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). A família é um grupo grande e abundante, distribuída por todo o mundo, com ocorrência em regiões temperadas e tropicais, com exceção das regiões permanentemente congeladas (FORATTINI, 2002; HARBACH, 2007).

Mosquitos são insetos holometábolos, que nos estágios imaturo e adulto podem viver em habitats variados e possuem hábitos distintos (FORATTINI, 2002; TRIPLEHORN; JOHNSON, 2011). As larvas de culicídeos são aquáticas, ocorrendo em grande variedade de habitats com abundância de recursos para seu desenvolvimento (rico em matéria orgânica), quase qualquer coleção de água doce é utilizável por formas imaturas: margens de lagos e rios, buracos de árvores, axilas de plantas, conchas de moluscos, águas salobras, pequenas coleções de água rica em matéria orgânica, poças, latrinas, com algumas espécies sobrevivendo inclusive à poluição química presente na água (GUIMARÃES, TUCCI E BARROS-BATTESTI, 2001; FORATTINI, 2002; RIBEIRO et al. 2004).

Nos culicídeos adultos tanto as fêmeas quanto machos, se alimentam de substâncias açucaradas, porém somente as fêmeas são hematófagas, e o repasto sanguíneo está ligado ao desenvolvimento de ovos, uma vez que estes normalmente não se desenvolveriam sem os produtos resultantes da digestão do sangue ingerido (CONSOLI; OLIVEIRA, 1998; FORATTINI, 2002).

Apesar da ampla distribuição geográfica de algumas espécies de culicídeos, a sobrevivência de suas populações depende da habilidade, que elas possam

apresentar, em conviver com as condições e características do ambiente (FORATTINI, 2002).

Em ambiente urbano, constantemente alterado, os mosquitos sinantrópicos ocorrem em altas populações. Estes parecem se beneficiar com as alterações que o homem induz ao ambiente e com a alta disponibilidade de hospedeiros, sendo frequentemente observada a colonização em ecótopos naturais e artificiais resultantes da atividade humana (GOMES; FORATTINI, 1990). A sinantropia traduz uma resposta ao meio antrópico, de modo geral é preciso realizar a comparação de várias populações de diferentes amostras, sendo que esta comparação estabelece a relação do comportamento do mosquito e das características do ambiente (Forattini et al., 2000).

Alterações no ambiente rural devido às atividades agrícolas podem potencialmente aumentar o habitat de algumas espécies, aumentando o risco de disseminação de doenças. (POPE et al., 2005). Canais de irrigação para plantio, como os canais de arroz irrigado, podem favorecer a presença de alguns *Anopheles* spp., mosquito transmissor da malária (Forattini et al., 1993).

A ação humana em zonas silvestres causa mudanças que podem favorecer o desenvolvimento de certas espécies de culicídeos e a supressão de outras, que são extintas ou se deslocam para outros ambientes (GUIMARÃES et al. 2003).

Apesar da grande plasticidade de algumas espécies de culicídeos, quanto ao comportamento de hematofagia, alguns autores ressaltam que estes podem apresentar comportamento diverso quanto à preferência por hospedeiros. Hassan et al. (2003) sugerem que alguns mosquitos vetores de arboviroses apresentam seletividade quanto à espécie de ave na qual realizam o repasto sanguíneo. Áreas alagadas e banhados fornecem um bom habitat para aves migratórias (BELTON, 1994), estas podem ser hospedeiras de vírus veiculados por artrópodes hematófagos, como os mosquitos, que se encontram entre os principais veiculadores de arboviroses ao homem e aos outros animais (PAUVOLID-CORRÊA et al., 2010).

Segundo Forattini (1989) a compreensão e a possibilidade de solucionar muitos dos problemas epidemiológicos, dificilmente alcançarão sucesso sem a identificação precisa das populações encontradas em cada local. Informações sobre a distribuição geográfica de culicídeos, habitat e sazonalidade (flutuação populacional) são essenciais para se compreender a dinâmica da transmissão de



patógenos e o papel das diferentes espécies como vetores de doenças ao homem e a outros animais.

### 3.1 Culicidae

Atualmente, são conhecidos 3.559 espécies de culicídeos em todo o mundo, que estão separados em duas subfamílias e 113 gêneros, sendo a subfamília Anophelinae Grassi, 1900 composta por três gêneros e Culicinae Meigen, 1818 por 110 gêneros (HARBACH, 2013). Em Culicinae são descritas as tribos Aedeomyiini Theobald, 1901, Aedini Neveu-Lemaire, 1902, Culicini Meigen, 1818, Culisetini Belkin, 1962, Ficalbiini Belkin, 1962, Hodgesiini Belkin, 1962, Mansoniini Belkin, 1962, Orthopodomyiini, Sabethini, Toxorhynchitini Lahille, 1904 e Uranotaeniini Lahille, 1904 (HARBACH e KITCHING, 1998; HARBACH, 2007).

No Brasil, até o momento atual, se reconhecem 516 espécies de culicídeos (GAFFIGAN et al., 2017), com trabalhos concentrados na região Sudeste e Amazônica, onde se concentram os principais grupos de pesquisas.

No estado do Rio Grande do Sul são relacionados 99 espécies de Culicinae e 17 espécies de Anophelinae (CARDOSO; CORSEUIL; BARATA, 2004, 2005; GOMES et al., 2009, 2010; CARDOSO et al., 2011) (Apêndice A). As pesquisas na área de culicídeos no Rio Grande do Sul são frutos de trabalhos isolados, que não albergam todas as fisionomias que o estado apresenta, fazendo com que ocorra uma descontinuidade quanto às informações sobre a distribuição e composição das espécies nas diferentes regiões.

### 3.2 Tribos de Culicidae

#### 3.2.1 Aedeomyiini Theobald, 1901

A tribo possui um gênero, *Aedeomyia* Theobald, 1901 e sete espécies distribuídas em dois subgêneros *Aedeomyia* Theobald, 1901 com seis espécies e *Lepiothauma* Enderlein, 1923 com uma espécie (LANE, 1953b; TYSON, 1970; BRUNHES; BOUSSÈS; RAMOS, 2011; HARBACH, 2013).

No Brasil ocorre somente uma espécie do subgênero *Aedeomyia*. As fêmeas de *Aedeomyiini* possuem preferência por realizar hematofagia em aves,

ocasionalmente atacando humanos, as suas fases imaturas estão associadas a plantas aquáticas (LANE, 1953b; HARBACH, 2013).

A espécie *Aedeomyia squamipennis* é apontada como vetor de *Plasmodium* Marchiafava & Celli, 1885, dos subgêneros *Giovannolaia* Corradetti, Garnham & Laird 1963 e *Novyella* Corradetti, Garnham & Laird 1963 (GABALDON, et al., 1977) e de arbovírus, como a encefalite equina venezuelana (EEV), vírus do grupo Gamboa e vírus do grupo Bunyamwera (MITCHELL et al., 1985; DÉGALLIER et al., 1992; TURELL et al., 2005).

### 3.2.2 Aedini Neveu-Lemaire, 1902

Em Culicidae a tribo mais diversa é Aedini, que possui 1.255 espécies, classificadas em 10 gêneros, *Aedes* Meigen, 1818, *Armigeres* Theobald, 1901, *Eretmapodites* Theobald, 1901, *Haemagogus* Williston, 1896, *Heizmannia* Ludlow, 1905, *Opifex* Hutton, 1902, *Psorophora* Robineau-Desvoidy, 1827, *Udaya* Thurman, 1954, *Verrallina* Theobald, 1903 e *Zeugomyia* Leicester, 1908 (WILKERSON et al., 2015).

Somente três gêneros ocorrem no Brasil, *Aedes*, *Haemagogus* e *Psorophora*, gêneros que são compostos por 929, 28 e 50 espécies, respectivamente (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002; WILKERSON et al., 2015).

A maioria dos Aedini têm hábito diurno ou crepuscular vespertino, sendo mosquitos agressivos quanto à hematofagia e oportunistas (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002). Muitas espécies dos gêneros *Aedes*, *Haemagogus* e *Psorophora* depositam seus ovos na bordas dos criadouros, acima do nível da água, podendo apresentar diapausa na fase de ovo, assim, utilizam preferencialmente criadouros artificiais que são condicionados pela chuva (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002).

### 3.2.3 Culicini Meigen, 1818

A tribo possui 796 espécies, sendo dividida em quatro gêneros, *Culex* Linnaeus, 1758; *Deinocerites* Theobald, 1901; *Galindomyia* Stone & Barreto, 1969 e *Lutzia* Theobald, 1903 (LANE, 1953a; FORATTINI, 2002; HARBACH, 2007). No Brasil ocorrem os gêneros *Culex*, *Deinocerites* e *Lutzia* (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994;

GAFFIGAN et al., 2017). A maioria das espécies destes gêneros possuem hábitos noturnos ou crepusculares, suas larvas criam-se em coleções líquidas no solo, em recipientes, naturais ou artificiais e os adultos realizam hematofagia em diversos animais, seus ovos não resistem à dessecação e são postos, geralmente, em jangadas diretamente na superfície da água (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002).

O gênero *Deinocerites* é composto por 18 espécies, há um amplo espectro de hospedeiros para a hematofagia em algumas espécies, geralmente usam buracos de caranguejo para descanso e para reprodução (ADAMES, 1971; HARBACH, 2013).

O gênero *Lutzia* é composto por oito espécies, distribuídas em três subgêneros *Insulalutzia* Tanaka, 2003, *Lutzia* Theobald, 1903 e *Metalutzia* Tanaka, 2003 (HARBACH, 2013).

O gênero *Galindomyia* possui somente uma espécie, *Ga. leei* Stone & Barreto, 1969, sua bionomia ainda é pouco conhecida, sendo que adultos foram encontrados em buracos de caranguejo com água salobra (STONE; BARRETO, 1969; HARBACH, 2013).

O gênero *Culex* distribui-se amplamente pelo mundo, este gênero é predominante em Culicini, apresentando atualmente, 769 espécies, sendo dividido em 26 subgêneros (HARBACH, 2013). Algumas espécies pertencentes ao gênero *Culex* são os principais vetores biológicos de filariose bancroftiana (*Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877) (Secernentea, Onchocercidae)), além de transmitirem diversas arboviroses, tanto ao homem como a outros animais (FORATTINI, 2002). O gênero foi encontrado infectado com vírus da encefalite de Saint Louis (SLEV), do Oeste do Nilo (WNV), nos Estados Unidos da América e Venezuela, ainda veicula o vírus Oropouche (ORO) no Brasil (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

### **3.2.4 Mansoniini Belkin, 1962**

A tribo é composta por 82 espécies, distribuídas em dois gêneros, *Mansonia* Blanchard, 1901 com 25 espécies e *Coquillettidia* Dyar, 1905 com 57 espécies (FORATTINI, 2002; HARBACH, 2007).

Os mosquitos do grupo possuem porte grande ou médio, são vorazes e oportunistas, têm habito noturno a crepuscular matutino e vespertino, são insetos

que fazem hematofagia no homem e em outros animais e suas larvas, após o primeiro estágio larval, e também as suas pupas sempre estão associadas a plantas aquáticas (*Eichornia* sp., *Pistia* sp., *Salvinia* sp.), onde se prendem com o sifão e retiram o oxigênio do parênquima aerífero (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002).

O gênero *Mansonia* possui dois subgêneros, *Mansonia* Blanchard, 1901, com 15 espécies e *Mansonioides* Theobald, 1907, com 10 espécies, ocorrendo somente representantes do subgênero *Mansonia* no Brasil (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002; HARBACH, 2013 ; GAFFIGAN et al., 2017).

O gênero *Coquillettidia* possui três subgêneros, *Austromansonia* Belkin, 1968 com uma espécie, *Coquillettidia* Dyar, 1905 com 43 espécies e *Rhynchotaenia* Brethés, 1910 com 13 espécies, somente o último subgênero possui espécies que ocorrem no Brasil (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; HARBACH, 2013 ;GAFFIGAN et al., 2017).

### **3.2.5 Uranotaeniini Lahille, 1904**

A tribo possui 270 espécies, com gênero único, *Uranotaenia* Lynch Arribálzaga, 1891, distribuídas em dois subgêneros, *Pseudoficalbia* Theobald, 1912 com 149 espécies e *Uranotaenia* Lynch Arribálzaga, 1891 com 121 espécies, sendo descritas espécies para o Brasil somente no último subgênero, com um total de 16 espécies no país (LANE, 1953b; HARBACH, 2013; GAFFIGAN et al., 2017). O gênero *Uranotaenia*, por não apresentar importância médica e/ou econômica para os humanos, continua pouco estudado, existindo uma carência de conhecimentos sobre seus hábitos e preferência alimentar.

## **3.3 Potencial Epidemiológico de Culicidae**

A globalização, o transporte internacional e o intercâmbio econômico permitem certa uniformidade estrutural de áreas urbanas ao redor do mundo, fazendo ocorrer também maior circulação e intercâmbio de artrópodes para várias regiões, sendo que muitas espécies são capazes de se adaptar ao clima em outras regiões, acabando por consolidar as populações com status de “praga” (termo

usualmente associado a perdas econômicas, risco de transmissão de doenças e também ao incômodo persistente) (ROBINSON, 2005).

“As doenças relacionadas com artrópodes com frequência estão associadas às (más) condições sócio-econômicas, o que contribui que sejam negligenciadas pela população e pelas autoridades de vários países. Esta tendência nem sempre é válida, pois o dengue, por exemplo, tem atingido grande parte da população do Rio de Janeiro e de outras capitais do Brasil, ainda que de forma mais intensa nas áreas mais pobres que tendem a ter maiores densidades de população e de mosquitos” (MARCONDES, 2009).

Os artrópodes podem transmitir agentes patogênicos que causam doenças comuns e importantes, como arboviroses (dengue, vírus do Oeste do Nilo, Zika, Chikungunya), doença de chagas, filarioses, sendo os mosquitos dos gêneros *Culex* e *Aedes* os vetores que fazem circular os vírus mais importantes para a saúde humana e animal (MARCONDES, 2009; WEAVER; REISEN, 2010; DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017).

Os Culicidae apresentam grande importância na saúde pública e animal, este grupo de insetos, além de causar incômodo aos hospedeiros, possui uma grande capacidade vetorial de agentes patogênicos, tais como, arboviroses, como a febre-amarela (primatas não-humanos e humanos), dengue, febre de Rift Valley (doença febril em bovinos, ovinos e humanos), Encefalite Equina Venezuelana, (doença potencialmente fatal em cavalos), Encefalite Equina do Leste, Encefalite Equina do Oeste, peste suína e varíola aviária; bactérias como *Eperythrozoon ovis* (ovinos), *Borrelia anserina* (galinhas e gansos); nematódeos como *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) (cães), *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877) (humanos), *Brugia malayi* (Buckley & Edeson, 1956) (humanos e gatos) e protozoários como *Plasmodium* (humanos e primatas não humanos) (HARWOOD, JAMES, 1979; VIANNA; COSTA; RIBEIRO, 1996; CONSOLI; OLIVEIRA, 1998).

A ocorrência das doenças causadas por agentes patogênicos transmitidos por artrópodes é subestimada, sua distribuição geográfica é desconhecida pela população, sendo necessário que profissionais de saúde saibam onde essas doenças ocorrem ou podem ocorrer (MARCONDES, 2009).

Segundo Donalisio, Freitas e Zuben (2017):

“Investimentos na qualificação das ações de vigilância epidemiológica, virológica, vetorial e de epizootias são urgentes no País, especialmente em momentos de riscos importantes à saúde pública. A colaboração internacional é essencial para a identificação precoce da entrada de novos patógenos em áreas geográficas indenes; porém, políticas e ações integradas são particularmente estratégicas em um País com as dimensões do Brasil”.

### 3.3.1 Arboviroses

Os vírus transmitidos por artrópodes são chamados de arbovírus, estes realizam parte de seu ciclo reprodutivo nos insetos, e são transmitidos aos hospedeiros durante a hematofagia. Existem mais de 545 espécies de arbovírus, destas 150 estão relacionadas com doenças em humanos, sendo a maioria zoonótica. (LOPES; LOZAWA; LINHARES, 2014).

A manutenção de arbovírus na natureza se dá de forma natural, por um ciclo de transmissão horizontal onde os vetores invertebrados realizam a hematofagia em hospedeiros vertebrados, se infectando e transmitindo pela saliva contaminada aos outros hospedeiros (SIM; JUPATANAKUL; DIMOPOULOS, 2014). Geralmente, o nível de viremia no hospedeiro vertebrado precisa estar alto para que ocorra a infecção do inseto durante a hematofagia (GUBLER, 2002).

Os arbovírus que mais causam doenças em humanos e outros animais estão distribuídos em cinco famílias: Bunyaviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Reoviridae e Rhabdoviridae (RUST, 2012; LOPES; LOZAWA; LINHARES, 2014).

Dentre os arbovírus de RNA estão os gêneros Alphavirus (Togaviridae), Flavivirus (Flaviviridae), Bunyavirus, Nairovirus, Orthobunyavirus e Phlebovirus (Bunyaviridae), Orbivirus (Reoviridae), Vesiculovirus (Rhabdoviridae), o único arbovírus de DNA é o Thogotovirus (Orthomyxoviridae) (WEAVER; REISEN, 2010; MUSSO, 2018). As famílias de arbovírus mais comuns no Brasil são descritas na tabela 1.

Surtos do vírus da febre Oropouche (Orthobunyavirus, Bunyaviridae) já foram notificados em comunidades rurais e urbanas do Brasil, Equador, Panamá, Peru e Trinidad e Tobago (WHO, 2016). O vírus Oropouche (OROV) é uma das mais comuns arboviroses que infectam humanos no Brasil (ROSA et al., 2017). O vírus é descrito como sendo transmitido por *Aedes serratus* e *Culex quinquefasciatus* (BURREL, HOWARD, MURPHY, 2016; MUSSO, 2018).

O gênero Flavivirus possui cerca de 39 espécies consideradas arbovírus, sendo algumas causadoras de encefalite e outras de febre hemorrágica, podendo ocorrer em humanos e animais (LOPES; LOZAWA; LINHARES, 2014). Entre os principais vírus da família estão: Dengue (DENV), presente nas regiões tropicais, com os principais vetores mosquitos do gênero *Aedes*, principalmente *Ae. Aegypti*; Zika vírus, distribuído pelas Américas, na Ásia, África e Ilhas do Pacífico, assim

como o anterior, os principais vetores são *Ae. aegypti* e outros *Aedes*; Encefalite de Saint Louis (SLEV), presente nas Américas, como principais vetores estão mosquitos do gênero *Culex*; vírus do Oeste do Nilo (WNV), presente na África, Ásia, América e no Mediterrâneo, também possuindo o gênero *Culex* como principal vetor; Rocio (ROCV), distribuído pelo Brasil, possui como vetores os gêneros *Psorophora* e *Aedes*; Cacipacore (CACV) distribuído pelo Pará e Mato Grosso; Ilheus (ILHV), que ocorre na Bahia, no Mato Grosso e no Mato Grosso do Sul, podendo ter como vetores os gêneros *Aedes*, *Psorophora*, *Culex*, *Coquillettidia*, *Haemagogus*, *Sabethes*, *Trichoprosopon* e *Wyeomyia*; Bussuquara (BUSV), presente na América Central, no Caribe e na América do Sul, transmitido pelo gênero *Culex*; Iguape (IGUV), presente no Brasil; vírus da Febre Amarela (YFV), presente nas áreas tropicais da África e da América, como principais vetores da Febre Amarela estão os gêneros *Aedes* (*Aedes aegypti*) e *Haemagogus* (BURREL, HOWARD, MURPHY, 2016; MUSSO, 2018).

Na família Togaviridae os principais vírus são: Chikungunya (CHIKV), presente na África, Ásia, América (Norte e Sul), Filipinas, Índia, nas ilhas oceânicas e no Caribe, tendo como vetores os mosquitos do gênero *Aedes* (*Aedes aegypti*); Encefalite Equina do Leste (EEEV), distribuída pelo Caribe, América do Norte e do Sul, ocorrendo no Brasil (Pará, Pernambuco, Ceará, Paraíba, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Mato Grosso do Sul), os mosquitos dos gêneros *Culiseta*, *Aedes* e *Coquillettidia* são os vetores de EEEV; Mayaro (MAYV) ocorre na América do Sul, os culicídeos do gênero *Haemagogus* são vetores do vírus (KOTAIT et al., 2006; SILVA et al., 2011; BURREL, HOWARD, MURPHY, 2016; MUSSO, 2018).

Tabela 1. Principais arbovírus existentes no Brasil.

Família	Vírus	Sigla
Bunyaviridae	Oropouche	OROV
Flaviviridae	Bussuquara	BUSV
	Cacipacore	CACV
	Dengue	DENV
	Encefalite de Saint Louis	SLEV
	Febre Amarela	YFV
	Iguape	IGUV
	Ilheus	ILHV
	Oeste do Nilo	WNV
	Rocio	ROCV
	Zika	ZIKV
Togaviridae	Chikungunya	CHIKV
	Encefalite Equina do Leste	EEEV
	Mayaro	MAYV

(Modificada de LOPES; LOZAWA; LINHARES, 2014. Acrescida de AVELINO-SILVA; RAMOS, 2017; LUZ; SANTOS; VIEIRA, 2015; DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017).



## **4 Manuscritos**

### **4.1 Manuscrito 1**

Conforme normas da Revista Acta Tropica

#### **Abundância, sazonalidade, sinantropia e lista atualizada de espécies de Culicidae (Insecta, Diptera) do Sul do Brasil**

FRANCIELLY FELCHICHER, MARCIAL C. CÁRCAMO, PAULINO S. RIBEIRO,  
ÉLVIA E. S. VIANNA, FERNANDO R. SPILKI, PAULA R. ALMEIDA, PATRICIA J.  
THYSSEN

## **Levantamento de Culicidae (Insecta, Diptera) e análise de arbovírus em mosquitos de diferentes ambientes no Sul do Rio Grande do Sul**

FRANCIELLY FELCHICHER<sup>1</sup>, MARCIAL C. CÁRCAMO<sup>2</sup>, PAULINO S. RIBEIRO<sup>3</sup>, ÉLVIA E. S. VIANNA<sup>1</sup>, FERNANDO R. SPILKI<sup>4</sup>, PAULA R. ALMEIDA<sup>4</sup>, PATRICIA J. THYSSEN<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS, Brasil

<sup>2</sup> Campus Visconde da Graça, Instituto Federal Sul-Rio-Grandense (IFSul)

<sup>3</sup> Laboratório de Transmissores de Hematozoários IOC, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)

<sup>4</sup> Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brasil

<sup>5</sup> Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

**Resumo.** A família Culicidae possui 3.559 espécies descritas, no Rio Grande do Sul há 99 espécies de Culicinae e 17 espécies de Anophelinae. Para solucionar problemas epidemiológicos, são necessárias informações sobre a distribuição geográfica de culicídeos, em diferentes habitats. O objetivo foi caracterizar a dinâmica populacional de espécies de Culicidae, em três ambientes (urbano, rural e silvestre) de municípios da Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil. Armadilhas CDC-HP luminosas e aspirador elétrico manual foram usados em ambiente urbano, rural e silvestre, dos municípios de Pelotas, Rio Grande e São Lourenço do Sul. Foram colocadas três armadilhas CDC-HP por ambiente, mensalmente, com permanência de 24h, de agosto de 2015 a maio de 2016; a aspiração foi realizada mensalmente, por período de 10 minutos, na área ao redor de cada ponto em que foi instalada a CDC-HP, de novembro de 2014 a maio de 2015. Foi calculado o índice de sinantropia (Nuorteva). Para as análises de abundância, diversidade beta, variação de riqueza e diversidade entre os ambientes. Para a pesquisa de arbovírus o material foi organizado de acordo com a cidade em que foi feita a coleta e espécie, dessa forma divididos em pools, dos quais foi feita a extração do RNA através do kit comercial TRIzol® e a síntese de cDNA foi realizada com o kit GoScript TM Reverse Transcriptase (Promega®), para a detecção de flavivírus e alfavírus foi feita uma dupla reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase. Foram obtidos 7007 espécimes de Culicidae, distribuídos em três gêneros, *Anopheles*, *Culex* e *Uranotaenia*, com 24 espécies identificadas. A maior riqueza de

espécies ocorreu no ambiente silvestre, seguido do rural e por último o urbano. A maior sinantropia ocorreu em *Culex quinquefasciatus* e *Anopheles albitarsis*. As alterações da temperatura ao longo do período alteraram o número de espécies. Na análise para detecção de arbovírus, no número de pools analisados não foi detectada a presença de arbovírus. Esperamos que o trabalho contribua para o conhecimento das espécies da Planície Costeira do Rio Grande do Sul, para melhor compreensão do papel e da importância epidemiológica dos mosquitos na região.

