



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO PARÁ
INSTITUTO EVANDRO CHAGAS - SVSA/MS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA PARASITÁRIA NA AMAZÔNIA

**FAUNA DE CULICIDAE (DIPTERA: CULICOMORPHA) DE UM FRAGMENTO
FLORESTAL NO MUNICÍPIO DE BELÉM, PARÁ, BRASIL**

DANIEL DAMOUS DIAS

BELÉM-PA
2023

DANIEL DAMOUS DIAS

FAUNA DE CULICIDAE (DIPTERA: CULICOMORPHA) DE UM FRAGMENTO
FLORESTAL NO MUNICÍPIO DE BELÉM, PARÁ, BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia da Universidade do Estado do Pará/Instituto Evandro Chagas como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Parasitária na Amazônia.

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Pinto Nunes Neto.

BELÉM-PA
2023

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UEPA / SIBIUEPA**

Dias, Daniel Damous.

Fauna de culicidae (diptera: culicomorpha) de um fragmento florestal no Município de Belém, Pará, Brasil / Daniel Damous Dias. – Belém-Pa: UEPA; IEC, 2023. 77f.

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Pinto Nunes Neto.

Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária na Amazônia)– Programa de Pós-graduação Mestrado em Biologia Parasitária na Amazônia. Universidade do Estado do Pará, 2023.

1. Culicidae. 2. Fragmento Florestal. 3. Diversidade. 4. Amazônia. I. Nunes Neto, Joaquim Pinto, orient. II. Instituto Evandro Chagas. III. Universidade do Estado do Pará. IV. Título.

CDD 22. ed. 614.43

DANIEL DAMOUS DIAS

**FAUNA DE CULICIDAE (DIPTERA: CULICOMORPHA) DE UM FRAGMENTO
FLORESTAL NO MUNICÍPIO DE BELÉM, PARÁ, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária na Amazônia da Universidade do Estado do Pará/Instituto Evandro Chagas como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Parasitária na Amazônia.

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Pinto Nunes Neto.

Banca examinadora: Prof. Dr. Carlos Alberto Marques de Carvalho
Departamento de Patologia
Universidade do Estado do Pará - UEPA

Prof. Dr. Walter Souza Santos
Laboratório de Epidemiologia das Leishmanioses
Seção de Parasitologia - Instituto Evandro Chagas/SVSA/MS

Prof. Dr. Thiago Vasconcelos dos Santos
Laboratório de Leishmanioses Prof.Dr.Ralph Lainson
Seção de Parasitologia - Instituto Evandro Chagas/SVSA/MS

Prof^a. Dra. Livia Medeiros Neves Casseb
Laboratório de Raiva
Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas
Instituto Evandro Chagas/SVSA/MS

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, por todo apoio, e incentivo aos estudos. Pela infinita paciência de me ouvirem falar sobre mosquitos, arbovirus, bioinformática, plantas e guitarra nestes últimos anos.

Agradeço ao Dr. Joaquim Pinto Nunes Neto, meu orientador, professor e amigo. Pessoa esta que tenho como referência. Não há palavras que possam resumir minha gratidão por todos os ensinamentos transmitidos desde os primeiros passos na iniciação científica, até o presente momento, prestes a defender esta dissertação de mestrado. Muito obrigado mestre!

Agradeço ao Msc. Hamilton Antônio de Oliveira Monteiro (*In memoriam*). Grande ser humano e profissional que trouxe inestimáveis contribuições à entomologia médica e para a saúde pública brasileira. Obrigado Mestre Hamilton, por todo suporte e incentivo ao estudo da taxonomia. Foi uma honra tê-lo como professor. Esse trabalho é um dos frutos de suas inúmeras contribuições!

Agradeço aos servidores Durval Bertram Rodrigues Vieira, Roberto Carlos Feitosa Brandão, Msc. José Wilson Rosa Júnior por todo apoio e amizade. E em especial, à Dra. Bruna Laís Sena do Nascimento, excelente entomóloga e profissional que trouxe contribuições decisivas para este trabalho, fica aqui registrado minha gratidão!

Agradeço a todos os profissionais, pesquisadores, técnicos, auxiliares e secretários da SAARB, em especial Dra. Eliana Pinto da Silva, Dra. Ana Lúcia Monteiro Wanzeller, Dra. Ana Cecília Ribeiro Cruz, à chefia da SAARB - Dra. Livia Medeiros Neves Casseb e à Diretora do IEC - Dra. Lívia Carício Martins, Sr Odirley Santos, Aguinaldo Borges, Andréia Albuquerque e dona Rosemary.

Agradeço à excelente equipe de alunos e amigos do Laboratório de Entomologia Médica da SAARB, à Dra. Rossela Damasceno Caldeira, Msc. Lúcia Aline Moura Reis, Msc. Fábio Silva da Silva, Msc. Sâmia Luzia do Nascimento, Hanna Carolina, Bárbara Garcia, reitero a honra de tê-los como parte dessa caminhada.

Agradeço enormemente aos membros de banca avaliadora: Prof. Dr. Carlos Alberto Marques de Carvalho, Prof. Dr. Walter Souza Santos, Prof. Dr. Thiago Vasconcelos dos Santos e Prof^a Dra. Livia Medeiros Neves Casseb pelo aceite do convite para participar da avaliação deste estudo, e por fazerem parte dessa etapa tão importante da minha formação.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Biologia Parasitária na Amazônia (UEPA/IEC), na pessoa do coordenador Prof. Dr. Pedro Fernando da Costa Vasconcelos e da secretária do PPGPA, Sylvania Coelho, por todo suporte durante todo o processo do mestrado.

Agradeço à Prof^a Dra. Flavia Barreto dos Santos (Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro), ao Coronel Rodrigo Alves dos Santos e Coronel Antonio Cristiano de Lima Teixeira (Força Aérea Brasileira) pelo suporte e permissão para a realização deste estudo no Clube de Oficiais da Aeronáutica, Guarnição de Belém.

Ao setor de transporte do IEC pelo apoio logístico durante as excursões ao campo.

Agradeço à Msc. Karoline da Silva Castro, que me sugeriu tentar o PIBIC No Laboratório de Entomologia Médica da SAARB/IEC. O que tornou tudo isso possível.

À minha irmã, Luanda Nardilza Pinto Paranhos da Silva.

Aos meus amigos, Dr. Sandro Patroca da Silva e Carol Patroca da Silva, por todo apoio e pela amizade.

Aos meus amigos, Dr. Edivaldo Costa Souza Junior, Dr. Kenny da Costa Pinheiro, Dr. Mike Barbosa dos Santos, Dra. Alessandra Pereira.

Aos profissionais da Itororó Service, por todo o suporte, em especial aos meus amigos Keiler Nascimento, Isaac Matos e Izoneide Furtado.

Agradeço à CAPES pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	6
LISTA DE TABELAS.....	7
LISTA DE ABREVIATURAS.....	8
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 GENERALIDADES E CARACTERÍSTICAS DOS ARTRÓPODES.....	11
2 FAMÍLIA CULICIDAE.....	12
3 OBJETIVOS.....	17
3.1 OBJETIVO GERAL.....	17
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	18
4.2 ÁREA DE ESTUDO.....	18
4.3 VARIÁVEIS CLIMÁTICAS E GEORREFERÊNCIAMENTO.....	19
4.4 TÉCNICAS DE AMOSTRAGEM.....	20
4.4.1 Atração Humana Protegida Esclarecida.....	20
4.4.2 Rede Entomológica (Puçá), aparelho de sucção oral e Tubos tipo <i>falcon</i>	22
4.4.3 Armadilha Luminosa CDC.....	22
4.5 MODALIDADES DE AMOSTRAGEM.....	22
4.6 AMOSTRAGENS, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO.....	24
4.7 IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA.....	25
4.8 ANÁLISE DE DADOS.....	26
4.8.1 Composição Faunística.....	26
4.8.2 Abundância e Riqueza de Espécies.....	26
4.8.3 Diversidade de Espécies.....	27
5 RESULTADOS.....	33

6 DISCUSSÃO.....	52
7 CONCLUSÃO.....	60
8 REFERÊNCIAS.....	62
9 ANEXOS.....	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática do ciclo biológico, morfologia da forma adulta e características morfológicas específicas dos culicídeos.....	13
Figura 2: Mapa de localização da área de estudo.....	19
Figura 3: Mapa das áreas do COAGB e Parque Estadual do Utinga.....	20
Figura 4: Representação da técnica de ATHPE e instrumentos de coleta	21
Figura 5: Armadilha luminosa do tipo CDC.....	22
Figura 6: Representação da distribuição de culicídeos no interior da floresta.....	23
Figura 7: Representação da modalidade de amostragem em copa arbórea.....	24
Figura 8: Ordenamento da abundância dos espécimes amostrados no estudo.....	36
Figura 9: Ordenamento da abundância para os meses de estudo.....	41
Figura 10: Mapeamento gráfico dos perfis de diversidade.....	44
Figura 11: Curva de amostragem de rarefação e extrapolação baseada no tamanho da Amostra para cada mês individualmente.....	45
Figura 12: Curva de completude da amostra para cada mês individualmente.....	46
Figura 13: Gráfico das variáveis ambientais registradas no mês de abril.....	50
Figura 14: Gráfico das variáveis ambientais registradas no mês de maio.....	51
Figura 15: Gráfico das variáveis ambientais registradas no mês de agosto.....	51
Figura 16: Gráfico das variáveis ambientais registradas no mês de setembro.....	52
Figura 17: Gráfico da matriz de correlação.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Relação dos principais gêneros de culicídeos de importância médica.....	14
Tabela 2: Assembléia de Culicídeos amostrados no estudo	32
Tabela 3: Ordenamento da abundância de culicídeos amostrados no mês de abril	34
Tabela 4: Ordenamento da abundância de culicídeos amostrados no mês de maio	37
Tabela 5: Ordenamento da abundância de culicídeos amostrados no mês de agosto	38
Tabela 6: Ordenamento da abundância de culicídeos amostrados no mês de setembro	39
Tabela 7: Perfil de dominância dos culicídeos amostrados.....	40
Tabela 8: Distribuição das medidas de diversidade para os meses de estudo.....	41
Tabela 9: Ordem de diversidade para os períodos de estudo baseados em parâmetro (q).....	42
Tabela 10: Variáveis e seus métodos de obtenção.....	43
Tabela 11: Variáveis abióticas semanais.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

IEC	Instituto Evandro Chagas
SAARB	Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas
COAGB	Clube de Oficiais da Aeronáutica de Belém
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
MC	Muito chuvoso
PC	Pouco chuvoso
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
ATPHE	Atração Humana Protegida Esclarecida
AR	Registro de Artrópodes
DMG	Índice de Margalef
S	Riqueza
H'	Índice de Shannon
D	Índice de Simpson
SLEV	<i>Saint-Louis Encephalitis virus</i>
ILHV	<i>Ilheus virus</i>
OROV	<i>Oropouche orthobunyavirus</i>
CARV	<i>Caraparu virus</i>
AURV	<i>Aura virus</i>
VEEV	<i>Venezuelan Equine Encephalitis virus</i>
UNAV	<i>Una virus</i>
ORIV	<i>Oriboca virus</i>
MUCV	<i>Mucambo virus</i>
MIRV	<i>Mirim virus</i>
YFV	<i>Yellow Fever virus</i>
CHIKV	<i>Chikungunya virus</i>
DENV	<i>Dengue virus</i>
KRIV	<i>Kairi virus</i>
ROCV	<i>Rocio virus</i>
MAGV	<i>Maguari virus</i>
MELV	<i>Melao virus</i>
IERIV	<i>Ieri virus</i>
WYOV	<i>Wyeomyia virus</i>
GMAV	<i>Guama virus</i>
MAYV	<i>Mayaro virus</i>
ARUV	<i>Aruac virus</i>
ITPV	<i>Itaporanga virus</i>
BSQV	<i>Bussuquara virus</i>
MOJUV	<i>Moju virus</i>

RESUMO

Os artrópodes da família Culicidae são conhecidos popularmente como mosquitos, carapanãs e pernalongos. Esse grupo é de grande importância, pois nele estão inseridas espécies de mosquitos transmissores de agente etiológicos arbovirais, tais como Chikungunya virus, Dengue virus, Zika virus, Yellow fever virus, além de protozoários (*Plasmodium* spp.) causadores da malária e helmintos como a *Wuchereria bancrofti*, causadora da filariose linfática. Eles se destacam como o grupo de maior competência vetorial na transmissão desses agentes infecciosos. Além de sua importância epidemiológica, os culicídeos podem ser usados como biomarcadores de qualidade ambiental, por meio da presença ou ausência de determinadas espécies. Estudos voltados para a identificação da fauna de culicídeos em fragmentos florestais na Região Metropolitana de Belém (RMB) são escassos. Portanto, o objetivo deste estudo foi realizar um inventário faunístico para avaliar a composição, riqueza e diversidade de espécies de culicídeos, e como as variáveis abióticas (temperatura, umidade e precipitação) afetam a abundância e riqueza desses insetos. Entre os meses de abril e maio de 2022, foram coletados culicídeos adultos por meio de atração humana protegida e armadilhas CDC nos estratos de solo e copa arbórea. Os espécimes foram identificados com o auxílio de chaves dicotômicas e agrupados em lotes por espécies. Um total de 1.408 espécimes foram coletados, resultando na identificação de 34 espécies classificadas em dez gêneros. Dentre essas espécies, destacam-se o primeiro registro de ocorrência de *Sabethes* (*Peytonulus*) *undosus* no Estado do Pará, e o registro de *Culex trifidus*, *Wyeomyia hosautus* e *Wyeomyia splendida* na RMB. Curvas de rarefação e extrapolação sugerem que os meses mais chuvosos apresentam maior diversidade em comparação ao período menos chuvoso. Apenas uma correlação positiva e significativa foi observada entre as variáveis de abundância de culicídeos e umidade mensal. A presença de espécies do gênero *Sabethes*, característicos de ambientes preservados, sugere que a área apresenta relativa preservação ambiental, mas com um gradiente de perturbação ambiental devido à presença das espécies *Ae. serratus*, *Ae. scapularis*, *Ma. indubitans* e *Cq. venezuelensis*. A identificação de espécies de importância epidemiológica, como *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. serratus*, *Ae. scapularis*, *Ps. ferox*, *Ps. albipes*, *Cx. coronator*, *Ma. indubitans*, *Cq. venezuelensis* e *Sa. glaucodaemon*, são indicadores de possíveis riscos à saúde pública. Essas espécies são vetores de diversos arbovirus, e portanto, o monitoramento da população de mosquitos da área é importante para a prevenção e o controle de doenças transmitidas por vetores.

PALAVRAS-CHAVE: Culicidae. Fragmento Florestal. Diversidade. Amazônia

ABSTRACT

Arthropods of the Culicidae family are commonly known as mosquitoes, midges, and gnats. This group is of great epidemiological importance because it is involved in the transmission of diseases caused by arboviral etiological agents, such as *Chikungunya virus*, *Dengue virus*, *Zika virus*, *Yellow Fever virus*, nematode and protozoa such as filariasis and malaria respectively. They stand out as the greatest vector competence group in the transmission of these infectious agents. In addition to their epidemiological importance, culicidae can be used as biomarkers of environmental quality, through the presence or absence of certain species. Studies aimed at identifying the culicidae fauna in forest fragments in the Metropolitan Region of Belém (RMB) are scarce. Therefore, the objective of this study was to conduct a fauna inventory to know, estimate, and evaluate the composition, richness, and diversity of Culicidae species, as well as the relationship of abiotic variables with the abundance and richness of these insects in a forest fragment in the RMB. Between April and May 2022, adult culicidae were collected using protected human attraction and CDC traps in the ground and arboreal canopy strata. The specimens were identified using dichotomous keys and grouped in lots by species. A total of 1,408 specimens were collected, resulting in the identification of 34 species classified in ten genera. Among these species, the first record of occurrence of *Sabethes (Peytonulus) undosus* in the state of Pará stands out, as well as the record of *Culex triffidus*, *Wyeomyia hosautos*, and *Wyeomyia splendida* in the RMB. Rarefaction and extrapolation curves suggest that the rainiest months have greater diversity compared to the less rainy period. Only one positive and significant correlation was observed between culicidae abundance variables and monthly humidity. The presence of *Sabethes* genus species, characteristic of preserved environments, suggests that the area has relative environmental preservation, but with a gradient of environmental disturbance due to the presence of *Ae. serratus*, *Ae. scapularis*, *Ma. indubitans*, and *Cq. venezuelensis* species. The identification of species of epidemiological importance, such as *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. serratus*, *Ae. scapularis*, *Ps. ferox*, *Ps. albipes*, *Cx. coronator*, *Ma. indubitans*, *Cq. venezuelensis*, and *Sa. glaucodaemon*, are indicators of possible risks to public health. These species are vectors of several arboviruses, thus monitoring the mosquito population in the area is important for the prevention and control of vector-borne diseases.

KEY-WORDS: Culicidae. Forest Fragment. Diversity. Amazonia

1 INTRODUÇÃO

1.1 GENERALIDADES E CARACTERÍSTICAS DOS ARTRÓPODES

Estima-se que, há cerca de 600 milhões de anos, nos oceanos do período precambriano, os primeiros membros do filo Arthropoda surgiram na Terra. Devido às características ambientais dos períodos geológicos que estariam por vir, sofreram uma série de radiações adaptativas, tais como o desenvolvimento de sistemas fisiológicos e morfológicos variados, bem como, adaptação às mudanças ambientais, tal fato os levou a ser, ao longo da história natural até a atualidade, o filo cuja a diversidade é a maior do reino animal. Com mais de 1 milhão de espécies, seus representantes ocorrem em praticamente, todos os ambientes da terra, constituindo 81,5% de todas espécies animais vivas descritas. Adicionalmente, com o conhecimento humano limitado sobre a biodiversidade do planeta, estima-se que o número de espécies não descritas variam de 3 milhões a mais de 100 milhões (Ruppert, 2005; Brusca & Brusca, 2018).

Como características morfológicas gerais, os artrópodes apresentam corpo segmentado em cabeça, tórax e abdôme; apêndices articulados; três pares de pernas; um par de antenas; presença ou ausência de asas e corpo formado pela justaposição de escleritos. Sua morfologia, bem como o conjunto de adaptações por ela desenvolvidas, favoreceu-os em circunstâncias predatórias, com agilidade no deslocamento e busca de alimentos, além de diversas relações com outros seres vivos, o que os distingue como o grupo mais bem sucedido entre os animais, que comprovadamente afetaram a evolução humana. (Brusca & Brusca, 2018).

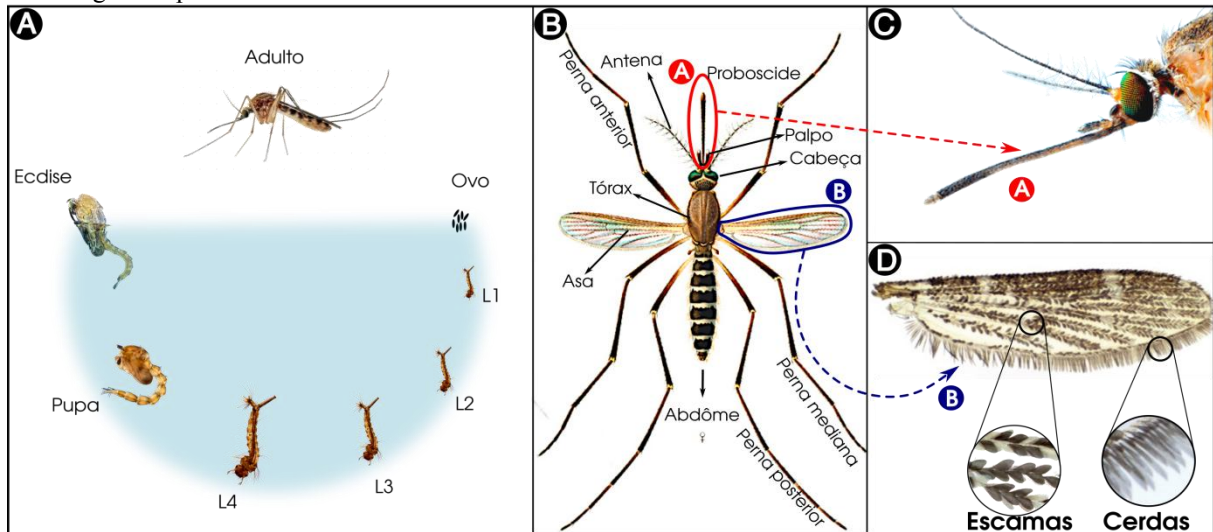
Devido à sua ampla dispersão, adaptabilidade às características ambientais, além de sua relação com diversos outros animais, muitos fatores relacionados aos seus hábitos e comportamentos impactam significativamente os espaços geográficos naturais e humanos, pois muitas espécies atuam como polinizadores e recicladores de nutrientes. No entanto, várias outras espécies podem causar impactos desfavoráveis, devido à sua atuação como pragas agrícolas e de animais de criação, assim também, como vetores biológicos de doenças, afetando severamente a saúde pública e a economia (Brusca & Brusca, 2018), visto que muitas espécies atuam em ciclos de transmissão de muitos agentes etiológicos, tais como vírus e protozoários que acometem populações humanas e em outros animais (Consoli & Lourenço de Oliveira, 1994; Forattini, 2002). No contexto epidemiológico, os culicídeos, são um dos principais grupos do filo Arthropoda de importância, sendo um dos mais estudados por destacarem-se como os animais que mais matam (indiretamente) no planeta.

2 FAMÍLIA CULICIDAE

Os artrópodes da família Culicidae Meigen, 1818 pertencem à ordem Diptera e infraordem Culicomorpha, os quais são popularmente conhecidos como mosquitos, carapanãs, pernalongos e/ou muriçocas, e apresentando um corpo delgado recoberto por escamas, medindo cerca de 3-9 mm de comprimento (Wilkerson, Linton & Strickman, 2021). Estes organismos apresentam uma vasta distribuição geográfica, com significativa ocorrência nas regiões tropicais e subtropicais, estendendo-se até próximo ao círculo ártico, contudo, ausentes em registros nas regiões permanentemente congeladas, como a Antártida. Podem ser encontrados em altitudes de 5.500 metros e em profundidades terrestres de 1250 metros abaixo do nível do mar (Forattini, 2002; Silver, 2007).

Morfológicamente, o corpo destes organismos é dividido em cabeça, tórax e abdôme. Na cabeça, quase completamente ocupada por olhos compostos, encontra-se um par de antenas, sendo pilosas nas fêmeas e plumosas nos machos; aparelho bucal do tipo picador-sugador (probóscida) responsável pela alimentação; e palpos maxilares, que auxiliam em funções sensoriais e são importantes estruturas utilizadas na identificação taxonômica já em nível de subfamília. No tórax, encontram-se três pares de longas pernas recobertas por escamas, e as asas, que são compostas por veias alares contendo cerdas e escamas, e que configuram também importantes características para a classificação taxonômica em nível de família (Culicidae) e, em determinados casos de espécie. Por fim, o abdome nestes é dividido em dois segmentos: tergito (parte superior) e esternito (inferior), onde se encontram as estruturas reprodutivas (Forattini, 2002) (Figura 1)

Figura 1: Representação esquemática do ciclo biológico, morfologia da forma adulta e características morfológicas específicas dos culicídeos.



Legenda: (1.A) - Ciclo biológico holometábolo (desenvolvimento completo) que ocorre em quatro fases: ovo, larva - com quatro estádios de ecdiase (L1, L2, L3 e L4), seguida da fase pupal, por fim, a fase adulta. As três primeiras fases ocorrem em ambiente aquático e a fase adulta é terrestre; (1.B) - Estruturas morfológicas do indivíduo adulto; (1.C) - Características morfológicas específicas dos culicídeos, contando com a presença do aparelho bucal tipo picador-sugador (proboscida), e a presença de cerdas e escamas nas asas (1.D).