Palavras chaves. Planície Costeira- identificação - mosquitos - arbovírus

### **Correspondência:**

Francielly Felchicher

Laboratório de Entomologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário Capão do Leão, Capão do Leão, State of Rio Grande do Sul, 96160-000, Brazil

e-mail: franciellybio@yahoo.com.br

## **INTRODUÇÃO**

A família Culicidae possui cerca de 3.559 espécies descritas atualmente (Forattini, 2002; Harbach, 2007; Harbach, 2013). Na família há muitos representantes no Brasil, com aproximadamente 516 espécies descritas (Gaffigan et al., 2017). O conhecimento da diversidade de mosquitos presentes em diferentes áreas, tanto naturais quanto modificadas, possui grande importância para a compreensão do papel que cada espécie pode desempenhar como vetor de patógenos aos humanos e aos outros animais (Forattini, 2002).

Os Culicidae apresentam importância na saúde pública e animal, este grupo de insetos possui uma grande capacidade vetorial de agentes patogênicos, arboviroses, como a febre-amarela (primatas não-humanos e humanos), dengue, febre de Rift Valley (doença febril em bovinos, ovinos e humanos), Encefalite Equina Venezuelana, (doença potencialmente fatal em cavalos), Encefalite Equina do Leste, Encefalite Equina do Oeste, peste suína e varíola aviária; bactérias como *Eperythotozoon ovis* (ovinos), *Borrellia anserina* (galinhas e gansos); nematódeos como *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) (cães), *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877) (humanos), *Brugia malayi* (Buckley & Edeson, 1956) (humanos e gatos); protozoários como *Plasmodium* (humanos e primatas não humanos) (Harwood, James, 1979; Vianna; Costa; Ribeiro, 1996; Consoli; Oliveira, 1994).

No Rio Grande do Sul são relacionados 99 espécies de Culicinae e 17 espécies de Anophelinae (Cardoso; Corseuil; Barata, 2004, 2005; Gomes et al., 2009, 2010; Cardoso et al., 2011). As pesquisas na área de culicídeos no Rio Grande do Sul não abrangem todas as fisionomias que o estado apresenta, fazendo com que ocorra uma descontinuidade quanto às informações sobre a distribuição e composição das espécies nas diferentes regiões.

Em ambiente urbano, mosquitos sinantrópicos ocorrem em altas populações, podendo se beneficiar com as alterações que o homem faz no ambiente, sendo frequentemente observada a colonização em ecótopos naturais e artificiais resultantes da atividade humana (Gomes; Forattini, 1990). No ambiente rural, alterado devido às atividades agrícolas pode ocorrer expansão do habitat para algumas espécies, aumentando o risco de disseminação de doenças (Pope et al., 2005). Nas áreas silvestres a ação humana pode causar mudanças que venham a favorecer o desenvolvimento de certas espécies de culicídeos e a supressão de outras, que são extintas ou se deslocam para outros ambientes (Guimarães et al., 2003).

A sinantropia refere-se à adaptação dos insetos vetores de doenças às condições ambientais criadas pela interferência humana (Forattini et al., 2000). Assim esses ambientes urbanos, rurais e silvestres que passam por alterações de sua estrutura, podem se tornar um habitat para essas espécies de mosquitos que são vetores de patógenos.

A Planície Costeira do Rio Grande do Sul, apresenta uma área de terras baixas banhadas em sua maior extensão por sistemas de lagoas costeiras, com clima mesotérmico brando, superúmido, temperatura média anual entre 16°C e 20°C e precipitação anual de 1000 a 1500mm ao ano (MMA, 2007).

Nas áreas úmidas da planície costeira do Rio Grande do Sul ocorre uma avifauna abundante com presença de aves migratórias (Belton, 1994). Associado a isso há presença de mosquitos, que dependem da água na sua fase imatura para completar o seu desenvolvimento, tornando relevante o registro das espécies de culicídeos associados a ambientes de áreas alagadas e banhados (MMA, 2007) e que podem ser hospedeiras de muitos patógenos (Pauvolid-Corrêa et al., 2010). Os mosquitos, por meio da hematofagia, podem constituir desse modo a via de transmissão de arboviroses ao homem e a outros animais.

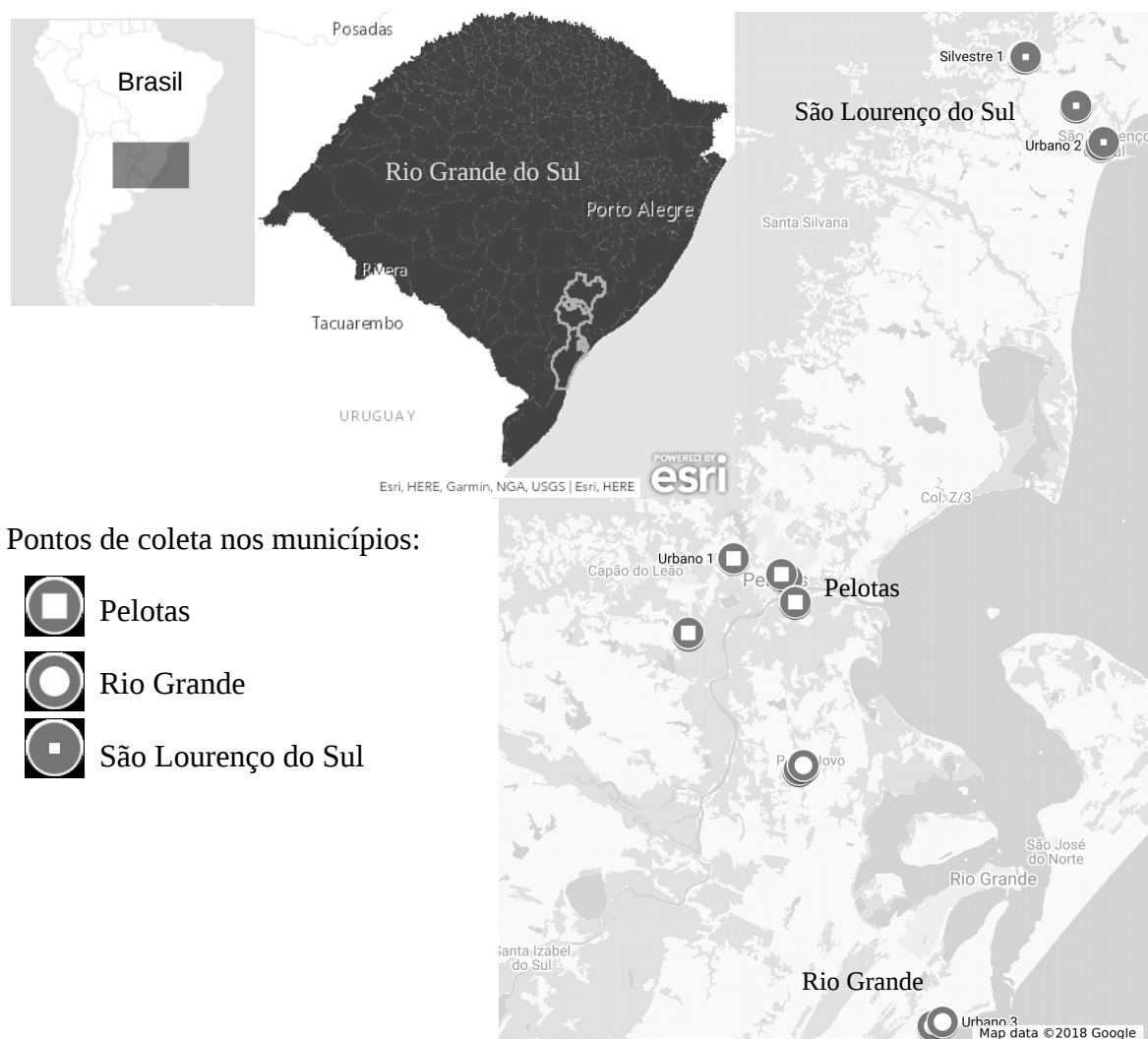
Para a compreensão e a possibilidade de solucionar problemas epidemiológicos, são necessárias informações sobre a distribuição geográfica de culicídeos, em diferentes habitats, isso possibilita a compreensão da dinâmica que cada espécie pode apresentar como vetor de patógenos (Forattini, 1989). Assim, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar a dinâmica populacional de espécies de Culicidae, em distintos ambientes (urbano, rural e silvestre) de municípios que fazem parte da Planície Costeira do Rio Grande do Sul, Brasil.

No estudo foi feita uma análise para detecção de arbovírus nas espécies que ocorreram nos diferentes ambientes.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Áreas de estudo*

Os trabalhos de campo foram conduzidos nos ambientes urbano (U), rural (R) e silvestre (S) de três municípios que integram a Planície Costeira do Rio Grande do Sul: Pelotas, Rio Grande e São Lourenço do Sul (Figura 1).



**Figura 1.** Locais de coleta de culicídeos nos municípios (Pelotas, Rio Grande e São Lourenço do Sul) que fazem parte do sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul.

A Planície Costeira do Rio Grande do Sul é uma ampla área de terras baixas (aproximadamente 33 mil km<sup>2</sup>), sendo sua maior parte ocupada por um sistema de lagoas costeiras (Villwock & Tomazelli, 1995). De acordo com Nimer (1977), apresenta clima mesotérmico brando, superúmido, sem estação seca. A temperatura média anual oscila entre 16 e 20°C. A média do mês mais quente fica entre 22 e 26°C e a média do mês mais frio entre 10 e 15°C. A precipitação pluviométrica anual varia entre 1.000 e 1.500 mm. Nessa área predomina a vegetação característica do bioma Mata Atlântica (MMA, 2007).

Os diversos tipos de ambientes foram caracterizados seguindo estes critérios: (I) urbano, área dotada de edificação contínua, com densidade demográfica superior a cinco mil habitantes por km<sup>2</sup>; (II) rural, espaço fora da área urbana, com predomínio de atividades agrícolas ou pecuárias; (III) silvestre, constituído de áreas desabitadas, com baixa ou nenhuma interferência humana.

No município de Pelotas, na área urbana, as armadilhas foram dispostas em três bairros, Fragata, Centro e Areal; as coletas na área rural do município foram realizadas às margens do Canal São Gonçalo, em uma área particular, com criação de bovinos, frango e suínos, próxima a uma área banhada; a área silvestre foi escolhido o Horto Botânico Irmão Teodoro Luís (Capão do Leão), que pertencia ao município de Pelotas, próximo à Universidade Federal de Pelotas.

Em Rio Grande as coletas urbanas foram realizadas no bairro do Cassino, em uma área do balneário do Cassino, as armadilhas foram dispostas em propriedades particulares em três pontos do bairro; as coletas na área rural foram realizadas no distrito de Povo Novo, ao norte do município de Rio Grande, uma área com pequenas propriedades rurais, cercada de áreas banhadas, com presença de animais como frango, suínos, ovelhas e cavalos; a área silvestre escolhida também está inserida no distrito de Povo Novo, em uma área pertencente à prefeitura de Rio Grande, com uma área de mata é que circundada por uma área banhada, próxima a algumas propriedades rurais.

Em São Lourenço do Sul as armadilhas da coleta urbana foram dispostas em propriedades particulares no Centro da cidade, que fica próxima à Laguna dos Patos; na área rural as armadilhas foram colocadas em duas propriedades rurais, com presença de animais, como patos, gansos, frangos, codornas, suínos e cavalos; a coleta na área silvestre foi realizada no distrito de Boqueirão, em uma área de mata, próxima a um córrego, que é circundada de propriedades agrícolas.

### ***Coleta e preparo das amostras***

As coletas com armadilhas luminosas tipo CDC-HP (Center for Disease Control) (Pugedo et al., 2005) foram realizadas entre agosto de 2014 e maio de 2015. Foram mensalmente coletados adultos de mosquitos de 27 pontos distintos, nos ambientes (urbano, rural e silvestre) dos municípios de Pelotas, Rio Grande e São Lourenço do Sul. Foram dispostas três armadilhas CDC-HP em cada ambiente (urbano, rural e silvestre). As armadilhas eram posicionadas a 1,5 m de altura do solo, com uma distância mínima de 60 m entre os pontos, permanecendo em funcionamento por um período de 24 horas por mês.

O uso do aspirador manual elétrico para coleta de adultos ocorreu de novembro de 2014 a maio de 2015, nos mesmos ambientes onde foram instaladas as armadilhas luminosas. Na coleta com aspirador manual foi estabelecida uma área de varredura de cinco metros no entorno do local onde era instalada cada armadilha luminosa. A coleta era realizada no período diurno, com duração de 10 minutos de aspiração.

Os adultos coletados foram levados ao laboratório, nas telas de coleta ou nos tubos do aspirador, onde eram preparados para serem identificados e contados. As fêmeas e machos preparados em montagem dupla em alfinete e para os machos era feita a extração da genitália e montagem entre lâmina e lamínula, conforme Consoli & Oliveira (1994). Para a identificação dos adultos coletados foram utilizadas as chaves dicotômicas de Lane (1953a, 1953b), Clark-Gil & Darsie (1983), Darsie (1985), Consoli & Oliveira (1994) e Forattini (2002).

### ***Pesquisa de arbovírus***

O RNA foi extraído de pools (N=19) de culicídeos (N=71), previamente separados por localidade e espécie, coletados entre janeiro e março de 2015, através do kit TRIzol®, seguindo as instruções do fabricante. O cDNA foi sintetizado com o kit GoScript® Reverse Transcriptase (Promega®). As espécies de Culicidae analisadas nesse estudo foram *Culex bidens*, *Culex chidesteri* e *Culex quinquefasciatus*.

Para a detecção de flavivírus e alphavírus foi feita uma dupla reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase (D-RT-PCR) seguindo o protocolo de Bronzoni et al. (2005).

A mistura RT continha 8 µl de RNA alvo, 4 µl de 5 x tampão primeira cadeia (250 mM Tris-HCl [pH 8,3], 375 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>), 1,5 µl de ditioneitol (0,1 M), 1 µl de cada primers reversos cM3W (ACATRAANKGNGTNGTRTCRAANCCDAYCC) e FG2 (GTGTCCCATCCTGCTGTGTCATCAGCATACA) (100 e 15, respectivamente), 1 µl de

dNTP mix (250 µM de cada dNTP), 20 U de inibidor de RNase (Invitrogen), 200 U de transcriptase reversa (Superscript; Invitrogen) e água para completar um volume de 20 µl. A mistura foi incubada a 42°C durante 50 min e a 95°C durante 5 min para inativar a transcriptase inversa (Bronzoni et al., 2005).

A mistura de PCR continha 8 µl de cDNA, 5 µl de 10 x tampão PCR (200 mM de Tris-HCl [pH 8,4], 500 mM de KCl), 2 µl de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 1 µl do primer direto M2W (YAGAGCDTTTTTCGCAYSTRGCHW) e do primer direto FG1 (TCAAGGAACTCCACACATGAGATGTACT) (50 e 15 µM, respectivamente), 1 µl de dNTP mix (250 µM de cada dNTP), 1 U de Taq DNA polimerase Platinum (Invitrogen) e água para completar um volume de 50 µl (Bronzoni et al., 2005). A mistura foi submetida a um termociclador a 30 ciclos de 94°C durante 1 min, 53°C durante 1 min e 72°C durante 2 min, seguidos de um passo final de extensão a 72°C durante 5 min.

Dez microlitros dos produtos de PCR foram submetidos à eletroforese num gel de agarose a 2%, corados com brometo de etídio e visualizados com luz UV. Como controle positivo foi utilizado o Zika vírus e no controle negativo foi utilizada água ultrapura. Para flavivírus e alfavírus em geral são esperados amplicons de 958 e 434 pb, respectivamente.

### **Análise de dados**

O índice de sinantropia (IS) das diferentes espécies foi estimado usando o Índice de Nuorteva (Forattini et al., 1993). Com a abundância relativa (%) das espécies presentes nos três ambientes analisada conforme a equação:

$$s = \frac{2a + b - 2c}{2}$$

Onde: a= a porcentagem coletada em área urbana; b= porcentagem coletada em área rural; e c= porcentagem coletada em área silvestre. Os resultados podem variar entre +100 e -100, sendo que o primeiro valor corresponde ao maior valor de sinantropia.

Para verificar a abundância das espécies nas diferentes áreas foi realizado o teste de Kruskal-Wallis.

A diversidade beta (β) entre os ambientes foi calculada pelo índice de Whittaker, que mede a mudança ou taxa de substituição na composição de espécies de um local para outro.

Os estimadores de diversidade alfa (α) utilizados foram os índices de Shannon H e Simpson 1-D. Como estimador da riqueza de espécies foi utilizado o CHAO-1.



Para a realização das análises de abundância, diversidade beta, variação de riqueza e diversidade entre os ambientes, foi usado o software Paleontological Statistics (PAST versão 3.16).

## RESULTADOS

Nas coletas foram obtidos 7007 espécimes de Culicidae (58,1% fêmeas e 41,9% machos). Utilizando a armadilha CDC-HP foram obtidos 2841 (40,5%) indivíduos, (2054 fêmeas e 787 machos) e com o aspirador manual foram coletados 4166 (59,5%) indivíduos (2020 fêmeas e 2146 machos).

Foram encontrados três (3) gêneros e seis (6) subgêneros nas coletas: *Anopheles* (*Anopheles*) (0,09%), *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (2,18%), *Culex* (*Culex*) (91,69%), *Culex* (*Melanoconion*) (2,37%), *Culex* (*Phenacomyia*) (0,03%) e *Uranotaenia* (*Uranotaenia*) (3,62%). Foram identificadas 24 espécies de mosquitos, tendo *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823) a maior abundância relativa (74%), seguido de *Culex chidesteri* Dyar, 1921 (9,46%), *Uranotaenia pulcherrima* Lynch Arribálzaga, 1891 (2,8%), *Culex* sp.1 Linnaeus, 1758 (2,38%), *Anopheles albitarsis* Lynch Arribálzaga, 1878 (2,17%) e *Culex bidens* Dyar, 1922 (2,07%).

Sobre o efeito dos ambientes na abundância de culicídeos, não houve diferença significativa do número de culicídeos nos diferentes ambientes ( $p=0,1931$ ). O maior número de indivíduos coletados ocorreu na área rural (3992), seguido da área urbana (1854) e silvestre (1161). Na área urbana as espécies que apresentaram maior frequência relativa foram: *Culex quinquefasciatus* (97,25), *Culex bidens* (0,65) e *Culex chidesteri* (0,49). Na área rural as espécies com maior frequência relativa foram *Culex quinquefasciatus* (84,44), *Culex chidesteri* (6,36) *Anopheles albitarsis* (3,71), *Culex* (*Culex*) sp.1 (1,15) e *Culex bidens* (1). Na área silvestre *Culex chidesteri* apresentou maior frequência relativa (34,45), seguido de *Uranotaenia pulcherrima* (16,71), *Culex* (*Melanoconion*) sp.1 (10,85), *Culex* (*Culex*) sp.1 (9,82%), *Culex bidens* (8,01) (Tabela 1).

As espécies que apresentaram sinantropia positiva (toleram as alterações ecológicas que decorrem da urbanização) nas coletas foram *Culex quinquefasciatus* (67,0685), *Anopheles albitarsis* (47,3684) e *Culex saltanensis* (12,5). Já as espécies que apresentaram o menor grau, ou sinantropia negativa (-100), foram: *Culex habilitator*, *Culex* (*Melanoconion*) sp.1, *Culex* (*Melanoconion*) sp.2, *Culex* (*Phenacomyia*) sp.1, *Uranotaenia geometrica*, *Uranotaenia lowi*, *Uranotaenia* (*Uranotaenia*) sp.1 e *Uranotaenia* (*Uranotaenia*) sp.2

(Tabela 1). Outras espécies apresentaram sinantropia negativa: *Uranotaenia pulcherrima* (-98,46), *Uranotaenia nataliae* (-88,46), *Culex* (*Culex*) sp.1 (-50,29), *Culex dolosus* (-50), *Culex bidens* (-42,06), *Culex chidesteri* (-39,81), *Culex nigripalpus* (-37,5), *Culex scimitar* (-35,71) e *Anopheles maculipes* (-25).

De acordo com o estimador de riqueza utilizado (CHAO-1), a riqueza de espécies esperada ocorreu somente no ambiente silvestre, ficando abaixo da média para os ambientes urbano e rural (Tabela 2). Ocorreu maior diversidade, conforme o índice de Simpson 1-D no ambiente silvestre (0,793) e a menor diversidade no ambiente urbano (0,032). Segundo o índice de Shannon-H a maior diversidade ocorreu no ambiente silvestre (1,97) e a menor no ambiente urbano (0,10) (Tabela 2).

A diversidade entre os ambientes, mostrou que a composição de espécies variou de um ambiente a outro, com maior variação da diversidade entre o ambiente urbano e silvestre (0,57), e menor variação entre o ambiente rural e silvestre (0,3) (Tabela 3).

No ambiente silvestre, nos meses de dezembro/2014 e janeiro/2015 a riqueza de espécies foi a maior registrada na coleta, com 12 espécies. Na área rural os meses com maior número de espécies foram maio/2015 (n= 9) e fevereiro/2015 (n= 8). No ambiente urbano, local de menor riqueza de espécies nesse trabalho, a maior riqueza de espécies foi registrada no mês de out/2014, com 4 espécies (Figura 1).

A correlação entre a riqueza de espécies de mosquitos coletados e média da temperatura nos meses variou, tendo a menor média (14,5°C) em agosto/2014 e a maior média (23,9°C) em janeiro/2015. Nos meses de novembro, dezembro de 2014 e janeiro, fevereiro e março de 2015 a média da temperatura mensal se manteve acima de 20°C.