Fonte: Adaptado. Centre for Disease Prevention and Control - ECDC (2021).

Os culicídeos são insetos que apresentam um ciclo de desenvolvimento completo (holometabolía) dividido em quatro estádios: ovo, larva, pupa e adulto. Os três primeiros estágios de desenvolvimento ocorrem na água: após a eclosão dos ovos, as larvas se alimentam de detritos orgânicos de forma ativa até alcançarem a fase de pupa, onde já não necessitam de alimentação e perduram até a eclosão da forma adulta, que, por sua vez, é terrestre e passa a atuar na reprodução e dispersão de nova prole (Forattini, 2002; Wilkerson, Linton & Strickman, 2021).

Na fase adulta, para a realização de suas funções biológicas, os mosquitos necessitam de água e fontes energéticas (carboidratos) presentes em néctares de flores, frutas e exsudatos (Forattini, 2002; Harbach, 2007). A alimentação açucarada é fator comum para ambos os sexos (fitofagia), no entanto, somente as fêmeas necessitam realizar o repasto sanguíneo (hematofagia), o que ocorre em virtude do cumprimento dos fatores reprodutivos, para os quais os subprodutos da digestão do sangue são essenciais à maturação da prole, contribuindo também para a longevidade das fêmeas (Consoli & Lourenço de Oliveira, 1994; Forattini, 2002). Os vertebrados de sangue quente são uma fonte comum de sangue para a maioria das espécies de mosquitos, no entanto algumas espécies também possuem tropismo por determinados animais de sangue frio, como sangue-sugas, cobras, tartarugas, sapos, rãs e até

mesmo, outros artrópodes, incluindo cigarras ninfas, larvas, borboletas e mantídeos (Harbach, 2007).

A hematofagia é um dos principais comportamentos que atribui relevância epidemiológica aos culicídeos, pois, além do incômodo causado pela ação das picadas, é nesse momento que ocorre, em determinadas circunstâncias, a transmissão de patógenos para seus hospedeiros (Consoli & Lourenço de Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

A família Culicidae compreende um conjunto de táxons monofiléticos, com todos os seus representantes descendendo de um único ancestral comum (Harbach, 2007). Estes apresentam características morfológicas que os diferenciam de outros dípteros filogeneticamente mais próximos, como aqueles pertencentes às famílias Dixidae, Chaoboridae e Chironomidae, apresentando apomorfias como a disposição de escamas nas veias alares, a ausência de ocelo, assim como características comportamentais e ecológicas singulares (Forattini, 2002; Harbach, 2013, Wilkerson, Linton & Strickman, 2021). Embora seja um grupo altamente diversificado, numerosos estudos taxonômicos voltados para a filogenia de culicídeos sugerem que existem diversas lacunas a serem compreendidas, principalmente com relação aos gêneros de ocorrência em ambientes silvestres (Harbach, 2007).

Atualmente, a família Culicidae conta com cerca de 3.616 espécies e subespécies válidas e mundialmente distribuídas em 113 gêneros, e divididas em duas subfamílias: Anophelinae, contendo seis gêneros, e Culicinae com 110 gêneros classificados em 11 tribos. Com exceção das tribos Hodgesiini e Ficalbiini, no Brasil, há a ocorrência de nove tribos (Tabela 1) e estima-se que 490 espécies são encontradas no país, no entanto, apenas 5% dessas apresentam alguma relação com ciclos de transmissão de agentes infecciosos para o ser humano e outros animais (Guedes, 2012; Harbach, 2013).

Tabela 1: Relação dos principais gêneros de culicídeos de importância médica.

Subfamílias	Tribos	Gênero(s)	Descritor(es)
Anophelinae	-	<i>Anopheles</i> *	Meigen, 1818
	-	<i>Chagasia</i>	Cruz, 1906
	-	<i>Bironella</i>	Theobald, 1905
	-	<i>Cellia</i> *	Theobald, 1902
	-	<i>Nyssorhynchus</i> *	Blanchard, 1902
	-	<i>Kerteszia</i> *	Theobald, 1905
	Aedeomyiini	<i>Aedeomyia</i>	Theobald, 1905
		<i>Aedes</i> *	Meigen, 1818
	Aedini	<i>Haemagogus</i> *	Williston, 1896
		<i>Psorophora</i> *	Robinaeu – Desvoidy, 1827
		<i>Culex</i> *	Linnaeus, 1758
	Culicini	<i>Deinocerites</i>	Theobald, 1901
		<i>Lutzia</i>	Theobald, 1903

		<i>Allotheobaldia</i>	Brolemann, 1919
		<i>Austrotheobaldia</i>	Dobrotworsky, 1954
		<i>Climacura</i>	Dyar & Knab, 1915
	Culisetini	<i>Culicella</i>	Felt, 1904
		<i>Culiseta*</i>	Felt, 1904
		<i>Neotheobaldia</i>	Dobrotworsky, 1958
		<i>Theomyia</i>	Edwards, 1930
	Mansoniini	<i>Coquillettidia*</i>	Dyar, 1905
		<i>Mansonia*</i>	Blanchard, 1848
Culicinae	Orthopodomyiini	<i>Orthopodomyia</i>	Theobald, 1904
		<i>Isostomyia</i>	Coquillett, 1906
		<i>Johnbelkinia</i>	Zavortink, 1979
		<i>Limatus</i>	Theobald, 1901
		<i>Onirion</i>	Peyton & Harbach, 2000
	Sabethini	<i>Runchomyia</i>	Theobald, 1903
		<i>Sabethes*</i>	Robinaeu – Desvoidy, 1827
		<i>Shannoniana</i>	Lane & Cerqueira, 1942
		<i>Trichoprosopon</i>	Theobald, 1901
		<i>Wyeomyia*</i>	Theobald, 1901
	Uranotaenini	<i>Uranotaenia</i>	Lynch Arribáizaga, 1891
	Toxorhynchitini	<i>Toxorhynchites</i>	Theobald, 1901

Legenda: Os gêneros assinalados com (*) são distinguidos por sua importância médico-epidemiológica.

Fonte: (Harbach, 2013; WRBU, 2023).

Com exceção do gênero *Toxorhynchites*, que é reconhecido por não conter registro de espécies hematófagas, destacam-se dentre os principais gêneros de interesse médico e sanitário destacam-se: *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Coquillettidia*, *Haemagogus*, *Mansonia*, *Psorophora* e *Sabethes*. Algumas espécies pertencentes a esses gêneros são responsáveis pela transmissão de doenças causadas por agentes etiológicos virais, tais como, *Chikungunya virus* (CHIKV), *Dengue virus* (DENV), *Zika virus* (ZIKV), *Mayaro virus* (MAYV), *West Nile virus* (WNV), *Yellow Fever virus* (YFV) etc. E protozoários (filariose, malária etc.), evidenciando, assim, a importância epidemiológica dos culicídeos como o grupo de artrópodes hematófagos de maior capacidade vetorial de patógenos (Consoli & Lourenço de Oliveira, 1994; Forattini, 2002). Dessa forma, levando em consideração determinadas condições, impõe-se um sério obstáculo para o controle destas doenças e um grande problema para a saúde pública (Forattini, 2002).

Uma vez que é grande a relevância dos culicídeos no cenário epidemiológico mundial e nacional, o presente estudo foi concebido com intuito de contribuir para compreensão da diversidade, bem como, a distribuição desse grupo de organismos no estado do Pará, em geral, e em particular, na Região Metropolitana de Belém, capital. Embora a maioria dos estudos sobre culicídeos e os agentes infecciosos por eles transmitidos tenham sido extensivamente desenvolvidos em áreas silvestres e rurais, devido às características ambientais propícias para a distribuição e ciclos de manutenção desses microrganismos e seus

vetores biológicos. Nesse ínterim, as ações antrópicas e o manejo inadequado do ecossistema desempenham um papel importante quanto à dinâmica de distribuição, tanto dos culicídeos, mediante o papel de vetores biológicos, quanto às entidades infecciosas por eles veiculadas (Vasconcelos *et al.*, 2001). Desse modo, a pressão ambiental mediada pelo uso do espaço geográfico natural, nem sempre atua como um meio de eliminação da fauna local, mas sim substituindo ou adaptando espécies a estas novas pressões ambientais (Forattini, 2002).

Dessa maneira, os fragmentos florestais, áreas cuja a vegetação foi afetada e que, geralmente, estão inseridos diretamente no meio urbano, podem apresentar uma estimada diversidade de culicídeos, com padrões de distribuição, aspectos ecológicos e comportamentais diferentes do que é amplamente denotado pela literatura. Além de que, fragmentos de mata, podem servir como reservatório de culicídeos, que em dadas circunstâncias, podem ocasionar surtos em áreas urbanas.

Portanto, o desenvolvimento de estudos entomofaunísticos como propõe-se o presente projeto, atua como um meio para melhor compreender a dinâmica populacional desses insetos em ambientes urbanos e como as alterações ambientais impactam nos perfis de abundância, riqueza e diversidade das espécies. Adicionalmente, os culicídeos podem ser utilizados como biomarcadores de qualidade ambiental, seja pela presença ou ausência de determinadas espécies (Dorvillé, 1996). E assim sendo, esses perfis podem ser úteis para compreender os níveis de preservação e/ou degradação ambiental. Essas informações poderão servir como aporte para a construção de banco de dados, que venha a auxiliar no desenvolvimento de modelos de previsão, delimitação de áreas e elaboração de estratégias para controle de vetores em casos futuros de surtos de doenças transmitidas por culicídeos.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Realizar inventário faunístico de culicídeos usando índices ecológicos em um fragmento florestal da cidade de Belém e sua relação com variáveis abióticas

3.2 ESPECÍFICOS

Avaliar a composição, abundância e riqueza e dominância de culicídeos ao longo dos meses e períodos muito chuvoso e pouco chuvoso;

Avaliar a influência de variáveis abióticas (precipitação pluviométrica, umidade e temperatura) quanto a abundância e diversidade de culicídeos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

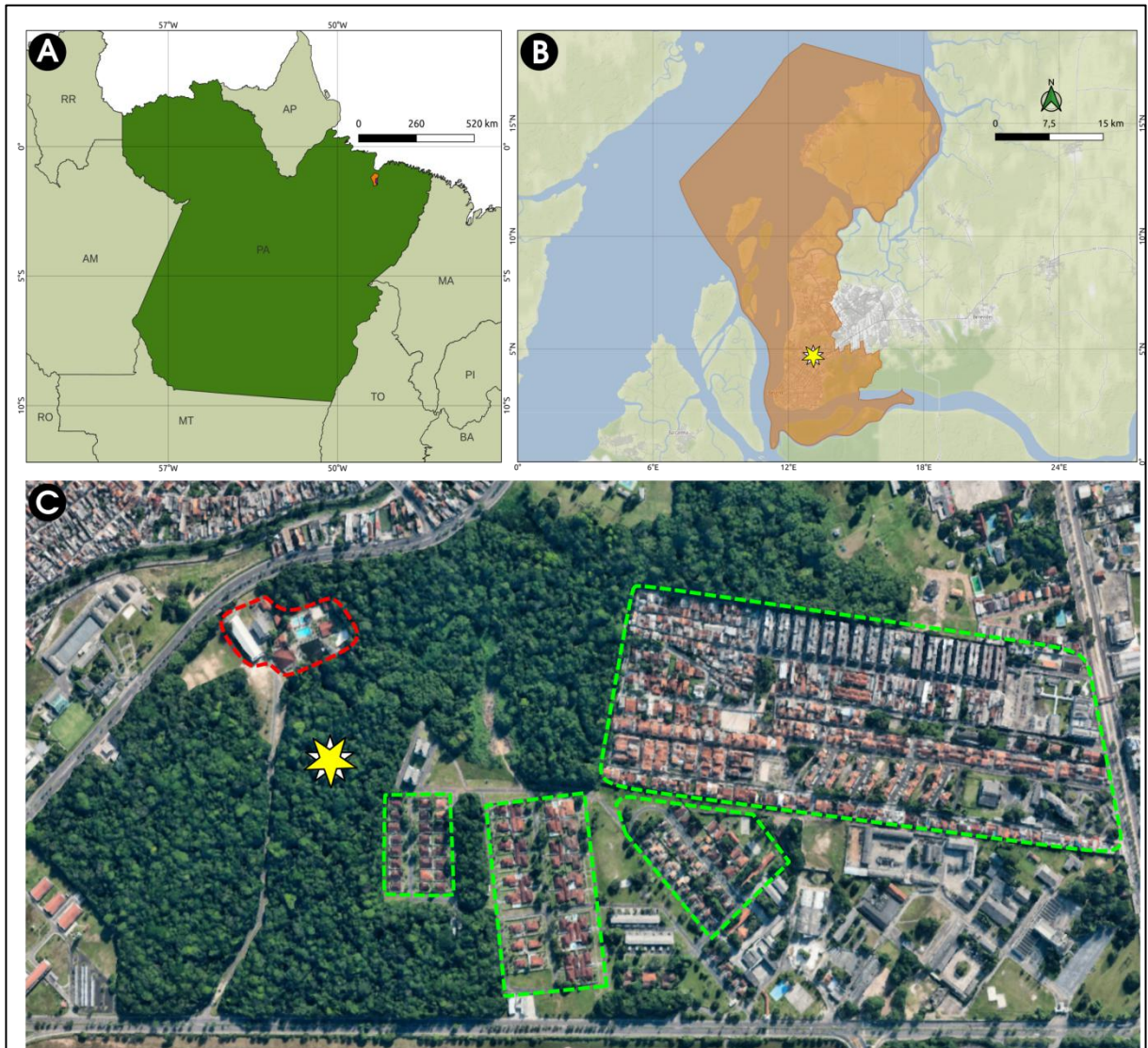
A autorização para coleta de culicídeos, foi concedida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) por meio do Sistema Brasileiro de Informações e Autorização em Biodiversidade (SISBIO/MMA), sob licença nº 82230-1 de 29/03/2022 (ANEXO A).

4.2 ÁREA DE ESTUDO

A floresta fragmentada do Clube de Oficiais da Aeronáutica – Guarnição de Belém (COAGB) possui cerca de 640.715 m² (\approx 64,7 hectares) com áreas de mata secundária, nascentes de água e áreas antropizadas. Situa-se na Região Metropolitana de Belém, às margens da Avenida Júlio César em região fronteira com o bairro da Marambaia, sob coordenadas geográficas 1°24'37"S 48°27'28"W. De acordo com a classificação de Koppen, o clima da região é do tipo “Af”, ou seja, equatorial quente e úmido, com elevados índices pluviométricos com taxas que variam entre 3300 e 3500 mm anuais. O período mais chuvoso ocorre entre dezembro e maio, enquanto os meses de julho a novembro apresentam menor volume de chuvas (Semas, 2022). A escolha da área de estudo, justificou-se, principalmente, pelas suas características ambientais, que proporcionam condições ideais para reprodução e manutenção de insetos da família Culicidae. Apesar do reconhecido potencial para desenvolvimento de estudos desta natureza a área em questão permanece inexplorada quanto sua fauna de culicídeos.

A área do COAGB apresenta influência territorial em áreas urbanas, principalmente em espaços residenciais tais como a Vila dos Oficiais da Aeronáutica - Maracangalha, o complexo residencial Fernando Guilhon e o Conjunto Império Amazônico. A vila Maracangalha apresenta um maior nível de proximidade, onde determinadas unidades residenciais se encontram a poucos metros de distância de área de mata (Figura 2.C). É evidente que as características ambientais da área de estudo, assim como sua proximidade de áreas residenciais são aspectos importantes para o contexto epidemiológico, pois considera-se a capacidade de deslocamento, hábito hematófago e a antropofilia características de muitas espécies culicídeos quanto ao ataque às populações humanas que circulam ou residem nas mediações à área de mata do COAGB.

Figura 2: Mapa da localização da área de estudo.



Legenda: (2.A) Mapa do Estado do Pará (destacado em cor verde escuro); (2.B) - Município de Belém, o marcador (estrela), reside na localização geográfica da área de estudo. (2.C) - Traços em vermelho delimitam a área de lazer do COAGB; traços em verde evidenciam residências próximas às imediações da área de estudo.

Fonte: Autor.

4.3 VARIÁVEIS CLIMÁTICAS E GEORREFERENCIAMENTO

Dados gerais de temperatura, precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) e durante todas as coletas, as variáveis de temperatura e umidade das estações de estudo foram obtidas por meio de termohigrômetro digital calibrado. As coordenadas geográficas das estações, foram obtidas por meio de receptor de GPS (sigla em inglês de Sistema de Posicionamento Global) *Garmin 64s* (Garmin, Kansas, Estados Unidos) e posteriormente foi utilizado o *software* QGIS (QGIS

Development Team, 2016) (Disponível em: https://qgis.org/pt_BR/site/) para elaboração dos mapas temáticos.

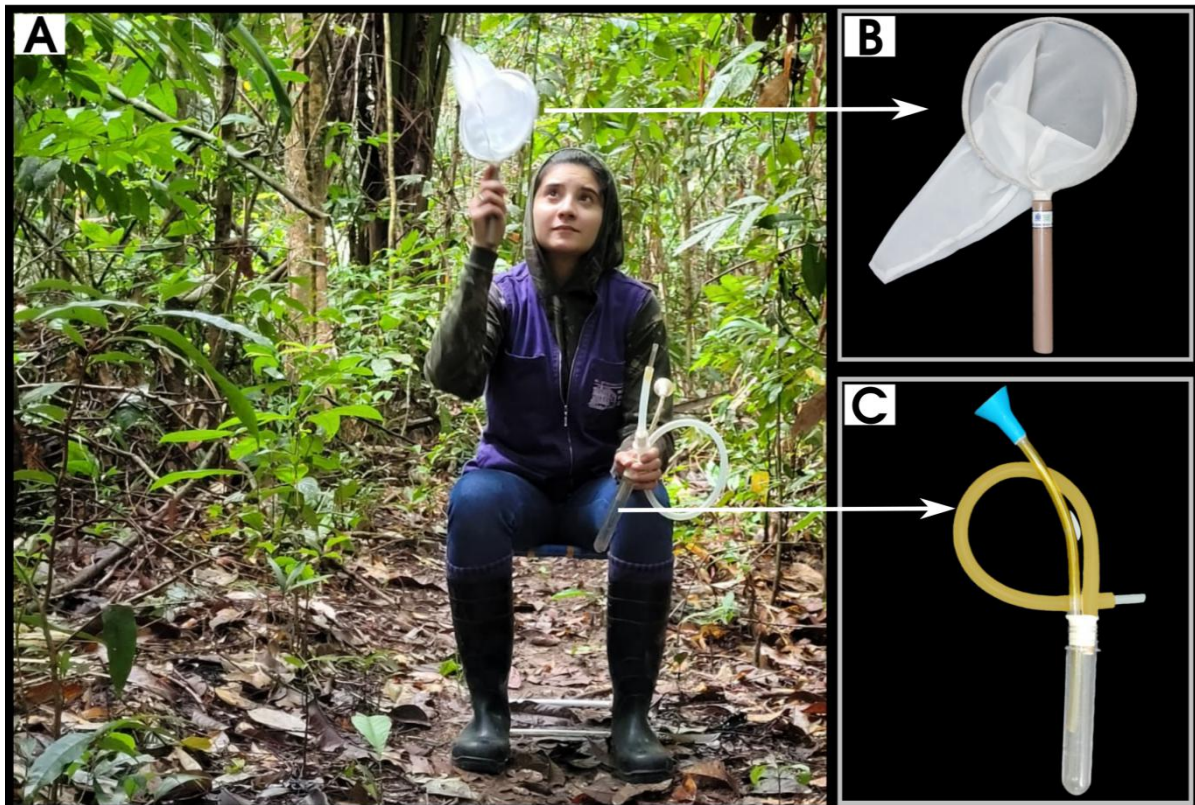
4.4 TÉCNICAS DE AMOSTRAGEM

4.4.1 Atração Humana Protegida Esclarecida

Considerado como o método “padrão ouro” de amostragem, é amplamente utilizado devido à influência exercida mediante às necessidades fisiológicas e reprodutivas de mosquitos que apresentam hábito alimentar hematofágico (Gama *et al.*, 2009; Utrilla *et al.*, 2020). Embora existam alguns métodos alternativos já testados, nenhum destes têm mostrado ser comparáveis em termos de eficiência em relação ao método de coleta por atração humana (Rubio-Palis, 1992), no entanto, a exposição a potenciais vetores de doenças se configura como um dos riscos ocupacionais desta atividade, sendo necessário a adoção de meios que evitem ou minimizem tal risco.

Preconizado pelo IEC (2019) e pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2014; 2019) o método de Atração Humana Protegida e Esclarecida (ATHPE) se baseia em uma série de medidas de prevenção individuais e coletivas que visam a redução da exposição dos profissionais ao risco de contrair doenças potencialmente transmitidas por insetos durante as atividades de coleta em campo. A técnica consiste em coletar mosquitos que se aproximam do profissional para realizar a hematofagia. O profissional deve coletar o mosquito antes que o mesmo inicie sua alimentação, por meio de puçá e capturador de sucção oral. Os profissionais que realizam as coletas devem estar com o calendário vacinal atualizado e dispor de equipamentos de proteção individual. Além disso, durante a execução das atividades, devem estar sentados comodamente em banco ou cadeira desmontável, que permita e facilite as coletas (Brasil, 2019) (Figura 4).

Figura 4: Representação da técnica de ATHPE e instrumentos de coleta.



Legenda: (4.A) - Técnica de ATHPE. Profissional parametrada trajando equipamentos de proteção individual (bota, perneiras, calça comprida de brim, e camisa de mangas compridas, sentada em cadeira desmontável de forma a facilitar a observação da aproximação dos mosquitos, bem como a estabilidade da profissional para realizar a coleta; (4.B) - Rede entomológica (puçá); (4.C) - aparelho de sucção oral
Fonte: Autor. Cortesia: Dra. Bruna Laís Sena do Nascimento (Fig.4.A - Método de ATHPE).

4.4.2 Rede Entomológica (Puçá), aparelho de sucção oral e Tubos tipo *Falcon*

O puçá consistiu em um equipamento formado por um cabo de PVC (1/5 polegada de diâmetro e 20 cm de comprimento) e um aro de metal com 20 cm de diâmetro costurado fixamente com um tecido denominado *voil* (lê-se voal) na forma de um cone (Figura 4.B). Sua utilização permite que os insetos sejam coletados em pleno voo ou pousados no profissional na técnica de ATHPE (Cardoso, 2010). Ocasionalmente, o aparelho de sucção destinou-se a coletar os espécimes do fundo do puçá e os tubos tipo *Falcon*, para armazenamento individual de cada espécime coletado, de forma a evitar que as estruturas morfológicas sejam danificadas.

4.4.3 Armadilha Luminosa CDC

A armadilha CDC (sigla de Centers for Disease Control and Prevention - Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos) desenvolvida por Sudia & Chamberlain (1962) (Figura 5) é uma armadilha automática alimentada por bateria de 12V utilizada essencialmente na coleta noturna, sendo amplamente empregada em estudos entomológicos (Hutchings *et al.*, 2020; Degefa *et al.*, 2020). Possui uma estrutura em forma de “chapéu” de plástico para proteção contra chuva e um corpo principal para sustentação do motor onde estão conectadas uma hélice e uma pequena lâmpada. No corpo, fixado por um elástico, um tecido cilíndrico transparente conecta-se, na outra extremidade, a um copo coletor. Quando atraídos pela luz, os insetos são sugados pela a ventoinha e o fluxo de ar gerado por esta os mantém retidos no copo coletor (Cardoso, 2010).