Nos meses em que se obteve a maior média de temperatura, também apresentou maior número de espécies no ambiente silvestre. Na área rural o maior número de espécies ocorreu em maio/2015, período em que a temperatura média foi de 16,9°C. O ambiente urbano teve uma menor variação de riqueza de espécies ao longo do período de coleta, nos meses com temperaturas menores também se obteve uma menor riqueza (Figura 1).

As análises realizadas para detecção da presença de alfavírus e flavivírus tiveram um total de 19 pools analisados, constituídos por 71 indivíduos e foram analisadas as espécies que ocorreram nos três municípios (*Culex bidens*, *Culex chidesteri* e *Culex quinquefasciatus*). Nos 19 pools analisados para detecção dos patógenos (alfavírus e flavivírus), com a metodologia empregada nesse estudo, não foi detectada a presença de arbovírus.

**Tabela 1.** Sinantropia, abundância absoluta e abundância relativa de espécies de Culicidae em três ambientes, no Rio Grande do Sul, de agosto de 2014 a maio de 2015.

Espécies	Urbano		Rural		Silvestre		IS
	ni	pi	Ni	pi	ni	pi	
<i>Anopheles (Anopheles) maculipes</i>	-	0,00	3	0,08	3	0,26	-25
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis</i>	1	0,05	148	3,71	3	0,26	47,3684
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) evansae</i>	-	0,00	-	0,00	1	0,09	-100
<i>Anopheles</i> spp.*	-	0,00	-	0,00	1	0,09	-100
<i>Culex (Culex) bidens</i>	12	0,65	40	1,00	93	8,01	-42,069
<i>Culex (Culex) chidesterei</i>	9	0,49	254	6,36	400	34,45	-39,819
<i>Culex (Culex) Complexo Coronator</i>	-	0,00	4	0,10	1	0,09	20
<i>Culex (Culex) dolosus</i>	-	0,00	1	0,03	2	0,17	-50
<i>Culex (Culex) habilitator</i>	-	0,00	-	0,00	5	0,43	-100
<i>Culex (Culex) nigripalpus</i>	1	0,05	12	0,30	19	1,64	-37,5
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i>	1803	97,25	3371	84,44	11	0,95	67,0685
<i>Culex (Culex) restuans</i>	-	0,00	8	0,20	24	2,07	-62,5
<i>Culex (Culex) salinarius</i>	-	0,00	1	0,03	-	0,00	50
<i>Culex (Culex) saltanensis</i>	-	0,00	3	0,08	1	0,09	12,5
<i>Culex (Culex) scimitar</i>	-	0,00	3	0,08	4	0,34	-35,7143
<i>Culex (Culex) sp.1</i>	7	0,38	46	1,15	114	9,82	-50,2994
<i>Culex (Culex) spinosus</i>	-	0,00	1	0,03	-	0,00	50
<i>Culex (Culex) spp. *</i>	21	1,13	93	2,33	61	5,25	3,7143
<i>Culex (Melanoconion) sp.1</i>	-	0,00	-	0,00	126	10,85	-100
<i>Culex (Melanoconion) sp.2</i>	-	0,00	-	0,00	32	2,76	-100
<i>Culex (Melanoconion) spp. *</i>	-	0,00	1	0,03	7	0,60	-81,25
<i>Culex (Phenacomyia) sp.1</i>	-	0,00	-	0,00	2	0,17	-100
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) geometrica</i>	-	0,00	-	0,00	17	1,46	-100
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) lowi</i>	-	0,00	-	0,00	2	0,17	-100
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) nataliae</i>	-	0,00	1	0,03	12	1,03	-88,4615
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) pulcherrima</i>	-	0,00	2	0,05	194	16,71	-98,4694
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) sp.1</i>	-	0,00	-	0,00	4	0,34	-100
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) sp.2</i>	-	0,00	-	0,00	3	0,26	-100
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) spp. *</i>	-	0,00	-	0,00	19	1,64	-100
Total	1854		3992		1161		

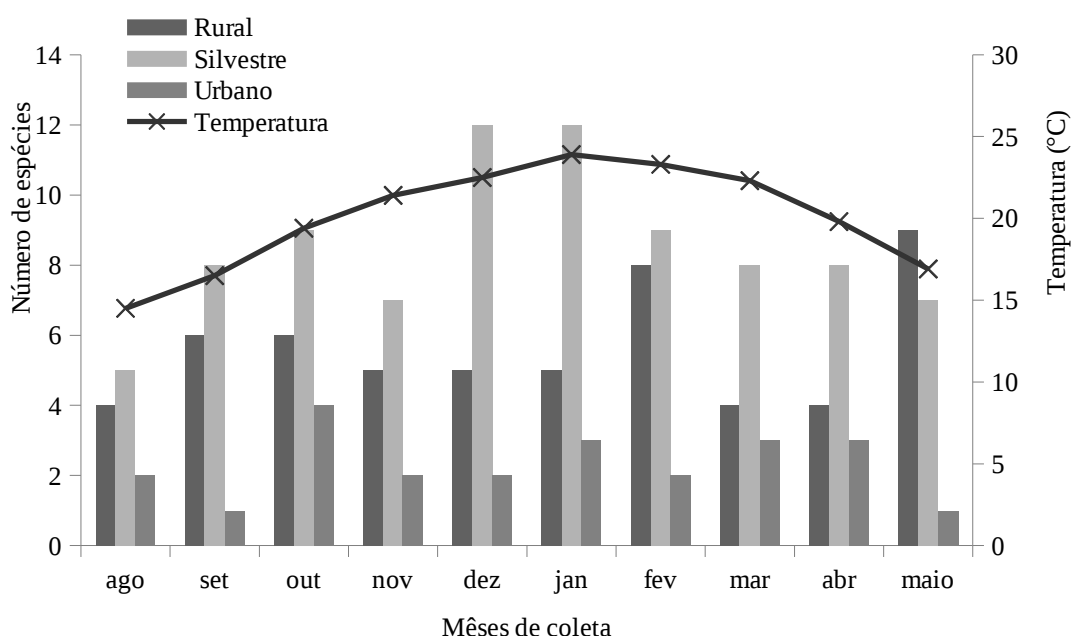
ni, abundância absoluta; pi, abundância relativa; IS, índice de Sinantropia; \* indivíduos danificados.

**Tabela 2.** Estimativa de diversidade de mosquitos coletados com CDC-HP e aspirador manual em três diferentes ambientes, no Rio Grande do Sul, de agosto de 2014 a maio de 2015.

	Urbano	Rural	Silvestre
Espécies	6	15	22
Indivíduos	1833	3894	1072
Dominância -D	0,97 (0,95-0,98)	0,75 (0,74-0,77)	0,2 (0,19-0,22)
Simpson_1-D	0,032 (0,02-0,05)	0,244 (0,23-0,26)	0,793 (0,78-0,81)
Shannon_H	0,10 (0,08-0,14)	0,59 (0,55-0,62)	1,97 (1,9-2,03)
Chao-1	7 (6-7)	18 (13,25-25)	22,25 (22-29)

**Tabela 3.** Diversidade de mosquitos em três ambientes, do Rio Grande do Sul, de agosto de 2014 a maio de 2015.

	Urbano	Rural	Silvestre
Urbano	0	0,43	0,57
Rural	0,43	0	0,3
Silvestre	0,57	0,3	0



**Figura 2.** Correlação entre a riqueza de Culicinae e temperatura, por ambiente, coletados mensalmente de agosto de 2014 a maio de 2015 no Rio Grande do Sul

## DISCUSSÃO

O número de espécies encontradas nos três ambientes (urbano, rural e silvestre) ( $n = 24$ ) foi inferior ao encontrado por Cardoso et al. (2010), que coletaram 55 espécies, em três distintos ambientes do município de Maquiné/RS. Relata-se aqui a ocorrência para o estado do Rio Grande do Sul das espécies *Culex (Culex) restuans* Theobald, 1901, *Culex (Culex) salinarius* Coquillett, 1904, e *Culex (Culex) spinosus* Lutz, 1905.

A riqueza de espécies obtida foi maior no ambiente silvestre ( $n = 22$ ), com nove espécies ocorrendo unicamente nesse ambiente, com os gêneros *Culex* e *Uranotaenia* com maior número de representantes. As características do habitat (tamanho e isolamento) e o comportamento das espécies (capacidade de dispersão e adaptação aos ambientes modificados pelo homem) pode ser considerados fatores que influenciam o padrão da distribuição das

espécies em diferentes ambiente (Medeiros-Sousa et al, 2017)

No gênero *Culex* os locais para oviposição e a presença de hospedeiros podem influenciar a presença dessas espécies no ambiente. Nesse gênero os criadouros variam muito entre as espécies, podendo ser encontrados no solo, água estagnada em poças com abundante matéria orgânica, em recipientes artificiais, em coleções de água transitórias ou permanentes, recipientes naturais (bromélias, buracos em bambus, axilas de folhas) e em águas subterrâneas (Consoli; Oliveira, 1994; Harbach, 2013). Como evidenciado por Gomes et al. (2007), a maioria das espécies do subgênero *Melanoconion* são exclusivas de habitats silvestres.

A espécie *Culex quinquefasciatus* apresentou a maior abundância relativa (74%), sendo encontrado nos três ambientes, com maior número de indivíduos no ambiente rural. Fato que pode ter ocorrido devido a esse ambiente possuir características necessárias a sua presença, como esconderijos, locais de oviposição e presença de animais para as fêmeas realizarem a hematofagia, como aves confinadas. O encontro da espécie no ambiente silvestre pode ter ocorrido em decorrência da proximidade das áreas com outros ambientes que possuam maior interferência antrópica, uma vez que a espécie possui preferência por realizar a hematofagia em humanos (Consoli; Oliveira, 1994).

Alguns trabalhos relatam grande número indivíduos de *Culex quinquefasciatus* em área urbana e rural, no Paraná (Silva, 2000). Santos & Calado (2014) encontraram *Cx. quinquefasciatus* em sua coleta, afirmando que foi a mais frequente e abundante em área urbana. Provavelmente a espécie possui uma ampla plasticidade genética, por estar presente em todas as áreas do estudo, assim como o estudo de Cardoso, Corseuil e Barata (2005) que encontraram *Cx. quinquefasciatus* em 11 regiões fisiogeográficas do Rio Grande do Sul, podendo afirmar que a espécie possui ampla distribuição no estado.

O mosquito *Cx. quinquefasciatus* possui grande importância como vetor da filariose *Wuchereria bancrofti*, de arbovírus, como Oropouche (OROV), Oeste do Nilo (WNV), Saint Louis (SLEV), encefalite Venezuelana (VEE) (Consoli; Oliveira, 1994 ; Cardoso et al., 2015). O conhecimento da presença de uma espécie com tal importância vetorial, nas áreas urbana, rural e silvestre da região sul da Planície Costeira, pode ser usado como uma ferramenta para a prevenção das doenças na região.

O número de espécies do gênero *Uranotaenia* coletadas foi maior no ambiente silvestre. O que provavelmente tenha ocorrido devido ao gênero apresentar comportamento de oviposição, com preferência para margens de riachos e poças temporárias com vegetação temporária, buracos de árvores, axilas de folhas, sendo também o gênero descrito realizando hematofagia em anfíbios, répteis, aves e mamíferos, raramente realizando a hematofagia em

humanos (Harbach, 2013).

As espécies com maior grau de sinantropia foram *Cx. quinquefasciatus* (67,0685) e *Anopheles albitarsis* (47,3684). A primeira espécie possui ampla distribuição geográfica (Forattini, 2002), a segunda é descrita na literatura como uma espécie que utiliza coleções hídricas permanentes ou transitórias, como alagadiços com vegetação emergente (Forattini, 2002). Gomes et al. (2007) observaram grande frequência de *An. albitarsis* em uma área impactada, com resíduos de mata, áreas alagadas, pastagem e habitações humanas, que se aproxima da área rural do presente trabalho, onde o número de indivíduos da espécie coletados foi maior na área rural. Assim como Forattini et al. (1993) encontraram *An. albitarsis* com sinantropia positiva em área com influência antrópica.

O mosquito *An. albitarsis* é descrito como um importante vetor de malária, sendo encontrado infectado com *Plasmodium vivax* (Coccidiida, Plasmodiidae) em Roraima (Póvoa et al., 2006) e de *P. vivax* e *P. falciparum* em Rondônia (Oliveira-Ferreira, 1990), a espécie também é apontada como vetora de *Plasmodium* spp. na Venezuela (Rubio-Palis, Wirtz, Curtis, 1992).

A variação da temperatura ao longo dos meses alterou a riqueza de espécies obtidas nas coletas, variando essa resposta conforme o ambiente. Nos meses com temperatura média mais elevada a diversidade de espécies e abundância relativa nos diferentes ambientes foi maior. Resultado similar também foi descrito por Barbosa et al. (2003) que relatam maior quantidade de espécimes coletados no meses com temperatura mais elevada, isso está diretamente relacionado aos mosquitos serem animais ectotérmicos. Tendo a temperatura como fator extrínseco que influencia seu metabolismo (Consoli; Oliveira, 1994).

Na comparação dos métodos de coleta utilizados, com o aspirador manual o número de machos coletados foi maior (2146) que o número de fêmeas (2020), já com a armadilha CDC-HP o número de fêmeas coletadas foi maior (2054) que o número de machos (787). O mesmo foi encontrado por Cardoso et al. (2011) que ao utilizar aspirador nas coletas obteve maior número de machos. O maior número de fêmeas em coletas com armadilha luminosa também foi encontrado em outros estudos, pois as fêmeas são atraídas pela luz e se deslocam em busca de hospedeiros para a hematofagia, por esses motivos sua ocorrência em armadilhas luminosas pode ser maior que a ocorrência de machos (Hutchings et al., 2010; Paula et al., 2015).

Nosso estudo colabora com as pesquisas da fauna de Culicidae na região sul da Planície Costeira do Rio Grande do Sul, abrangendo o conhecimento sobre o comportamento das espécies compreendidas na região, auxiliando na prevenção de doenças que podem ser

transmitidas por esses vetores nas áreas de estudo.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo à primeira autora.

## REFERÊNCIAS

- Belton, W. (1994) Aves do Rio Grande do Sul, Distribuição e Biologia. São Leopoldo: Unisinos. 584p.
- Bronzoni, R.V.M; Baleotti, F.G.; Nogueira, R.M.R.; Nunes, M.; Figueiredo, L.T.M. (2005) Duplex reverse transcription-PCR followed by Nested PDC assays for detection and identification of Brazilian Alphaviruses and Flaviviruses. *Journal of Clinical Microbiology*, **43**, 696-702.
- Cardoso, B.F.; Serra, O.P.; Heinen, L.B.S.; Zuchi, N.; Souza, V.C.; Naveca, F.G.; Santos, M.A.M.; Shlessarenko, R.D. (2015) Detection of Oropouche virus segment S in patients and in *Culex quinquefasciatus* in the state of Mato Grosso, Brazil *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **110**, 745-754.
- Cardoso, J. C.; Corseuil, E.; Barata, J. M. S. (2004) Anophelinae (Diptera, Culicidae) ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Entomologia y Vectores*, **11**, 159-177.
- Cardoso, J. C.; Corseuil, E.; Barata, J. M. S. (2005) Culicinae (Diptera, Culicidae) ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, **49**, 285-287.
- Cardoso, J. C.; Paula, M. B.; Fernandes, A.; Santos, E.; Almeida, M. A. B.; Fonseca, D. F.; Sallum, M. A. M. (2010) Novos registros e potencial epidemiológico de algumas espécies de mosquitos (Diptera, Culicidae), no Estado do Rio Grande do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **43**, 552-556.
- Cardoso, J. C.; Paula, M. B.; Fernandes, A.; Santos, E.; Almeida, M. A. B.; Fonseca, D. F.; Sallum, M. A. M. (2011) Ecological aspects of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an Atlantic forest area on the north coast of Rio Grande do Sul State, Brazil. *Journal of Vector Ecology*, **36**, 175-186.
- Clark-Gil, S.; Darsie, R. F. J. (1983) The mosquitoes of Guatemala – Their identification, distribution and bionomics. *Mosquito Systematics*, **15**, 151-284,.
- Consoli, R. A. G. B., Oliveira, R. L. (1994) Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 228p.

- Darsie, R. F. J. (1985) Mosquitoes of Argentina- Part 1.Keys for Identification of Adult Females and Fourth Stages Larvae in English and Spanish (Diptera, Culicidae). Mosquito Systematics, **17**, 153- 253.
- Forattini, O.P.; Kakitani, I.; Santos, R.L.; Kobayashi, K.M.; Ueno, H.M.; Fernández, Z. (2000) Potencial sinantrópico de mosquitos *Ketrezia* e *Culex* (Diptera: Culicidae) no Sudeste do Brasil. Revista de Saúde Pública, **34**, 565-569.
- Forattini, O. P. (1989) Biossistemática e saúde pública. Revista de Saúde Pública, **23**, 181-182.
- Forattini, O.P. (2002) Culicidologia Médica. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo. 860p.
- Forattini, O.P.; Kakitani, I.; Massad, E.; Marucci, D (1993). Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 3 - Survey of adult stages at the rice irrigation system and the emergence of *Anopheles albitarsis* in South-Eastern Brazil\*. Revista de Saúde Pública, **27**, 313-25.
- Gaffigan, T. V.; Wilkerson, R. C.; Pecor, J. E.; Stoffer, J. A.; Anderson, T. (2017) Systematic Catalog of Culicidae. Walter Reed Biosystematics Unit (WRBU), Smithsonian Institution. Disponível em: <<http://www.mosquitocatalog.org/default.aspx>>. Acesso em: jul. 2017.
- Gomes, A. C.; Forattini, O. P. (1990) Abrigos de mosquitos *Culex* (*Culex*) em zona rural (Diptera: Culicidae). Revista de Saúde Pública, **24**, 394-397.
- Gomes, A. C.; Paula, M. B.; Neto, J. B. V.; Borsari, R.; Ferraudo, A. S. (2009) Culicidae (Diptera) em Área de Barragem em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul. Neotropical Entomology, **38**, 553-555.
- Gomes, A.C.; Natal, D.; Paula, M.B.; Urbinatti, P.R.; Mucci, L.F.; Bitencourt, M.D. (2007) Riquiza e abundância de Culicidae (Diptera) em área impactada, Mato Grosso do Sul, Brasil. Revista de Saúde Pública, **41**, 661-664.
- Gomes, A. C.; Torres, M. A. N.; Ferri, L.; Costa, F. R.; Silva, A. M. (2007) Encontro de *Haemagogus* (*Conopostegus*) *leucolelaenus* (Diptera, Culicidae), no Município de Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, **40**, 487-488.
- Gomes, A. C.; Torres, M. A. N.; Paula, M. B.; Fernandes, A.; Marassá, A. M.; Consales, C. A.; Fonseca, D. F. (2010) Ecologia de *Haemagogus* e *Sabethes* (Diptera: Culicidae) em áreas epizoóticas do vírus da febre amarela, Rio Grande do Sul, Brasil\*. Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde, **19**, 101-113.
- Guimarães, A. E.; Lopes, C. M.; Mello, R. P.; Alencar J. (2003) Ecologia de mosquitos (Diptera, Culicidae) em áreas do Parque Nacional do Iguaçu, Brasil: 1-Distribuição por habitat. Cadernos de Saúde Pública, **19**, 1107-1116.



- Harbach, R. (2007) The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny\*. Zootaxa, **1668**, 591-638.
- Harbach, R.E. (2013). Mosquito Taxonomic Inventory. Acessado em 5 de jun. 2017. Disponível em: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>.
- Harwood, R. F.; James, M. T. (1979) Entomology in human and animal health. New York, Macmillan, 548p.
- Hutchings, R. S. G. ; Roger, W. H.; Sallum, M. A. M. (2010) Culicidae (Diptera, Culicomorpha) from the western Brazilian Amazon: Juami-Japurá Ecological Station. Revista Brasileira de Entomologia, **54**, 687-691.
- Lane, J., (1953a) Neotropical Culicidae – Volume 1 – Dixinae, Chaoborinae and Culicinae, tribes Anophelini, Toxorhynchitini and Culicini (Genus *Culex* only). São Paulo, Universidade de São Paulo, 555p.
- Lane, J., (1953b) Neotropical Culicidae – Volume 2 - Tribe Culicini, *Deinocerites*, *Uranotaenia*, *Mansonia*, *Orthopodomyia*, *Aedeomyia*, *Aedes*, *Psorophora*, *Haemagogus*, tribe Sabethini, *Trichoprosopon*, *Wyeomyia*, *Phoniomyia*, *Limatus* and *Sabethes*. São Paulo, Universidade de São Paulo, 557p.
- Medeiros-Sousa, A.R.; Fernandes, A.; Ceretti-Junior, W.; Wilke, A.BB.; Marrelli, M.T. (2017) Mosquitoes in urban green spaces: using an island biogeographic approach to identify drivers of species richness and composition. Scientific Reports, **7**, 1-11.
- Ministério do Meio Ambiente (MMA). (2007) Biodiversidade. Regiões da Lagoa do Casamento e dos Butiazais de Tapes, Planície Costeira do Rio Grande do Sul. Brasília. 388 páginas.
- Nimer, E. (1977) Clima. In: IBGE - Geografia do Brasil, Região Sul. SERGRAF-IBGE, Rio de Janeiro, 35-79.
- Oliveira-Ferreira, J.; Lourenço-de-Oliveira, R.; Teva, A.; Deane, L.M.; Daniel-Ribeiro, C.T. (1990) Natural malaria infections in anophelines in Rondonia State, Brazilian Amazon. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, **43**, 6-10.
- Paula, M. B.; Fernandes, A.; Medeiros-Sousa, A. R.; Ceretti-Júnior, R. C.; Stroeber, R. C.; Pedrosa, L.; Almeida, R. M. M. S.; Carvalho, G. C.; Pereira, U. D.; Jacintho, M. C. O.; Natal, D.; Marrelli, M. T. (2015) Mosquito (Diptera) fauna in parks in greater São Paulo, Brazil. Biota Neotropica, **15**, 1-9.
- Pauvolid-Corrêa, A.; Tavares, F. N.; Alencar, J.; Silva, J. S.; Murta, M.; Serra-Freire, N. M.; Pellegrin, A. O.; Gil-Santana, H.; Guimarães, A. E.; Silva, E. E. (2010) Preliminary investigation of Culicidae species in south Pantanal, Brazil and their potential importance in arbovirus transmission. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, **52**, 17-23.

- Póvoa, M.M.; Souza, R.T. L.; Lacerda, R.N.L.; Rosa, E.S.; Galiza, D.; Souza, J.R.; Writz, R.A.; Schlichting, C.D.; Conn, J.E. (2006) The importance of *Anopheles albitarsis* E and *An. darlingi* in human malaria transmission in Boa Vista, state of Roraima, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **101**, 163-168.
- Pugedo, H.; Barata, R. A.; França-Silva, J.C.; Silva, J.C.; Dias, E.S. (2005) HP: um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, São Paulo, **38**, 70-72.
- Rubio-Palis, Y., Wirtz, R. A., & Curtis, C. F. (1992). Malaria entomological inoculation rates in western Venezuela. *Acta Tropica*, **52**, 167-174.
- Santos, I.M.; Calado, D. (2014) Captura de mosquitos antropofílicos (Diptera, Culicidae) em uma área urbana na região oeste da Bahia, Brasil. *Iheringia*, **104**, 32-38.
- Silva, A.M. (2002) Imaturos de mosquitos (Diptera, Culicidae) de áreas urbana e rural nno norte do estado do Paraná, Brasil. *Iheringia*, **92**, 31-36.
- Vianna, E. E. S.; Costa, P. R. P.; Ribeiro, P. B. (1996) Oviposição e longevidade de adultos de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) em condições ambientais, em Pelotas, RS. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, **5**, 47-52.
- Villwock, J. A. & Tomazelli, L. J. (1995) Geologia Costeira do Rio Grande do Sul. Notas Técnicas, Centro de Estudos de Geologia Costeira e Oceânica, UFRGS. Porto Alegre, **8**, 1-45.

## 4.2 Manuscrito 2

Conforme normas da Revista Entomobrasilis

### **Distribuição de mosquitos (Diptera, Culicidae) em diferentes alturas de uma mata no Sul do Rio Grande do Sul, Brasil**

F. FELCHICHER <sup>1</sup>, M. C. CÁRCAMO <sup>2</sup>, P. S. RIBEIRO <sup>3</sup>, E. E. S. VIANNA <sup>1</sup>, J. P. DUARTE <sup>4</sup>, P. J. THYSSEN <sup>5</sup>

1 Departamento de Microbiologia e Parasitologia, IB, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

2 Campus Visconde da Graça, Instituto Federal Sul-Rio-Grandense (IFSul)

3 Laboratório de Transmissores de Hematozoários, IOC, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)

4 Departamento de Fitossanidade, FA, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

5 Departamento de Biologia Animal, IB, Universidade de Campinas (UNICAMP)

**Distribution of mosquitoes (Diptera, Culicidae) at different heights in a forest in  
southern Rio Grande do Sul, Brazil**

**Abstract.** Culicids are the most important insects in propagation of diseases to humans and other animals. Their vertical behavior is related to the search for hosts that can influence the transmission of pathogens. In Southern Brazil, studies about Culicids diversity are incipient, requiring more studies to understand how species of this group behave in the ecosystems. This study aimed to report the occurrence and diversity of Culicids in different height in a forest of Southern Rio Grande do Sul, Brazil. CDC-HP light traps were used to collect in a forest of the municipality of Capão do Leão. Three traps were installed at 1 m height (low) and three traps at 10 m height above the ground (high) from november 2016 to april 2017. The richness variation was estimated with CHAO-1 and the diversity indices with the Shannon H 'and Simpson 1-D. We collected 1,109 specimens that were grouped into six genera and nine subgenera, in a total of 26 species caught. A total of 18 species co-occurred, with six species occurring exclusively in low stratum and three in high stratum. Knowing the geographic distribution and diversity of mosquitoes in forest areas of Rio Grande do Sul is important to understand the behavior of these species, in both natural environments and the ones modified by human activities.

**Keywords:** Stratification; Culicids; Diversity.

**Resumo.** Os Culicidae são os insetos mais importantes na propagação de doenças aos humanos e outros animais, seu comportamento vertical está ligado à procura de hospedeiros o que pode influenciar na transmissão de patógenos. No Sul do Brasil os estudos sobre diversidade de culicídeos são incipientes, necessitando de estudos para entender como as espécies do grupo se comportam dentro dos ecossistemas. O objetivo desse estudo foi avaliar a ocorrência e a diversidade de espécies de culicídeos em diferentes alturas, em uma área de mata do Rio Grande do Sul, Brasil. Foram utilizadas armadilhas luminosas CDC-HP para a coleta em uma área de mata do município do Capão do Leão. Três armadilhas foram dispostas a 1 m de altura e três armadilhas a 10 m de altura, mensalmente, no período de novembro de 2016 a abril de 2017. A variação de riqueza foi estimada com CHAO-1 e da diversidade foram usados os índices de Shannon H' e Simpson 1-D. Foram coletados 1109 indivíduos no período de seis meses, que foram agrupados em seis gêneros e nove subgêneros, com total de 26 espécies capturadas. No total de 18 espécies apresentaram coocorrência, com seis espécies ocorrendo exclusivamente no estrato baixo e três no estrato alto. Conhecer a distribuição geográfica e a diversidade de mosquitos em áreas de mata no Rio Grande do Sul é importante para entender o comportamento das espécies, tanto em ambientes naturais como em ambientes modificados pela ação humana.

**Palavras-Chave:** Estratificação; Culicídeos; Diversidade.

Os Culicidae (Diptera: Culicidiomorpha) constituem o grupo com 3.559 espécies, distribuídas em quase todos os ecossistemas terrestres, excetuando o continente antártico (FORATTINI 2002; HARBACH 2007; HARBACH 2013). Além da ampla distribuição geográfica, as fêmeas desses insetos possuem hábito hematófago (CONSOLI & OLIVEIRA 1994; FORATTINI 2002), o que faz desse grupo de artrópodes o mais importante na propagação de doenças transmitidas por vetores aos homens e outros animais (CONSOLI & OLIVEIRA 1994; PAUVOLID-CORRÊA *et al* 2010).

A capacidade vetorial das espécies desse grupo é influenciada por diversas características, como plasticidade ou especificidade quanto ao comportamento de hematofagia. Segundo CONSOLI & OLIVEIRA (1994) algumas espécies são generalistas na busca por hospedeiros, enquanto outras, transmissoras de arboviroses, são específicas quanto ao hospedeiro em que realizam o repasto sanguíneo (HASSAN *et al* 2003).

Outro aspecto importante no potencial de veiculação de patógenos é o comportamento dos insetos em busca dos seus hospedeiros. A distribuição das espécies nos diferentes ecossistemas brasileiros vem sendo investigada por alguns pesquisadores já tendo sido descritas a ocorrência de 516 espécies (GAFFIGAN *et al* 2017). No estado do Rio Grande do Sul já foram elencadas 116 espécies (CARDOSO *et al* 2004, 2005, 2011; GOMES *et al* 2009, 2010), porém esses estudos ainda são incipientes, acreditando-se que há um grande número de espécies ainda não relatadas.

Além da distribuição das espécies nos mais diversos ambientes, é importante investigar como estas espécies se comportam nesses locais, pois o comportamento vertical das espécies de culicídeos pode interferir na sua capacidade de disseminar patógenos, uma vez que este comportamento vertical também é associado à procura de hospedeiros (SERVICE 1971), este comportamento pode variar de acordo com a região em que o inseto se encontra (SHONE *et al* 2006).

No Brasil, alguns estudos sobre o comportamento vertical de mosquitos vem sendo conduzidos ao longo dos anos (LOPES *et al* 1983, GUIMARÃES *et al* 1985; UENO *et al* 2007; CONFALONIERI & NETO 2012; ALENCAR *et al* 2016). Porém no sul do Brasil, além de dados ainda incipientes sobre diversidade de culicídeos, nenhum estudo foi realizado para compreender como as espécies de culicídeos se comportam dentro dos ecossistemas. Essas avaliações nos diferentes ecossistemas é de suma importância para o entendimento da veiculação de doenças por culicídeos. Visto isso, o objetivo desse estudo foi avaliar a ocorrência e a diversidade de espécies de culicídeos em diferentes alturas, numa área de mata do Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

## **Material e Métodos**

### **Área de estudo**

As coletas foram realizadas no município do Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil, no Horto Botânico Irmão Teodoro Luis (HBITL) (S 31° 48.885' W 52° 25.913'), uma área de preservação permanente federal, que possui 23ha de mata nativa.

As formações vegetais contidas no HBITL constituem formações de transição entre formações arbóreas do litoral e da campanha, com espécies que se dispersaram da floresta estacional semidecidual da Bacia do Rio Uruguai e da floresta ombrófila densa (BACKES 2012). Está circundado por áreas de campos sulinos, revestidos principalmente com formações pioneiras típicas de complexo lagunar (IBGE 2004).

### **Coleta de dados**

Foram utilizadas armadilhas CDC-HP luminosas, que foram expostas durante um período de 24 horas, uma vez por mês, durante os meses de Novembro de 2016 a Abril de 2017.

Um total de seis armadilhas foram utilizadas por coleta, as quais eram instaladas em seis pontos, no Horto Botânico Irmão Teodoro Luís. Foram colocadas três armadilhas a altura de 1 metro e três armadilhas a 10 metros, sendo respeitada a distância mínima de 60 metros entre elas, para não haver influência da luminosidade entre os pontos.

Após cada coleta os mosquitos adultos eram levados ao laboratório e preparados para serem identificados, com as fêmeas e machos preparados em montagem dupla em alfinete e nos machos ainda era feita a extração da genitália e montagem entre lâmina e lamínula, conforme CONSOLI & OLIVEIRA (1994).

Para a identificação foram utilizadas as chaves de LANE (1953a, 1953b), CLARK-GIL & DARSIE (1983), DARSIE (1985), CONSOLI & OLIVEIRA (1994) e FORATTINI (2002).

#### Análise dos dados

Após os processos de coletas e identificação os adultos foram separados por: estrato (1m ou 10 m), data de coleta, espécie e sexo. Os resultados dos testes de riqueza baseada na abundância, índice de diversidade e variação de riqueza e diversidade foram comparados nos diferentes estratos, levando em consideração fêmeas ou machos, sem comparação entre os dois gêneros (fêmeas e machos).

Como estimador de riqueza baseado na abundância, foi usado Chao-1. Como estimadores de diversidade os índices usados foram Shannon H' e Simpson 1-D. Para a realização das análises de variações de riqueza e diversidade entre os sexos e os estratos, foi usado o software Paleontological Statistics (PAST versão 3.16).

#### Resultados

Das 1109 espécimes coletadas, 1001 foram identificadas em nível de espécie (Tabela 1). Os indivíduos coletados pertenceram a seis gêneros e nove subgêneros: *Aedeomyia*



(19.7%), *Aedes (Stegomyia)* (0.5%), *Coquillettidia* (28.2%), *Culex (Culex)* (26.2%), *Culex (Melanoconion)* (6.9%), *Culex (Microculex)* (1.4%), *Culex (Phenacomyia)* (0.1%), *Mansonia* (2.1%) e *Uranotaenia* (14.3%).

Relatamos a primeira ocorrência para o estado do Rio Grande do Sul das espécies *Coquillettidia albifera* (Prado, 1931), *Culex habilitator* Dyar & Knab, 1906, *Culex scimitar* Branch & Seabrook, 1959, *Culex surinamensis* Dyar, 1918, *Mansonia fonsecai* (Pinto, 1932) e *Mansonia pessoai* (Barreto & Coutinho, 1944).

Ao total 26 espécies foram capturadas, sendo *Cq. albifera* a espécie com a maior abundância, com 27.8% do total de indivíduos coletados, seguida de *Aedeomyia squamipennis* (Lynch Arribáizaga, 1878) com 19.7%, *Culex chidesteri* Dyar, 1921 com 17.8%, *Uranotaenia pulcherrima* Lynch Arribáizaga, 1891 com 6%, *Culex (Melanoconion)* sp.1 Theobald, 1903 com 5.7% e *Uranotaenia mathesoni* Lane, 1943 com 4.3%

O número de fêmeas foi superior em ambas as alturas, totalizando 869 fêmeas entre as duas alturas, o total de machos foi de 240 indivíduos. Entre as fêmeas 66.3% do número de indivíduos ocorreu em 1 metro e 33.7% em 10 metros. Nos machos o resultado entre as alturas foi similar às fêmeas, com 64.2% dos indivíduos ocorrendo em 1 m e 35.8% ocorrendo em 10 m (Tabela 1).

Observou-se que, dentre as fêmeas em 1 m a espécie com maior frequência relativa foi *Cq. albifera* com 18.94% dos indivíduos coletados, na mesma altura *Cx. chidesteri* apresentou uma frequência relativa de 9.92%, seguida de *Aedeomyia squamipennis* Theobald, 1901 com 8.21%, *Cx. (Melanoconion)* sp.1 com 3.07%, e *Ura. pulcherrima* com 2.89%. Nas fêmeas encontradas em 10 m a espécie com maior frequência relativa foi *Ae. squamipennis* com 11.54%, seguida de *Cx. chidesteri* com 6.67% e *Cq. albifera* com 2.52% (Tabela 1). Entre os machos da altura de 1 m *Cq. albifera* apresentou a maior frequência relativa com 3.52% dos indivíduos coletados, seguido de *Uranotaenia nataliae* Lynch Arribáizaga, 1891 com 2.16%

e *Ura. mathesoni* com 2.07%. Dentre os machos da maior altura a espécie com maior frequência relativa foi *Cq. albifera* com 2.8% dos indivíduos coletados.

As estimativas de riqueza e diversidade de ambos os sexos e alturas são mostradas na Tabela 2. O número de espécies coletadas neste estudo correspondem à riqueza de espécies esperada de acordo com Chao-1 somente nos machos encontrados em 10 m de altura. A riqueza ficou abaixo da média esperada tanto para as fêmeas em ambas alturas quanto para os machos na parte baixa.

O índice de Simpson 1-D resultou em uma alta diversidade para fêmeas e machos em ambas as alturas (0.73 a 0.86) (Tabela 2). A maior diversidade ocorreu na parte baixa para machos (0.86), e a menor diversidade para as fêmeas do em 10 m (0.73). Assim como ocorreu no Simpson 1-D, ocorreu no índice de Shannon-H, em que a maior diversidade ocorreu nos machos em 1 m (2.18) e menor diversidade nas fêmeas encontradas em 10 m (1,78).

Com relação à distribuição das espécies nas duas alturas, o número de espécies que estiveram em coocorrência foi maior (n=18) do que se comparando às espécies que ocorreram somente em 10 m (n=3) ou em 1 m (n=6) Figura 1. Na altura baixa as espécies que ocorreram foram *Aedes crinifer* (Theobald, 1903), *Coquillettidia albicosta* (Chagas, 1908), *Culex habilitator* Dyar & Knab, 1906, *Culex (Phenacomyia) sp.1* Harbach & Peyton, 1992, *Mansonia pseudotitillans* (Theobald, 1901) e *Uranotaenia sp. 1* Lynch Arribálzaga, 1891; na parte alta ocorreram *Culex surinamensis* Dyar, 1918, *Uranotaenia geometrica* Theobald, 1901 e *Uranotaenia lowi* Theobald, 1901; as demais espécies foram as que apresentaram coocorrência, ou seja, que ocorreram em ambas alturas.

## Discussão

Das 26 espécies coletadas no presente estudo, seis espécies foram relatadas pela primeira vez para o Rio Grande do Sul. Neste estado já haviam sido registradas 116 espécies

em cinco estudos (CARDOSO *et al* 2004, 2005, 2011; GOMES *et al* 2009, 2010). O relato de novas espécies demonstra a importância da continuidade de estudos na região, visto que os estudos realizados não abrangem todas regiões do estado, fazendo com que ocorra uma descontinuidade quanto às informações sobre a distribuição e composição das espécies.

As espécies com maior frequência relativa encontradas pertencem aos gêneros *Coquillettidia* e *Aedeomyia*, estreitamente relacionados a locais onde ocorrem plantas aquáticas, a primeira utilizando as plantas na fase imatura para se fixar e retirar o oxigênio do aerênquima, a segunda é encontrada principalmente em coleções de água que possuem grande quantidade de vegetação aquática flutuante (CONSOLI & OLIVEIRA 1994; FORATTINI 2002), condições características da planície costeira do Rio Grande do Sul.

O resultado de maior número de fêmeas encontrado corrobora o observado por outros autores que utilizaram a armadilha CDC luminosa (HUTCHINGS *et al* 2010; CARDOSO *et al* 2011; PAULA *et al* 2015) o que pode ser explicado pelo comportamento das fêmeas, que se deslocam procurando hospedeiros para realizar a hematofagia e locais para a oviposição (FORATTINI, 2002). Ainda, CARDOSO *et al* (2011) encontraram maior número de machos quando utilizaram o aspirador entomológico, uma armadilha onde o coletor se desloca, procurando ativamente os esconderijos dos mosquitos, encontrando nesses locais maior número de machos, que ficam mais próximos aos criadouros, comportamento para o acasalamento (FORATTINI 2002).

Analisando o deslocamento vertical dos mosquitos observou-se maior abundância e diversidade na altura de 1 m, tanto para as fêmeas quanto para machos encontrados, com 730 indivíduos nessa altura. Em outros estudos utilizando armadilha CDC luminosa MITCHELL & ROCKETT (1979) obtiveram maior abundância de mosquitos em altura baixa, ocorrendo 1801 indivíduos nessa altura, de um total de 2419 coletados, GOMES *et al* (1987) obtiveram ao nível

do solo maior abundância que na copa, porém, o número de espécies foi o mesmo em ambas alturas.

A maioria das espécies coletadas nesse estudo estiveram presentes em coocorrência, em ambas as alturas, sendo descritas como generalistas ou que apresentam uma maior plasticidade quanto aos ambientes e também na procura de hospedeiros (LEE *et al* 2006; JANSEN *et al* 2009).

A maioria das espécies que estiveram em coocorrência pertenciam ao gênero *Culex*. Algumas espécies deste gênero podem ser caracterizadas como ecléticas (com alto grau de zoofilia e tendência a picar aves), pois além de picar mamíferos, são frequentemente coletadas em aves (LOURENÇO-DE-OLIVEIRA & HEYDEN, 1986). Neste estudo as espécies *Cx. chidesteri* e *Cx. bidens* foram encontradas, sendo descritas por LOURENÇO-DE-OLIVEIRA & HEYDEN, (1986) como espécies ecléticas.

As fêmeas de espécies encontradas em coocorrência tendem a ser epidemiologicamente mais importantes na transmissão de patógenos, pois a chance de encontro do vetor com os hospedeiros reservatórios aumenta (LEE *et al* 2006).

Sobre a importância epidemiológica de culicídeos, os gêneros e subgêneros *Aedeomyia*, *Aedes*, *Coquillettidia*, *Culex* (*Culex*), *Culex* (*Melanoconion*) e *Mansonia* estão envolvidos na transmissão de arboviroses (MITCHELL *et al* 1985; CONSOLI & OLIVEIRA 1994; FORATTINI 2002). Os arbovírus que estes gêneros podem ser vetores são: Zika, Chikungunya, Encefalite Equina do Leste, Dengue, Oeste do Nilo, Febre Amarela, Encefalite Equina Venezuelana e Oropouche (FORATTINI 2002; BURREL, HOWARD E MURPHY 2016; PEREIRA *et al* 2017).

Neste trabalho sete espécies ocorreram em todos os meses de coletas, sendo elas *Cx. chidesteri*, *Cx. bidens*, *Cq. albifera*, *Ad. squamipennis*, *Ura. mathesoni*, *Ura. pulcherrima*, e *Ura. nataliae*. Essas espécies ocorreram durante todo o período provavelmente por apresentarem diferentes comportamentos e respostas ao ambiente. Culicídeos que resistem às

variações de temperatura e pluviosidade, podem ter uma variabilidade de esconderijos e locais para oviposição e presença de hospedeiros no ambiente em todo o período (CONSOLI & OLIVEIRA 1994; FORATTINI 2002).

Espécies com comportamento diurno, como *Ae. crinifer*, não foram abundantes nesse estudo, pois o uso de armadilhas luminosas atrai principalmente insetos com comportamento noturno a crepuscular (CONSOLI & OLIVEIRA 1994; FORATTINI 2002).

O conhecimento da distribuição geográfica, do comportamento vertical e da diversidade de mosquitos em diferentes alturas é importante para entender o comportamento das espécies que compõem as áreas de mata do Rio Grande do Sul. A distribuição das espécies e o comportamento vertical das mesmas podem fornecer informações que possibilitem o entendimento sobre possíveis vetores de doenças que ocorrem em determinadas regiões.

### **Agradecimentos**

Agradecemos à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo à primeira autora.

### **Referências**

- Alencar, J., Mello, C.F., Gil-Santana, H.R., Guimarães, A.E., Almeida, S.A.S. & Gleiser, R.M., 2016. Vertical oviposition activity of mosquitoes in the Atlantic Forest of Brazil with emphasis on the sylvan vector, *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*. 41:18-26. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/jvec.12189>.
- Backes, A., 2012. Áreas protegidas no Estado do Rio Grande do Sul: o esforço para a conservação. São Leopoldo: Instituto Anchietano de Pesquisas.

- Barghini, A., Urbinati, P.R. & Natal, D. 2004. Atração de mosquitos (Diptera: Culicidae) por lâmpadas incandescentes e fluorescentes. *Entomología y Vectores* 11: 611-622. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0328-03812004000400005>.
- Burrell, C. J., Howard, C. R., Murphy, F. A. 2016. *Fenner and White's Medical Virology*, Elsevier, 604p.
- Cardoso, J.C., Corseuil, E. & Barata, J.M.S., 2004. Anophelinae (Diptera, Culicidae) ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Entomología y Vectores*, 11: 159-177.
- Cardoso JC, Corseuil E, Barata JMS (2005) Culicinae (Diptera, Culicidae) ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 49: 285-287. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262005000200013>.
- Cardoso, J.C., Paula, M.B., Fernandes, A., Santos, E., Almeida, M.A.B., Foneca, D.F. & Sallum, M.A.M., 2011. Ecological aspects of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an Atlantic forest area on the north coast of Rio Grande do Sul State, Brazil. *Journal of Vector Ecology*, 36: 175-186. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1948-7134.2011.00155.x>.
- Clark-Gil, S. & Darsie, R.F.J., 1983. The mosquitoes of Guatemala – Their identification, distribution and bionomics. *Mosquito Systematics*, 15: 151-284.
- Confalonieri, U.E.C. & Neto, C.C., 2012. Diversity of Mosquito Vectors (Diptera: Culicidae) in Caxiuanã Pará, Brazil. *Interdisciplinary Perspective of Infectious Diseases*, 2012: 1-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/741273>.
- Consoli, R.A.G.B. & Oliveira, R.L. 1994. *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil*. Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 228 p.

- Darsie, R.F.J. 1985. Mosquitoes of Argentina- Part 1.Keys for Identification os Adult Females and Fourth Stages Larvae in English anda Spanish (Diptera, Culicidae). Mosquito Systematics, 17: 153-253.
- Forattini, O.P., 2002. Culicidologia Médica. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo, 860 p.
- Gabaldon, A., Ulloa, G., Goddoy, N., Marquez, E. & Pulido, J., 1977. *Aedeomyia squamipennis* (Diptera: Culicidae) vector natural de malária aviária em Venezuela. Bolletin de la Direccion de Malariologia y Saneamento Ambeintal, 17: 9-13.
- Gomes, A.C., Paula, M.B., Neto, J.B.V., Borsari, R. & Ferraudó, A.S., 2009. Culicidae (Diptera) em Área de Barragem em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul. Neotropical Entomology 38: 553-555. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2009000400021>.
- Guimarães, A.E., Arlé, M. & Machado, R.N.M., 1985. Mosquitos no Parque da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. II. Distribuição vertical. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 80: 171-185. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761985000200008>.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T. & Ryan, P.D., 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica 4: 1-9. Disponível em: <<https://folk.uio.no/ohammer/past/>>.
- Hutchings, R.S.G., Roger, W.H. & Sallum, M.A.M., 2010. Culicidae (Diptera, Culicomorpha) from the western Brazilian Amazon: Juami-Japurá Ecological Station. Revista Brasileira de Entomologia 54: 687-691. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262010000400022>.
- IBGE, 2004. Mapa de Biomas do Brasil, primeira aproximação. Rio de Janeiro, IBGE. Disponível em: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br).