Figura 5: Armadilha luminosa do tipo CDC.



Legenda: A seta tracejada em vermelho indica o fluxo de coleta pela armadilha; setas em branco indicam os componentes que constituem a armadilha.

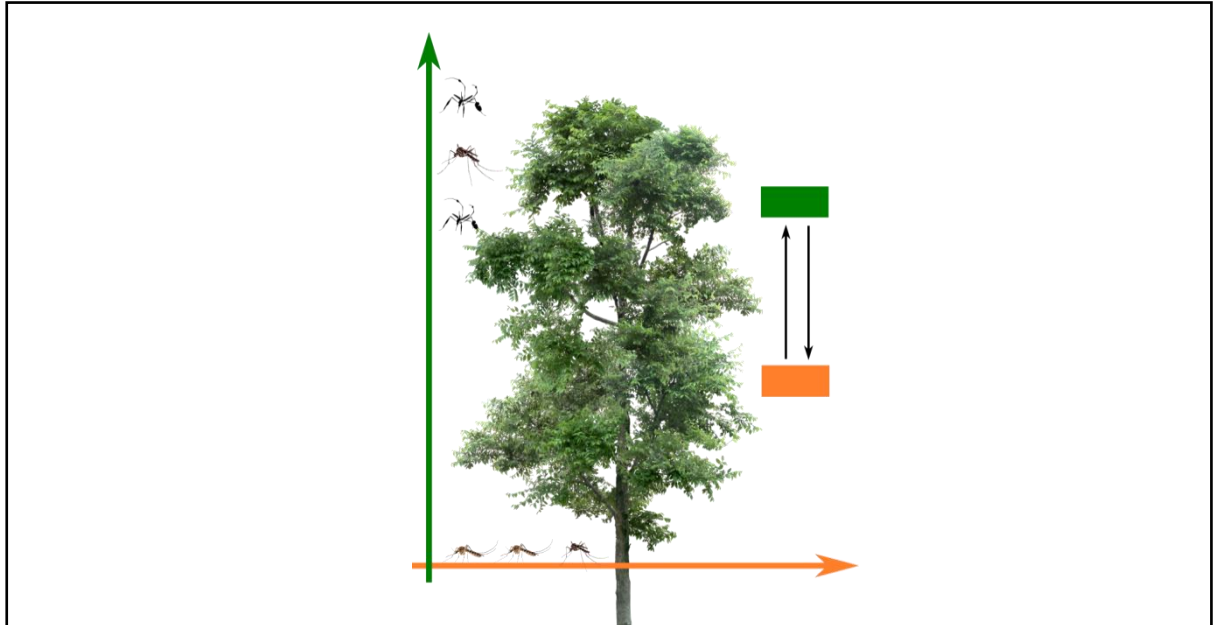
Fonte: Autor.

4.5 MODALIDADES DE AMOSTRAGEM

Em florestas tropicais, culicídeos adultos podem mostrar estratificação vertical, que é uma acentuada preferência por diferentes alturas dentro da vegetação (Forattini, 2002), onde alguns apresentam afinidade pelas copas das florestas, como mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* (Pinto, 2009), além de diversas espécies de gêneros como *Aedes*, *Aedeomyia*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Psorophora*, *Limatus*, *Wyeomyia* e *Culex* (Omrani, 2020; Santos *et al.*, 2020). Em contrapartida, outras espécies já preferem locais com pouca altitude e próximo ao solo (Forattini, 2002). No entanto, essas preferências são relativas, pois muitas espécies podem ser coletadas, de vez em quando, na copa da floresta e, da mesma

forma, as espécies que frequentam esse nível também podem ser coletadas no sub-bosque e no nível do solo (Pinto, 2009; Alencar *et al.*, 2018; De Abreu *et al.*, 2019) (Figura 6)

Figura 6: Representação da distribuição de culicídeos no interior da floresta.



Legenda: A seta em cor verde, representa as espécies que tendem a distribuir-se verticalmente, já a seta em laranja, horizontalmente (1,5m em nível do solo). Ao lado, as setas em cor preta representam alternância do ambiente.

Fonte: Autor.

Portanto, considerou-se que, para avaliar a distribuição horizontal (próximo ao solo) e vertical de culicídeos, foi selecionado um ponto de coleta com uma árvore da mata escolhida cuja em copa foi realizada a instalação de uma plataforma (dossel) (Figura 7), destinando-se a permitir a coleta simultânea de mosquitos na copa arbórea e no solo da região investigada. Para isso, dois coletores, por meio da técnica de ATHPE atuaram simultaneamente, com um coletor fixo na plataforma, enquanto que o outro no solo, realizava a busca ativa, deslocando-se em zigzag, cobrindo uma área retangular com cerca de 3000m². A construção do dossel seguiu o Protocolo Operacional Padrão estabelecido pelo Laboratório de Entomologia Médica, e as medidas de biossegurança do IEC bem como as orientações gerais para esta modalidade de coleta, seguiram conforme preconizado pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2014).

Figura 7: Representação da modalidade de amostragem em copa arbórea.



Legenda: (7.A) - Profissional parametrado com os EPIs utilizados na técnica de ATHPE, com adição de equipamentos para trabalho em altura: capacete de proteção contra impactos, cinto de segurança paraquedista de quatro pontos e trava quedas; este último é fixado em um galho resistente e a presilha é conectada por trava em suporte presente no cinto de segurança. (7.B) - Profissional realizando a subida por meio de pregos (bitola: 22x60 e 5x4x138) previamente afixados no tronco da árvore. (7.C) - Profissional situado em dossel para realização da coleta.

Fonte: Daniel Damous & Joaquim P. Nunes Neto (2022).

4.6 AMOSTRAGENS, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO

Os trabalhos de amostragem foram realizados ao longo de quatro meses, dos quais dois ocorreram em período muito chuvoso (MC) (abril e maio), e dois em período pouco

chuvoso (PC) (agosto e setembro), de forma que foram realizadas quatro expedições a campo com duração de cinco dias úteis a cada excursão.

As amostragens foram empregadas da seguinte maneira:

1. Para os mosquitos de hábito diurno foi empregada a técnica de ATHPE nos estratos de copa e solo das 08:00 às 13:00 h;
2. Foram utilizadas duas armadilhas luminosas tipo CDC nos horários de 13:00 às 08:00 h. As armadilhas foram colocadas a 1,5 m e 10 m em relação ao nível do solo. Ressalta-se que o longo período de funcionamento das armadilhas (19 horas) ocorreu em detrimento de fatores logísticos, dada a impossibilidade de ativar e desativar manualmente fora do horário de estudo (08:00 às 13:00).

Ao final das amostragens, os exemplares armazenados em seus respectivos tubos e foram catalogados de acordo com o método de amostragem e estrato, sendo, em seguida, transportados para o Laboratório de Entomologia Médica da SAARB e então, armazenados a -70°C até o momento da identificação taxonômica, que por sua vez, ocorreu em mesa refrigerada a aproximadamente -30°C .

4.7 IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA

Espécimes mantidos em mesa refrigerada foram identificados utilizando-se estereomicroscópicos com o auxílio de chaves dicotômicas específicas nas referências de Lane (1953 a, 1953 b), Galindo *et al.*, (1954); Forattini (1965A, 1965B), Wirth & Blanton (1973), Zavortink (1979), Consoli & Lourenço de Oliveira (1994), Motta & Lourenço de Oliveira (2000), Forattini, (2002), e Harbach (2013). As abreviaturas de gênero e subgênero seguiram conforme proposto por Reinert (2009). Depois de devidamente identificados, os espécimes foram agrupados em lotes (microtubos de 2 mL) contendo a partir de 10 espécimes de uma mesma classificação taxonômica (gênero, subgênero e/ou espécie), rotulados com um número de registro interno para amostras de artrópodes (AR), expedido pelo Setor de Registros da SAARB/IEC e novamente armazenados à -70°C .

4.8 ANÁLISE DE DADOS

Os dados de variáveis ambientais aferidos diariamente, foram registrados em fichas de campo padronizadas, e posteriormente, tabulados em planilhas eletrônicas no “LibreOffice Calc”, para que se procedessem as análises. Que por sua vez, foram conduzidas por meio da linguagem R (R Core Team, 2023) (Disponível em: <https://www.r-project.org/>) utilizando-se as bibliotecas R “tidyverse” (Wickham, 2017), para manipulação e análise de dados. Seguido das bibliotecas “vegan” (Oksanen *et al.*, 2013) e “BiodiversityR” (Kindt & Coe, 2019) para análise de dados ecológicos, bem como, “ggplot2” (Wickham, 2009) e “corrplot” (Wei *et al.*, 2017) para plotagem de gráficos.

4.8.1 Composição Faunística

Inicialmente, para estimar a composição da fauna (todos os espécimes amostrados, identificados ou não à nível de espécie), foi empregado o índice de dominância relativa, calculado através da fórmula abaixo:

$$Drel = \left(\frac{i}{ti} \right) \times 100$$

Onde:

(i) = Número de indivíduos;

(ti) = Numero total de indivíduos observadas na comunidade

(x100) = Obter o valor em percentual.

Para determinar as categorias de dominância entre as ordens, foi utilizada a classificação de Fribe (1983), que estabelece a dominância, calculada pela mesma fórmula acima, todavia, denota-se: D% = porcentagem de dominância, i = número total de indivíduos de uma ordem, t = total de indivíduos coletados. Sendo as ordens consideradas como: eudominante > 10%; dominante > 5-10%; subdominante > 2-5%; eventual = 1-2% e rara < 1%.

4.8.2. Abundância e Riqueza de Espécies

No que concerne à avaliação da alfa diversidade, foram obtidos os valores de abundância e riqueza de espécies. A abundância refere-se à quantidade de indivíduos amostrados, seja ela absoluta (número total de indivíduos) ou relativa (proporção de

indivíduos de uma espécie em relação ao número total de indivíduos de todas as espécies). Os valores de abundância absoluta e abundância relativa foram calculados pelo somatório de todos os espécimes amostrados e pela divisão do número acumulado de cada espécie pela abundância absoluta, respectivamente.

A riqueza de espécies é definida como o número de espécies identificadas (Magurran & McGill, 2010). Embora a riqueza de espécies seja a métrica de diversidade mais intuitiva e de fácil interpretação, acaba por possuir uma grande limitação, mostrando menos poder de estimativa e avaliação quando comparada a determinados índices de diversidade (Chao & Jost, 2012).

Dessa forma, para estimar a riqueza, considerando tanto o número total de espécies, quanto o tamanho da amostra, optou-se por empregar o índice de riqueza específica de Margalef (Margalef, 1958), que é uma medida de diversidade que considera tanto o número de espécies presentes quanto a abundância total de indivíduos. É muito útil para comparar a diversidade com diferentes tamanhos, dessa forma, quanto maior Margalef (D_{mg}), maior é a diversidade de espécies. (Magurran & McGill, 2010). O índice é calculado pela expressão matemática abaixo:

$$D_{mg} = \frac{(s - 1)}{\ln(N)}$$

Onde:

s = Riqueza de espécies;

N = Número total de indivíduos amostrados;

ln = Logaritmo natural do número de total de indivíduos

Sendo assim, os valores obtidos por D_{mg} expressam a riqueza em relação à abundância total na amostra, ou seja, que há um maior predomínio de espécies em relação ao número total de indivíduos, onde, $D < 2,0$ denota áreas de baixa diversidade e $D > 5,0$ indicando grande diversidade (Magurran, 2004).

4.8.3 Diversidade de Espécies

Tratando-se de populações de mosquitos de distribuição silvestre, assume-se a dificuldade, e até, a impossibilidade de se saber o número de espécies que ocorrem em uma determinada área, e, muitas vezes o que se tem, é uma estimativa da diversidade da área, que é o ponto de partida para se analisar padrões que ocorrem em grandes escalas (global e continental) e pequenas (locais) (Melo, 2008). Em biologia de culicídeos, o conhecimento da

riqueza de espécies é importante para a saúde pública e meio ambiente, ao passo que possibilita incrementar medidas de mitigação e controle de vetores em caso de surtos de doenças transmitidas por esses insetos, incluindo seu uso como bioindicadores de qualidade ambiental (Silver, 2007; Dorvillé, 1996).

Dessa maneira, uma forma de expressar a diversidade considerando o efeito das medidas de abundância, riqueza, dominância e equitabilidade, consiste no uso de índices de diversidade como forma de sintetizar e quantificar a complexidade de informações, possibilitando comparar e generalizar padrões, identificar mudanças em estruturas de comunidades, como por exemplo, em diferentes gradientes florestais (i.e. áreas preservadas, áreas antropizadas), ao longo de estações ou períodos (chuvoso e seco), dentre outros (Silver, 2007; Magurran, 2004; Melo, 2008). Estas formulações são muito úteis para avaliar comparativamente a diversidade de assembléias de espécies culicídeos através da atribuição de pesos em diferentes intensidades às medidas anteriormente mencionadas.

Neste estudo, os índices de diversidade empregados foram: Shannon-Weaver (H') (Shannon, 1948) e Gini-Simpson (D) (Simpson, 1949), que consistem em medidas de heterogeneidade (Magurran & McGill, 2010). O índice de Shannon-Weaver, considera tanto a riqueza de espécies quanto a uniformidade com que elas estão distribuídas na comunidade, ou seja, sua equitabilidade, atribuindo maior peso às espécies com base na proporção de suas frequências. O índice é calculado pela fórmula abaixo:

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i$$

onde:

(Σ): Somatório;

(p_i): Proporção de indivíduos da espécie i em relação ao total de indivíduos de todas as espécies na amostra;

($\ln p_i$): Logaritmo natural de p_i .

A fórmula calcula o somatório do produto de cada proporção (p_i) pelo logaritmo natural dessa mesma proporção (p_i). O índice fornece uma medida de incerteza a escolha aleatória de uma espécie em uma comunidade, assim, quanto maior for o índice, maior a diversidade e menor a probabilidade de se escolher duas espécies aleatórias iguais, ou seja, à medida em que a distribuição dos indivíduos é mais uniforme, maior será (H').

Já o índice de Simpson (D) é uma medida mais voltada para a dominância das espécies, e indica a probabilidade de dois indivíduos escolhidos ao acaso pertencerem à mesma espécie (Magurran & McGill, 2010). O índice é obtido pela fórmula abaixo:

$$D = \frac{\sum_{i=1}^s n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

onde:

(Σ): Somatório;

(pi): Proporção de indivíduos da espécie i em relação ao total de indivíduos de todas as espécies na amostra;

(Log_epi): Logaritmo natural de pi.

Quanto mais alto (D) maior a probabilidade dos indivíduos serem da mesma espécie, ou seja, maior a dominância e menor a diversidade (Uramoto et al., 2005).

Ressaltamos que, embora sejam extensamente empregados em estudos ecológicos, estes índices são amplamente criticados (Hurlbert, 1971; Jost, 2006) uma vez que há problemas de incerteza na identidade de espécies, não refletindo intuitivamente a diversidade a partir da perspectiva ecológica (Jost, 2006). Contudo, de acordo com o mencionado autor, isso não significa que, o índice de Shannon, por exemplo, passa a tornar-se um mau índice de diversidade, muito pelo contrário, é o mais profundo e útil dentre todos os índices de diversidade, no entanto, sua formulação fornece a incerteza ao invés da diversidade, pois estes índices, em sua forma bruta, não obedecem princípios matemáticos de duplicidade e linearidade.

Partindo desse pressuposto, optamos por empregar o conceito de “diversidade verdadeira” proposto por Jost (2006), utilizando a conversão desses índices para o número efetivo de espécies, que possuem propriedades matemáticas aditivas e comportam-se conforme uma diversidade. Abaixo, são fornecidas as fórmulas convertidas (após a seta) para o número efetivo de espécies, (1)riqueza, (2) índice de Shannon e (3) índice de Simpson.

$$\begin{aligned}
(1) \quad S &= \sum_{i=1}^s p_i^0 && \longrightarrow && \sum_{i=1}^s p_i^0 \\
(2) \quad H' &= - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i && \longrightarrow && \exp \left(- \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i \right) \\
(3) \quad D &= \frac{\sum_{i=1}^s n_i (n_i - 1)}{N(N - 1)} && \longrightarrow && \frac{1}{\sum_{i=1}^s p_i^2}
\end{aligned}$$

Jost (2006) define (D) como diversidade, a partir das conversões, a diversidade verdadeira pode ser obtida a partir de ordens de diversidade (q), também conhecida como série de Hill (Hill, 1973), dessa maneira, atribuindo um número de ordem (q) como expoente de (D) (^qD), o número efetivo de espécies depende somente do valor atribuído a q. Se a diversidade for baseada na ordem q = 0, então (⁰D) é completamente insensível às frequências das espécies, ou seja, é conhecido como riqueza de espécies. O segundo, q = 1 assume a exponencial do índice de entropia de Shannon (diversidade de Shannon), atribuindo maior peso às espécies com base na proporção de suas frequências, e o terceiro, q = 2 refere-se à diversidade Simpson, que atribui mais peso às espécies mais comuns, uma vez que também é referido como o número efetivo de espécies dominantes (Jost, 2006; Hsieh & Chao. As análises dos índices de números efetivos foi conduzida utilizando-se os pacotes R “entropart” (Marcon & Hérault, 2015) e “vegan” (Oksanen *et al.*, 2013).

Dada a importância da série de Hill, que inclusive, compartilha com Renyi (1961) e Jost (2006) a propriedade matemática de duplicidade, atributo indissociável do conceito de diversidade verdadeira, permitindo que estimativas da diversidade em diferentes níveis de raridade sejam realizadas, uma vez que esta, considera a abundância relativa e riqueza de espécies baseados em um parâmetro de ordem da diversidade (q), podendo assumir qualquer valor de zero ao infinito, e o valor de (q) pode ser assumido como um índice, e assim, ser ordenado e mapeado em um perfil de diversidade (Melo, 2008; Chao *et al.*, 2014). Dessa maneira, no presente estudo, o perfil de diversidade foi obtido através da série de Hill utilizando-se o pacote R “hillR” (Daijiang *et al.*, 2018) na escala de zero ao infinito, com o intuito de avaliar o comportamento da diversidade para valores que incluem os índices de diversidade de Shannon e Simpson, mas que vão além destes.

Os índices de diversidade supracitados proporcionam informações valiosas sobre aspectos mais particulares que, em parte, explicam a estrutura de uma comunidade. No entanto, como já mencionado, é impossível amostrar inteiramente uma população, ao mesmo tempo que determinar o número total de espécies de uma área (Chao *et al.*, 2014). Por isso é importante considerar a significância das espécies e população amostrada (amostra) como um parâmetro de representatividade da diversidade de espécies da área de estudo.

Dessa maneira, os estimadores de riqueza, são ferramentas estatísticas muito úteis para estimar a riqueza total, através de curvas de rarefação (geradas a partir do número de espécies e amostras com tamanhos distintos, mostrando como a riqueza varia à medida em que se aumenta o tamanho da amostra), e a extrapolação dessas curvas, como forma de prever a riqueza de espécies de uma comunidade. Além disso, utiliza-se a abordagem de estimativa por modelagem, na qual modelos matemáticos são utilizados para descrever a distribuição das espécies e estimar a riqueza a partir dos dados amostrais obtidos (Gotelli & Colwell 2001, Magurran & McGill, 2010; Chao *et al.*, 2014).

Para comparar a riqueza, diversidade e ao mesmo tempo, estimar a suficiência de amostragem, utilizamos curvas de amostragens contínuas de rarefação (interpolação) e extrapolação (predição) de acúmulo de espécies baseado no número de indivíduos utilizando três principais índices de diversidade de ordem (q) dos números de Hill, quais sejam, $q = 0$, que consiste na riqueza de espécies observada, $q = 1$ exponencial índice de entropia de Shannon (diversidade de Shannon) e $q = 2$ inversa do índice de dominância de Simpson (índice de Simpson), para amostras igualmente grandes ou igualmente incompletas, baseadas em duas abordagens: (a) Curvas de amostragem de rarefação e extrapolação baseadas tanto no tamanho da amostra (tipo I) e (b) curvas baseadas em cobertura da amostra (tipo II), que plota estimativas de diversidade em função da cobertura da amostra. Esta análise foi desenvolvida usando o pacote R “iNEXT” (Hsieh & Chao, 2016), com intervalo de confiança de 95%, e reamostragem de 1000 randomizações.

Para avaliar os aspectos da diversidade de mosquitos da área de estudo, bem como, a relação da dessa população amostrada com os períodos de amostragem (MC e PC), ao longo dos meses de estudo, definiram-se oito variáveis. Duas obtidas no local de estudo (temperatura semanal e umidade semanal) e as outras, através da Estação Meteorológica A201 - Belém, disponibilizados pelo INMET (<https://tempo.inmet.gov.br/>) (temperatura mensal, umidade mensal, precipitação mensal de um mês anterior ao mês de cada amostragem, e de precipitação mensal corrente - mês que ocorreu a amostragem) (Tabela 2).

Quadro1: Variáveis e seus métodos de obtenção

VARIÁVEL	MÉTODO
Temperatura semanal	Termohigrômetro
Umidade semanal	Termohigrômetro
Temperatura mensal	E.A201-Belém
Umidade mensal	E.A201-Belém
Precipitação mensal (anterior)	E.A201-Belém
Precipitação mensal (corrente)	E.A201-Belém

Legenda: (E.A201) - Estação meteorológico A201-Belém.

Para avaliar se houve influência das variáveis abióticas quanto às medidas de abundância e riqueza, foram empregados testes de correlação. Para tanto, inicialmente, verificou-se, se todas as variáveis eram normalmente distribuídas; dessa forma, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk com intervalo de confiança de 95%, assumindo duas hipóteses, H0: Distribuição dos dados = normal ($p > 0.05$); H1: Distribuição dos dados \neq normal ($p < 0.05$). Se para alguma das variáveis $p < 0,05$, então o teste de correlação de Spearman (ρ) procedeu-se como o teste de escolha.

No Anexo B, é proposto um *pipeline* escrito em *Rscript* para execução dos índices de diversidade, estimador de riqueza (rarefação e extrapolação), bem como, os testes estatísticos empregados no presente estudo.

5 RESULTADOS

Ao longo de quatro meses, com 480 h de esforço amostral, sendo 100h de emprego técnica de ATHPE, e 380 referentes ao trabalho das armadilhas CDC, as excursões ao fragmento florestal do COAGB resultaram em um total de 1408 espécimes amostrados, dos quais 1349 foram coletados por meio da técnica de atração humana protegida esclarecida na modalidade em solo e 54 copa arbórea, enquanto que, através de armadilhas CDCs, resultaram em 4 em solo e 1 em copa.

Como resultado da identificação, os espécimes amostrados pertenciam à ordem Diptera, infraordem Culicomorpha, família Culicidae, os quais foram classificados em quatro tribos, distribuídos em 10 gêneros e 34 espécies (Tabela 2). Os representantes mais abundantes foram *Wy. negrensis/occulta* (27,41%), *Wy. aporonoma* (11,15%), *Ae.serratus* (10,37%), *Wy.negrensis* (9,45%), *Wy. medioalbipes* (8,95%), *Sa. undosus* (7,46%), *Ps. ferox* (6,25%) e *Wyeomyia* sp. (5,18%). Por outro lado, as espécies menos representativas (com percentual de abundância relativa menor que 5%), totalizaram 13,78%. Interessantemente, alguns espécimes, foram coletados uma única vez ao longo de todas as amostragens, com cada unidade representativa menor que 1% do somatório, sendo estes, *Cx. antunesi*, *Cx. (Car.)* sp., *Cx. habilitator*, *Cx. pedroi*, *Sa. quasicyaneus*, *Wy. autocratica*, *Wy. coenonus/tarsata*, *Li. pseudomethysticus*, *Trichoprosopon* sp. e *Jn. longipes*.