- Jansen, C.C., Zborowski, P. & Hurk, A.F., 2009. Efficacy of bird-baited traps placed at different heights for collecting ornithophilic mosquitoes in eastern Queensland, Australian Journal of Entomology, 48: 53-59. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-6055.2008.00671.x>.
- Lane, J., 1953a. Neotropical Culicidae – Volume 1 – Dixinae, Chaoborinae and Culicinae, tribes Anophelini, Toxorhynchitini and Culicini (Genus *Culex* only). São Paulo, Universidade de São Paulo, 555 p.
- Lane, J., 1953b. Neotropical Culicidae – Volume 2 - Tribe Culicini, *Deinocerites*, *Uranotaenia*, *Mansonia*, *Orthopodomyia*, *Aedeomyia*, *Aedes*, *Psorophora*, *Haemagogus*, tribe Sabethini, *Trichoprosopon*, *Wyeomyia*, *Phoniomyia*, *Limatus* and *Sabethes*. São Paulo, Universidade de São Paulo, 557 p.
- Lee, H.I., Seo, B.Y., Shin, E., Burket, D.A., Lee, W.J. & Shin, Y.H., 2006. Study of flying height of culicid species in the northern part of the Republic of Korea. Journal of American Mosquito Control Association, 22: 239-245. DOI: [http://dx.doi.org/10.2987/8756-971X\(2006\)22\[239:SOFHOC\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.2987/8756-971X(2006)22[239:SOFHOC]2.0.CO;2).
- Lopes, J., Arias, J.R. & Yood, J.D.C. 1983. Evidências preliminares de estratificação vertical de postura de ovos por alguns Culicidae (Diptera), em floresta no Município de Manaus – Amazonas. Acta Amazônica, 13: 431-439. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-43921983132431>.
- Lourenço-de-Oliveira, R. & Heyden, R., 1986. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma área de planície (granjas Calábria) em Jacarepaguá, Rio de Janeiro: IV. Preferências alimentares quanto ao hospedeiro e frequência domiciliar. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 81: 15-27. DOI: <http://dx.doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761986000100003>.



- Mitchell, L. & Rockett, C.L., 1979. Vertical stratification of adult female mosquitoes in a sylvian habitat (Diptera: Culicidae). *The Great Lakes Entomologist*, 12: 219-223.
- Mitchell, C.J., Monath, T.P., Sabattini, M.S., Cropp, C.B., Daffner, J.F., Calisher, C.H., Jakob, W.L. & Christensen, H.A., 1985. Arbovirus investigations in Argentina, 1977–1980 II. Arthropod collection and virus isolations from argentine mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 34: 945-955. DOI: <http://dx.doi.org/>
- Paula, M.B., Fernandes, A., Medeiros-Sousa, A.R., Ceretti-Júnior, R.C., Stroeber, R.C., Pedrosa, L., Almeida, R.M.M.S., Carvalho, G.C., Pereira, U.D., Jacintho, M.C.O., Natal, D. & Marrelli, M.T. 2015. Mosquito (Diptera) fauna in parks in greater São Paulo, Brazil. *Biota Neotrop.* 15: 1-9. <http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2014-0026>.
- Pereira, A. C. N., Pereira Filho, A. A., Brito, G. A., Moraes, J. L. P., Rebêlo, J. M. M. 2017. First record of *Aedeomyia squamipennis* (Lynch Arribáizaga, 1878) (Diptera: Culicidae) in the state of Maranhão: epidemiological implications and distribution in Brazil. *Check List*, 13: 1-10. DOI: <https://doi.org/10.15560/13.2.2084>.
- Service, W.M., 1971. Flight periodicities and vertical distribution of *Aedes cantons* (Mg.), *Ae. Geniculatus* (Ol.), *Anopheles plumbeus* Steph. And *Culex pipiens* L. (Dipt., Culicidae) in southern England. *Bulletin of Entomological Research*, 60: 639-651. <https://doi.org/10.1017/S000748530004239>.
- Shone, S.M., Glass, G.E. & Norris, D.E. 2006. Targeted Trapping of Mosquito Vectors in the Chesapeake Bay Area of Maryland. *Journal of Medical Entomology*, 42: 151-158. DOI: [http://dx.doi.org/10.1603/0022-2585\(2006\)043\[0151:TTOMVI\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1603/0022-2585(2006)043[0151:TTOMVI]2.0.CO;2).
- Ueno, H.M., Forattini, O.P. & Kakitani, I., 2007. Distribuição vertical e sazonal de *Anopheles* (Kerteszia) em Ilha Comprida, SP. *Revista de Saúde Pública*, 41: 269-275. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102007000200014>.

Tabela 1 Número de mosquitos coletados com CDC-HP nas duas alturas, separados por sexo  
(em parênteses a porcentagem total por espécie), em uma mata, Rio Grande do Sul, Brasil

Espécie	Fêmea			Macho		
	1 m	10 m	Total	1 m	10 m	Total
	n (%)	n (%)		n (%)	n (%)	
<i>Aedeomyia squamipennis</i> Theobald, 1901	91 (41.5)	128 (58.5)	219	0	0	0
<i>Aedes crinifer</i> (Theobald, 1903)	3 (100)	0	3	3 (100)	0	3
<i>Coquillettidia albicosta</i> (Chagas, 1908)	1 (100)	0	1	0	0	0
<i>Coquillettidia albifera</i> (Prado, 1931)	210 (88.2)	28 (11.8)	238	39 (55.7)	31 (44.3)	70
<i>Coquillettidia shannoni</i> (Lane & Antunes, 1937)	3 (75)	1 (25)	4	0	0	0
<i>Culex bidens</i> Dyar, 1922	17 (70.8)	7 (29.2)	24	3 (42.9)	4 (57.1)	7
<i>Culex chidesteri</i> Dyar, 1921	110 (59.8)	74 (40.2)	184	7 (53.8)	6 (46.2)	13
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) sp.* Linnaeus, 1758	10 (47.6)	11 (52.4)	21	3 (75)	1 (25)	4
<i>Culex Culex</i> sp. 1 Linnaeus, 1758	0	0	0	4 (57.1)	3 (42.9)	7
<i>Culex habilitator</i> Dyar & Knab, 1906	1 (100)	0	1	0	0	0
<i>Culex (Melanoconion)</i> sp. 1 Theobald, 1903	34 (81)	8 (19)	42	17 (81)	4 (19)	21
<i>Culex (Melanoconion)</i> sp. 2 Theobald, 1903	0	0	0	7 (53.8)	6 (46.2)	13
<i>Culex (Microculex)</i> sp.1 Theobald, 1907	3 (60)	2 (40)	5	4 (36.4)	7 (63.6)	11
<i>Culex (Phenacomyia)</i> sp.1 Harbach & Peyton, 1992	1 (100)	0	1	0	0	0
<i>Culex saltanensis</i> Dyar, 1928	8 (80)	2 (20)	10	1 (100)	0	1
<i>Culex scimitar</i> Branch & Seabrook, 1959	12 (54.5)	10 (45.5)	22	0	0	0
<i>Culex surinamensis</i> Dyar, 1918	0	0	0	0	2 (100)	2
<i>Mansonia fonsecai</i> (Pinto, 1932)	2 (33.3)	4 (66.7)	6	0	2 (100)	2
<i>Mansonia pessoai</i> (Barreto & Coutinho, 1944)	6 (85.7)	1 (14.3)	7	0	0	0
<i>Mansonia pseudotitillans</i> (Theobald, 1901)	5 (100)	0	5	0	0	0
<i>Mansonia titillans</i> (Walker, 1848)	2 (66.7)	1 (33.3)	3	0	0	0
<i>Uranotaenia geometrica</i> Theobald, 1901	0	1 (100)	1	0	0	0
<i>Uranotaenia lowi</i> Theobald, 1901	0	1 (100)	1	0	0	0
<i>Uranotaenia mathesoni</i> Lane, 1943	12 (66.7)	6 (33.3)	18	23 (76.7)	7 (23.3)	30
<i>Uranotaenia nataliae</i> Lynch Arribálzaga, 1891	13 (86.7)	2 (13.3)	15	24 (88.9)	3 (11.1)	27
<i>Uranotaenia pulcherrima</i> Lynch Arribálzaga, 1891	32 (84.2)	6 (15.8)	38	18 (64.3)	10 (35.7)	28
<i>Uranotaenia</i> sp. 1 Lynch Arribálzaga, 1891	0	0	0	1 (100)	0	1
Total	576 (66.3)	293 (33.7)	-	154 (64.2)	86 (35.8)	-

\* Indivíduos danificados

Tabela 2 Estimativa de diversidade de mosquitos coletados com CDC-HP em duas alturas, no Rio Grande do Sul, Brasil, de Novembro de 2016 a Maio de 2017.

Número observado	Fêmea 1 m	Fêmea 10 m	Macho 1 m	Macho 10 m
Indivíduos	576	293	154	86
Espécies	21	18	14	13
Chao-1	22 (21-28.5)	20,5 (18-33)	15 (14-17)	13 (13-16)
Simpson 1-D	0.80 (0.77-0.82)	0.73 (0.69-0,76)	0.86 (0.83-0.88)	0.83 (0.75-0.87)
Shannon-H	2.03 (1.93-2.12)	1.78 (1.63-1.91)	2.18 (2.05-2.28)	2.14 (1.90-2.28)

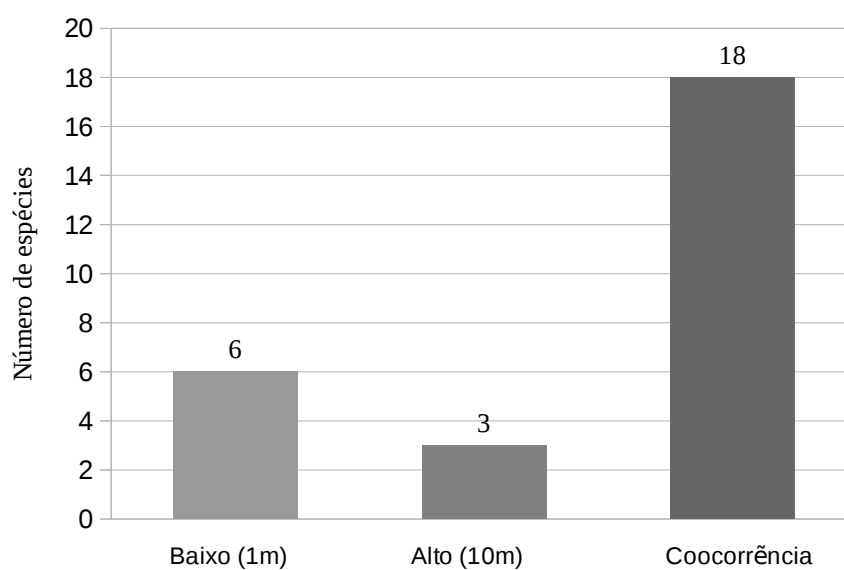


Figura 1 Número de espécies coletadas com CDC-HP nas diferentes alturas e em coocorrência

## 5. Conclusões Gerais

Em ambiente silvestre a diversidade de espécies coletadas foi maior que em áreas com maior atividade humana.

A maior abundância de mosquitos ocorreu nas coletas realizadas nas áreas rurais dos municípios.

No levantamento de mosquitos em diferentes ambientes (urbano, rural e silvestre) foram identificadas 24 espécies de Culicidae, dos gêneros *Anopheles*, *Culex* e *Uranotaenia*.

As espécies sinantrópicas ocorrem em alta abundância em ambientes urbanos e rurais.

No estudo realizado os 19 pools analisados para a detecção de alfavírus e flavivírus, com a metodologia que foi utilizada nesse estudo, não foi detectada a presença de arbovírus.

Quando avaliado o comportamento vertical das espécies, em ambiente de silvestre, verificou-se o maior número de espécies em coocorrência. Espécies em coocorrência podem ser descritas como generalistas, apresentando maior plasticidade quanto aos ambientes, assim como na procura por hospedeiros.

No estudo comparando as diferentes alturas, foram identificadas 26 espécies de Culicidae pertencentes aos gêneros *Aedeomyia*, *Aedes*, *Coquillettidia*, *Culex*, *Mansonia* e *Uranotaenia*.

## Referências

ADAMES, A. J. Mosquito Studies (Diptera, Culicidae) XXIV. A revision of the crabhole mosquitoes of the genus *Deinocerites*. **Contributions of the American Entomological Institute**, v. 7, n.2, 158 p., 1971.

ALENCAR, J.; MELLO, C. F.; GIL-SANTANA, H. R.; GUIMARÃES, A. E.; ALMEIDA, S. A. S.; GLEISER, R. M. Vertical oviposition activity of mosquitoes in the Atlantic Forest of Brazil with emphasis on the sylvan vector, *Haemagogus leucocelaenus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Vector Ecology**, v. 41, n. 1, p. 18-26, 2016.

AVELINO-SILVA, V. I.; RAMOS, J. F. Arboviroses e políticas públicas no Brasil. **Revista Ciências em Saúde**, v. 7, n. 3, p. 1-2, 2017.

BARGHINI, A., URBINATI, P. R., NATAL D. Atração de mosquitos (Diptera: Culicidae) por lâmpadas incandescentes e fluorescentes. **Entomologia y Vectores**, v. 11, n. 4, p. 611-622, 2004.

BELTON, W. **Aves do Rio Grande do Sul, Distribuição e Biologia**. São Leopoldo: Unisinos, 1994. 584p.

BRASIL, Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Casa Civil, Brasília, DF, 19 set. 1990. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l8080.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8080.htm). Acesso em: dez. 2017.

BRONZONI, R. V. M.; BALEOTTI, F. G.; NOGUEIRA, R. M. R.; NUNES, M.; FIGUEIREDO, L. T. M. Duplex reverse transcription-PCR followed by Nested PDC assays for detection and identification of Brazilian Alphaviruses and Flaviviruses. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, p. 696-702, 2005.

BRUNHES, J.; BOUSSÈS, P.; RAMOS, H, C. Les *Aedeomyia* Theobald, 1901, des régions afro-tropicale et malgache (Diptera, Culicidae). **Bulletin de la Société entomologique de France**, v. 116, n. 1, p. 99-128, 2011.

BURREL, C. J.; HOWARD, C. R.; MURPHY, F. A. **Fenner and White's Medical Virology**, Elsevier, 2016, 604p.

CARDOSO, J. C.; BERGO, E. S.; OLIVEIRA, T. M.; SANT'ANA, D. C.; MOTOKI, M. T.; SALLUM, M. A. M. New records os *Anopheles homununculus* in Central and Serra do Mar biodiversity corridors of the Atlantic Forest, Brazil. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 28, n. 1, p. 1-5, 2012.

CARDOSO, J. C.; CORSEUIL, E.; BARATA, J. M. S. Anophelinae (Diptera, Culicidae) ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Entomomologia y Vectores**, v.11, n.1, p.159-177. 2004.

CARDOSO, J. C.; CORSEUIL, E.; BARATA, J. M. S. Culicinae (Diptera, Culicidae) ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.49, n.2, p.285-287, jun. 2005.

CARDOSO, J. C.; PAULA, M. B.; FERNANDES, A.; SANTOS, E.; ALMEIDA, M. A. B.; FONSECA, D. F.; SALLUM, M. A. M. Novos registros e potencial epidemiológico de algumas espécies de mosquitos (Diptera, Culicidae), no Estado do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 5, p. 552-556, 2010.

CARDOSO, J. C.; PAULA, M. B.; FERNANDES, A.; SANTOS, E.; ALMEIDA, M. A. B.; FONSECA, D. F.; SALLUM, M. A. M. Ecological aspects of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an Atlantic forest area on the north coast of Rio Grande do Sul State, Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v. 36, n. 1, p. 175-186, 2011.

CLARK-GIL, S.; DARSIE, R. F. J.. The mosquitoes of Guatemala – Their identification, distribution and bionomics. **Mosquito Systematics**, v. 15, n. 3, p. 151-284, 1983.

CONFALONIERI, U. E. C.; NETO, C. C. Diversity of Mosquito Vectors (Diptera: Culicidae) in Caxiuanã Pará, Brazil. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2012, p. 1-8, 2012.

CONSOLI, R. A. G. B., OLIVEIRA, R. L. **Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1994. 228p.

DARSIE, R. F. J. Mosquitoes of Argentina- Part 1.Keys for Identification os Adult Females and Fourth Stages Larvae in English anda Spanish (Diptera, Culicidae). **Mosquito Systematics**, v.17, n. 3, p. 153- 253, 1985.

DÉGALLIER, N.; TRAVASSOS da ROSA, A.P.A.; VASCONCELOS, P.F.C.; HERVÉ, J.-P.; SÁ FILHO, G.C.; TRAVASSOS da ROSA, J.F.S.; TRAVASSOS da

ROSA, E.S.; RODRIGUES, S.G. Modifications of arbovirus transmission in relation to construction of dams in Brazilian Amazon. **Ciência e Cultura**, v. 44, n. 2–3, p. 124-135, 1992.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B V. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, n. 30, p. 1-6, 2017.

FORATTINI, O. P. Biossistemática e saúde pública. **Revista de saúde Pública**, v.23, p.181-182, 1989.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002. 860p.

FORATTINI, O. P.; ISHIATA, G. K.; RABELLO, E. X.; COTRIM, M. D. Observações sobre os mosquitos *Culex* da cidade de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 7, p. 315-390, 1973.

FORATTINI, O. P.; KAKITANI, I.; MASSAD, E.; MARUCCI, D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 3 - Survey of adult stages at the rice irrigation system and the emergence of *Anopheles albitarsis* in South-Eastern Brazil\*. **Revista de Saúde Pública**, v. 27, p 313-325, 1993.

FORATTINI, O. P.; KAKITANI, I.; SANTOS, R. L.; KOBAYASHI, K. M.; UENO, H. M.; FERNÁNDEZ, Z. Potencial sinantrópico de mosquitos *Ketrezia* e *Culex* (Diptera: Culicidae) no Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, p. 565-569, 2000.

GABALDON, A.; ULLOA, G.; GODDOY, N.; MARQUEZ, E.; PULIDO, J. *Aedeomyia squamipennis* (Diptera: Culicidae) vector natural de malária aviária em Venezuela. **Boletín de la Direccion de Malariología y Saneamiento Ambiental**, v. 17, p. 9-13, 1977.

GAFFIGAN, T. V.; WILKERSON, R. C.; PECOR, J. E.; STOFFER, J. A.; ANDERSON, T. Systematic Catalog of Culicidae. **Walter Reed Biosystematics Unit (WRBU)**, Smithsonian Institution, 2017. Disponível em: <<http://www.mosquitocatalog.org/default.aspx>>. Acesso em: jul. 2017.

GOMES, A. C.; FORATTINI, O. P. Abrigos de mosquitos *Culex* (*Culex*) em zona rural (Diptera: Culicidae). **Revista de Saúde Publica**. v.24, n.5, p.394-397, 1990.

GOMES, A. C.; PAULA, M. B.; NETO, J. B. V.; BORSARI, R.; FERRAUDO, A. S. Culicidae (Diptera) em Área de Barragem em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 4, p. 553-555, 2009.

GOMES, A. C.; TORRES, M. A. N.; FERRI, L.; COSTA, F. R.; SILVA, A. M. Encontro de *Haemagogus (Conopostegus) leucolelaenus* (Diptera, Culicidae), no Município de Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 4, p. 487-488, 2007.

GOMES, A. C.; TORRES, M. A. N.; PAULA, M. B.; FERNANDES, A.; MARASSÁ, A. M.; CONSALES, C. A.; FONSECA, D. F. Ecologia de *Haemagogus* e *Sabethes* (Diptera: Culicidae) em áreas epizoóticas do vírus da febre amarela, Rio Grande do Sul, Brasil\*. **Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 19, n. 2, p. 101-113, 2010.

GUIMARÃES, A. E.; ARLÉ, M.; MACHADO, R. N. M. Mosquitos no Parque da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. II. Distribuição vertical. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 80, n. 2, p. 171-185, 1985.

GUIMARÃES, A. E.; LOPES, C. M.; MELLO, R. P.; ALENCAR J. Ecologia de mosquitos (Diptera, Culicidae) em áreas do Parque Nacional do Iguaçu, Brasil: 1- Distribuição por habitat. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, p. 1107-1116. 2003.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitas de importância veterinária**. São Paulo: Plêiade/FAPESP, 2001, 218p.

GUBLER, D. J. The Global Emergence/Resurgence of Arboviral Diseases As Public Health Problems, **Archiver of Medical Research**, v. 33, p. 330-342, 2002.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. **PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis**. *Palaeontologia Electronica* 4: 1-9, 2001.

HASSAN, H. K.; CUPP, E. W.; HILL, G. E.; KATHOLI, C. R.; KLINGLER, K.; UNNASCH, T. R. Avian host preference by vectors of eastern equine encephalomyelitis virus. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 69, n. 6, p. 641-647, 2003.

HARBACH, R. E.; E. L. PEYTON. Systematics of *Onirion*, a new genus of Sabethini (Diptera: Culicidae) from the Neotropical Region. **Bulletin of the Natural History Museum** (Entomology Series), v. 69, p. 115–169, 2000.



HARBACH, R. The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny\*. **Zootaxa**, p. 591-638, 2007.

HARBACH, R.E. 2013. Mosquito Taxonomic Inventory. Acessado em 5 de jun. 2017. Disponível em: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>.

HARWOOD, R. F.; JAMES, M. T. **Entomology in human and animal health**. New York, Macmillan, 1979. 548p.

HUTCHINGS, R. S. G. ; ROGER, W. H.; SALLUM, M. A. M. Culicidae (Diptera, Culicomorpha) from the western Brazilian Amazon: Juami-Japurá Ecological Station. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, n. 4, p. 687-691, 2010.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2004. Disponível em: [ftp://geofp.ibge.gov.br/informacoes\\_ambientais/vegetacao/mapas/brasil/biomas.pdf](ftp://geofp.ibge.gov.br/informacoes_ambientais/vegetacao/mapas/brasil/biomas.pdf)  
Acessado em: junho de 2017.

JANSEN, C. C.; ZBOROWSKI, P.; HURK, A. F. Efficacy of bird-baited traps placed at different heights for collecting ornithophilic mosquitoes in eastern Queensland, Australia. **Australian Journal of Entomology**, v. 48, p. 53-59, 2009.

KOTAIT, I.; BRANDÃO, P. E.; CARRIERI, M. L. Vigilância Epidemiológica das Encefalites Equinas. **Instituto Pasteur, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo**, n. 29, 2006.

LANE, J. **Neotropical Culicidae**. v. 1. São Paulo: Universidade de São Paulo. 1953a, 555 p.

LANE, J. **Neotropical Culicidae**. v. 2. São Paulo: Universidade de São Paulo. 1953b, 557 p.

LEE, H. I.; SEO, B. Y.; SHIN, E.; BURKET, D. A.; LEE, W. J.; SHIN, Y. H. Study os flying height of culicid species in the northern part of the Republic of Korea. **Journal of American Mosquito Control Association**, v. 22, n. 2, p. 239-245, 2006.

LOPES, J.; ARIAS, J. R.; YOOD, J. D. C. Evidências preliminares de estratificação vertical de postura de ovos por alguns Culicidae (Diptera), em floresta no Município de Manaus – Amazonas. **Acta Amazônica**, v. 13, p. 431-439, 1983.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 55-64, 2014.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; HEYDEN, R. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma área de planície (granjas Calábria) em Jacarepaguá, Rio de Janeiro: IV. Preferências alimentares quanto ao hospedeiro e frequência domiciliar. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, n. 1, p. 15-27, 1986.

LUZ, K. G.; SANTOS, G. I. V.; VIEIRA, R. M. Febre pelo vírus Zica. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 4, p. 785-788, 2015.

MARCONDES, C. B. **Doenças Transmitidas e Causadas por Artrópodes**. São Paulo: Editora Atheneu. 2009, 557 p.

MEDEIROS-SOUSA, A.R.; FERNANDES, A.; CERETTI-JUNIOR, W.; WILKE, A.BB.; MARRELLI, M.T. Mosquitoes in urban green spaces: using an island biogeographic approach to identify drivers of species richness and composition. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-11, 2017.

MITCHELL, L.; ROCKETT, C. L. Vertical stratification of adult female mosquitoes in a sylvian habitat (Diptera: Culicidae). **The Great Lakes Entomologist**, v.12, n. 4, p. 219-223, 1979.

MITCHELL, C.J.; MONATH, T. P.; SABATTINI, M. S.; CROPP, C. B.; DAFFNER, J. F.; CALISHER, C. H.; JAKOB, W. L.; CHRISTENSEN, H. A. Arbovirus investigations in Argentina, 1977–1980 II. Arthropod collection and virus isolations from argentine mosquitoes. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 34, n. 5, p. 945-955, 1985.

MONTAGNER, F. R. G.; SILVA, O. S.; JAHNKE, S. M. Mosquito species occurrence in association with landscape composition in green urban areas. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 2, p. 233-239, 2018.

MUSSO, D.; RODRIGUEZ-MORALES, A. J.; LEVI, J. E.; CAO-LORMEAU, V-M.; GUBLER, D. J. Unexpected outbreaks of arbovirus infections: lessons learned from the Pacific and tropical America. **The Lancet Infectious Diseases**, 2018.

NASCI, R.S. A lightweight battery-powered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. **Mosquito News**, v.41, p. 808-811, 1981.

NIMER, E. Clima. In: **IBGE - Geografia do Brasil, Região Sul**. SERGRAF-IBGE, Rio de Janeiro, 35-79, 1977

OLIVEIRA-FERREIRA, J.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; TEVA, A.; DEANE, L.M.; DANIEL-RIBEIRO, C.T. (Natural malaria infections in anophelines in Rondonia State, Brazilian Amazon. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 43, n. 1, p. 6-10, 1990.

PAULA, M. B.; FERNANDES, A.; MEDEIROS-SOUSA, A. R.; CERETTI-JÚNIOR, R. C.; STROEBER, R. C.; PEDROSA, L.; ALMEIDA, R. M. M. S.; CARVALHO, G. C.; PEREIRA, U. D.; JACINTHO, M. C. O.; NATAL, D.; MARRELLI, M. T. Mosquito (Diptera) fauna in parks in greater São Paulo, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 15, p. 1-9, 2015.

PAUVOLID-CORRÊA, A.; TAVARES, F. N.; ALENCAR, J.; SILVA, J. S.; MURTA, M.; SERRA-FREIRE, N. M.; PELLEGRIN, A. O.; GIL-SANTANA, H.; GUIMARÃES, A. E.; SILVA, E. E. Preliminary investigation of Culicidae species in south Pantanal, Brazil and their potential importance in arbovirus transmission. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.52, n.1, p.17-23, jan./fev. 2010.

PEREIRA, A. C. N.; PEREIRA FILHO, A. A.; BRITO, G. A.; MORAES, J. L. P.; REBÊLO, J. M. M. First record of *Aedeomyia squamipennis* (Lynch Arribáizaga, 1878) (Diptera: Culicidae) in the state of Maranhão: epidemiological implications and distribution in Brazil. **Check List**, v. 13, n. 2, p. 1-10, 2017.

POPE, K.; MASUOKA, P.; REJMANKOVA, E.; GRIECO, J.; JOHNSON, S.; ROBERTS, D. Mosquito habitats, land use, and malaria risk in belize from satellite imagery. **Ecological Applications**. v.15, n.4, p.1223-1232, 2005.

PÓVOA, M.M.; SOUZA, R.T. L.; LACERDA, R.N.L.; ROSA, E.S.; GALIZA, D.; SOUZA, J.R.; WRITZ, R.A.; SCHLICHTING, C.D.; CONN, J.E. The importance of *Anopheles albitarsis* E and *An. darlingi* in human malaria transmission in Boa Vista, state of Roraima, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 2, p. 163-168, 2006.

PRIMIO, R. Alguns culicídeos do Rio Grande do Sul: considerações nosológicas a respeito. **Arquivos Riograndenses de Medicina**, v. 4, p. 127-164, 1935.

PUGEDO, H.; BARATA, R. A.; FRANÇA-SILVA, J.C.; SILVA, J.C.; DIAS, E.S. HP: um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo.38, 70-72, 2005.

RIBEIRO, P. B.; COSTA, P. R.; LOECK, A. E.; VIANNA, E. E. S.; SILVEIRA, P. J. Exigências térmicas de *Culex quinquefasciatus* (Diptera, Culicidae) em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Zoológica**, v. 94, p. 177-180, 2004.

ROBINSON, W. H. **Urban insects and arachnids – a handbook of urban entomology**. Cambridge University Press, 2005. 472p.

ROSA, J. F. T.; SOUZA, W. M.; PINHEIRO, F. P.; FIGUEIREDO, M. L.; CARDOSO, J. F.; ACRANI, G. O.; NUNES, M. R. T. Oropouche Virus: Clinical, Epidemiological, and Molecular Aspects of a Neglected Orthobunyavirus. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 5, p. 1019-1030, 2017.

RUBIO-PALIS, Y.; WIRTZ, R. A.; CURTIS, C. F. Malaria entomological inoculation rates in western Venezuela. **Acta Tropica**, v. 52, n. 2-3, p. 167-174, 1992.

RUST, R. S. Human arboviral encephalitis. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 19, n. 3, p. 130-151, 2012.

SANTOS, I.M.; CALADO, D. Captura de mosquitos antropofílicos (Diptera, Culicidae) em uma área urbana na região oeste da Bahia, Brasil. **Iheringia**, 104, 32-38, 2014.

SILVA, A.M. (2002) Imaturos de mosquitos (Diptera, Culicidae) de áreas urbana e rural nno norte do estado do Paraná, Brasil. **Iheringia**, 92, 31-36.

SILVA, M. L. C. R.; GALIZA, G. J. N.; DANTAS, A. F. M.; OLIVEIRA, R. N.; IAMAMOTO, K.; ACHKAR, S. M.; RIET-CORREA, F. Outbreaks of Eastern equine encephalitis in northeastern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 23, n. 3, p. 570-575, 2011.

SIM, S.; JUPATANAKUL, N.; DIMOPOULOS, G. Mosquito Immunity against Arboviruses. **Viruses**, v. 6, p. 4479-4504, 2014.

SERVICE, W. M. Flight periodicities and vertical distribution of *Aedes cantons* (Mg.), *Ae. Geniculatus* (Ol.), *Anopheles plumbeus* Steph. And *Culex pipiens* L. (Dipt.,

Culicidae) in southern England. **Bulletin of Entomological Research**, v. 60, p. 639-651, 1971.

SHONE, S. M.; GLASS, G. E.; NORRIS, D. E. Targeted Trapping of Mosquito Vectors in the Chesapeake Bay Area of Maryland. **Journal of Medical Entomology**, v.42, n. 2, p. 151-158, 2006.

STONE, A.; BARRETO, P. A new genus and species of mosquito from Colombia, *Galindomyia Leei* (Diptera, Culicidae, Culicini). **Journal of Medical Entomology**, v. 6, n. 2, p. 143-146, 1969.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. **Estudo dos insetos**. 7. Ed. São Paulo: Cengage learning, 2011. 809p.

TYSON, H. W. Contributions to the mosquito fauna of Southeast Asia. VII. Genus *Aedeomyia* Theobald in Southeast Asia. **Contributions of the American Entomological Institute**, v.6, n. 2, p. 1-27, 1970.

TURELL, M.J.; O'GUINN, M.L.; JONES, J.W.; SARDELIS, M.R.; DOHM, D.J.; WATTS, D.M.; FERNANDEZ, R.; TRAVASSOS da ROSA, A.; GUZMAN, H.; TESH, R.; ROSSI, C.A.; LUDWIG, G.V.; MANGIAFICO, J.A.; KONDIG, J.; WASIELOSKI Jr., L.P.; PECOR, J.; ZYZAK, M.; SCHOELER, G.; MORES, C.N.; CALAMPA, C.; LEE, J.S.; KLEIN, T.A. Isolation of viruses from mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected in the Amazon Basin Region of Peru. **Journal of Medical Entomology**, v. 42, n. 5, p. 891–898, 2005.

UENO, H. M.; FORATTINI, O. P.; KAKITANI, I. Distribuição vertical e sazonal de Anopheles (Kerteszia) em Ilha Comprida, SP. **Revista de Saúde Pública**, v. 4, n. 12, p. 269-275, 2007.

VIANNA, E. E. S.; COSTA, P. R. P.; RIBEIRO, P. B. Oviposição e longevidade de adultos de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) em condições ambientais, em Pelotas, RS. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.5, p. 47-52, 1996.

VILLWOCK, J. A. & TOMAZELLI, L. J. **Geologia Costeira do Rio Grande do Sul. Notas Técnicas, Centro de Estudos de Geologia Costeira e Oceânica, UFRGS**. Porto Alegre, 8, 1-45, 1995.

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral Research**, v. 85, p. 328-345, 2010.

WHO (World Health Organization). Oropouche virus disease – Peru. Disease Outbreak News. 2016. Acesso em agosto de 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/don/03-june-2016-oropouche-peru/en/>>.

WILKERSON, R. C.; LINTON, Y-M.; FONSECA, D. M.; SCHULTZ, T. R.; PRICE, D. C.; STRICKMAN, D. A. Making Mosquito Taxonomy Useful: A Stable Classification of Tribe Aedini that Balances Utility with Current Knowledge of Evolutionary Relationships. **Plos One**, v. 10, n. 7, 2015.

## **Apêndices**

## Apêndice A

### Lista de Culicidae que ocorrem no Rio Grande do Sul\*.

Espécie/Grupo/Seção	R**	S	U	Coordenada geográfica	Municípios**
<i>Aedeomyia (Aedeomyia) squamipennis</i> (Lynch Arribáizaga, 1878)	-	-	x	29°50'51"S; 50°31'28"W	9; 32; 30; 36; 38
<i>Aedes (Georgecraigius) fluviatilis</i> (Lutz, 1904)	x	x	x	29°39'02"S; 50°46'50"W	5; 6; 9; 11; 12; 15; 27; 32; 35; 36; 39; 55
<i>Aedes (Ochlerotatus) albifasciatus</i> (Macquart, 1838)	-	-	-	29°59'05"S; 50°08'01"W	24; 33; 34; 39; 42; 49; 52
<i>Aedes (Ochlerotatus) crinifer</i> (Theobald, 1903)	x	x	x	29°59'05"S; 50°08'01"W	3; 4; 6; 9; 12; 14; 16; 23; 32; 33; 38; 39; 41; 55
<i>Aedes (Ochlerotatus) hastatus</i> Dyar, 1922	-	x	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 23; 39
<i>Aedes (Ochlerotatus) hastatus</i> Dyar, 1922 / <i>oligopistus</i> Dyar, 1918	-	x	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	12; 14; 23
<i>Aedes (Ochlerotatus) nubilus</i> (Theobald, 1903)	-	x	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 23; 39
<i>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</i> (Rondani, 1848)	x	x	x	29°39'02"S; 50°46'50"W	5; 14; 15; 16; 23; 28; 32; 39; 45
<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus</i> (Theobald, 1901)	x	x	-	29°26'53"S; 50°35'01"W	9; 14; 17; 23; 32; 39; 41; 54
<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus</i> (Theobald, 1901) / <i>nubilus</i> (Theobald, 1903)	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 39
<i>Aedes (Protomacleaya) terrens</i> (Walker, 1856)	-	x	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	9; 12; 14; 23; 39
<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus, 1792)	-	-	x	30°01'59"S; 51°13'48"W	8; 20; 23; 32; 33; 34; 36; 37; 42; 44; 53
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse, 1895)	-	x	-	29°50'51"S; 50°31'28"W	5; 6; 10; 14; 16; 19; 27; 32; 38
<i>Anopheles (Anopheles) fluminensis</i> Root, 1927	x	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Anopheles (Anopheles) intermedius</i> (Chagas, 1908)	-	-	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	12
<i>Anopheles (Anopheles) maculipes</i> (Theobald, 1923)	x	-	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Anopheles (Kertessia) bellator</i> Dyar e Knab, 1906	-	-	-	29°20'47"S; 49°43'37"W	28; 51
<i>Anopheles (Kertessia) cruzii</i> Lane (1953)	x	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	15; 23
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) albitarsis</i> Lynch Arribáizaga, 1878	-	x	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	12; 23; 39
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) antunesi</i> Galvão & Amaral, 1940	-	-	-	Não citado	Não citado
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) argyrtarsis</i> Robineau-Desvoidy, 1827	-	-	-	28°30'41"S; 55°13'40"W	39
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) evansae</i> (Brêthes, 1926)	x	-	-	29°22'43"S; 50°52'26"W	12; 15; 23
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) galvaoi</i> Causey, Deane & Deane, 1943	x	-	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	12; 23; 39
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) lutzii</i> Cruz, 1901	x	x	-	29°22'43"S; 50°52'26"W	15; 23
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi</i> (Peryassú, 1922)	-	-	-	28°30'41"S; 55°13'40"W	39
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) parvus</i> (Chagas, 1907)	-	-	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	12
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) rondoni</i> (Neiva & Pinto, 1922)	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	1; 23; 28; 33; 39
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) strodei</i> Root, 1926	-	-	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	12; 39
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus</i> (Neiva & Pinto, 1922)	-	-	-	28°39'38"S; 56°00'16"W	40



<i>Chagasia fajardi</i> (Lutz, 1904)	-	x	-	29°22'43"S; 50°52'26"W	15
<i>Coquillettidia</i> ( <i>Rhynchotaenia</i> ) <i>chrysonotum</i> (Peryassú, 1922) / <i>albifera</i> (Prado, 1931)	x	x	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	12; 23
<i>Coquillettidia</i> ( <i>Rhynchotaenia</i> ) <i>fasciolata</i> (Lynch Arribáizaga, 1891)	-	-	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	32
<i>Coquillettidia</i> ( <i>Rhynchotaenia</i> ) <i>nigricans</i> (Coquillett, 1904)	-	-	-	29°21'56"S; 50°48'56"W	4; 55
<i>Coquillettidia</i> ( <i>Rhynchotaenia</i> ) <i>shannoni</i> (Lane & Antunes, 1937)	-	x	-	30°04'52"S; 51°01'24"W	23; 55
<i>Coquillettidia</i> ( <i>Rhynchotaenia</i> ) <i>venezuelensis</i> (Theobald, 1912)	x	x	x	30°04'52"S; 51°01'24"W	9; 23; 38; 55
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>acharistus</i> Root, 1927	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>bidens</i> Dyar, 1922	x	-	x	30°01'59"S; 51°13'48"W	7; 14; 23; 32; 33; 39
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>chidesteri</i> Dyar, 1921	x	x	x	29°20'07"S; 49°43'37"W	14; 23; 28; 33; 38; 39; 51
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>coronator</i> Dyar et Knab, 1906	x	x	x	29°26'53"S; 50°35'01"W	9; 13; 14; 21; 23; 32; 33; 39; 41; 47
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>declarator</i> Dyar & Knab, 1906	-	x	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 23; 39
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>dolosus</i> (Lynch Arribáizaga, 1891)	x	x	x	30°01'59"S; 51°13'48"W	23; 32
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>dolosus</i> (Lynch Arribáizaga, 1891) / <i>eduardoi</i> Casal & García, 1968	x	-	x	28°03'13"S; 51°11'25"W	12; 14; 32; 39
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) grupo Coronator	x	-	x	28°03'13"S; 51°11'25"W	12; 14; 39
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>interfor</i> Dyar, 1928	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 39
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>lygrus</i> Root, 1927	x	x	x	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 23; 39
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>maxi</i> Dyar, 1928	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 39
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>mollis</i> Dyar & Knab, 1906	x	x	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 23; 39
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>nigripalpus</i> Theobald, 1901	x	x	x	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 23; 39 2; 13; 15; 16; 17; 18; 19; 21; 28; 30; 31; 32; 34; 36; 38; 39; 41; 43; 47; 48; 51; 54
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>quinquefasciatus</i> (Say, 1823)	x	-	x	31°46'19"S; 52°20'33"W	13; 50
<i>Culex</i> ( <i>Culex</i> ) <i>saltanensis</i> Dyar, 1928	-	-	-	29°26'53"S; 51°48'23"W	14
<i>Culex</i> ( <i>Melanoconion</i> ) <i>aliciae</i> Duret, 1953	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	23
<i>Culex</i> ( <i>Melanoconion</i> ) <i>bastagarius</i> Dyar & Knab, 1906	-	x	x	29°40'30"S; 50°12'26"W	14
<i>Culex</i> ( <i>Melanoconion</i> ) <i>dureti</i> Casal & García, 1968	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14
<i>Culex</i> ( <i>Melanoconion</i> ) <i>intrincatus</i> Brèthes, 1916	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14
<i>Culex</i> ( <i>Melanoconion</i> ) <i>pilosus</i> (Dyar & Knab, 1906)	-	x	x	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Culex</i> ( <i>Melanoconion</i> ) <i>ribeirensis</i> Forattini e Sallum, 1985	-	x	x	27°15'53"S; 53°51'39"W	9; 14; 23; 33; 39; 41; 55
<i>Culex</i> ( <i>Melanoconion</i> ) <i>Theobald</i> grupo Atratus	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Culex</i> ( <i>Melanoconion</i> ) <i>Theobald</i> grupo Pilosus	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 39
<i>Culex</i> ( <i>Melanoconion</i> ) <i>Theobald</i> seção Melanoconion	x	x	x	28°03'13"S; 51°11'25"W	3; 4; 6; 9; 12; 14; 16; 32; 33; 38; 39; 41; 55
<i>Culex</i> ( <i>Melanoconion</i> ) <i>Theobald</i> seção Spissipes	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14
<i>Culex</i> ( <i>Microculex</i> ) <i>aphylactus</i> Root, 1927	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Culex</i> ( <i>Microculex</i> ) <i>dubitans</i> Lane & Whitman, 1951	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23

<i>Culex (Microculex) gairus</i> Root, 1927	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Culex (Microculex) imitator</i> Theobald, 1903	x	x	-	29°26'53"S; 50°35'01"W	23; 41
<i>Culex (Microculex) inimitabilis</i> Dyar & Knab, 1906	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Culex (Microculex) neglectus</i> Lutz, 1904	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Culex (Microculex) pleuristriatus</i> Theobald, 1903	x	-	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Culex (Phenacomyia) corniger</i> Theobald, 1903	-	-	x	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 23; 39
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i> (Dyar & Shannon, 1924)	-	x	-	27°15'53"S; 53°51'39"W	9; 11; 14; 15; 23; 32; 39
<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	-	x	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	14; 23; 25; 26; 32
<i>Limatus flavisetosus</i> de Oliveira Castro, 1935	-	-	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	14; 32; 39
<i>Lutzia (Lutzia) bigoti</i> (Bellardi, 1862)	-	-	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	13; 32; 51
<i>Mansonia (Mansonia) flaveola</i> (Coquillett, 1906)	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Mansonia (Mansonia) humeralis</i> Dyar & Knab, 1916	-	x	-	29°49'03"S; 50°31'11"W	23; 38
<i>Mansonia (Mansonia) indubitans</i> Dyar & Shannon, 1925	x	-	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Mansonia (Mansonia) pseudotitillans</i> (Theobald, 1901)	-	-	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	32
<i>Mansonia (Mansonia) titillans</i> (Walker, 1848)	x	x	x	30°01'59"S; 51°13'48"W	7; 9; 11; 14; 23; 28; 32; 38; 39; 50; 55
<i>Mansonia (Mansonia) wilsoni</i> (Barreto & Coutinho, 1944)	-	-	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	32
<i>Psorophora (Grabhamia) confinnis</i> (Lynch Arribáizaga, 1891)	-	x	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 23; 39
<i>Psorophora (Grabhamia) varinervis</i> Edwards, 1922	x	-	-	29°22'43"S; 50°52'26"W	15; 32; 55
<i>Psorophora (Janthinosoma) albigena</i> (Lutz, 1908)	-	-	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	14; 32; 39; 54
<i>Psorophora (Janthinosoma) discrucians</i> (Walker, 1856)	-	-	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	3; 14; 32
<i>Psorophora (Janthinosoma) ferox</i> (von Humboldt, 1819)	-	-	x	29°22'43"S; 50°52'26"W	9; 12; 15; 14; 23; 32; 39; 41; 54; 55
<i>Psorophora (Janthinosoma) forceps</i> Cerqueira, 1939	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Psorophora (Psorophora) ciliata</i> (Fabricius, 1794)	-	-	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	14; 32
<i>Psorophora (Psorophora) saeva</i> Dyar & Knab, 1906	-	-	-	27°15'53"S; 53°51'39"W	9
<i>Runchomyia (Runchomyia) reversa</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	-	-	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	12
<i>Sabethes (Davismyia) petrocchiai</i> (Shannon & del Ponte, 1928)	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 39
<i>Sabethes (Peytonulus) aurescens</i> (Lutz, 1905)	-	-	-	27°15'53"S; 53°51'39"W	9; 41
<i>Sabethes (Peytonulus) identicus</i> Dyar & Knab, 1907	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14
<i>Sabethes (Peytonulus) soperi</i> Lane & Cerqueira, 1942	-	-	-	28°30'41"S; 55°13'40"W	39
<i>Sabethes (Peytonulus) undosus</i> (Coquillett, 1906) / <i>fabricii</i> Lane & Cerqueira, 1942 / <i>ignotus</i> Harbach, 1995	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14
<i>Sabethes (Peytonulus) whitmani</i> Lane & Cerqueira, 1942 / <i>identicus</i> Dyar & Knab, 1907	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14
<i>Sabethes (Sabethes) albiprivus</i> Theobald, 1903	-	-	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	9; 12; 14; 32; 39
<i>Sabethes (Sabethes) lanei</i> Cerqueira, 1961	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14

<i>Sabethes (Sabethes) purpureus</i> (Theobald, 1907)	-	-	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	9; 12; 14; 39
<i>Sabethes (Sabethes) quasicyaneus</i> Peryassú, 1922	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 39
<i>Sabethes (Sabethinus) melanonymphe</i> Dyar, 1924	-	-	-	28°03'13"S; 51°11'25"W	12; 41
<i>Sabethes (Sabethinus) xyphydes</i> Harbach, 1994	-	-	-	27°15'53"S; 53°51'39"W	9
<i>Sabethes (Sabethoides) chloropterus</i> (von Humboldt, 1819)	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 39
<i>Sabethes (Sabethoides) glaucodaemon</i> (Dyar & Shannon, 1925)	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 39
<i>Sabethes (Sabethoides) tridentatus</i> Cerqueira, 1961	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14
<i>Toxorhynchites (Lynchiella) sp.</i> Lahille, 1904	-	-	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	22; 29; 32; 46
<i>Trichoprosopon compressum</i> Lutz, 1905	-	-	-	27°15'53"S; 53°51'39"W	9
<i>Trichoprosopon pallidiventer</i> (Lutz, 1905)	-	-	-	27°15'53"S; 53°51'39"W	9; 15; 41
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) calosomata</i> Dyar & Knab, 1907	-	-	-	28°30'41"S; 55°13'40"W	14; 39
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) geometrica</i> Theobald, 1901	-	x	x	30°01'59"S; 51°13'48"W	23; 32
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) lowii</i> Theobald, 1901	-	x	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	14; 23; 28; 32; 38; 39; 52
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) mathesoni</i> Lane, 1943	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) nataliae</i> Lynch Arribálzaga, 1891	x	x	-	30°01'59"S; 51°13'48"W	23; 32
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) pulcherrima</i> Lynch Arribálzaga, 1891	x	x	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14; 23; 39
<i>Wyeomyia (Menolepis) leucostigma</i> Lutz, 1904	-	-	-	28°11'01"S; 55°38'20"W	14
<i>Wyeomyia (Miamyia) codiocampa</i> Dyar & Knab, 1907	-	-	-	29°26'53"S; 50°35'01"W	41
<i>Wyeomyia (Miamyia) limai</i> Lane & Cerqueira, 1942	-	-	-	29°26'53"S; 50°35'01"W	9; 14; 38; 39; 41
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) davisii</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	-	-	-	30°04'52"S; 51°01'24"W	55
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) lopesi</i> (Correa & Ramalho, 1956)	-	-	-	30°04'52"S; 51°01'24"W	55
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) quasilongirostris</i> (Theobald, 1907)	-	x	-	30°04'52"S; 51°01'24"W	23; 55
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) theobaldi</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Wyeomyia (Prosopolepis) confusa</i> (Lutz, 1905)	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Wyeomyia (Triamyia) aporonoma</i> Dyar & Knab, 1906	-	x	-	29°40'30"S; 50°12'26"W	23
<i>Wyeomyia serratoria</i> (Dyar & Nunez Tovar, 1927)	-	-	-	27°15'53"S; 53°51'39"W	9

Nos ambientes relacionados os que são assinalados por "x" correspondem aos ambientes descritos na literatura como ocorrendo no Rio Grande do Sul, os que possuem a marcação "-" na literatura não há informação concreta sobre o ambiente ou não existem no ambiente relacionado.