Quatro espécies, (*Culex trifidus*, *Wyeomyia hosautos* e *Wyeomyia splendida*) são registradas pela primeira vez para a Região Metropolitana de Belém, e uma espécie, *Sabethes (Peytonulus) undosus* é registrado pela primeira vez para o Estado do Pará (Anexo C).

Para fins de estimativas ecológicas, as quais incluem categorias de dominância e índices de diversidade, os culicídeos que não foram identificados em nível de espécie, e/ou aqueles onde pôde-se determinar o subgênero, porém, permanecendo a incerteza na diagnose à nível específico, como por exemplo, (*Wy. negrensis/occulta*), não foram incluídos nas mencionadas análises, devido à disparidade de estimativa de diversidade. Porém, todos estes taxons mencionados foram contabilizados nas análises de abundância relativa (AR%) (Tabela 3). Já, os exemplares identificados em nível de espécie (Figura 8) foram relacionados com o parâmetro de dominância específica (De%).

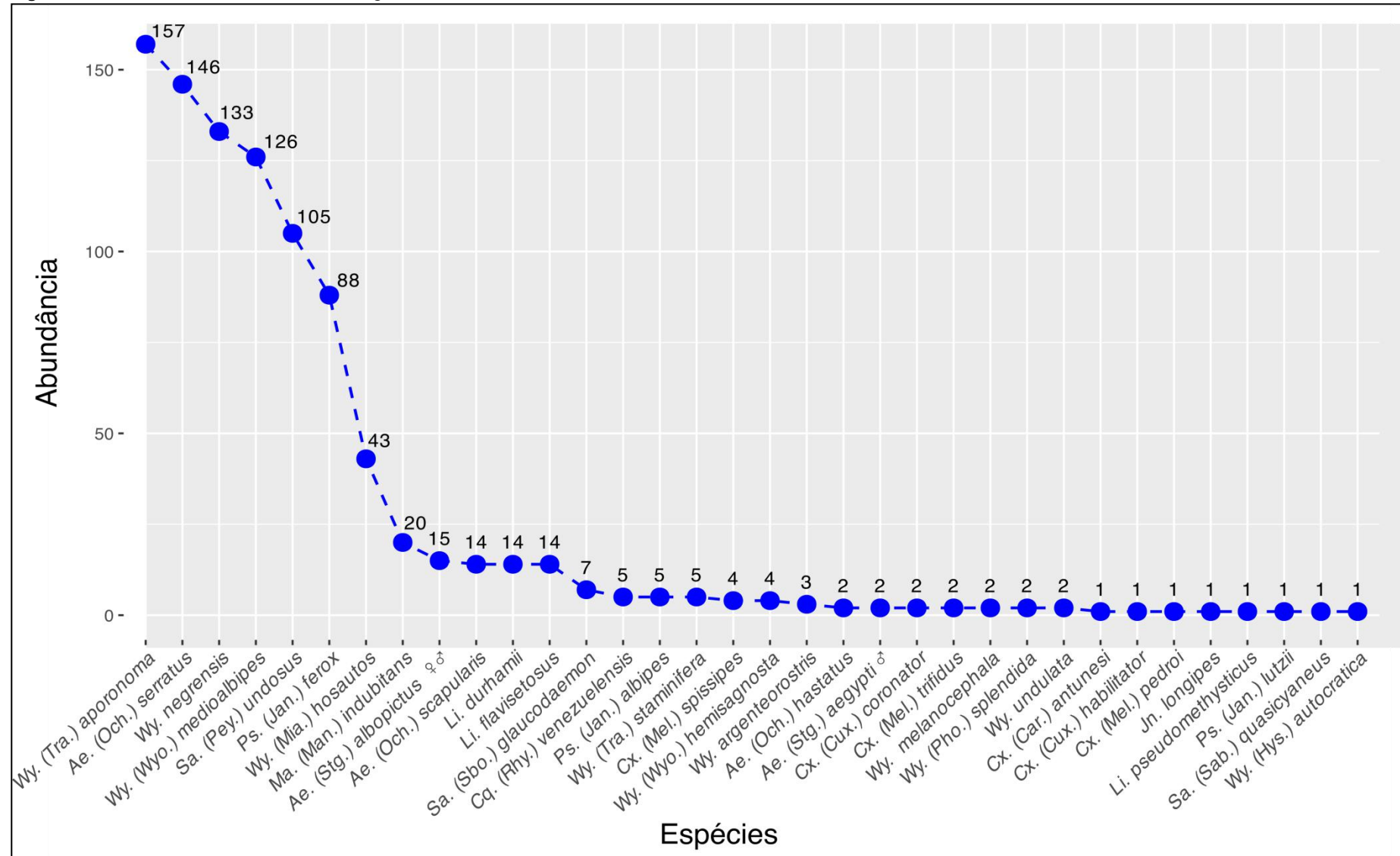
Tabela 3: Assembléia de Culicídeos amostrados durante o estudo

Família	Subfamília	Tribo	Gênero	Unidades taxonômicas	Método de amostragem							
					ATPHE		CDC		AA	AR%		
					Solo	Copa	Solo	Copa				
Culicidae	Culicinae	Aedini	<i>Aedes</i>	<i>Ae. (Och.) hastatus</i>	2	-	-	-	2	0,14		
				<i>Ae. (Och.) scapularis</i>	14	-	-	-	14	0,99		
				<i>Ae. (Och.) serratus</i>	139	7	-	-	146	10,37		
				<i>Ae. (Och.) sp.</i>	1	-	-	-	1	0,07		
				<i>Ae. (Stg.) aegypti</i> ♂	2	-	-	-	2	0,14		
				<i>Ae. (Stg.) albopictus</i> ♀	12	-	-	-	12	0,85		
				<i>Ae. (Stg.) albopictus</i> ♂	3	-	-	-	3	0,21		
				<i>Ps. (Jan.) albipes</i>	5	-	-	-	5	0,36		
				<i>Ps. (Jan.) ferox</i>	86	2	-	-	88	6,25		
				<i>Ps. (Jan.) lutzii</i>	1	-	-	-	1	0,07		
				<i>Ps. (Jan.) sp.</i>	2	1	-	-	3	0,21		
				Psorophora	<i>Culex</i>	<i>Cx. (Car.) antunesi</i>	-	1	-	-	1	0,07
						<i>Cx. (Car.) sp.</i>	1	-	-	-	1	0,07
		<i>Cx. (Cux.) coronator</i>	2			-	-	-	2	0,14		
		<i>Cx. (Cux.) habilitator</i>	1			-	-	-	1	0,07		
		<i>Cx. (Cux.) sp.</i>	2			-	3	-	5	0,36		
		<i>Cx. (Mel.) pedroi</i>	-			-	-	1	1	0,07		
		<i>Cx. (Mel.) spissipes</i>	4			-	-	-	4	0,28		
		Culicini	<i>Culex</i>	<i>Cx. (Mel.) trifidus</i>	2	-	-	-	2	0,14		
				<i>Cx. (Mel.) sp.</i>	2	-	1	-	3	0,21		
				<i>Sa. (Pey.) undosus</i>	102	3	-	-	105	7,46		
				Sabethini	<i>Sabethes</i>	<i>Sa. (Sab.) quasicyaneus</i>	1	-	-	-	1	0,07

		<i>Sa. (Sbo.) glaucodaemon</i>	-	7	-	-	7	0,50
		<i>Wy. melanocephala</i>	2	-	-	-	2	0,14
		<i>Wy. (Hys.) autocratica</i>	1	-	-	-	1	0,07
		<i>Wy. (Mia.) hosautos</i>	42	1	-	-	43	3,05
		<i>Wy. (Pho.) splendida</i>	2	-	-	-	2	0,14
		<i>Wy. (Tra.) aporonoma</i>	154	3	-	-	157	11,15
		<i>Wy. (Tra.) staminifera</i>	4	1	-	-	5	0,36
	<i>Wyeomyia</i>	<i>Wy. (Wyo.) hemisagnosta</i>	3	1	-	-	4	0,28
		<i>Wy. (Wyo.) medioalbipes</i>	115	11	-	-	126	8,95
		<i>Wy. argenteorostris</i>	3	-	-	-	3	0,21
		<i>Wy. coenonus/tarsata</i>	1	-	-	-	1	0,07
		<i>Wy. negrensis</i>	129	4	-	-	133	9,45
		<i>Wy. negrensis/occulta</i>	386	-	-	-	386	27,41
		<i>Wy. undulata</i>	2	-	-	-	2	0,14
		<i>Wyeomyia</i> sp.	64	9	-	-	73	5,18
		<i>Li. durhamii</i>	14	-	-	-	14	0,99
	<i>Limatus</i>	<i>Li. flavisetosus</i>	14	-	-	-	14	0,99
		<i>Limatus</i> sp.	4	-	-	-	4	0,28
		<i>Li. pseudomethysticus</i>	1	-	-	-	1	0,07
	<i>Trichoprosopon</i>	<i>Trichoprosopon</i> sp.	1	-	-	-	1	0,07
	<i>Jonbelkinia</i>	<i>Jn. longipes</i>	1	-	-	-	1	0,07
	<i>Mansoniini</i>	<i>Ma. (Man.) indubitans</i>	17	3	-	-	20	1,42
		<i>Coquillettidia</i>	5	-	-	-	5	0,36
		TOTAL	1349	54	4	1	1408	100

Legenda: (AA) - abundancia absoluta; (AR%) - abundância relativa.

Figura 8: Ordenamento da abundância dos espécimes amostrados no estudo



Legenda: O eixo na vertical (Abundância) refere-se ao valor acumulado de presença das espécies amostradas; O eixo na horizontal, refere-se as espécies amostradas.

A primeira excursão ocorrida no mês de abril, resultou em 249 exemplares coletados, sendo n=215 em solo e 34 em copa (Tabela 4). As espécies mais abundantes, foram *Wy.negrensis* (D = 21,3%, De = 24,9%), *Sa. undosus* (D = 16,1, De = 18,8%), *Wywomyia* sp. (D = 10,8%), *Wy. aporonoma* (D = 9,6%, De = 11,3), *Wy. medioalbipes* (D = 9,6%, De = 11,3), *Ae. serratus* (D = 7,6%, De = 8,9%) e *Ae. scapularis* (D = 5,2%, De = 8,9%).

Tabela 4: Ordenamento da abundância de culicídeos amostrados no mês de abril

UNIDADES	MODALIDADES						
	SOLO	COPA	CDCs	CDCc	AB	D%	De%
<i>Wy. negrensis</i>	53	4			57	21,3	24,9
<i>Sa. (Pey.) undosus</i>	37	3			40	16,1	18,8
<i>Wyeomyia</i> sp.	21	6			27	10,8	-
<i>Wy. (Tra.) aporonoma</i>	21	3			24	9,6	11,3
<i>Wy. (Wyo.) medioalbipes</i>	19	5			24	9,6	11,3
<i>Ae. (Och.) serratus</i>	12	7			19	7,6	8,9
<i>Ae. (Och.) scapularis</i>	11				11	4,4	5,2
<i>Ps. (Jan.) ferox</i>	5	2			7	2,8	3,3
<i>Li. flavisetosus</i>	6				6	2,4	2,8
<i>Wy. (Mia.) hosautos</i>	5	1			6	2,4	2,8
<i>Ma. (Man.) indubitans</i>	5				5	2,0	2,3
<i>Limatus</i> sp.	4				4	1,6	-
<i>Wy. negrensis</i>	4				4	1,6	1,9
<i>Cx. (Mel.) spissipes</i>	3				3	1,2	1,4
<i>Cx. (Mel.)</i> sp.	2				2	0,8	-
<i>Cx. (Mel.) trifidus</i>	2				2	0,8	0,9
<i>Li. durhamii</i>	2				2	0,8	0,9
<i>Wy. (Tra.) staminifera</i>	1	1			2	0,8	0,9
<i>Ae. (Och.) hastatus</i>	1				1	0,4	0,5
<i>Ae. (Stg.) albopictus</i> ♀	1				1	0,4	0,5
<i>Cx. (Car.)</i> sp.	1				1	0,4	-
<i>Cx. (Cux.)</i> sp.	1				1	0,4	-
<i>Trichoprosopon</i> sp.	1				1	0,4	-
<i>Wy. (Wyo.) hemisagnosta</i>	1				1	0,4	0,5
<i>Cx. (Car.) antunesi</i>	0	1			1	0,4	0,5
<i>Sa. (Sbo.) glaucodaemon</i>	0	1			1	0,4	0,5
TOTAL	215	34			249(g)	1	1
					213(e)		

Legenda: (CDCs) - Armadilha CDC solo; (CDCc) Armadilha CDC copa; (AB) - Abundância absoluta; (g) - Abundância geral; (e) - Abundância específica, diz respeito somente aos identificados à nível de espécie (D%) - Dominância relativa geral, refere-se à contribuição de todos os indivíduos quanto à sua proporção na comunidade, isso inclui os culicídeos não identificados em nível de espécie; (De%) - Dominância específica, refere-se à contribuição daqueles indivíduos indenticados à nível de espécie.

Na segunda amostragem, em maio (Tabela 5), foram coletados n=557 espécimes, dos quais, n=542 em solo, e n=15 em copa. As espécies de maior abundância foram *Ae. serratus* (D = 22,6%, De = 23,8%), seguido de *Wy. medioalbipes* (D = 14,7%, De = 15,5%), *Wy. negrensis* (D = 13,6%, De = 14,3), *Wy. aporonoma* (D = 13,5%, De = 14,2%), *Ps. ferox* (D = 12,6%, De = 13,32%) e *Sa. undosus* (D = 8,6%, De = 9,1%).

Tabela 5: Ordenamento da abundância de culicídeos amostrados no mês de maio

UNIDADES	MODALIDADES						
	SOLO	COPA	CDCs	CDCc	AB	D%	De%
<i>Ae. (Och.) serratus</i>	126				126	22.6	23.8
<i>Wy. (Wyo.) medioalbipes</i>	76	6			82	14.7	15.5
<i>Wy. negrensis</i>	76				76	13.6	14.3
<i>Wy. (Tra.) aporonoma</i>	75				75	13.5	14.2
<i>Ps. (Jan.) ferox</i>	70				70	12.6	13.2
<i>Sa. (Pey.) undosus</i>	48				48	8.6	9.1
<i>Wyeomyia</i> sp.	25				25	4.5	-
<i>Ae. (Stg.) albopictus</i> ♀	6				6	1.1	1.1
<i>Li. durhamii</i>	6				6	1.1	1.1
<i>Cq. (Rhy.) venezuelensis</i>	4				4	0.7	0.8
<i>Ae. (Och.) scapularis</i>	3				3	0.5	0.6
<i>Li. flavisetosus</i>	3				3	0.5	0.6
<i>Ma. (Man.) indubitans</i>	3	3			6	1.1	1.1
<i>Ps. (Jan.) albipes</i>	3				3	0.5	0.6
<i>Wy. argenteostris</i>	3				3	0.5	0.6
<i>Wy. (Mia.) hosautos</i>	3				3	0.5	0.6
<i>Wy. (Tra.) staminifera</i>	2				2	0.4	0.4
<i>Wy. undulata</i>	2				2	0.4	0.4
<i>Ae. (Och.)</i> sp.	1				1	0.2	-
<i>Ae. (Och.) hastatus</i>	1				1	0.2	0.2
<i>Cx. (Cux.)</i> sp.	1				1	0.2	-
<i>Cx. (Mel.) spissipes</i>	1				1	0.2	0.2
<i>Jn. longipes</i>	1				1	0.2	0.2
<i>Li. pseudomethysticus</i>	1				1	0.2	0.2
<i>Ps. (Jan.) lutzii</i>	1				1	0.2	0.2
<i>Wy. (Wyo.) hemisa</i>	1	1			2	0.4	0.4
<i>Sa. (Sbo.) glaucodaemon</i>	0	5			5	0.9	0.9
TOTAL	542	15	0	0	557(g)	1	1
					530(e)		

Legenda: (CDCs) - Armadilha CDC solo; (CDCc) Armadilha CDC copa; (AB) - Abundância absoluta; (g) - Abundância geral; (e) - Abundância específica, diz respeito somente aos identificados à nível de espécie (D%) - Dominância relativa geral, refere-se à contribuição de todos os indivíduos quanto à sua proporção na comunidade, isso inclui os culicídeos não identificados em nível de espécie; (De%) - Dominância específica, refere-se à contribuição daqueles indivíduos indenticados à nível de espécie.

A primeira amostragem do período pouco chuvoso, no mês de agosto, coletou-se um total de n=319 espécimes, sendo, n=313 coletados em solo e somente n=4 em copa arbórea com o emprego da ATHPE. Contudo, n=2 exemplares foram obtidos pela armadilha CDC, com um único representante de cada estrato (copa e solo) (tabela 6).

Tabela 6: Ordenamento da abundância de culicídeos amostrados no mês de agosto

UNIDADES	MODALIDADE						
	SOLO	COPA	CDCs	CDCc	AB	D%	De%
<i>Wy. negrensis/occulta</i>	181				181	56,7	-
<i>Wy. (Tra.) aporonoma</i>	47				47	14,7	38,8
<i>Wy. (Mia.) hosautos</i>	21				21	6,6	17,4
<i>Wyeomyia</i> sp.	12	2			14	4,4	-
<i>Sa. (Pey.) undosus</i>	12				12	3,8	9,9
<i>Wy. (Wyo.) medioalbipes</i>	10				10	3,1	8,3
<i>Ae. (Stg.) albopictus</i> ♀♂	6				6	1,9	5
<i>Ma. (Man.) indubitans</i>	5				5	1,6	4,1
<i>Li. durhamii</i>	4				4	1,3	3,3
<i>Cx. (Cux.) coronator</i>	2				2	0,6	1,7
<i>Li. flavisetosus</i>	2				2	0,6	1,7
<i>Ps. (Jan.) albipes</i>	2				2	0,6	1,7
<i>Ae. (Stg.) aegypti</i> ♂	1				1	0,3	0,8
<i>Cx. (Cux.) habilitator</i>	1				1	0,3	0,8
<i>Ps. (Jan.) ferox</i>	1				1	0,3	0,8
<i>Sa. (Sab.) quasicyaneus</i>	1				1	0,3	0,8
<i>Wy. melanocephala</i>	1				1	0,3	0,8
<i>Wy. coenonus/tarsata</i>	1				1	0,3	-
<i>Wy. (Wyo.) hemisagnosta</i>	1				1	0,3	0,8
<i>Wy. (Hys.) autocrática</i>	1				1	0,3	0,8
<i>Wy. (Tra.) staminifera</i>	1				1	0,3	0,8
<i>Ps. (Jan.)</i> sp.	0	1			1	0,3	-
<i>Sa. (Sbo.) glaucodaemon</i>	0	1			1	0,3	0,8
<i>Cx. (Cux.)</i> sp.	0		1		1	0,3	-
<i>Cx. (Mel.) pedroi</i>	0			1	1	0,3	0,8
TOTAL	313	4	1	1	319(g)	100	100
					121(e)		

Legenda: (CDCs) - Armadilha CDC solo; (CDCc) Armadilha CDC copa; (AB) - Abundância absoluta; (g) - Abundância geral; (e) - Abundância específica, diz respeito somente aos identificados à nível de espécie (D%) - Dominância relativa geral, refere-se à contribuição de todos os indivíduos quanto à sua proporção na comunidade, isso inclui àqueles os culicídeos não identificados em nível de espécie; (De%) - Dominância específica, refere-se à contribuição daqueles indivíduos indenticados à nível de espécie.

Quanto a abundância obtida durante esta amostragem, destacou-se *Wy. negrensis/occulta* (D = 56,7%), *Wy. aporonoma* (D = 14,7%, De = 38,8), *Wy. hosautos* (D = 6,6%, De = 17,4%), *Sa. undosus* (D = 3,8%, De = 9,9%), *Wy. medioalbipes* (D = 3,1%, De = 8,3%) e *Ae. albopictus* (D = 1,9%, De = 5%).

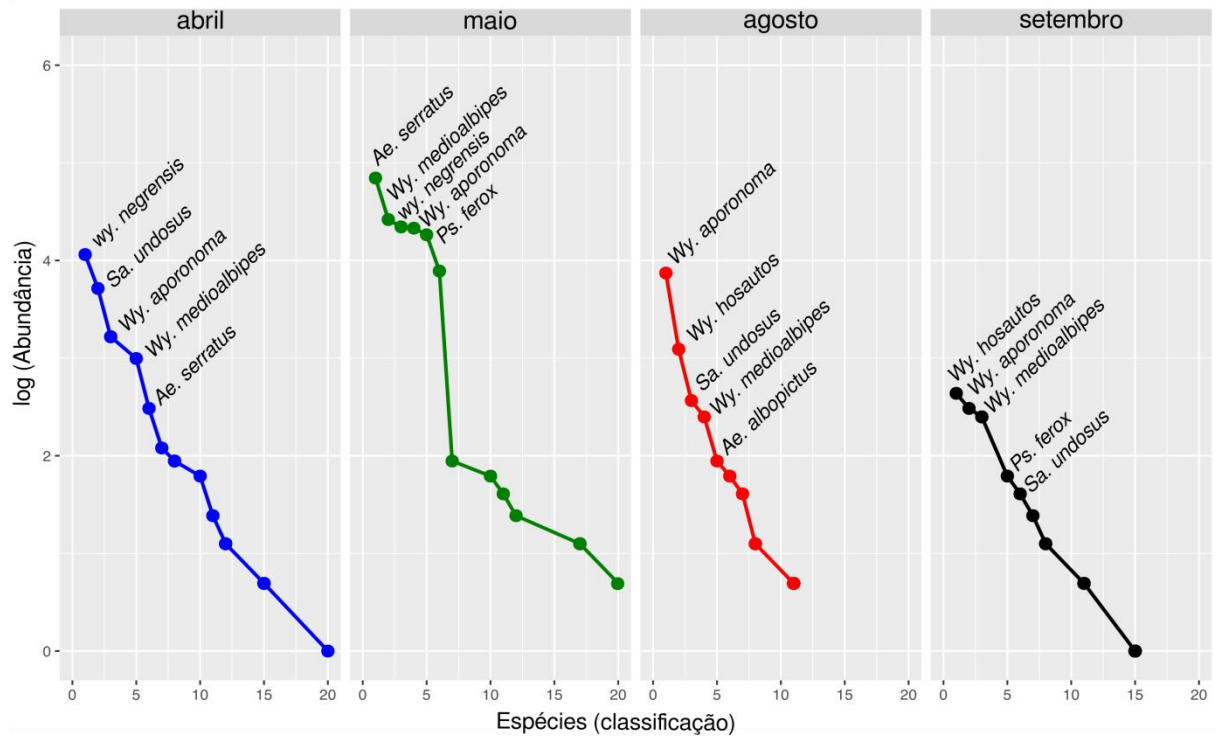
A última excursão, no mês de setembro, resultou em 283 exemplares amostrados. Quanto a abundância observada, destacaram-se com (D = 73,14%) *Wy. negrensis/occulta*, *Wy. hosautos* (Dg = 4,59 %, De = 19,7%), *Wy. aporonoma* (D = 3,89%, De = 16,67%), *Wy. medioalbipes* e *Ps. ferox* ambos (D = 3,53%, De = 15,15%), seguido de *Sa. undosus* (D = 1,77 %, De = 2,68%) e *Ma. indubitans* (D = 1,41%, De = 2,14%) (Tabela 7).