\* Conforme dados retirados de: PRIMIO, 1935; CARDOSO; CORSEUIL; BARATA, 2004, 2005; GOMES et al., 2007; GOMES et al., 2009, 2010; CARDOSO et al., 2010, 2011; CARDOSO et al., 2012; MONTAGNER; SILVA; JAHNKE, 2018.

\*\*Municípios relacionados conforme a numeração: 1- Caçapava do Sul; 2- Cachoeira do Sul; 3- Camaquã; 4- Canela; 5- Canoas; 6- Caxias do Sul; 7- Cidreira; 8- Crissiumal; 9- Derrubadas; 10- Dois Irmãos; 11- Ernestina; 12- Esmeralda; 13- Feliz; 14- Garruchos; 15- Gramado; 16- Gravataí; 17- Guaíba; 18- Herval; 19- Iraí; 20- Itaqui; 21- Júlio de Castilhos; 22- Lindolfo Collor; 23- Maquiné; 24- Mostardas; 25- Nova Bassano; 26- Nova Petrópolis; 27- Novo Hamburgo; 28- Osório; 29- Pareci Novo; 30- Pelotas; 31- Pinheiro Machado; 32- Porto Alegre; 33- Quaraí; 34- Rio Grande; 35- Santa Cruz do Sul; 36- Santa Maria; 37- Santana do Livramento; 38- Santo Antônio da Patrulha; 39- Santo Antônio das Missões; 40- São Borja; 41- São Francisco de Paula; 42- São José do Norte; 43- São Lourenço do Sul; 44- São Sebastião do Caí; 45- Sapiranga; 46- Sapucaia do Sul; 47- Soledade; 48- Taquari; 49- Tavares; 50- Teutônia; 51- Torres; 52- Tramandaí; 53- Uruguaiana; 54- Venâncio Aires e 55- Viamão. \*\* Rural (R), Urbano (U) e Silvestre (S).

## **Anexos**

## Anexo A

## Normas Revista EntomoBrasilis

doi: 10.12741

e-ISSN 1983-0572



## EntomoBrasilis - Periódico Online

### Normas para Publicação

Versão 3.3 - Março 2018

Apresentamos a **versão 3.3** das normas para submissão de manuscritos ao periódico online EntomoBrasilis. Esta é uma versão de atualização, objetivando a melhoria e propiciar facilidade no processo da composição dos manuscritos por parte dos autores e objetiva também uma maior agilidade no processo de editoração e mesmo de possíveis correções.

Todo o periódico é gerenciado pelo **Open Journal System (OJS)**, permitindo o maior agilidade no processo de avaliação dos manuscritos e no processo de editoração. Toda comunicação é realizada via o sistema que encontra-se hospedado no site do projeto Entomologistas do Brasil.

O trabalho dos diversos doutores que compõe o corpo editorial e os consultores *ad hoc*, é realizado de forma colaborativa, sem remuneração, mas realizada com reconhecimento científico, pela contribuição que presta à ciência.

Esta norma ainda inclui um tutorial básico, para auxiliar os autores no processo de submissão dos manuscritos no sistema eletrônico do periódico, o Open Journal System (OJS).

#### 1. DESCRIÇÃO GERAL

O periódico EntomoBrasilis publica artigos originais em português, espanhol ou inglês, que venham a contribuir com o conhecimento científico da entomologia brasileira e mundial.

Trabalhos submetidos, com resultados, experimentação realizados fora do Brasil, poderão ser aceitos, a critério do corpo editorial.

#### 2. PREPARO DO MANUSCRITO

Sugerimos que o software **EntomoBrasilis Check List** seja **adquirido gratuitamente** no site do periódico. Este software permitirá sanar as dúvidas e nortear os autores nos requisitos básico a serem cumpridos pelos artigos, antes de ser submetidos aos consultores.

As seguintes normas devem ser observadas antes da submissão do manuscrito:

- Os manuscritos devem ser enviados somente via o portal do periódico ([www.periodico.ebras.bio.br/ojs](http://www.periodico.ebras.bio.br/ojs)).
- O texto deve ser editado, de preferência, em Microsoft Word™ ou LibreOffice Writer™.
- Página formato A4, usando fonte Times New Roman tamanho 12, espaço 1,5 entre as linhas, **parágrafo justificada a esquerda e a direita**;
- As páginas numeradas no cabeçalho;
- Linhas numeradas e reiniciadas a cada página**.
- Fonte Times New Roman também para as legendas das figuras e dos gráficos.
- Apenas tabelas e gráficos podem ser incorporados no arquivo contendo o texto do manuscrito. Em páginas separadas, desde que, o arquivo não ultrapasse **2 MB**.
- A fonte utilizada nas tabelas poderá ser menor que 12, mas em um tamanho que seja suficiente para a compreensão do leitor.
- Figuras em formato digital devem ser enviados em arquivos separados, com, no mínimo, **300 dpi** de resolução para fotos coloridas e **600 dpi** para desenhos a traço e fotos branco e preto. Todas as figuras devem ter formato **tiff** (compactação LZW) ou **jpeg sem compactação, podendo ser aceito arquivo no formato png, com 32 bits**.
- Os gráficos deverão ser criados no LibreOffice.org Calc™ ou Microsoft Excel™. **São aceitos gráficos criados no SigmaPlot® v. 12, Statistica® v7.0 e R.**
- Na criação dos gráficos usar a fonte Georgia ou Times New Roman;
- Fórmulas e equações deverão ser elaboradas com o uso

do LibreOffice.org Math™ ou Microsoft Equation™ ou Microsoft Word™.

O manuscrito deve começar com uma página de rosto, contendo: Título do trabalho. Não indicar o nome dos autores nem afiliação, **pois o OJS requer este dados para iniciar a submissão, garantindo assim uma avaliação as cegas (anônima)**.

Na página 2, apresentar o **título do trabalho em inglês** na linha abaixo iniciar o **Abstract**, com no máximo **250 palavras** e em parágrafo único; **Keywords**, em inglês, em ordem alfabética, **com exatamente cinco termos** separados por **ponto e vírgula**.

#### Exemplo:

Ant Diversity in Atlantic Forest Fragment

**Abstract.** The aim of the work was study the ant diversity in Atlantic Forest fragment...

**Keywords:** Conservation; Dominance; Ecology; Hymenoptera; Simpson Index

Na página 3, virá o **Resumo** em português e as **Palavras-Chave**, equivalentes às **Keywords**. **Não usar palavras que constem do título do artigo**. Dispor as palavras (termos) em ordem alfabética e separadas por **ponto e vírgula**, inclusive as **Keywords**.

#### Exemplo:

**Resumo.** O objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade de formigas em fragmento de Floresta Atlântica...

**Palavras-Chave:** Conservação; Dominância; Ecologia; Hymenoptera; Índice de Simpson

Caso o trabalho seja em **inglês ou espanhol**, iniciar a página 2 com o **Resumo** em português e na página 3 como o **resumo no idioma do artigo**.

**Caso no título seja informado o nome de alguma espécie está devida ter o nome do(s) autor(es) que a descobriu, sem citar o ano da publicação, exceto na seção Taxonomia e Sistemática.**

Na página 4 deve ser iniciada a Introdução, **sem a necessidade de indicar a palavra**. Em seguida deve vir o item **Material e Métodos**, que deve ser bem explicitado, sem exageros (e.g. Foram utilizados lápis, planilha e prancheta para anotar os dados...), mas o suficiente para que possa ser repetido por outros pesquisadores. O item **Resultados e Discussão** pode vir juntos ou em separado e nele deverá constar as conclusões, pois este item não será explicitado no artigo.

No corpo do texto, os nomes do grupo-gênero e do grupo-espécie devem ser escritos em itálico. Os nomes científicos devem ser seguidos de autor (**não usar Versalete ou SmallCaps**), pelo menos na primeira vez (**não há necessidade de citar o ano da descrição, exceto na seção sistemática e taxonomia, que é opcional**) (ex.: *Camponotus crassus* Mayr). Na segunda citação da espécie em diante, o gênero deve ser abreviado e o nome do autor não deve ser citado (ex.: *C. crassus*). **Notem que o Resumo/Abstract, apesar de ser parte integrante do artigo/comunicação científica, a regra da citação da espécie vale como se fosse um texto a parte, portanto há a necessidade de somente especificar o nome da espécie por extenso uma vez, independente se esta consta no título.** Não usar sinais de marcação, de ênfase, ou quaisquer outros.

Conforme o caso, a Conselho Editorial decidirá como proceder.

Citações devem ser feitas em caixa alta reduzida



## Normas para Publicação

(VERSALETE<sup>1</sup> ou SMALLCAPS), com a primeira letra maiúscula e devem ser citadas da seguinte forma:

1. Apenas uma autor: ZANOL (2006); (RODRIGUES 2014);
2. Dois autores: CASSINO & RODRIGUES 2005;
3. Mais de dois autores: RODRIGUES *et al.* (2010); (RODRIGUES *et al.* 2010).
4. Dentro do parêntese: (CASSINO & RODRIGUES 2005; RODRIGUES 2005; RODRIGUES 2006; ZANOL 2006; RODRIGUES & CASSINO 2011; CASSINO & RODRIGUES 2012), note que está em ordem cronológica, *em primeiro lugar seguido de ordem alfabética crescentes*;
5. Quando o(s) autor(es) publicar(em) mais de um trabalho no mesmo ano: RODRIGUES (2010a, 2010b) ou (RODRIGUES 2005a, 2005b);
6. Quando publicar trabalhos em vários anos: RODRIGUES (2005, 2010) ou (CASSINO *et al.* 2002, 2005; RODRIGUES 2005, 2010).

Verifique que o termo *et al.* está em itálico, sendo utilizado para citar mais de dois autores.

## Exemplos:

Os dados de diversidade, equitabilidade e dominância de espécies foram analisados através do software DivEs - Diversidade de Espécies v3.0 (RODRIGUES 2014)...

Os insetos foram observados com uma ampla distribuição no Rio de Janeiro, mas somente em três municípios (Seropédica, Araruama e Saquarema), verificou-se a presença das 10 espécies (CASSINO & RODRIGUES 2005).

## 2.1. Figuras/Imagens/Gráficos/Tabelas

As figuras (fotografias, desenhos, gráficos e mapas) devem ser sempre numeradas com algarismos *arábicos* e, na ordem de chamada no texto. As escalas, quando necessárias, devem ser colocadas na posição vertical ou horizontal. As tabelas devem ser numeradas com algarismos *arábicos* e incluídas, no final do texto em páginas separadas. Se necessário, gráficos podem ser incluídos no arquivo do texto e, como as tabelas, deverão vir no final do texto, mas é necessário indicar a posição preferencial<sup>2</sup> onde devem ser inseridas as tabelas ou figuras no texto com uma chamada de texto em negrito e centralizada. *Para melhorar a qualidade dos gráficos, serão solicitados os arquivos originais em planilha eletrônica ou em software de geração de gráfico. Estimula-se o envio de gráficos coloridos.*

## Exemplos:

Segundo os dados analisados do trabalho as espécies dominantes foram... (Tabela 1).

Tabela 1

A flutuação populacional das espécies dominantes teve maior pico nos meses mais quentes... (Figura 1).

Figura 1

As figuras em formato digital deverão ser enviadas em arquivos separados (*Não enviar inserido em arquivo texto, tipo Word ou similar, o que torna a qualidade das imagens ruins*). O tamanho da prancha deve ser proporcional ao espelho da página (23 x 17,5 cm), de preferência não superior a duas vezes. Para a numeração das figuras utilizar *Times New Roman 11*, com o número colocado à direita e abaixo. Isto só deve ser aplicado para as pranchas quando em seu tamanho final de publicação. A fonte *Times New Roman* deve ser usada também para rotulagem inserida em fotos, desenhos e mapas (letras ou números utilizados para indicar nomes das estruturas, abreviaturas etc.), o uso de outro tipo de letra (fonte) pode resultar na recusa do artigo/comunicação científica. As figuras devem possuir tamanho apropriado de modo que em seu tamanho final não fiquem mais destacados

1. No Microsoft Word<sup>TM</sup> selecione a citação e pressione ao mesmo tempo Ctrl+Shift+K.

2. No processo de composição do texto do artigo/comunicação científica a posição da figura/tabela pode sofrer alteração em função da melhor posição na editoração eletrônica.

## CORPO EDITORIAL - ENTOMOBASILIS

que as figuras propriamente ditas. As figuras originais não devem conter nenhuma marcação. O Conselho Editorial poderá fazer alterações ou solicitar aos autores uma nova montagem. Fotos (preto e branco ou coloridas) e desenhos a traço devem ser montados em pranchas distintas. As legendas das figuras devem ser apresentadas em página à parte, de preferência ao final do texto. O periódico poderá digitalizar o material com custo. *Estimula-se o envio de figuras coloridas, melhorando a qualidade dos artigos.*

Todas as figuras, esquemas, infográficos, imagens, etc. *devem apresentar a fonte ou autoria no final da legenda.* Caso nenhum dos autores do artigo seja autor da foto será necessário o envio de uma autorização assinada concedendo o uso da imagem pela EntomoBrasilis. O modelo da carta encontra-se no site. A carta deverá ser assinada pelo(s) autor(es) da foto e enviada, *no formato PDF*, via e-mail para [periodico@ebras.bio.br](mailto:periodico@ebras.bio.br).

Os **Agradecimentos** devem ser relacionados no final do trabalho, imediatamente antes das **Referências**. Sugere-se que os autores sejam sucintos e objetivos quando possível, *evitando citar nomes que permita a identificação da autoria, principalmente.*

## 2.2. REFERÊNCIAS

*Não serão aceitas referências de artigos não publicados (no prelo), tão pouco comunicação pessoal ou dados não publicados.* Use referências recentes, dando preferência as publicadas nos últimos 10 anos, como maior enfoque as publicadas nos últimos cinco anos, quando possível. Para melhor padronização das referências, recomenda-se *baixar gratuitamente* o software *EntomoBrasilis - Gerenciador de Referências*, no site do periódico.

Para as **Referências**, adota-se o seguinte padrão:

**2.2.1. Periódicos:** O título do periódico deve ser *escritos por extenso*. No endereço [https://www.periodico.ebras.bio.br/jta\\_index.aspx](https://www.periodico.ebras.bio.br/jta_index.aspx) é possível encontrar uma gama de periódico com seus títulos abreviados e por extenso. Informar somente o volume e as páginas do artigo, ou seja, não há necessidade de informar o número. Havendo DOI o mesmo deve ser informado, da seguinte forma: [https://dx.doi.org/prefixo/doi\\_do\\_artigo](https://dx.doi.org/prefixo/doi_do_artigo).

Cassino, P.C.R. & W.C. Rodrigues, 2005. Distribuição de Insetos Fitófagos (Hemiptera: Sternorrhyncha) em Plantas Cítricas no Estado do Rio de Janeiro. *Neotropical Entomology*, 34: 1017-1021. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000600021>.

Dáttilo, W., E.C. Marques, J.C.F. Falcão & D.D.O. Moreira, 2009. Interações mutualísticas entre formigas e plantas. *EntomoBrasilis*, 2: 32-36. DOI: <https://doi.org/10.12741/ebrasilis.v2i2.44>.

Souza, C.M. & M.L. Paseto, 2015. Description of a Neotropical New Species of *Oxysarcodexia* Townsend, 1917 (Diptera: Sarcophagidae). *EntomoBrasilis*, 8: 222-225. DOI: <https://doi.org/10.12741/ebrasilis.v8i3.524>.

## 2.2.2. Livros:

Haddad, M.L., J.R.P. Parra & R.C.B. Moraes, 1999. Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos. Piracicaba, FEALQ, 29 p.

Pinto-Coelho, R.M., 2000. Fundamentos em ecologia. Porto Alegre, Artmed, 252p.

Schowalter, T.D., 2006. *Insect Ecology: an ecosystem approach*, 2nd Ed. San Diego, Elsevier, 572 p.

## 2.2.3. Capítulo de livro:

Silva-Filho, R., P.C.R. Cassino, E.C. Viegas & J.C. Perruso, 2004. "PIOLHO BRANCO" *Orthezia praelonga*, p. 27-48. In: Cassino, P.C.R. & W.C. Rodrigues (Eds.). *Citricultura Fluminense: Principais pragas e seus inimigos naturais*. Seropédica, EDUR, 168 p.

**2.2.4. Publicações eletrônicas:** Caso a publicação possua DOI incluir o do link ao final da citação.

Francini, R.B. & C.M. Penz, 2006. An illustrated key to male Actinote from Southeastern Brazil (Lepidoptera, Nymphalidae). *Biota Neotropica* 6: BN00606012006. <<http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?identification-key=bn00606012006>>. [Acesso em: 31.03.2014]. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032006000100013>.

Mariottini, Y., M.L. Wysieck & C. Lange, 2010. The biology and some population parameters of the grasshopper, *Ronderosia bergi*, under laboratory conditions. *Journal of Insect Science*, 10: 92. Disponível em: <<http://jinsectscience.oxfordjournals.org/content/10/1/92>>. DOI: <https://dx.doi.org/10.1673/2F031.010.9201>.

#### 2.2.5. Softwares:

Cowell, R.K., 2006. EstimateS - Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Versão 8.2. Disponível em: <<http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates>>.

Rodrigues, W.C., 2014. DivEs - Diversidade de espécies. Versão 3.0. Software e Guia do Usuário. Disponível em: <[www.dives.ebras.bio.br](http://www.dives.ebras.bio.br)>.

R Development Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>.

#### 2.2.6. Boletim

Arioli, C.J., F. Molinari, M. Botton & M.S. Garcia, 2007. Técnica de criação de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em laboratório utilizando dieta artificial para a produção de insetos visando estudos de comportamento e controle. Bento Gonçalves: EMBRAPA (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 13), 12 p.

#### 2.2.7. Dissertação/Tese

Rodrigues, W.C., 2001. Insetos entomófagos de fitoparasitos (Homoptera, Sternorrhyncha) de plantas cítricas no Estado do Rio de Janeiro: ocorrência e distribuição. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 90 f.

Rodrigues, W.C., 2004. Homópteros (Homoptera: Sternorrhyncha) Associados à Tangerina CV. Poncã (*Citrus reticulata* Blanco) em Cultivo Orgânico e a Interação com Predadores e Formigas). Tese (Doutorado em Agronomia: Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 63 f.

*Referências a resumos de eventos não são permitidas e deve-se evitar a citação de dissertações e teses, só serão aceitos resumos de eventos publicados na forma expandida e/ou como suplemento de periódicos.*

**Citações de Trabalhos de Conclusão de Curso não são aceitos pela EntomoBrasilis, assim como trabalhos no prelo ou comunicações pessoais.**

*A forma de citação de resumos expandidos e/ou como suplemento de periódicos deverá respeitar a citação de artigos.*

**A citação de resumos expandidos limita-se a três (03) por submissão, devido a baixa precisão das informações contidas nestes trabalhos.**

### 3. COMUNICAÇÕES CIENTÍFICAS

Nas Comunicações Científicas o texto deve ser corrido sem divisão em itens (**Material e Métodos, Resultados e Discussão**). Inclua o **Abstract** e o **Resumo** seguidos das **Keywords** e **Palavras-Chave**, respectivamente.

### 4. ARTIGOS DE REVISÃO (FÓRUM)

Trabalhos de revisão serão aceito a critério do Conselho Editorial, lembrando que somente um artigo de revisão será

publicado na forma de Fórum, por número, ou seja, serão publicados até três artigos de revisão por ano.

Os artigos de revisão deverão seguir os seguintes itens: **Título** (em português ou inglês ou espanhol), **Resumo** e **Abstract** (seguindo as regras de artigos originais) **Introdução** (omitindo-se este termo), **Revisão**, propriamente dita, dividida em tópicos e em sequência lógica, antes dos **Agradecimentos** e **Referências**, permite-se incluir um item **Considerações Finais**, porém sem características de conclusões.

Figuras, Tabelas, Infográficos são bem vindos em artigos de revisão, assim como em artigos/comunicações científicas, para detalhes veja o item 2.1.