Tabela 7: Ranqueamento da assembléia de culicídeos amostrados no mês de setembro

UNIDADES	MODALIDADES						
	Solo	Copa	CDCs	CDCc	AB	D%	De%
<i>Wy. negrensis/occulta</i>	205	2			207	73,14	-
<i>Wy. (Mia.) hosautos</i>	13				13	4,59	19,7
<i>Wy. (Tra.) aporonoma</i>	11				11	3,89	16,67
<i>Wy. (Wyo.) medioalbipes</i>	10				10	3,53	15,15
<i>Ps. (Jan.) ferox</i>	10				10	3,53	15,15
<i>Weomyia</i> sp.	6				6	2,12	-
<i>Sa. (Pey.) undosus</i>	5				5	1,77	2,68
<i>Ma. (Man.) indubitans</i>	4				4	1,41	2,14
<i>Li. flavisetosus</i>	3				3	1,06	1,61
<i>Wy. (Pho.) splendida</i>	2				2	0,71	1,07
<i>Li. durhamii</i>	2				2	0,71	1,07
<i>Cx. (Cux.)</i> sp.	0		2		2	0,71	-
<i>Ae. (Stg.) albopictus</i> ♀♂	2				2	0,71	1,07
<i>Wy. melanocephala</i>	1				1	0,35	0,54
<i>Ps. (Jan.)</i> sp.	1				1	0,35	-
<i>Cx. (Mel.)</i> sp.	0		1		1	0,35	-
<i>Cq. (Rhy.) venezuelensis</i>	1				1	0,35	0,54
<i>Ae. (Stg.) aegypti</i> ♂	1				1	0,35	0,54
<i>Ae. (Och.) serratus</i>	1				1	0,35	0,54
TOTAL	278	2	3	0	283(g)	100	100
					66(e)		

Legenda: (CDCs) - Armadilha CDC solo; (CDCc) Armadilha CDC copa; (AB) - Abundância absoluta; (g) - Abundância geral; (e) - Abundância específica, diz respeito somente aos identificados à nível de espécie (D%) - Dominância relativa geral, refere-se à contribuição de todos os indivíduos quanto à sua proporção na comunidade, isso inclui aqueles os culicídeos não identificados em nível de espécie; (De%) - Dominância específica, refere-se à contribuição daqueles indivíduos indenticados à nível de espécie.

Figura 9: Ordenamento da abundância para os meses de estudo



Legenda: A abundância de cada mês é expresso por meio do ordenamento em ordem decrescente dos valores correspondentes.

O perfil de dominância das espécies, considerando o valor acumulado de todas as excursões está compilado na Tabela 8.

Tabela 8: Perfil de dominância dos culicídeos amostrados

Espécies	Abundância	Frequência	D%	PD
<i>Wy. (Tra.) aporonoma</i>	157	4	16.9	Eudominante
<i>Ae. (Och.) serratus</i>	146	3	15.7	Eudominante
<i>Wy. negrensis</i>	133	2	14.3	Eudominante
<i>Wy. (Wyo.) medioalbipes</i>	126	4	13.5	Eudominante
<i>Sa. (Pey.) undosus</i>	105	4	11.3	Eudominante
<i>Ps. (Jan.) ferox</i>	88	4	9.5	Dominante
<i>Wy. (Mia.) hosautos</i>	43	4	4.6	Subdominante
<i>Ma. (Man.) indubitans</i>	20	4	2.2	Subdominante
<i>Ae. (Stg.) albopictus</i> ♀♂	15	4	1.6	Eventual
<i>Ae. (Och.) scapularis</i>	14	2	1.5	Eventual
<i>Li. durhamii</i>	14	4	1.5	Eventual
<i>Li. flavisetosus</i>	14	4	1.5	Eventual
<i>Sa. (Sbo.) glaucodaemon</i>	7	3	0.8	Rara
<i>Wy. (Tra.) staminifera</i>	5	3	0.5	Rara
<i>Cq. (Rhy.) venezuelensis</i>	5	2	0.5	Rara
<i>Ps. (Jan.) albipes</i>	5	2	0.5	Rara
<i>Cx. (Mel.) spissipes</i>	4	2	0.4	Rara
<i>Wy. (Wyo.) hemisagnosta</i>	4	3	0.4	Rara
<i>Wy. argenteostris</i>	3	1	0.3	Rara
<i>Cx. (Mel.) trifidus</i>	2	1	0.2	Rara
<i>Ae. (Och.) hastatus</i>	2	2	0.2	Rara

<i>Wy. undulata</i>	2	1	0.2	Rara
<i>Ae. (Stg.) aegypti</i> ♂	2	2	0.2	Rara
<i>Cx. (Cux.) coronator</i>	2	1	0.2	Rara
<i>Wy. melanocephala</i>	2	2	0.2	Rara
<i>Wy. (Pho.) splendida</i>	2	1	0.2	Rara
<i>Cx. (Car.) antunesi</i>	1	1	0.1	Rara
<i>Jn. longipes</i>	1	1	0.1	Rara
<i>Li. pseudomethysticus</i>	1	1	0.1	Rara
<i>Ps. (Jan.) lutzii</i>	1	1	0.1	Rara
<i>Cx. (Cux.) habilitator</i>	1	1	0.1	Rara
<i>Sa. (Sab.) quasicyaneus</i>	1	1	0.1	Rara
<i>Wy. (Hys.) autocratica</i>	1	1	0.1	Rara
<i>Cx. (Mel.) pedroi</i>	1	1	0.1	Rara

Legenda: (D%) - Dominância relativa; (Frequência) - Número de vezes em que a espécie foi amostrada dentro do número de excursões; (PD) - Perfil de dominância

Para avaliar a população de culicídeos ao longo dos meses de estudo, considerando métricas de abundância, riqueza, dominância e equitabilidade como fatores preponderantes, a Figura 9 exhibe o comportamento da abundância para cada mês estudado através do ordenamento da abundância de espécies. Tal expressão é útil para melhor compreender a composição, riqueza, abundância e uniformidade de espécies por mês de amostragem e, ao mesmo tempo, complementar a interpretação dos índices de diversidade (Tabela 9).

Tabela 9: Medidas de diversidade para os meses de estudo.

ÍNDICES	MESES PERÍODO			
	abril	maio	agosto	setembro
Abundância	213	530	121	66
Riqueza (S)	19	24	20	14
Shannon (H') *	9.45	8.77	8.16	9.66
Simpson (D)*	6.81	6.78	4.89	7.83
Margalef (Dmg) **	4,83			

Legenda: (*) - índices de heterogeneidade; (**) - riqueza específica; **MC** - muito chuvoso; **PC** - pouco chuvoso.

No que concerne às métricas de diversidade, os índices de diversidade de Shannon (H') e Simpson (D') convertidos para diversidade verdadeira foram empregados. A diversidade de Shannon é uma medida de entropia, fortemente influenciada às variações das espécies mais abundantes, dessa maneira o índice foi maior em setembro (H' = 9.66) e menor em agosto (H' = 8.16), Já a diversidade de Simpson (D), que é um índice de dominância, demonstrou que mês de agosto apresentou o menor valor (D = 4.89) e maior em setembro (D = 7,83). A tabela 10, reúne as diferentes ordens de diversidade baseadas em um parâmetro de diversidade (q) e o cálculo dos seus respectivos valores.

Tabela 10: Ordens de diversidade para os períodos de estudo baseados em parâmetro (q)

MESES	VALORES DOS PARÂMETROS (q)										
	0	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	∞
abril	19	15.4	12.7	9.45	6.81	5.28	4.47	4.07	3.89	3.81	3.74
maio	24	17.2	12.8	8.77	6.78	5.86	5.11	4.62	4.40	4.30	4.20
agosto	20	15.9	12.5	8.16	4.89	3.47	2.94	2.74	2.65	2.61	2.57
setembro	14	12.6	11.4	9.66	7.83	6.66	6.03	5.62	5.34	5.20	5.07

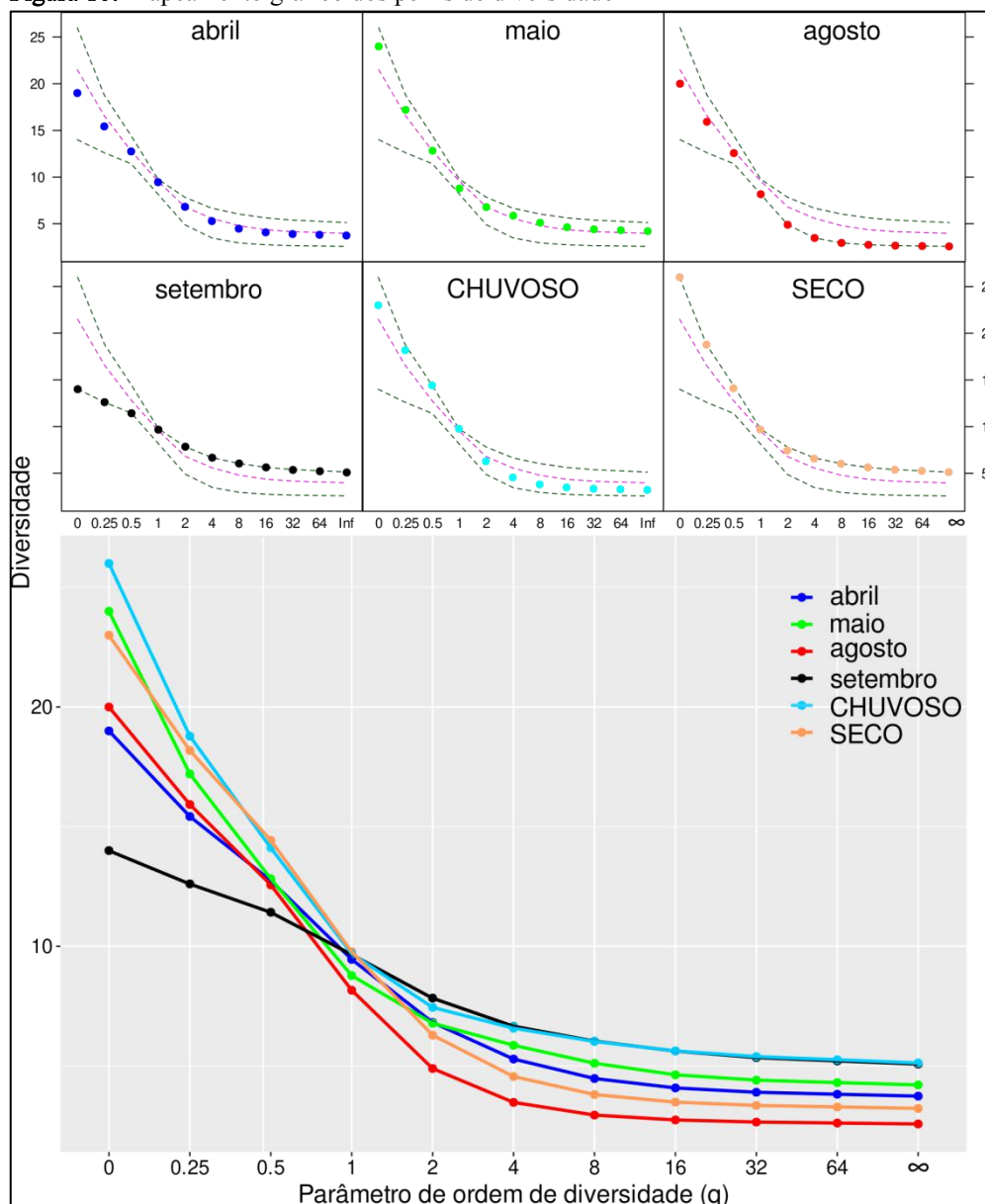
Legenda:A primeira linha refere-se à ordens de diversidade; (∞) - infinito.

Os resultados obtidos por meio da série de Hill representam a riqueza de espécies em diferentes valores de diversidade (q) para cada um dos quatro meses estudados. Conforme apresentado na Tabela 9, à medida que o valor de (q) aumenta, a riqueza de espécies diminui.

Considerando os meses de estudo, quando $q = 0$, o valor da série de Hill representa a riqueza de espécies, indicando que todas as espécies são igualmente importantes e estimadas através desse parâmetro. Por exemplo, em abril, quando q é igual a zero, a riqueza de espécies é igual a 19. Conforme (q) aumenta infinitamente, a riqueza de espécies diminui, alcançando o valor de 3,74.

Ao considerar diferentes valores de diversidade (q) para cada mês de estudo, a série de Hill é representado pelo índice de Shannon (H') quando $q = 1$ e pelo índice de Simpson (D) quando $q = 2$. Quando o valor de q tendeu ao infinito, o mês de setembro apresentou a maior dominância da espécie mais abundante (5,21), representada por *Wy. hosautos* (n = 13, De = 19,7%). A Figura 10 mostra os perfis de diversidade mapeados.

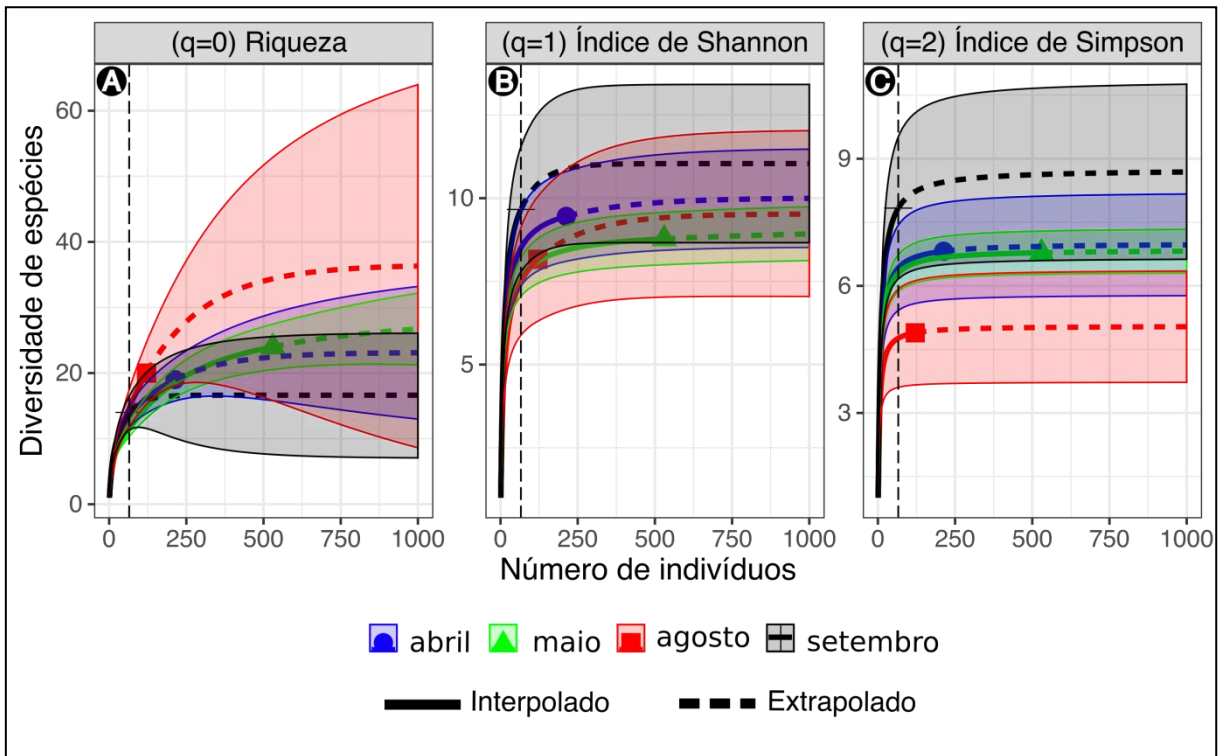
Figura 10: Mapeamento gráfico dos perfis de diversidade



Legenda: As linhas representam cada mês comparando os perfis de diversidade.

Quanto a estimativa de riqueza, diversidade e suficiencia amostral, as curvas de rarefação e extrapolação permitiram avaliar se a amostra obtida foi suficiente para representar adequadamente a diversidade de espécies da área estudada. Assim sendo, a técnica foi desenvolvida considerando três principais índices dos números de Hill de ordem (q) (Figura 11).

Figura 11: Curva de amostragem de rarefação e extrapolação baseada no tamanho da amostra para cada mês individualmente.



Legenda: Os valores de (q) representam as três medidas do número de Hill, sendo, $(q=0)$ - riqueza de espécies; $(q=1)$ - diversidade de Shannon e $(q=2)$ - diversidade de Simpson. Essas medidas foram utilizadas para comparar a diversidade entre os meses de estudo. O eixo y refere-se à diversidade de espécies, já o eixo x, ao número de espécimes. As linhas coloridas representam os meses de estudo, sendo que a linha sólida representa os valores das amostragens. Já a linha tracejada, refere-se à extrapolação. As áreas sombreadas consistem nos intervalos de confiança (95%), que foram obtidos por reamostragem, com *bootstrap* de 1000 repetições. As linhas tracejadas na vertical referem-se ao mês de menor abundância.

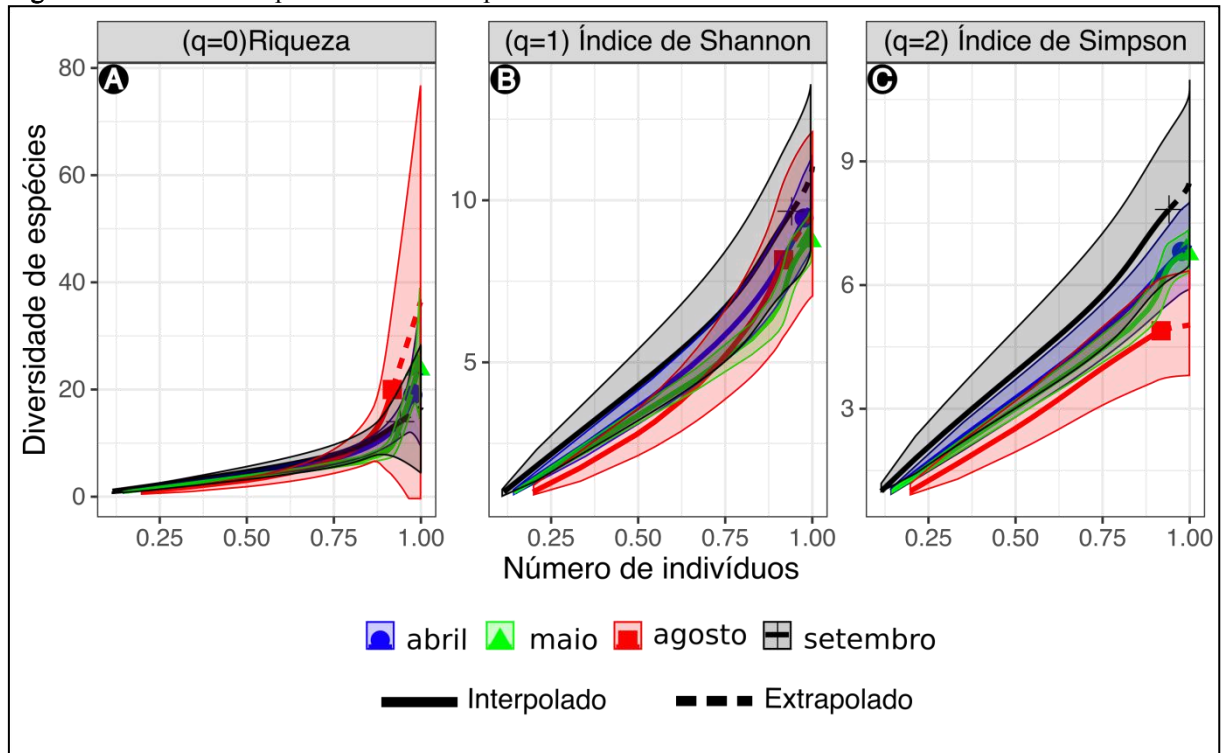
Ao considerar o parâmetro $q=0$, a curva resultante apresenta uma forma de rarefação com base na riqueza observada (Figura 11.A). A linha de intercepção permite interpretar os resultados de rarefação e extrapolação a partir do mês com menor abundância, ou seja, setembro, com abundância estimada de 66 espécimes. Os valores de diversidade representados pela curva constam da seguinte maneira: abril<maio>agosto>setembro, na qual maior diversidade observada ocorreu em maio (curva em verde).

No entanto, é importante notar, para os meses de agosto e setembro, que os intervalos de confiança (área sombreada da linha) indicam incerteza de estimativa, inferindo variações na riqueza à medida que o esforço amostral aumenta, especialmente para o mês de agosto (em vermelho); dessa forma, o gráfico sugere que, caso o esforço amostral fosse aumentado, a riqueza poderia variar, tanto que com base na extrapolação máxima (estabelecida em 1000 indivíduos, considerando-se somente a linha como referência), estima-se um aumento de até 15 espécies caso fossem amostrados mais 934 indivíduos no

mês de agosto. Por outro lado, as curvas representativas dos demais meses sugere variações sutis de aumento ou diminuição na riqueza.

Quanto às estimativas baseadas nos valores em que $q=1$ (Figura 11.B), onde a curva é representada pela diversidade de Shannon. Observa-se que, o perfil de diversidade foi maior para os meses de setembro e abril. Por isso, é perceptível a elevação destas. Já para os meses de agosto e setembro, o intervalo de confiança demonstra incerteza de estimativa.

Figura 12: Curva de completude da amostra para cada mês individualmente.



Legenda: Os valores de (q) representam as três medidas do número de Hill, sendo, ($q=0$) - riqueza de espécies; ($q=1$) - diversidade de Shannon e ($q=2$) - diversidade de Simpson. Essas medidas foram utilizadas para comparar a diversidade entre os meses de estudo. O eixo y refere-se à diversidade de espécies, já o eixo x, ao número de espécimes. As linhas coloridas representam os meses de estudo, sendo que a linha sólida representa os valores das amostragens. Já a linha tracejada, refere-se à extrapolação. As áreas sombreadas, consistem nos intervalos de confiança (95%), que foram obtidos por reamostragem, com *bootstrap* de 1000 repetições.

Ao avaliar a completude amostral para os meses de estudo, nota-se uma completude de cerca de 100%, uma vez que para o parâmetro $q=0$, os meses de abril, maio apresentaram-se estáveis e com intervalos de confiança estreitos, sugerindo que a amostragem foi suficiente, e que a maioria das espécies foram amostradas. Por outro lado, a curva sugere que para o mês de agosto (em vermelho), a diversidade tende variar, uma vez que o intervalo de confiança apresenta incerteza de estimativa.

Para $q=1$ e $q=2$, observa-se que os meses de abril e maio, alcançaram a completude, contudo, as curvas resultantes para os meses de agosto e setembro sugerem um sutil aumento

na diversidade; todavia, a sobreposição dos intervalos de confiança indicam que não há diferença significativa quanto as estimativas de proporção de indivíduos em função das espécies representadas na amostra.

Em nosso estudo, fica evidente que, por meio da análise dos índices e conjuntamente com as técnicas de estimativa de diversidade, foram observadas variações nas medidas de abundância e riqueza na população de culicídeos. Para avaliar se houve influência das variáveis abióticas nessas medidas de diversidade, a Tabela 11 compila o resultado das aferições realizadas em campo, incluindo dados obtidos pelo INMET (precipitação diária e acumulada).

Tabela 11: Variáveis abióticas semanais

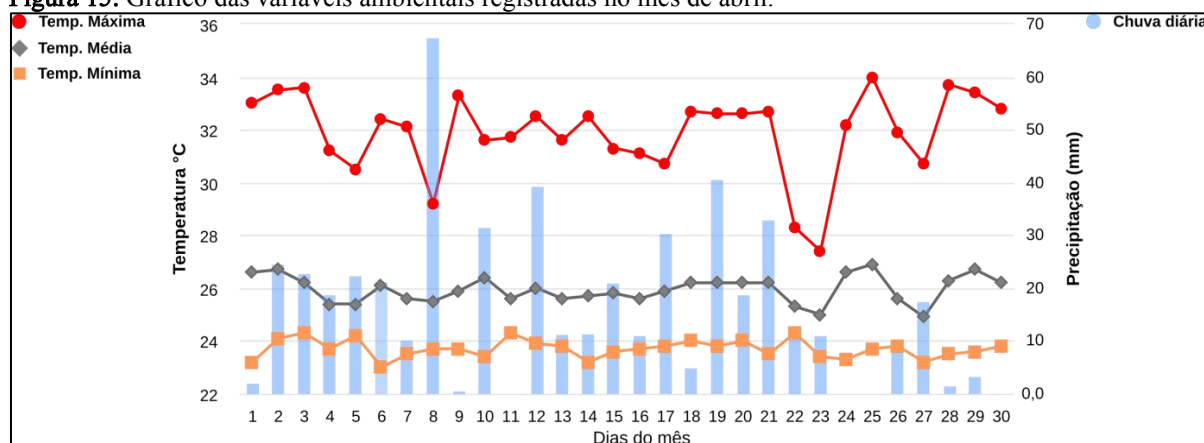
VARIÁVEIS	MÊS				
	ABRIL				
Temperatura (°C)	D1	D2	D3	D4	D5
Mínima	23,9	24,5	24,5	25	24
Máxima	26	31,7	28,9	27	29
Média	24,95	28,1	26,7	26	26,5
Umidade Relativa (%)					
Mínima	88	90	90	83	87
Máxima	98	97	94	88	95
Média	93	93,5	92	85,5	91
Precipitação diária (mm)*	11,4	0	0	8,2	17,8
Precipitação acumulada (mm)*			37,4		
VARIÁVEIS	MÊS				
	MAIO				
Mínima	24,5	25	25,8	25,7	25
Máxima	26,4	27,3	28,2	29,5	27
Média	25,45	26,15	27	27,6	26
Umidade Relativa (%)					
Mínima	89	86	84	75	85
Máxima	98	99	97	96	98
Média	93,5	92,5	90,5	85,5	91,5
Precipitação diária (mm)*	28,4	31,9	2	1,6	9,4
Precipitação acumulada (mm)*			73,3		
VARIÁVEIS	MÊS				
	AGOSTO				
Temperatura (°C)	D1	D2	D3	D4	D5
Mínima	24,5	25	25,8	25,7	25
Máxima	26,4	27,3	29,2	27	27
Média	25,45	26,15	27,5	26,35	26

Umidade Relativa (%)					
Mínima	89	86	84	87	85
Máxima	98	99	97	96	98
Média	93,5	92,5	90,5	91,5	91,5
Precipitação diária (mm)*	0	49,6	7,8	0	7,2
Precipitação acumulada (mm)*			64		
VARIÁVEIS					
MÊS SETEMBRO					
Temperatura (°C)	D1	D2	D3	D4	D5
Mínima	27,9	27,9	28,5	26,5	27,5
Máxima	31,2	31	31,3	31,1	31
Média	29,55	29,45	29,9	28,8	29,25
Umidade Relativa (%)					
Mínima	76	70	80	75	68
Máxima	90	90	90	90	81
Média	83	80	85	82,5	74,5
Precipitação diária (mm)*	11,4	0,6	0	2,4	11,8
Precipitação acumulada (mm)*			26,2		

Legenda: (*) Variáveis obtidas pelo INMET.

As Figuras 15, 16, 17 e 18, compilam, em gráficos de linhas e de barras, valores diários de temperatura e precipitação pluviométrica diária registrados durante os meses de amostragem no entanto, utilizando-se os dados disponibilizados pelo INMET.

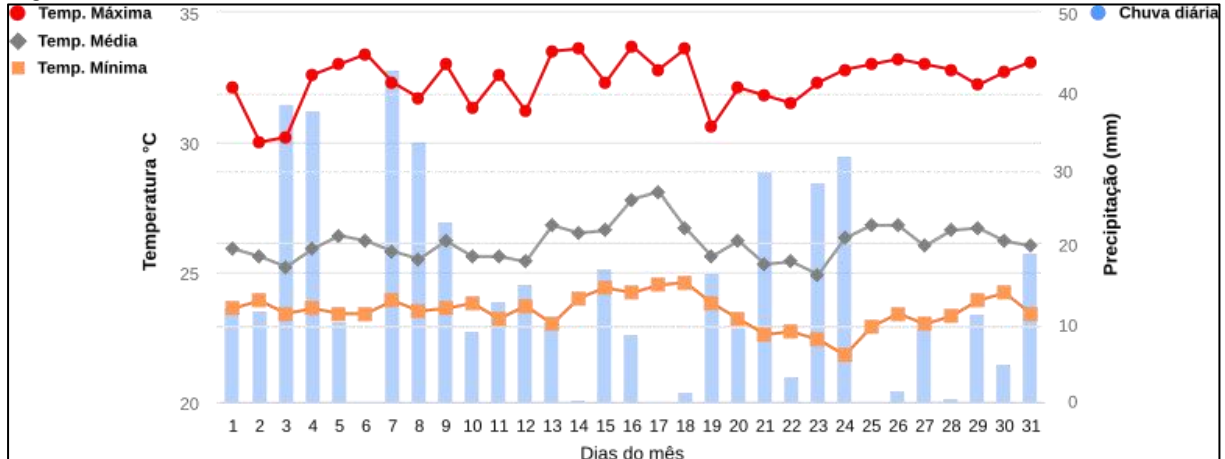
Figura 15: Gráfico das variáveis ambientais registradas no mês de abril.



Legenda: À esquerda, escala em °C e marcadores das variáveis de temperatura: em vermelho - temperatura máxima; cinza - temperatura média; laranja - temperatura mínima. À direita, escala numérica dos valores de precipitação diária (mm) marcador da variável em azul - chuva diária.

No mês de abril, as amostragens ocorreram durante os dias de 25 a 29, e registrou-se o valor acumulado de 501 mm de chuva, umidade média de 81,1% temperatura máxima de 26,9 °C, mínima de 25,45 °C, média de 26 °C (Figura 15).

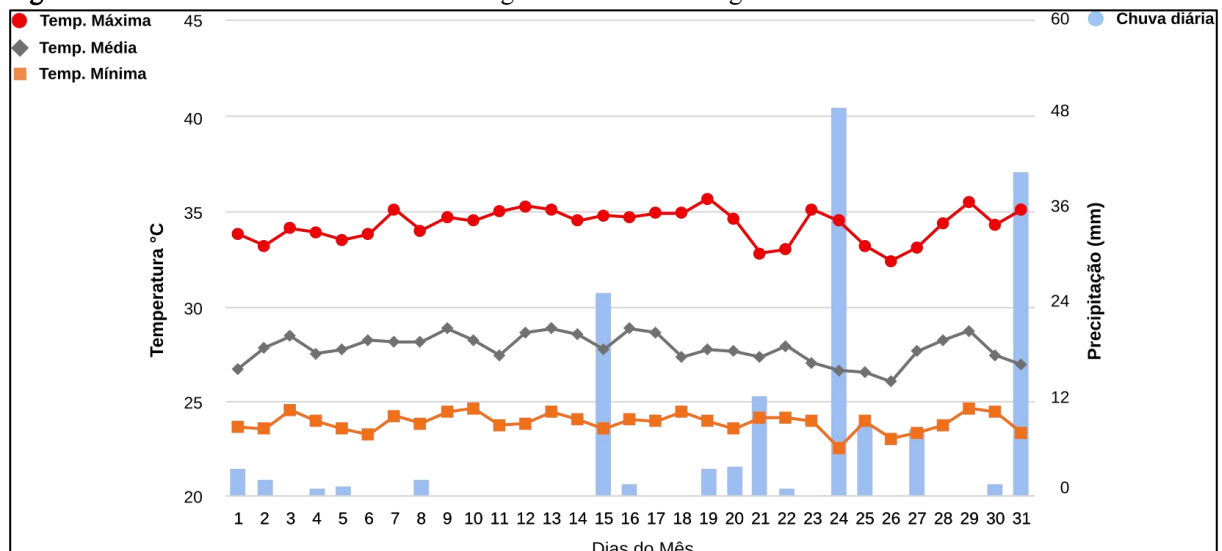
Figura 16: Gráfico das variáveis ambientais registradas no mês de maio.



Legenda: À esquerda, escala em °C e marcadores das variáveis de temperatura: em vermelho - temperatura máxima; cinza - temperatura média; laranja - temperatura mínima. À direita, escala numérica dos valores de precipitação diária (mm) marcador da variável em azul - chuva diária.

Em maio, as amostragens ocorreram durante os dias de 23 a 27, e registrou-se o valor acumulado de 462.4 mm de chuva, umidade média de 88, 64%. E temperatura máxima de 26,73 °C, mínima de 25,62 °C e média de 26,18 °C (Figura 16).

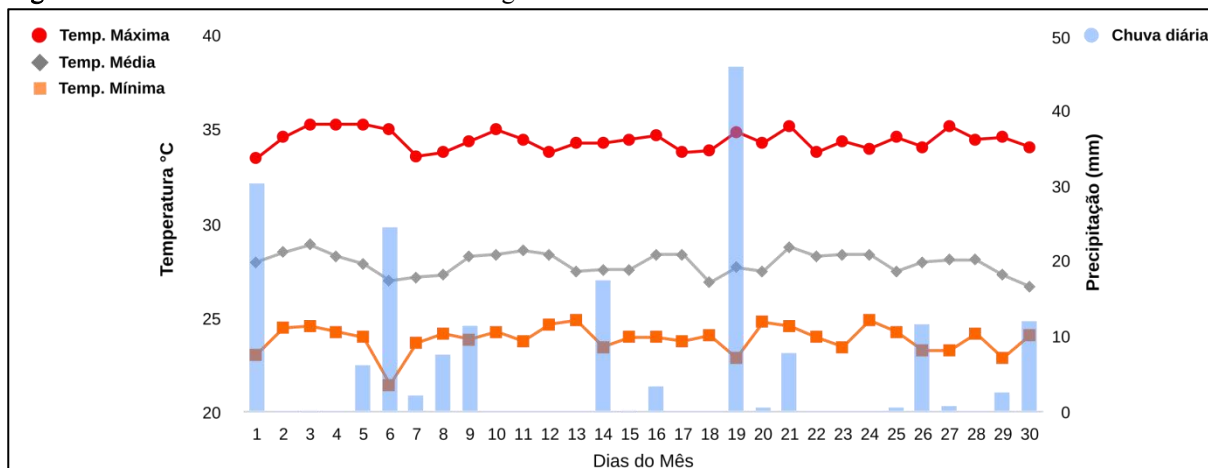
Figura 17: Gráfico das variáveis ambientais registradas no mês de agosto



Legenda: À esquerda, escala em °C e marcadores das variáveis de temperatura: em vermelho - temperatura máxima; cinza - temperatura média; laranja - temperatura mínima. À direita, escala numérica dos valores de precipitação diária (mm) marcador da variável em azul - chuva diária.

No mês de agosto, as amostragens ocorreram durante dias de 16 a 20, registrando-se o valor acumulado de 184,6 mm de chuva, umidade média de 78,57%, temperatura máxima de 28,42 °C, mínima de 27,15 °C e média de 27,78 °C. (Figura 17).

Figura 18: Gráfico das variáveis ambientais registradas no mês de setembro

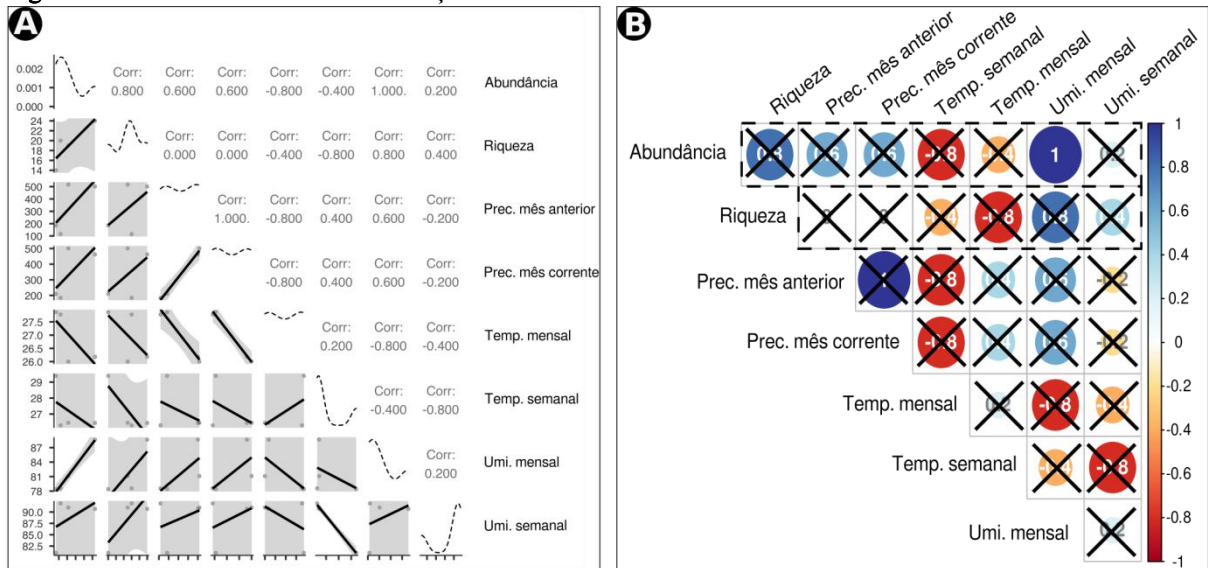


Legenda: À esquerda, escala em °C e marcadores das variáveis de temperatura: em vermelho - temperatura máxima; cinza - temperatura média; laranja - temperatura mínima. À direita, escala numérica dos valores de precipitação diária (mm) marcador da variável em azul - chuva diária.

No mês de setembro, as amostragens ocorreram durante dias 26 a 30, registrando-se o valor acumulado de 210 mm de chuva, umidade média de 78,41%, temperatura máxima de 28,54 °C, mínima de 27,20 °C e média de 27,87 °C (Figura 18).

De forma a avaliar se houve influência das variáveis abióticas quanto às medidas de abundância e riqueza, o teste de correlação de Spearman (ρ) demonstrou que, embora haja diversas correlações positivas entre as variáveis, somente uma única correlação estatisticamente significativa entre as variáveis foi observada (abundância e umidade mensal) ($\rho = 1$, p-valor = 0.04) (Figura 19).

Figura 19: Gráficos da matriz de correlação



Legenda. (Figura 19.A) - Resultados da matriz de correlação de Spearman. Os valores variam de -1 a 1, onde -1 indica uma correlação negativa perfeita (quando uma variável aumenta, a outra diminui na mesma proporção). Em cor cinza, a linha de melhor ajuste, que varia de acordo com o coeficiente de correlação, ou seja, quando os pontos se aproximam da reta, maior a correlação e estreitamento da linha de ajuste. A abreviatura **Corr** representa o valor de correlação entre as variáveis. **(Figura 19.B):** As linhas tracejadas evidenciam a correlação entre a abundância e riqueza com as variáveis abióticas. A área do círculo varia proporcionalmente de acordo com coeficiente correlacional entre as variáveis. O valor numérico no centro das células, representam o coeficiente entre duas variáveis. O “X” representa os valores que não apresentam significância estatística. **Prec** - Precipitação; **Temp** - temperatura; **Umi** - umidade.

6 DISCUSSÃO

A região amazônica compreende um dos biomas mais diversos do mundo, abrigando uma ampla variedade de espécies de plantas, animais vertebrados e invertebrados pouco conhecidos. Dentre essas, diversas espécies de culicídeos que atuam como vetores biológicos de muitos agentes etiológicos que causam enfermidades nas populações humanas, incluindo outros animais. Grande é a importância do conhecimento das espécies, distribuição, além da relação de efeito dos constantes impactos ambientais, ocasionado pelas ações antrópicas quanto a dinâmica dessas populações de mosquitos.

No presente estudo, investigou-se a fauna de culicídeos de uma floresta fragmentada inserida no ambiente urbano na região metropolitana de Belém que apresentou estimada diversidade de culicídeos. Quanto às técnicas de amostragem, embora esforço amostral em horas para as armadilhas luminosas CDC's tenha sido elevado, o método de amostragem por atração humana protegida se mostrou superior em comparação à armadilha automática. Resultados semelhantes foram obtidos por Farias (2019) em um estudo entomoviológico realizado na Área de Proteção Ambiental do Combú, em Belém-PA. No entanto, a abundância de culicídeos amostrados por períodos divergiu, uma vez que a abundância observada pelo autor mencionado foi superior no período PC, enquanto que, em nosso estudo, a abundância foi maior no período MC, possivelmente em detrimento da diferença entre os esforços amostrais empregados.

Quanto aos espécimes coletados pelas armadilhas CDC, observou-se que, durante o período MC, não houveram resultados positivos para as mesmas. Ferreira (2015) denotou observações concordantes com nossos resultados, pois a ausência de positividade ocorreu durante os meses muito chuvosos, possivelmente em detrimento do efeito negativo das chuvas quanto a dispersão dos culicídeos, que durante as chuvas, mantem-se em seus abrigos naturais.

Em relação às modalidades de amostragem em solo e copa, o maior quantitativo de culicídeos foi obtido na modalidade em solo em comparação com o quantitativo obtido em copa, resultados em linha foram obtidos por (Lira-Vieira *et al.*, 2013; Farias, 2019; Deus *et al.*, 2022). A baixa densidade de mosquitos coletados no estrato de copa arbórea pode ter ocorrido em detrimento de fatores abióticos, fisionomia da floresta, disponibilidade de recurso e o próprio comportamento dos espécimes (Basset *et al.*, 2003). Conforme mencionado anteriormente, a área de estudo é um fragmento de mata degradada inserido no meio urbano,

com características vegetais de mata secundária. Esse tipo de vegetação apresenta uma cobertura vegetal comprometida, principalmente pela queda natural de árvores, e um baixo crescimento de nova vegetação. Durante o período de estudo, foi possível observar ocasionalmente a presença de roedores do gênero *Dasyprocta*, vulgarmente conhecido como “cotia” no estado do Pará.

Além dos fatores já considerados em nosso estudo, é importante destacar que, a disponibilidade de fontes sanguíneas pode ter desempenhado um papel adicional quanto a preferência pelo estrato de solo na área de estudo. A reduzida diversidade de vertebrados na área em questão, aliada à frequente visitação humana para atividades recreativas, como caminhadas e práticas esportivas, assim como a existência de unidades habitacionais em proximidade variável, entre 30 e 1000 metros, podem ter contribuído para essa dinâmica. O aspecto de oportunismo dos culicídeos, bem como alteração na paisagem podem ter ainda agravado essa situação, levando a uma maior predominância dos mosquitos em nível de solo.

Alguns estudos destacam em parte que, esse conjunto de alterações estão fortemente relacionadas com a mudança de hábitos exibido pelos culicídeos, ao passo que, Dorvillé (1996), relaciona os mosquitos à três classes de bioindicadores ambientais. Sendo estes, espécies do subgênero *Kerteszia*, (Subfamília anophelinae), cuja a presença representa ambientes com alto nível de conservação, na qual a intensidade da ação antropogênica tende a reduzir a presença desses anofelíneos, e até mesmo, em certas circunstância, vir a desaparecer.

O segundo grupo (*Aedes scapularis* e *Mansoniini*), representam a classe de ecossistemas com alto grau de antropização. Por fim, o grupo *Haemagogus* spp., e *Sabethes* spp. (Dendrícolas) representam ambientes modificados, mas que ainda possuem características do ecossistema.

No presente estudo, o perfil de dominância destacou *Wy. aporonoma*, *Ae. serratus*, *Wy. negrensis*, *Wy. medioalbipes* e *Sa. undosus*, *Ps. ferox*, *Wy. hosautos* e *Ma. indubitans*. Não foram registradas espécies pertencentes à subfamília Anophelinae, e, baseado na dominância das espécies supracitadas, considerando ainda, as observações de Dorvillé (1996), que foram concordantes com nossos achados, visto que, *Ae. serratus* foi a segunda espécie mais dominante, ao invés de mosquitos dendrícolas como *Sa. quasicyaneus* e *Sa. glaucodaemon*.

No entanto, é imprescindível considerar a dominância de algumas espécies do gênero *Wyeomyia*, cuja as formas imaturas se reproduzem em fitotelmata, especialmente em internódios de bambu (Lozovei, 1998; Zequi & Lopes, 2001; Forattini, 2002) todavia,

ressalta-se que essas plantas ocorrem com frequência e clareiras e bordas florestais, o que inclui matas secundárias e fragmentos degradados (Costa *et al.*, 2012). Portanto, a área pode ser caracterizada como de relativa preservação ambiental, com um gradiente de perturbação, uma vez que há presença de espécies do gênero *Sabethes*, característicos de ambientes preservados, ao mesmo tempo que *Ma. indubitans* e *Cq. venezuelensis*, que compõem a tribo Mansoniini, incluindo os Aedini *Ps. ferox* e *Ae. scapularis*, que de acordo com Forattini (2002), são espécies que apresentam uma tendência de adaptação a ambientes antrópicos, podendo ser encontradas em florestas residuais e secundárias.

De acordo com Cantuária (2012) as variações na diversidade podem ser compreendidas por meio de comparações entre períodos, estações, ambientes e métodos de amostragem. De fato, uma vez que a análise de diversidade do presente estudo deixou evidente que cada mês de amostragem refletiu em valores de abundância, riqueza de espécies, incluindo os índices de diversidade empregados, além disso, por meio da série de Hill, foi possível observar que os perfis de diversidade apresentaram maiores valores no mês de setembro, indicando maior diversidade de espécies em relação aos meses do período muito chuvoso. Em síntese, os resultados evidenciam que cada mês apresenta distintos padrões de diversidade, com variações na riqueza distribuição das abundâncias e dominância de algumas espécies.

Embora haja uma perda do perfil de preservação, fragmentos florestais podem apresentar estimada riqueza e diversidade de culicídeos, uma vez que a alteração do ambiente atua como um meio de seleção para espécies menos suscetíveis às pressões ambientais (Dorvillé, 1996). Nosso estudo identificou uma riqueza de 34 espécies classificadas em 10 gêneros, outros já conseguiram demonstrar valores elevados de riqueza em áreas residuais, como no estudo de Gomes *et al.*, (2007), onde identificaram 86 espécies de culicídeos em uma área impactada no estado do Mato Grosso do Sul. Chaves (2018) identificou 138 espécies em um estudo de ecologia de Malária na Amazônia Legal. Já Santos & Calado (2014) identificaram 13 espécies em área urbana no Oeste da Bahia, e May (2018) identificou 11 espécies em áreas verdes, urbanas e residenciais, no estado de Fortaleza-CE, reiterando as observações de Forattini & Massad (1998), de que ambientes com maior nível de preservação ambiental nem sempre apresentam elevados valores de riqueza e diversidade de espécies

A partir da análise dos resultados das curvas de rarefação e extrapolação, observou-se que a riqueza de espécies foi relativamente constante ao longo dos meses estudados. E embora denota-se variação numérica na riqueza observada para cada mês, as curvas baseadas

na riqueza e nos índices de Shannon e Simpson, sugerem que com exceção do mês de maio, um aumento no esforço amostral seria necessário para melhor compreender o perfil de riqueza e diversidade da área trabalhada durante os meses menos chuvosos.