### 5. SISTEMA DE UNIDADES

A EntomoBrasilis adota o Sistema Internacional de Unidade para unidade de medidas, e baseia-se na resolução CONMETRO, nº 12 de 12.10.1988. Devendo desta forma a cosunta a referida resolução através do endereço <http://www.inmetro.gov.br/rese/pdf/RESC000114.pdf>. Nesta norma será abordada apenas alguns aspectos referente ao documento citado. Desta convenção-se para o trabalhos submetidos à EntomoBrasilis o seguinte

1. Unidade térmica: deve ser usada única e exclusivamente o °C (grau Celsius), exeto em trabalhos desenvolvidos em países em que o K (graus Kelvin) é utilizado;
2. A unidade de medida deve ser apresentada com seu símbolo e não por extenso, conforme preconiza a resolução, e.g., horas (h), minutos (min), metro (m), dia (d), decibel (dB), hectare (ha), quilograma-força (kgf), cavalo-vapor (cv ou hp), angstrom (Å), atmosfera (atm), neper (Np), rotação por minuto (rpm), elétronvolt (eV), Tonelada (t), grau (°), minuto (′), segundo (″), litro (L ou l), parsec (pc), gray (Gy), becquerel (Bq), lux (lx), lúmen (lm), candela (cd), weber (Wb), voltampère (VA), henry (H), farad (F), siemens (S), ohm (Ω), volt (V), watt (W), ampère (A), joule (J), Pascal (Pa), newton (N), hertz (Hz), etc;
3. Quando o valor for escrito deve ser separado da unidade, por exemplo, 10 m, 10 L, 10 °C, 50 V, 25 W, 750 lx, 1.200 ha. A norma faculta o uso de espaço em tabelas, já esta norma requer o não uso somente em tabelas/quadros, devido a limitação de espaço, mas para o restante do texto mantém-se o exemplo acima;
4. Excetua-se esta separação as unidades grau, minutos e segundos, seja no texto ou em tabelas/quadros; e
5. Para língua portuguesa a separação de milhar e decimal segue as norma brasileiras, ou seja, a apresentação de um valor com casa de milhar, deve aparecer o ponto de separação, e.g., 1.200 ha. No caso de decimal temos 1,25 Hz e na presença de ambos temos 1.250,85 L; e
6. A escrita de números: valores de zero até nove escreve-se por extenso, exceto quando seguidos de unidade, e.g., sete espécies em local com temperatura de 5 °C ou 17 espécies em local com temperatura de 20 °C.

Recomenda-se ainda a leitura do documento Tradução da publicação do BIPM - Resumo do Sistema Internacional de Unidades - SI, disponível em: [http://www.inmetro.gov.br/consumidor/pdf/resumo\\_si.pdf](http://www.inmetro.gov.br/consumidor/pdf/resumo_si.pdf).

### 6. OUTRAS INFORMAÇÕES

As cópias do texto submetido, juntamente com os pareceres dos consultores, serão enviadas ao autor correspondente indicado no momento da submissão do artigo, para que sejam feitas as correções/alterações sugeridas. **Alterações ou acréscimos ao texto enviados após o seu registro poderão ser recusados. Todo o processo é realizado através do OJS.**

**Após a conclusão da avaliação, ou seja, após o parecer do Editor, não será permitida a inclusão ou retirada de autores da submissão.**

Provas serão enviadas eletronicamente ao autor correspondente e deverão ser devolvidas, com as devidas



### Normas para Publicação

correções, em documento anexo ou através do OJS, no tempo solicitado.

As provas são enviadas em formato PDF e podem receber comentários através das versões mais novas do software Adobe Reader™, entretanto sugere-se que os comentários sejam inseridos também no sistema (OJS) da revista.

O teor científico do trabalho assim como a observância às normas gramaticais são de inteira responsabilidade do(s) autor(es), em qualquer idioma contido no texto.

Sugere-se aos autores que consultem a última edição do periódico para verificar o estilo e layout. *Ao submeter o manuscrito o autor poderá sugerir até três nomes de revisores (que possuam Currículo Lattes e preferencialmente sejam Doutores) para analisar o trabalho, enviando: nome completo, endereço e e-mail. Entretanto, a escolha final dos consultores permanecerá com Editor-Chefe e/ou o Editor de Seção.*

A publicação de registro de nova praga introduzida no Brasil precisa estar de acordo com a Portaria Interministerial 290, de 15/iv/1996, disponível em: <http://goo.gl/8FSL5e>

#### 7. SEPARATAS:

Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis no site do periódico EntomoBrasilis no formato PDF, para serem acessados livremente.

#### 8. EXEMPLARES TESTEMUNHA:

Quando apropriado, o manuscrito deve mencionar a coleção da instituição onde podem ser encontrados os exemplares que documentam a identificação taxonômica.

#### 9. RESPONSABILIDADE:

O teor gramatical, independente de idioma, e científico dos artigos é de inteira responsabilidade do(s) autor(es). O Conselho Editorial poderá sugerir mudanças ou mesmo rejeitar a publicação de artigos caso o teor gramatical seja considerado insuficiente ou não condizente com a linguagem científica e gramatical a qual encontra-se o idioma do texto.

#### 10. COMITÊ DE ÉTICA:

Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar no item **Material e Métodos**, o número do protocolo de aprovação da pesquisa, o nome do comitê e instituição que está sediado/vinculado.

*A omissão dos dados acima solicitado implicará em recusa imediata do artigo/comunicação científica.*

#### 11. SUBMISSÃO DOS ARTIGOS

A submissão dos artigos será realizada somente via eletrônica, através do **Sistema de Gerenciamento de Periódicos o Open Journal System (OJS)** (<https://www.periodico.ebras.bio.br/ojs>), hospedado no site do projeto Entomologistas do Brasil. Para isso, o autor deve se cadastrar no sistema e submeter eletronicamente o arquivo na forma citada no item Preparo do Manuscrito.

Recomenda-se realizar o **checklist** do artigo/comunicação científica, através da ferramenta EntomoBrasilis Checklist, que pode ser adquirida ou acessada gratuitamente no site do periódico.

#### 12. VALOR PRATICADOS PARA DIAGRAMAÇÃO E PUBLICAÇÃO

Em 2015 iniciamos nova forma de cobrança para a diagramação, publicação e indexação de artigos/comunicações científicas submetidas à EntomoBrasilis. Inicialmente padronizamos os valores de comunicação e artigos, mas permitindo que sejam publicadas figuras e tabelas sem acréscimo de valores (vide tabela a seguir, para ver as regras).

O pagamento será feito através do PagSeguro, devendo o ser realizado no prazo estabelecido pelo boleto bancário. Maiores informações podem ser obtidas através do link:

### Corpo Editorial - ENTOMOBASILIS

[https://www.periodico.ebras.bio.br/payment\\_instructions.aspx](https://www.periodico.ebras.bio.br/payment_instructions.aspx)

Publicação	Valor (R\$)*
Diagramação, publicação e indexação de Fórum <sup>1,2</sup>	250,00
Diagramação, publicação e Indexação de Artigo <sup>1,2</sup>	200,00
Diagramação, publicação e Indexação de Comunicação Científica <sup>1,2</sup>	150,00
Adequação do texto às normas	80,00
Adequação das referências às normas	50,00
Adequação das citações às normas	50,00
Diagramação de tabela menor que uma página <sup>3</sup>	45,00/cada item
Diagramação de tabela igual ou maior que uma página <sup>3</sup>	80,00/cada página
Tratamento de imagem/figura <sup>4</sup>	45,00/cada
Remontagem e criação de fórmulas <sup>5</sup>	40,00/ cada fórmula
Remontagem de gráfico <sup>6</sup>	100,00/cada
Publicação de Prancha	120,00/cada

\* Este valores podem ser alterados sem aviso prévio; 1. Independente do número de páginas; 2. Podendo enviar até 4 figuras ou duas pranchas com até 4 figuras cada. Até 4 tabelas menores que uma página ou 2 tabelas maior ou igual a uma página, limitando a até duas páginas cada. Est item não inclui remontagem gráfico e remontagem e/ou a criação de fórmulas; 3. Tratamento de Tabela ou lista de taxa ou quadro, quando ultrapassar os limites do item 2; 4. Tratamento da Figura (imagem, gráfico, mapa, etc.) feita pela EntomoBrasilis no momento da editoração, quando ultrapassar os limites do item 2; 5. Oferecemos remontagem e/ou a criação de fórmulas, uma vez que o as fórmulas do Microsoft Word não oferecem uma boa resolução. Software MathMagic; 6. Oferecemos a remontagem de gráficos em programas como R, Microsoft Excel, Libre Office, IBM SPSS.

#### 13. USANDO O OJS PARA SUBMETTER ARTIGOS

Após o cadastro de um dos autores, que poderá ser feito no site do periódico o mesmo deverá acessar a página do usuário e clicar no **link** autor.

A tela de **Submissões Ativas** será exibida. Para iniciar um novo processo de submissão, basta clicar no link **Clique aqui para iniciar o processo de Submissão**. A partir deste momento o autor responsável pela submissão irá ter que seguir 5 passos até completar o processo, como segue:

##### Passo 1. INÍCIO

##### Condições de submissão

O autor deverá concordar com todos os itens, marcando-os para que possa perseguir para o Passo 2. *É importante a leitura destas condições de submissão.*

##### Declaração de Direito Autoral

O autor deverá concordar com os termos da Declaração de Direito Autoral. *É importante a leitura destes termos.*

##### Seção

O autor seleciona a seção onde pretende publicar o manuscrito. Importante ressaltar que o Corpo Editorial poderá alterar a seção onde o artigo será submetido e ou publicado, caso venha ser aceito.

##### Comentários ao Editor

Comentários poderão ser adicionado ao Editor Chefe. Este espaço é destinado a qualquer uma das questões que envolve o Passo 1.

##### Passo 2. INCLUSÃO DE METADADOS

Neste passo o autor irá incluir todos os autores do trabalho o título e resumo, indexação e órgão de financiamento.

Para a inclusão de cada autor, basta clicar no botão Incluir Autor, posicionado antes do campo Título.

*É importante ressaltar, que cada autor deverá ter seu nome e e-mail cadastrados no seu respectivo local, para evitar problemas no momento da diagramação e publicação do artigo/*



**comunicação científica.**

Nos campos de indexação o responsável pela submissão deverá inserir as informações para os seguintes campos:

7. **Palavras-chave:** Ex.: Constância; Diversidade; Ecologia; Floresta Atlântica.
8. **Idioma:** Português=pt; English=en; French=fr; Spanish=es.

Estes campos são opcionais, mas auxiliam os sistemas de busca, tal como o Google Acadêmico a encontrar os seu artigo, caso ele venha a ser publicado, de maneira mais rápida.

Caso seu trabalho possua financiamento, indique no campo **Agências de Fomento**, o(s) órgão(s) que forneceram auxílio para desenvolver sua pesquisa, podendo ainda ser incluído o número do processo pertinente ao projeto.

**PASSO 3. TRANSFERÊNCIA DO MANUSCRITO**

Para submeter o arquivo contendo o manuscrito a ser avaliado, basta ler as instruções constantes na tela de transferência do manuscrito.

Verifique, que o tamanho máximo do manuscrito **não poderá exceder 2 MB (dois megabytes)**, pois o sistema possui limitações quanto a este quesito. Caso o tamanho do arquivo exceda os 2 MB, mova as tabelas e gráficos do arquivo principal e submeta estes itens do manuscrito através de documentos suplementares, como consta no Passo 4.

O formato do manuscrito poderá ser Microsoft Word™ (.doc) inclusive .docx, Rich Text Format (.rtf), aceito por todos editores e processadores de texto. O formato do OpenOffice™

(LibreOffice™) **atualmente não é aceito**, portanto prefira os formatos acima citados, que são compatíveis com este processador de texto.

**PASSO 4. TRANSFERÊNCIA DE DOCUMENTOS SUPLEMENTARES**

Todos as **fotos, figuras, mapas, etc.** a serem avaliadas, devem ser submetidas através deste passo, reduzindo o tamanho do arquivo principal e agilizando o processo de diagramação, caso o manuscrito venha ser aceito para publicação.

Os formatos dos documentos suplementares poderão ser os seguintes: .jpg ou .gif ou .tif ou .png (para figuras); .rar ou .zip (figuras muito grandes, prefira .rar, por diminuir significativamente o tamanho do arquivo); .doc ou .docx ou .xls ou .xlsx, para gráficos e tabelas muito extensas, caso o tamanho do manuscrito ultrapasse **5 MB** permitidos.

**PASSO 5. CONFIRMAÇÃO**

Este passo é para a confirmação do processo de submissão do manuscrito. A partir desta confirmação o **Editor Chefe** encaminhará o manuscrito para o processo de avaliação, selecionando um Editor de Seção, que será responsável por selecionar o consultores *Adhoc* e acompanhar todo o processo até o momento da edição do texto final, caso o manuscrito venha ser aceito para publicação.

\*\*\*\*\*

Revisão: 09.iii.2018

**Indexação**

Latindex, SEER/IBICT, Dialnet, Agrobases - Literatura Agrícola, Sumários de Revistas Brasileiras, DOAJ, CABI Abstracts, LivRe!, RCAAAP, Diadorim, Electronic Journals Library, Eletronic Journals Index, Fonte Academica - EBSCO, Zoobank, Zoological Records, Agro Unitau, BASE (Bielfield Academic Search Engine)



Creative Commons Licence v4.0



## Anexo B

### Normas Revista Acta Tropica



## ACTA TROPICA

### AUTHOR INFORMATION PACK

#### TABLE OF CONTENTS

• Description	p.1
• Audience	p.2
• Impact Factor	p.2
• Abstracting and Indexing	p.2
• Editorial Board	p.2
• Guide for Authors	p.4



ISSN: 0001-706X

#### DESCRIPTION

*Acta Tropica*, is an international journal on infectious diseases that covers public health sciences and biomedical research with particular emphasis on topics relevant to human and animal health in the tropics and the subtropics.

Its scope includes the biology of pathogens and vectors, host-parasite relationships, mechanisms of pathogenicity, clinical disease and treatment, and we welcome contributions in basic or applied research in disciplines such as epidemiology, disease ecology, diagnostics, interventions and control, mathematical modeling, public health and social sciences, climate change, parasite and vector taxonomy, host and parasite genomics, biochemistry and immunology and vaccine testing.

Contributions may be in the form of original papers, review articles or short communications.

Only manuscripts of high scientific significance and innovation will be considered for publication. Manuscripts of minimal international relevance, case reports, and control strategies at very early inconclusive laboratory stages of development will not be considered for publication.

#### Important Guidelines for Acceptance

Editors and the Editorial Board of *Acta Tropica* provide the following guidelines to help authors prepare manuscripts of high quality that can be considered for publication. Maximize your chances of acceptance by making sure your manuscript: Matches the scientific scope of the journal, Presents results that significantly advance science including innovative new approaches, Meets quality standards of presentation and literature citation, Demonstrates potential health or biomedical impact.

The above points are critical for publication of original papers. Be aware Editors carefully evaluate initial manuscript submissions and only those meeting the above criteria will be forwarded to review. If reviewed favorably and the authors seriously address all concerns, than chances of acceptance are increased. Review papers, in addition, are expected to carefully synthesize the literature and make recommendations to advance respective scientific fields.

#### Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our [Support Center](#)

## AUDIENCE

---

All clinicians and researchers dealing with tropical diseases, including parasitologists, microbiologists, immunologists and epidemiologists

## IMPACT FACTOR

---

2016: 2.218 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2017

## ABSTRACTING AND INDEXING

---

BIOSIS  
 Chemical Abstracts  
 Current Contents  
 EMBASE  
 MEDLINE®  
 Science Citation Index  
 Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases  
 Helminthological Abstracts  
 Tropical Diseases Bulletin  
 Veterinary Bulletin  
 Ecological Abstracts  
 CAB Abstracts  
 Scopus

## EDITORIAL BOARD

---

### *Editors*

**J. Beier**, Division of Environment & Public Health Department, Public Health Sciences University, University of Miami, Miller School of Medicine, Clinical Research Building, 1120 NW 14th Street, Miami, 33136, USA, Fax: +1 305 256 1306

**K. Berzins**, Dept. of Molecular Biosciences, The Wenner-Gren Institute, Stockholms Universitet, The Arrhenius Laboratories F5, SE-10691, Stockholm, Sweden, Fax: +46 8 166488

**N.W. Brattig**, Tropical Medicine Section, Bernhard Nocht Inst., Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359, Hamburg, Germany, Fax: +49 40 42818 400

**F. Guhl**, Fac. de Ciencias, Depto. de Ciencias Biologicas, Calle 18A CRA. 1E Of. A-202, Universidad de Los Andes, Apartado Aereo 4976, Bogotá, Colombia, Fax: 57 1 2841890

### *Editorial Board*

**G. Benelli**, Pisa, Italy

**D. Campbell**, Los Angeles, CA

**J.M. Cordovez**, Bogota, Colombia

**A. Flisser-Steinbruch**, Mexico City, Mexico

**R. Gürtler**, Buenos Aires, Argentina

**J. Hargrove**, Stellenbosch, South Africa

**A. Hassanali**, Nairobi, Kenya

**C. Hatz**, Basel, Switzerland

**A. Ito**, Hokkaido, Japan

**N. Kabatereine**, Kampala, Uganda

**C. H. King**, Cleveland, OH

**I. Krantz**, Skövde, Sweden

**A. Kumar**, Goa, India

**A.G. Lescano**, New Orleans, LA

**S. Manguin**, Montpellier, France

**S. Mas-Coma**, Valencia, Spain

**D.P. McManus**, Brisbane, Queensland, Australia

**G. Muller**, Jerusalem, Israel

**F. Ntoumi**, Brazzaville, Congo  
**P.V. Perkins**, Orrington, Maine, USA  
**K.D. Ramaiah**, Pondicherry, India  
**C.T.D. Ribeiro**, Rio de Janeiro, Brazil  
**L. Rombo**, Eskilstuna, Sweden  
**N. Saravia**, Cali, Colombia  
**S. Sayasone**, Basel, Switzerland  
**G. Schaub**, Bochum, Germany  
**P. Steinmann**, Basel, Switzerland  
**J.R. Stothard**, Liverpool, England, UK  
**S.R. Telford**, North Grafton, Massachusetts, USA  
**J. Utzinger**, Basel, Switzerland  
**G. Vallejo**, Ibague, Colombia  
**J. Vontas**, Heraklion, Crete, Greece  
**M. Wahlgren**, Solna, Sweden  
**J. Waikagul**, Bangkok, Thailand  
**M. Walker**, London, UK  
**M.L. Wilson**, Ann Arbor, Michigan, USA  
**R.-D. Xue**, St. Augustine, Florida, USA  
**S. Zakeri**, Tehran, Iran  
**B. Zhan**, Houston, TX  
**E. Zhioua**, Tunis, Tunisia  
**X.-N. Zhou**, Shanghai, China  
**B. Zingales**, Sao Paulo - SP, Brazil

## GUIDE FOR AUTHORS

---

### *Your Paper Your Way*

We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article.

**To find out more, please visit the Preparation section below.**

### INTRODUCTION

*Acta Tropica* publishes original research papers, short communications, review articles and letter to the editor. Original papers **should normally not exceed 10 printed pages** including tables and figures. Short communications should not exceed 4 printed pages including tables and figures. Manuscripts must be accompanied by a letter signed by all the authors. Submission of a paper to *Acta Tropica* is understood to imply that it has not previously been published (except in an abstract form), and that it is not being considered for publication elsewhere. The act of submitting a manuscript to *Acta Tropica* carries with it the right to publish the paper. Responsibility for the accuracy of the material in the manuscript, including bibliographic citations, lies entirely with the authors. Letters to the Editor is considered for publication provided it does not contain material that has been submitted or published elsewhere. The text, not including references, must not exceed 1000 words. The letter can have one figure or small table. When a letter refers to an article recently published in *Acta Tropica*, the opportunity for reply will be given to the authors of the original article. Such a reply will be published along with the letter. Start the letter with "Dear Editor".

### *Submission checklist*

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

#### **Ensure that the following items are present:**

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

*Manuscript:*

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

*Graphical Abstracts / Highlights files* (where applicable)

*Supplemental files* (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

### BEFORE YOU BEGIN

#### *Ethics in publishing*

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).



### **Declaration of interest**

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

### **Submission declaration and verification**

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

### **Preprints**

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

### **Changes to authorship**

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

### **Article transfer service**

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information](#).

### **Copyright**

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

### **Author rights**

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

### *Elsevier supports responsible sharing*

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

### **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

### *Funding body agreements and policies*

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

### **Open access**

This journal offers authors a choice in publishing their research:

#### **Subscription**

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our [universal access programs](#).
- No open access publication fee payable by authors.

#### **Open access**

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following [Creative Commons user licenses](#):

#### *Creative Commons Attribution (CC BY)*

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

#### *Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)*

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 2350**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <https://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

#### *Green open access*

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our [green open access page](#) for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription

articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. [Find out more.](#)

This journal has an embargo period of 12 months.

#### *Elsevier Researcher Academy*

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

#### *Language (usage and editing services)*

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's WebShop.

#### **Submission**

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

### **PREPARATION**

#### **NEW SUBMISSIONS**

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or layout that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

**Please submit the manuscript with double line spacing and with continuous line numbering.**

#### *References*

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

#### *Formatting requirements*

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections.

#### *Figures and tables embedded in text*

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file. The corresponding caption should be placed directly below the figure or table.



### Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. [More information on types of peer review.](#)

### REVISED SUBMISSIONS

#### *Use of word processing software*

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

**Please submit the manuscript with double line spacing and with continuous line numbering.**

### Article structure

#### *Subdivision - numbered sections*

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

#### *Introduction*

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

#### *Material and methods*

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

#### *Theory/calculation*

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

#### *Results*

Results should be clear and concise.

#### *Discussion*

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

#### *Conclusions*

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

#### *Appendices*

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

### Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-

case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

• **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

• **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

### **Abstract**

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

### **Graphical abstract**

Please provide, when submitting your article, a graphical abstract. This comprises the title, authors and affiliations, identical to the article itself, a summary of about 25 words, and a pictogram: one figure representative of the work described. Maximum image size: 400 × 600 pixels (h × w, recommended size 200 × 500 pixels). Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples.

### **Highlights**

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view [example Highlights](#) on our information site.

### **Keywords**

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

### **Abbreviations**

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

### **Acknowledgements**

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

### **Formatting of funding sources**

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

#### *Units*

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

#### *Math formulae*

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

#### *Footnotes*

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article.

### **Artwork**

#### *Electronic artwork*

##### *General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files. A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

##### *Formats*

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

##### **Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

##### *Color artwork*

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

##### *Illustration services*

[Elsevier's WebShop](#) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.



### *Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

### *Tables*

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

### *References*

#### *Citation in text*

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

#### *Web references*

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

#### *Data references*

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

#### *References in a special issue*

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

#### *Reference management software*

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#) and [Zotero](#), as well as [EndNote](#). Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/acta-tropica>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

#### *Reference formatting*

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

#### *Reference style*

*Text:* All citations in the text should refer to:

1. *Single author*: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
  2. *Two authors*: both authors' names and the year of publication;
  3. *Three or more authors*: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.
- Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown ....'

*List*: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

*Examples*:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Reference to a website:

Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. Mendeley Data, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

*Journal abbreviations source*

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

### **Video**

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

### **AudioSlides**

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. [More information and examples are available](#). Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

### **Supplementary material**

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to

supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

### **Research data**

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

#### *Data linking*

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking](#) page.

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

#### *Mendeley Data*

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals](#) page.

#### *Data in Brief*

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee of 500 USD is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the [Data in Brief website](#). Please use [this template](#) to write your Data in Brief.

#### *Data statement*

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement](#) page.

### **AFTER ACCEPTANCE**



### **Online proof correction**

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

### **Offprints**

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#). Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

### **AUTHOR INQUIRIES**

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).