No que se refere a avaliação das variáveis de estudo, apenas uma correlação positiva com significância estatística foi observada (abundância e umidade mensal), enquanto que as demais variáveis parecem não influenciar a abundância e riqueza de espécies. Resultados similares foram obtidos por Olivera (2020) em um estudo de diversidade urbana e periurbana de Culicídeos no Distrito Federal. Conforme Pessoa *et al.*, (2007), A região Norte do Brasil possui uma homogeneidade espacial e sazonal da temperatura, quando comparado à precipitação, cujo os valores podem chegar até 10 mm por dia na região, fator este possivelmente associado à atuação da Zona de Convergência Intertropical, que ocorre em detrimento de anomalias associadas ao fenômeno “El Niño”, inferindo que se houver temperaturas mais elevadas do que o normal no verão, todas as estações do ano serão mais quentes (Madruga *et al.*, 2014). Dessa forma, a homogeneidade dessas variáveis podem ter culminado na ausência de correlação entre as variáveis avaliadas.

No presente estudo, constatou-se presença de espécies de importância epidemiológica pertencentes à diferentes tribos, quais sejam, Aedini Neveu-Lamaire, gênero *Aedes* Meigen, cuja o representante, *Ae. serratus*, espécie de elevada dominância neste trabalho. É um mosquito sinantrópico frequentemente encontrado em áreas antropizadas impactadas, já foi encontrado naturalmente com *Saint-Louis encephalitis* (SLEV), *Ilheus virus* (ILHV) *Oropouche orthobunyavirus* (OROV) *Caraparu virus* (CARV) Vasconcelos *et al.*, 1991; 1998; 2001), *Aurá virus* (AURV) (Travassos da Rosa *et al.*, 1998); *Venezuelan equine encephalitis* (VEEV) (Causey *et al.*, 1961), *Una virus* (UNAV) (Jonkers *et al.*, 1959); *Oriboca virus* (ORIV), *Mucambo virus* (MUCV) e *Mirim virus* (MIRV) (Karabatsos, 1985; IEC, 2007), incluindo *Yellow fever virus* (YFV) (Cardoso *et al.*, 2010).

No mesmo íterim, a presença de *Aedes aegypti*, e *Aedes albopictus*, este último, um importante vetor com elevada plasticidade, dada sua invasividade e adaptabilidade, tanto ao ambiente urbano, quanto rural. Foi registrado pela primeira vez no Brasil em 1986 (Forattini, 1986) e no Estado do Pará, em 2002 (Segura *et al.*, 2003). É um mosquito de extrema importância médica por atuar como vetor urbano de *Chikungunya virus* (CHIKV) e *Dengue virus* (DENV). Em um estudo de infecção artificial, *Ae. albopictus* demonstrou competência para infectar-se e transmitir YFV, com implicações de risco de reurbanização

deste arbovirus (Damasceno-Caldeira *et al.*, 2023), além de demonstrar competência vetorial para cerca de 22 diferentes arbovirus (Moore & Mitchell, 1997; Paupy *et al.*, 2009).

Aedes scapularis. É um mosquito neotropical, predominantemente diurno de hábito hematófago voraz, geralmente encontrado em áreas urbanas, peri-urbanas e rurais (Forattini, 2002; Câmara *et al.*, 2020), Interessantemente, Breust (2008) aponta a presença dessa espécie em grandes centros urbanos com vegetação restrita à áreas verdes ou parques, ou melhor, fragmentos florestais, os quais são utilizados pela comunidade para prática de atividades físicas e recreacionais ao ar livre. Em linha com as observações do presente estudo, uma vez que, além do nosso sítio de estudo se tratar de um fragmento florestal, também, é utilizado para prática desportiva.

A importância epidemiológica de *Ae. scapularis* demanda de evidências em experimentações laboratoriais, bem como, através de uma elevada assembléia de isolados virais em condições naturais (Forattini, 2002), da qual listam-se, *Rocio virus* (ROCV) (Mitchell & Forattini, 1984, Mitchell *et al.*, 1986), ILHV (Pauvolid-Corrêa *et al.*, 2013); VEE (Causey *et al.*, 1961), *Kairi virus* (KRIV) (Jonkers *et al.*, 1968), MV, CARV, *Maguari virus* (MAGV) e *Melão virus* (MELV) (Vasconcelos *et al.*, 1998; IEC, 2007), incluindo envolvimento com agentes parasitários nematódeos *Wuchereria bancrofti* (Rachou *et al.*, 1954) e *Dirofilaria immitis* (Consoli e Lourenço de Oliveira, 1994).

Psorophora ferox. Espécie relativamente comum no bioma amazônico, as fêmeas apresentam comportamento agressivo e voraz, de tal forma que em 1819, Alexander Von Humboldt, seu descritor, nomeou a espécie em alusão a este aspecto comportamental (Forattini, 2002). Recentemente, ILHV foi isolado de um lote de *Ps. ferox* coletados em uma área de proteção ambiental na região metropolitana de Belém, à cerca de 5 km de distância do COAGB. Todavia, já foi encontrada naturalmente infectada com SLE (Anderson & Aitken, 1957); UNAV (Travassos da Rosa *et al.*, 1998), KAIV (Aitken & Spence, 1964), ILHV (Anderson, Aitken & Downs, 1956); MAYV (Pinheiro & Leduc, 2019) ROCV (Lopes *et al.*, 1981), MELV (Berge, 1975), CARV (IEC, 2007; SHOPE *et al.*, 2019), além de carrear mecanicamente ovos de *Dermatobia hominis*, causadora de miíase (Forattini, 2002)

Quanto a *Psorophora albipes*, que embora tenha apresentado baixa abundância neste estudo, é de estimada importância médica, por ser associada a diversos arbovirus que foram isolados desta espécie, como YFV (Shannon, 1938; Vasconcelos, 2003), UNAV (Causey *et al.*, 1963); *Ieri virus* (IERIV), *Wyeomyia virus* (WYOV) (Spence *et al.*, 1967), VEEV

(Jonkers *et al.*, 1968), MAYV, ILHV, *Guamá virus* (GMAV), *Kairi virus* (KAIV) (Karabatsos, 1978; IEC, 2007)

Quanto aos representantes da tribo Mansoniini Belkin em geral, e particularmente do gênero *Mansonia* Blanchard, a presença de *Mansonia indubitans* é um achado que requer atenção, principalmente por haver registros de coleta dessa espécie em intradomicílio em área residencial situada cerca de 1000 m de distância do COAGB (Caldeira *et al.*, 2019), incluindo outros registros de ocorrência dessa espécie em uma residência situada, aproximadamente, a 2500 m do local de estudo (Comunicação pessoal, Dra. Bruna Laís Sena do Nascimento). Contudo, não se sabe o local de origem desses espécimes, uma vez que há outros fragmentos de mata, incluindo o próprio Parque Estadual do Utinga, próximo aos locais em que tais exemplares foram encontrados. Outros estudos já detectaram *Ma.indubitans* no interior de residências no estado do São Paulo (Taibe-Lagos & Natal, 2003; Marques, 2013).

Além de invasivos, muitos representantes do gênero *Mansonia* Blanchard são considerados como mosquitos agressivos e de picada extremamente incômoda, bem como, apresentam importância médica por terem sido encontradas naturalmente infectadas com WEEV (Sabattini *et al.*, 1998), além de demonstrar moderada susceptibilidade a infecção por quatro cepas de vírus da VEEV (Turell *et al.*, 2000; Méndez *et al.*, 2001).

O segundo representante, *Coquillettidia venezuelensis*, espécie caracterizada como voráz e agressiva (Forattini, 2022), é relevante por ter sido encontrada naturalmente infectada com arbovirus de elevada importância, como, *West Nile virus* (WNV) (Velásquez *et al.*, 2013), OROV (Hervé *et al.*, 1986) incluindo outros arbovirus, tais como Aruac virus (ARUV), Bimiti virus (BIMV) (Robin *et al.*, 1982), GAMV (Panday, 1981), MAYV (Aitken *et al.*, 1964; Jonkers *et al.*, 1968), incluindo *Itaporanga virus* (ITPV), *Bussuquara virus* (BSQV) e *Maju virus* (MOJUV) (IEC, 2007).

Da tribo Culicini Meigen, destaca-se o representante do gênero *Culex* Linnaeus, *Culex coronator*, espécie de acentuado hábito extradomiciliar, com elevada preferência por matas residuais (Forattini *et al.*, 1995) reconhecido como vetor potencial de arbovirus importantes como WNV (Alto *et al.*, 2014; Smith, 2017), SLE (Fernandez *et al.*, 2000); MV (Forattini, 2002) e VEEV (Turell *et al.*, 2000), além de, CARV e TUCV (IEC, 2007; Segura *et al.*, 2008). Incluindo os representantes da sessão Spissipes, sendo, *Cx.spissipes* e *Cx.pedroi*, os quais, ambos, já foram encontrados naturalmente infectados com VEEV (Arrigo & Weaver, 2010).

Da tribo Sabethini Blanchard, um dos principais representantes do gênero *Sabethes* Robineau-Desvoidy (*Sa.glaucodaemon*) é epidemiologicamente importante, principalmente por atuar como vetores secundários de febre amarela silvestre no Brasil (Vasconcelos, 2003; IEC, 2007; Brasil, 2017).

Além disso, *Sa.undosus*, cuja a ocorrência é registrada pela primeira vez para o Estado do Pará, apresentou perfil eudominante, porém, sua importância médica é desconhecida. No entanto, é notório que essa espécie ocorre nos mesmos nichos em que espécies reconhecidamente vetoras de febre amarela silvestre, como, *Hemagogus* spp. e *Sabethes* spp. (Santos *et al.*, 2020; Stanzani *et al.*, 2022).

Interessantemente, do total de exemplares amostrados, observa-se que a maior abundância ocorreu em solo quando comparado ao estrato de copa. Durante as excursões, pôde-se denotar que *Sa.undosus* apresentaram hábito hematófago com ataque constante, geralmente, aproximando-se dos coletores à cima da cabeça, e, como não houve amostragem de formas imaturas, não foi possível determinar qual criadouro as larvas se desenvolviam. Contudo, observamos maior densidade de mosquitos quando as amostragens ocorriam próximo à toiceiras de bambu, o que condiz com as observações de Suaza-Vasco *et al.*, (2015) e Campos (2016) que obtiveram exemplares imaturos a partir de coletas em internódios de bambu.

Do gênero *Limatus* Theobald, constatou-se duas espécies, *Li. flavisetosus* e *Li. durhamii*, que são mosquitos de distribuição silvestre, a primeira geralmente ocorre em logradouros com certo nível de preservação ambiental, reproduzindo-se em internódios de bambu, cascas de coco, embora também possa utilizar recipientes como latas de metal (Alencar *et al.*, 2010), a espécie já foi encontrada naturalmente infectada com *vírus Maguari* (IEC, 2007).

No entanto, ao que se refere a *Li. durhamii* (Guimarães *et al.*, 1985; Lourenço de Oliviera *et al.*, 1986) caracterizam essa espécie como a mais bem adaptada ao meio urbano, e potencialmente capaz de domiciliar-se, devido a sua habilidade de reproduzir-se em diferentes criadouros, sejam artificiais ou naturais, em locais com diferentes graus de antropização. Sua importância médica é estimada em virtude do isolamento de arbovirus como, WYOV (Aitken *et al.*, 1968), GAMV, *Maguari virus* (MAGV) e TUCV (IEC, 2007), incluindo a detecção de *Zika virus* (ZIKV) no estado de São Paulo (Barrio-Nuevo *et al.*, 2020). Contudo, ressalta-se que estudos laboratoriais são necessário para determinar a competência vetorial de *Li.durhamii* para os arbovirus mencionados (Barrio-Nuevo, 2022).

Quanto ao Gênero *Wyeomyia* Theobald, suas espécies caracterizam-se como mosquitos de distribuição silvestre (Harbach, 2013), porém, registros de ocorrência em fragmentos florestais com diferentes graus de antropização são relatados nos estados do Paraná (Zequi & Lopes, 2001), Santa Catarina (Orlandini *et al.*, 2020), Amapá (Saraiva, Maitra & Souto, 2020) e Bahia (Catenacci *et al.*, 2018). No presente estudo, foram identificadas 11 espécies, e embora o gênero seja caracterizado como de pouca ou nenhuma importância epidemiológica no que tange a transmissão de agentes infecciosos e parasitários (Harbach, 2013), algumas espécies já foram encontradas naturalmente infectada com arbovirus, quais sejam, *Wy. medioalbipes* da qual foi isolado *Caraparú like virus* e VEE em Trinidad (Jonkers *et al.*, 1964) e KRIV isolado de *Wy. aporonomia* (Aitken, Spence & Manuel, 1964).

7 CONCLUSÃO

O Fragmento florestal do Clube de Oficiais da Aeronáutica - Guarnição de Belém, Pará, Brasil, apresentou riqueza de 34 espécies culicídeos classificadas em 10 gêneros;

Abril e maio (período chuvoso) apresentaram a maior abundância e riqueza de culicídeos quando comparado aos meses que compõem o período pouco chuvoso. Por outro lado, ao avaliarem-se os índices de heterogeneidade (Shannon e Simpson) o mês de setembro apresentou os maiores;

Embora o estudo tenha compreendido quatro meses, sendo, dois em períodos muito chuvosos e dois em períodos pouco chuvosos, a população de culicídeos apresentou variação temporal quanto a sua abundância, riqueza e diversidade de espécies, e tal variação pode ter decorrido também, em função das variáveis abióticas; no entanto, é necessário o desenvolvimento de estudos com períodos de amostragens mais extensos para conhecer de maneira mais efetiva o efeito exercido pelas variáveis ambientais na abundância e riqueza de culicídeos;

O encontro de *Sabethes (Peytonulus) undosus* Coquillet 1906, resultou no primeiro registro de ocorrência dessa espécie para o Estado do Pará, enquanto que *Culex trífidus*, *Wyeomyia hosautos* e *Wyeomyia splendida* foram registradas pela primeira vez na Região Metropolitana de Belém;

O encontro das espécies *Ae. serratus*, *Ae. scapularis*, *Ma. indubitans* e *Cq. venezuelensis* é indicativo de perturbação ambiental, uma vez que tais espécies são muito antropofílicas e, ao mesmo tempo, difundidas, na literatura especializada, como bioindicadores de ambientes impactados. Todavia, podemos caracterizar a área como de relativa conservação, pois, apesar de apresentar espécies características de ambientes degradados, possui ocorrência de espécies do gênero *Sabethes*, característico de ambientes preservados;

A identificação de espécies de importância epidemiológica como *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. serratus*, *Ae. scapularis*, *Ps. ferox*, *Ps. albipes*, *Cx. coronator*, *Ma. indubitans*, *Cq. venezuelensis* e *Sa. Glaucodaemon* é indicadora de possíveis riscos à saúde pública, haja vista que essas espécies são vetores de diversos arbovirus de importância epidemiológica, dessa

maneira, o monitoramento da população de mosquitos da área é importante para a prevenção e o controle de doenças transmitidas por vetores;

A partir presente estudo, foi possível inventariar a fauna de culicídeos que ocorre no COAGB; estudos de investigação entomoviológica, através de isolamento viral em cultivo celular, incluindo sequenciamento metagenômico, são necessários para avaliar melhor a relação dessas espécies com diferentes microorganismos, incluindo aqueles de importância para a saúde pública.

8 REFERÊNCIAS

- Aitken Thomas HG; Spence, Leslie; Manuel, Raymond. Virus transmission studies with Trinidadian mosquitoes part IV. Kairi virus. **Journal of Medical Entomology**, v. 1, n. 1, p. 50-52, 1964.
- Alencar, Jeronimo *et al.* Distribution of haemagogus and sabethes sp. in relation to forest cover and climatic factors in the chapada dos Guimarães National Park, State of Mato Grosso, Brazil. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 34, n. 2, p. 85-92, 2018.
- Alencar, Jeronimo *et al.* Immature mosquitoes of Serra do Mar Park, São Paulo state, Brazil. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 26, n. 3, p. 249-256, 2010
- Alto, Barry W. *et al.* Reproductive biology and susceptibility of Florida Culex coronator to infection with West Nile virus. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 14, n. 8, p. 606-614, 2014.
- Anderson, C. R., Aitken, T. H. G., Downs, W. G., and Spence, L., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 6, 688-92 (1957)
- Anderson, C.R.; Aitken, T.H.G.; Downs, W.G. The Isolation of Ilhéus Virus from Wild Caught Forest Mosquitoes in Trinidad. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 1956, 5, 621–625.
- Fernando Rodrigues da Silva. *et al.* ; **Análises ecológicas no R** / [editor] Ulysses Paulino de Albuquerque. – 1.ed. – Recife, PE : São Paulo : Nupeea : Canal 6, 2022.
- Barrio-Nuevo, K. M. Estudo da fauna de mosquitos (Diptera: Culicidae) com simultânea investigação de infecção natural por Flavivirus em duas Unidades de Conservação da Mata Atlântica, Estado de São Paulo [dissertação]. **São Paulo: Universidade de São Paulo**, 2019.
- Barrio-Nuevo, Karolina Morales *et al.* Detection of Zika and dengue viruses in wild-caught mosquitoes collected during field surveillance in an environmental protection area in São Paulo, Brazil. **PLoS One**, v. 15, n. 10, p. e0227239, 2020
- Barrio-Nuevo; Morales, Karolina. Distribuição, ecótopos e importância vetorial de *Limatus durhamii* Theobald, 1901 nas américas: revisão narrativa. 2022.
- Basset, Yves *et al.* Vertical stratification of arthropod assemblages. **Arthropods of tropical forests**, p. 17-27, 2003.
- Brasil. ministério da saúde. secretaria de vigilância em saúde. Departamento de Vigilância Das Doenças Transmissíveis. **Guia da Vigilância de Epizootias em Primatas não humanos e Entomologia Aplicada à vigilância da Febre Amarela**. 2014.

- Brasil. ministério da saúde. secretaria de vigilância em saúde. Departamento de Vigilância Das Doenças Transmissíveis. **Guia para o Planejamento das Ações de Captura de Anofelinos pela técnica de Atração por Humano Protegido(TAHP) e Acompanhamento dos Riscos à Saúde do Profissional Capturador.** 2019.
- Breuste, Jürgen; NIEMELÄ, Jari; SNEP, Robbert PH. Applying landscape ecological principles in urban environments. **Landscape ecology**, v. 23, p. 1139-1142, 2008.
- Brusca, R. C. & G.J. Brusca. **Invertebrados.** 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. 1252p.
- Caldeira. R. D.; Mendonça, A. M; Nascimento B. L. S.; Nunes-Neto. J.P. Registro e identificação de *Mansonia indubitans* (Culicidae) em bairro da região metropolitana de Belém. In: **55º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical - XXVI Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia**, 2019, Belo Horizonte. MEDTROP-Parasito 2019, v. 1. p. 586-587.
- Camara, Daniel Cardoso Portela *et al.* Diversity of mosquito (Diptera: Culicidae) vectors in a heterogeneous landscape endemic for arboviruses. **Acta Tropica**, v. 212, p. 105715, 2020.
- Campos, R. E. 2016. Phytotelmata colonization in bamboo (*Guadua* sp.) culms in northeast Argentina. **Journal of Natural History**, 50(15–16), 923–941.
- Cantuária, Maryele Ferreira. Ecologia de culicídeos (Diptera: Culicidae) da área de proteção ambiental do rio Curiaú, Macapá, Amapá. **Macapá: Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Tropical**, 2012.
- Cardoso, J.da C., de Almeida, M.A.B., dos Santos, E., da Fonseca, D.F., Sallum, M.A.M., Noll, C.A., Monteiro, H.A., de, O., Cruz, A.C.R., Carvalho, V.L., Pinto, E.V., Castro, F.C., Neto, J.P.N., Segura, M.N.O., Vasconcelos, P.F.C., 2010. Yellow Fever Virus in *Haemagogus leucocelaenus* and *Aedes serratus* Mosquitoes, Southern Brazil, 2008. **Emerg. Infect. Dis.** 16, 1918–1924
- cardoso, Jäder da Cruz. **Vigilância entomológica de mosquitos (Diptera, Culicidae) como estratégia de vigilância ambiental em saúde no Rio Grande do Sul, Brasil.** 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo
- Catenacci, Lilian S. *et al.* Diversity patterns of hematophagous insects in Atlantic forest fragments and human-modified areas of southern Bahia, Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v. 43, n. 2, p. 293-304, 2018.
- Causey, Ottis R. *et al.* **Aura and Una, two new group A arthropod-borne viruses** (Publicado originalmente em 1963).
- Causey, Ottis R. *et al.* **The isolation of arthropod-borne viruses, including members of two hitherto undescribed serological groups, in the Amazon region of Brazil.** 1961

- Chao, Anne *et al.* Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in sp. diversity studies. **Ecological monographs**, v. 84, n. 1, p. 45-67, 2014.
- Chao, Anne; Jost, Lou. Coverage-based rarefaction and extrapolation: standardizing samples by completeness rather than size. **Ecology**, v. 93, n. 12, p. 2533-2547, 2012.
- Chaves, Leonardo Suveges Moreira. **Sistema ecológico da malária**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- Consoli, Rotraut AGB; Lourenço de Oliveira, Ricardo. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Editora Fiocruz, 1994.
- Costa, Solaine Gonçalves; Morato, Elder Ferreira; Salimon, Cleber Ibraim. Densidade de bambu e estrutura populacional de duas espécies arbóreas pioneiras em florestas secundárias de diferentes idades em um remanescente florestal, Acre. **Scientia Forestalis**, v. 40, n. 95, p. 363-374, 2012.
- Damasceno-Caldeira, R.; Nunes-Neto, J.P.; Aragão, C.F.; Freitas, M.N.O.; Ferreira, M.S.; Castro, P.H.G.d.; Dias, D.D.; Araújo, P.A.d.S.; Brandão, R.C.F.; Nunes, B.T.D.; Silva, E.V.P.d.; Martins, L.C.; Vasconcelos, P.F.d.C.; Cruz, A.C.R. Vector Competence of *Aedes albopictus* for Yellow Fever Virus: Risk of Reemergence of Urban Yellow Fever in Brazil. **Viruses** 2023, 15, 1019.
- De Abreu, Filipe Vieira Santos *et al.* *Haemagogus leucocelaenus* and *Haemagogus janthinomys* are the primary vectors in the major yellow fever outbreak in Brazil, 2016–2018. **Emerging Microbes & Infections**, v. 8, n. 1, p. 218, 2019.
- Degefa, Teshome *et al.* Evaluation of human-baited double net trap and human- odour-baited CDC light trap for outdoor host-seeking malaria vector surveillance in Kenya and Ethiopia. **Malaria Journal**, v. 19, p. 1-15, 2020.
- Deus, Juliana Telles de *et al.* Evaluation of methods to collect diurnal culicidae (diptera) at canopy and ground strata, in the atlantic forest biome. **Insects**, v. 13, n. 2, p. 202, 2022.
- Dibo, Margareth Regina *et al.* Presença de culicídeos em município de porte médio do Estado de São Paulo e risco de ocorrência de febre do Nilo Ocidental e outras arboviroses. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 496-503, 2011.
- Dorvillé, Luís FM. Mosquitoes as bioindicators of forest degradation in southeastern Brazil, a statistical evaluation of published data in the literature. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 31, n. 2, p. 68-78, 1996.
- Farias, Marcelo Alves. **Avaliação entomofaunística e pesquisa de arbovírus na área de proteção ambiental ilha do Combu, Belém, Pará**. 93 f. Dissertação (Mestrado em Virologia) - Instituto Evandro Chagas, Programa de Pós-Graduação em Virologia, Ananindeua, 2019.

- Feitosa, Marlisson Augusto Costa. Flebotomíneos (diptera: psychodidae) no ambiente domiciliar em área de transmissão da leishmaniose tegumentar e visceral, no município de Santarém, estado do Pará, Brasil. 2004. Tese de Doutorado. INPA.
- Ferreira, Jonatas Barbosa Cavalcante. **Ocorrência de flebotomíneos (diptera: psychodidae) em matas de galeria no Distrito Federal**, Brasil. 2015. x, 42 f., il. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical)—Universidade de Brasília, Brasília, 2015.
- Forattini, O. P. 1965a. **Entomologia Médica. Vol. II.** Faculdade de Higiene e Saúde Pública, São Paulo, 506pp.
- Forattini, O. P. 1965b. **Entomologia Médica. Vol. III.** Faculdade de Higiene e Saúde Pública, São Paulo, 416pp.
- Forattini, Oswaldo Paulo. **Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia:** v. 2. In: 2002. p. 860-860.
- Forattini, O.P. & E. Massad, 1998. Culicidae vectors and anthropic changes in a southern Brazil natural ecosystem. **Ecosystem Health**, 4: 9-19
- Forattini, Oswaldo Paulo. Identificação de *Aedes (stegomyia) Albopictus (skuse)* no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 20, p. 244-245, 1986.
- Galindo P, Blanton FS, Peyton EL. A revision of the *Uranotaenia* of Panama with notes on other american sp. of the genus (Diptera, Culicidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.** 1954; 47(1): 107-77.
- Gama, R A. *et al.* Periodicidade de captura de *Anopheles darlingi* Root (Diptera: Culicidae) em Porto Velho, RO. **Neotropical entomology**, v. 38, n. 5, p. 677-682, 2009.
- Gomes, Almério de Castro *et al.* Riqueza e abundância de Culicidae (Diptera) em área impactada, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, p. 661-664, 2007.
- Gotelli, Nicholas J.; Colwell, Robert K. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of sp. richness. **Ecology letters**, v. 4, n. 4, p. 379-391, 2001.
- Guedes, M. L. P. Culicidae (Diptera) no Brasil: relações entre diversidade, distribuição e enfermidades. **Oecologia Australis**, v. 16, n. 2, p. 283-296, 2012.
- Guimarães AE, Arle M, Machado RNM. 1985. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Orgaos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. II. Distribuicao Vertical. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 80:171–185
- Harbach, R. E. **Mosquito taxonomic inventory.** 2013.
- Harbach, Ralph E. The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. **Zootaxa**, v. 1668, n. 1, p. 591-638, 2007.

- Hervé JP, Dégallier N, Travassos da Rosa APA, Pinheiro FP, Sá Filho GC. Arboviroses - Aspectos ecológicos. In: Instituto Evandro Chagas-50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical. Vol. 1. Belém: **Fund Serv Saúde Pública**; 1986.
- Hsieh, T. C.; MA, K. H.; Chao, Anne. iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of sp. diversity (Hill numbers). **Methods in Ecology and Evolution**, v. 7, n. 12, p. 1451-1456, 2016.
- Hurlbert, Stuart H. The nonconcept of species diversity: a critique and alternative parameters. **Ecology**, v. 52, n. 4, p. 577-586, 1971.
- Hutchings, R. S. G., Hutchings, R. W., Menezes, I. S., & Sallum, M. A. M.. Mosquitoes (Diptera: Culicidae) From the Southwestern Brazilian Amazon: Liberdade and Gregório Rivers. **Journal of Medical Entomology**, 2020.
- IEC. **Manual de orientações para coleta de amostras biológicas para diagnóstico laboratorial no Instituto Evandro Chagas**. Ananindeua, 2019. Disponível em: <<https://www.iec.gov.br/wp-content/uploads/2019/04/MANUAL-DE-COLETA-DE-AMOSTRAS-IEC.pdf>>.
- Instituto Evandro Chagas (IEC). Atlas de culicídeos na Amazônia brasileira: características específicas de insetos hematófagos da família Culicidae. In: **Atlas de Culicídeos na Amazônia brasileira: características específicas de insetos hematófagos da família Culicidae**. 2007. p. 67-67.
- Jost, Lou. Entropy and diversity. **Oikos**, v. 113, n. 2, p. 363-375, 2006.
- Jonkers AH , Spence L , Downs WG , Aitken TH , Tikasingh ES , 1968 . Arbovirus studies in Bush Bush forest, Trinidad, W. I., September 1959–December 1964. V. Virus isolations . **Am J Trop Med Hyg** 17: 276 – 284 .
- Jonkers, A.H.; Spence, L.; Downs, W.G.; Aitken, T.H.; Worth, C.B. Arbovirus studies in Bush Bush Forest, Trinidad, W.I., September 1959–December 1964. VI. Rodent-associated viruses (VEE and agents of groups C and Guamá): Isolations and further studies. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 1968, 17, 285–298
- Karabatsos, N. (1978) Supplement to International Catalogue of Arboviruses including certain other viruses of vertebrates. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 27, 372–440
- Karabatsos, N. (Ed.). **International Catalogue of Arboviruses, 1985: Including Certain Other Viruses of Vertebrates**. Subcommittee on Information Exchange of the American Committee on Arthropod-borne Viruses, 1985.
- Kindt, Roeland; KINDT, Maintainer Roeland. Package ‘BiodiversityR’. **Package for community ecology and suitability analysis**, v. 2, p. 11-12, 2019.
- Lane, J. 1953a. **Neotropical Culicidae. Vol. 1**. EDUSP, São Paulo.
- Lane, J. 1953b. **Neotropical Culicidae. Vol. 2**. EDUSP, São Paulo.

- Lira-Vieira, Ana Raquel *et al.* Ecological aspects of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the gallery forest of Brasilia National Park, Brazil, with an emphasis on potential vectors of yellow fever. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, p. 566-574, 2013.
- Lopes ODS, Sacchetta LDA, Francy DB, Jakob' WL, Calisher CH. Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. III. Isolation of Rocio virus from *Psorophora ferox* (Humboldt, 1819). **Am J Epidemiol.** 1981; 113(2):122-5
- Lourenço-de-Oliveira R, Heyden R, Silva TF. 1986. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma area de planície (Granjas Calabria) em Jacarepagua, Rio de Janeiro. V. Criadouros. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 81:265-271.
- Lozovei, Ana Leuch. Mosquitos dendrícolas (Diptera, Culicidae) em internódios de taquara da floresta atlântica, serra do mar e do primeiro planalto, Paraná, Brasil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 41, p. 501-510, 1998.
- Magurran, Anne E.; MCGILL, Brian J. (Ed.). **Biological diversity: frontiers in measurement and assessment.** OUP Oxford, 2010.
- Magurran, A.E. (2004) *Measuring Biological Diversity.* Blackwell Publishing, Oxford, 256 p
- Margalef, Ramon. **Temporal succession and spatial heterogeneity in natural phytoplankton.** 1958.
- Ramos, Bruna Alves et al. Arboviruses in free-ranging birds and hematophagous arthropods (Diptera, Nematocera) from forest remnants and urbanized areas of an environmental protection area in the amazon biome. **Viruses**, v. 14, n. 10, p. 2101, 2022.
- Reinert, John F. et al. List of abbreviations for currently valid generic-level taxa in family Culicidae (Diptera). **European Mosquito Bulletin**, v. 27, p. 68-76, 2009.
- Rodrigues, Marianni de Moura, **Abundâncias de Aedes aegypti e outros culicídeos adultos, em área urbana de município endêmico de dengue, São Sebastião, litoral norte do Estado de São Paulo, Brasil / São Paulo, 2013.** Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.
- May, G. J. G. **Diversidade espacial e temporal de mosquitos (diptera: culicidae) e a sua importância médica em áreas verdes urbanas e residenciais associadas em Fortaleza.** 2018. 125 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.
- Melo, Adriano Sanches. O que ganhamos confundindo riqueza de espécies e equabilidade em um índice de diversidade?. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 21-27, 2008.

- Mitchell, Carl j.; Forattini,, Oswaldo P. Experimental transmission of Rocio encephalitis virus by *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) from the epidemic zone in Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 21, n. 1, p. 34-37, 1984.
- Mitchell, Carl j.; Forattini, Oswaldo Paulo; MILLER, Barry R. Vector competence experiments with Rocio virus and three mosquito sp. from the epidemic zone in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 20, p. 171-177, 1986.
- Montes, Joyce. Fauna de Culicidae da Serra da Cantareira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, p. 578-584, 2005.
- Moore CG, Mitchell CJ. *Aedes albopictus* in the United States: ten-year presence and public health implications. **Emerg Infect Dis**. 1997 Jul-Sep;3(3):329-34.
- Motta, Monique Albuquerque; Lourenço de Oliveira, Ricardo. The subgenus *Dendromyia* Theobald: a review with redescrptions of four sp. (Diptera: Culicidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 5, p. 649- 683, 2000.
- Méndez, Wilmer *et al.* Spatial dispersion of adult mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a sylvatic focus of Venezuelan equine encephalitis virus. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 6, p. 813-821, 2001.
- Oksanen, Jari *et al.* Package ‘vegan’. **Community ecology package, version**, v. 2, n. 9, p. 1-295, 2013.
- Oliveira, Kenia Cristina de. **Estudo da diversidade urbana e periurbana de mosquitos (Diptera: Culicidae) no Distrito Federal**. (Dissertação de Mestrado em Medicina Tropical) Universidade de Brasília, 2020.
- Omran, seyed-mohammad; azari-hamidian, shahyad. Vertical Distribution, Biodiversity, and Some Selective Aspects of the Physicochemical Characteristics of the Larval Habitats of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Chaharmahal and Bakhtiari Province, Iran. **International Journal of Epidemiologic Research**, v. 7, n. 2, p. 74-91, 2020.
- Panday, R. S. Guamá-group virus activity in Surinam. **Tropical and Geographical Medicine**, v. 33, n. 2, p. 123-127, 1981.
- Paupy, Christophe *et al.* *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. **Microbes and infection**, v. 11, n. 14-15, p. 1177-1185, 2009.
- Pessoa, Alex Sandro Aguiar et al. Simulação climática para a América do Sul usando redes neurais: anomalias de precipitação e temperatura do ar sazonal. **Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais: São José dos Campos**. v. 80, n. 2006, p. 12.22, 2007.
- Pauvolid-Corrêa, A.; Kenney, J.L.; Couto-Lima, D.; Campos, Z.M.; Schatzmayr, H.G.; Nogueira, R.M.; Brault, A.C.; Komar, N. Ilheus virus isolation in the Pantanal, west-central Brazil. **PLoS Negl. Trop. Dis**. 2013, 7, e2318

- Pinheiro, Francisco P.; LEDUC, James W. Mayaro virus disease. In: **The arboviruses: epidemiology and ecology**. CRC Press, 2019. p. 137-150.
- Pinto, Claudeth s.; Confalonieri, Ulisses ec; Mascarenhas, Bento m. Ecology of *Haemagogus* sp. And *Sabethes* spp.(Diptera: Culicidae) in relation to the microclimates of the Caxiuanã National Forest, Pará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 4, p. 592-598, 2009.
- Rachou, E.; Lima, M.; Neto, J.; Martins, C. Aedes scapularis, a new proved vector of W. bancroftii in southern Brazil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais** 1954, 6, 145.
- Robin, Y. *et al.* **Dengue viruses and other arboviruses in French Guiana**. 1982.
- Rubio-Palis, Y. 1992. Influence of moonlight on light trap catches of the malária vector Anopheles nuneztovari in Venezuela. **Journal of the American Mosquito Control Association**,8:178-180.
- Ruppert, Edward e.; Fox, Richard s.; Barnes, Robert d. Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva. In: **Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva**. 2005. p. 1045-1045.
- Sabattini M, Aviles G, Monath TP. 1998. Historical, epidemiological and ecological aspects of arbovirus in Argentina. Togaviridae. Alphavirus. In: Travassos da Rosa APA, Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa JFS, eds. **Overview of arbovirology in Brazil and neighboring countries**. Belen, Brazil: Instituto Evandro Chagas. p 135–153.
- Santos, Isana M. dos; Calado, Daniéla. Captura de mosquitos antropofílicos (Diptera, Culicidae) em uma área urbana da região oeste da Bahia, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 104, p. 32-38, 2014.
- Santos, Mileyka *et al.* Implementation of bamboo and monkey-pottraps for the sampling cavity-breeding mosquitoes in Darién, Panama. **Acta Tropica**, v. 205, p. 105352, 2020.
- Secretaria de Meio Ambiente e Sustentabilidade do Estado do Pará. Boletins (Disponível em: <https://www.semas.pa.gov.br/publicacoes/boletins/>)
- Saraiva, Jose Ferreira; Maitra, Ahana; Souto, Raimundo Nonato Picanço. Diversity and abundance of mosquitoes (Diptera, Culicidae) in a fragment of Amazon Cerrado in Macapá, State of Amapá, Brazil. **EntomoBrasilis**, v. 13, p. e901-e901, 2020.
- SEGURA, Maria de Nazaré de Oliveira *et al.* Encontro de Aedes albopictus no estado do Pará, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, p. 388-389, 2003.
- Shannon, R. C., L. Whitman, and M. Franca. 1938. Yellow fever virus in jungle mosquitoes. **Science**. 88: 110–111.
- Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. **Bell System Technical Journal**, 27, 379-423.

- Simpson, E. H. (1949). Measurement of diversity. *Nature*, 163, 688.
- Shope, Robert E. *et al.* The epidemiology of diseases caused by viruses in Groups C and Guama (Bunyaviridae). In: **The arboviruses: epidemiology and ecology**. CRC Press, 2019. p. 37-52.
- Silver, John B. **Mosquito ecology: Fields Sampling Methods**. Springer science & business media, 2007.
- Smith DR. Waiting in the wings: the potential of mosquito transmitted flaviviruses to emerge. *Crit Rev Microbiol*. 2017;43(4):405–22.
- Spence, L.; Anderson, C.R.; Aitken, T.H.; Downs, W.G. Bushbush, Ieri and Lukuni viruses, three unrelated new agents isolated from Trinidadian forest mosquitoes. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 1967, 125, 45–5
- Stanzani, Luciana Matos de Abreu *et al.* Back to Where It Was First Described: Vectors of Sylvatic Yellow Fever Transmission in the 2017 Outbreak in Espírito Santo, Brazil. **Viruses**, v. 14, n. 12, p. 2805, 2022.
- Suaza-Vasco, J., López-Rubio, A., Galeano, J., Uribe, S., Vélez, I., & Porter, C. 2015. The Sabethines of Northern Andean Coffee-Growing Regions of Colombia. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 31(2), 125–134.
- Sudia, W. D.; Chamberlain, R. W. Battery-operated light trap, na improved model. **Mosquito News**, v. 22, n. 2, p. 126-129, 1962.
- Suesdesk, Lincoln. Microevolution of medically important mosquitoes—A review. **Acta tropica**, v. 191, p. 162-171, 2019.
- Taipe-Lagos, Carmen Beatriz; NATAL, Delsio. Abundância de culicídeos em área metropolitana preservada e suas implicações epidemiológicas. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 3, p. 275-279, 2003.
- Travassos da Rosa JF, Travassos da Rosa AP, Vasconcelos PF, Pinheiro FP, Rodrigues SG, *et al.* **Arboviruses isolated in the Evandro Chagas Institute, including some described for the first time in the Brazilian Amazon region, their known hosts, and their pathology for man**. In: Travassos da Rosa AP, Vasconcelos PF, Travassos da Rosa JF, editors. **An overview of arbovirology in Brazil and neighbouring countries**. Belém (Brazil): Instituto Evandro Chagas; 1998. p. 19–31.
- Turell, M. Jones *et al.* Vector competence of Peruvian mosquitoes (Diptera: Culicidae) for epizootic and enzootic strains of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. **Journal of medical entomology**, v. 37, n. 6, p. 835-839, 2000
- Uramoto Keiko; WALDER, Julio MM; ZUCCHI, Roberto A. Análise quantitativa e distribuição de populações de espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) no campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 33-39, 2005.

- Utrilla, Cintia *et al.* An assessment of adult mosquito collection techniques for studying sp. abundance and diversity in Maferinyah, Guinea. **Parasites & vectors**, v. 13, p. 1-16, 2020.
- Vasconcelos PF, Travassos da Rosa AP, Pinheiro FP, Shope RE, Travassos da Rosa JF, Rodrigues SG, *et al.* Arboviruses pathogenic for man in Brazil. In: Travassos da Rosa AP, Vasconcelos PF, Travassos da Rosa JF, editors. **An overview of arbovirology in Brazil and neighbouring countries. Belém (Brazil): Instituto Evandro Chagas; 1998. p. 72–99.**
- Vasconcelos PF. Yellow fever [in Portuguese]. **Rev Soc Bras Med Trop.** 2003; 36:275–93
- Vasconcelos, p. f. c., travassos da rosa, a. p. a., rodrigues, s.g., travassos da rosa, e. s; dégallier, n; travassos da rosa, j. f. s., Gestão imprópria do ecossistema natural na Amazônia brasileira resulta na emergência e reemergência de arbovírus. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 17(suplemento) 155-164, 2001.
- Vasconcelos, P.F.da C., Travassos da Rosa, J.F.S., Travassos da Rosa, A.P.de A., Dégalier, N., Pinheiro, F.de P., Sá filho, G.C., 1991. Epidemiologia das encefalites por arbovírus na amazônia brasileira. **Rev. Inst. Med. Trop.** Sao Paulo 33, 465–476
- Velásquez G, Ulloa A, Montañez H, Guimarães AE, Maldonado AJ, Bastardo JW. 2013. Evidence of the presence of West Nile Virus in mosquito pools in North Eastern Region of Venezuela. **Global Advanced Res. J. Medicine Medical Sci.** 2(1):20-25.
- WEAVER, S. C.; Reisein, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral Res.**, v. 85, n. 2, 2010.
- Wei, Taiyun *et al.* Package ‘corrplot’. **Statistician**, v. 56, n. 316, p. e24, 2017.
- Wickham, Hadley *et al.* Welcome to the Tidyverse. **Journal of open source software**, v. 4, n. 43, p. 1686, 2019.
- Wickham, Hadley. ggplot2. **Wiley interdisciplinary reviews: computational statistics**, v. 3, n. 2, p. 180-185, 2011.
- Wilkerson, Richard C.; LINTON, Yvonne-Marie; STRICKMAN, Daniel. **Mosquitoes of the World.** Johns Hopkins University Press, 2021.
- Wirth, Willis W.; Blanton, Franklin S. A review of the maruins or biting midges of the genus *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in the Amazon Basin. Amazoniana: **Limnologia et Oecologia.** v. 4, n. 4, p. 405-470, 1973.
- Zavortink TJ. Mosquito Studies (Diptera, Culicidae) XXXV. The new sabethine genus *Johnbelkinia* and preliminar reclassification of the composite genus *Trichoprosopon*. **Contrib. Amer. Ent. Inst.** 1979; 17(1): 1-61.
- Zequi, João Antonio Cyrino; LOPES, José. Fauna of Culicidae (Diptera) found in the internodes of the bamboo in a residual forest in the urban area of Londrina-Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, p. 429-438, 2001.

9 ANEXOS

ANEXO A - Autorização do SISBIO concedida pelo ICMBIO/MMA



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 82230-1	Data da Emissão: 29/03/2022 17:27:11	Data da Revalidação*: 29/03/2023
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Joaquim Pinto Nunes Neto	CPF: 653.361.512-20
Título do Projeto: Estudo Taxonômico e Molecular de Artrópodes Hematófagos da Região Metropolitana de Belém.	
Nome da Instituição: Instituto Evandro Chagas	CNPJ: 00.394.544/0025-52

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de artrópodes hematófagos, processamento das amostra	04/2022	03/2026

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	DANIEL DAMOUS DIAS	Mestrando	037.644.792-30	Brasileira
2	JOSE WILSON ROSA JUNIOR	Técnico em Pesquisa	948.269.272-15	Brasileira
3	LUCIA ALINE MOURA REIS	Doutoranda	014.481.052-26	Brasileira
4	FABIO SILVA DA SILVA	Doutorando	022.759.922-51	Brasileira
5	Sandro Patroca da Silva	Pesquisador	681.531.202-04	Brasileira
6	Ana Cecília Ribeiro Cruz	Pesquisadora	227.568.842-00	Brasileira
7	Lucas Henrique da Silva e Silva	Mestrando	036.279.032-93	Brasileira
8	Daniele Barbosa de Almeida Medeiros	Pesquisadora	661.305.572-72	Brasileira
9	Bruna Laís Sena do Nascimento	Técnico em Pesquisa	822.763.902-04	Brasileira

Observações e ressalvas

1	Deve-se observar as as recomendações de prevenção contra a COVID-19 das autoridades sanitárias locais e das Unidades de Conservação a serem acessadas.
2	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
3	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
5	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
6	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0822300120220329

Página 1/4

ANEXO B

Pipeline para Análise de Dados Ecológicos em R

Projeto: FAUNA DE CULICIDAE (DIPTERA: CULICOMORPHA) DE UM FRAGMENTO FLORESTAL NO MUNICÍPIO DE BELÉM, PARÁ, BRASIL

Autor: Daniel Damous

1) Instalar e carregar as bibliotecas necessárias:

tidyverse - Manipulação e análise de dados

```
if(!require(tidyverse)){install.packages("tidyverse")}
library(tidyverse)
```

vegan - Ecologia numérica

```
if(!require(vegan)){install.packages("vegan")}
library(vegan)
```

BiodiversityR - Ecologia numérica

```
if(!require(BiodiversityR)){install.packages("BiodiversityR")}
library(BiodiversityR)
# BiodiversityRGUI() # tirar (#) para abrir o modo interfície.
```

hillR - Série de Hill

```
if(!require(hillR)){install.packages("hillR")}
library(hillR)
```

entropart - Partição de entropia para medir a diversidade

```
if(!require(entropart)){install.packages("entropart")}
library(entropart)
```

iNEXT - Estimador de riqueza (Rarefação e extrapolação)

```
if(!require(iNEXT)){install.packages("iNEXT")}
library(iNEXT)
```

ggplot2 - Plotar gráficos (Gráficos elegantes)

```
if(!require(ggplot2)){install.packages("ggplot2")}
library(ggplot2)
```

corrplot - Plotar gráficos de matrizes de correlação

```
if(!require(corrplot)){install.packages("corrplot")}
library(corrplot)
```

2) Abrir a matriz (csv)

```
dados <- read.csv(file.choose(), header = TRUE, check.names=FALSE)
```

Calcular a abundância de espécies:

```
abundancia <- rowSums(dados) # Para cada mês
```

```
abundancia_total <- sum(rowSums(dados)) # abundância total
```

Riqueza de espécies

```
riqueza <- specnumber(dados) # Para cada mês
```

```
riqueza_total <- ncol(dados) # riqueza total
```

```

# Índice de Margalef
Margalef <- round((riqueza_total - 1)/log(abundancia_total), 2)
Margalef

# Índice de Shannon (Fórmula bruta)
shannon <- diversity(dados, index = "shannon", equalize.groups = FALSE, MARGIN = 1,
base = exp(1))

# Índice de Shannon (Diversidade verdadeira)
shannon_true_div <- exp(shannon)

# Índice de Simpson (Fórmula bruta)
simpson <- diversity(dados, index = "simpson")
simpson

# Índice de Simpson (Diversidade verdadeira)
simpson_true_div<- diversity(dados, index="invsimpson")

# Série de Hill
shill <- renyi(dados,hill = TRUE)
shill

# Plotar gráfico para cada mês (série de hill)
plot(shill)

# Mapeamento do Perfil de Diversidade de Hill
# Adaptado de Bruno Vilela:
# Disponível em: https://rpubs.com/Bruno\_Vilela

library(tidyverse)
library(ggplot2)

shill_graph <- shill %>%
  rownames_to_column() %>%
  pivot_longer(-rowname) %>%
  mutate(name = factor(name, name[1:length(shill)])) %>%
  ggplot(aes(x = name, y = value, group = rowname,
             col = rowname)) +
  geom_point(size = 2) +
  geom_line(size = 1) +
  xlab("Parâmetro de ordem de diversidade (q)") +
  ylab("Diversidade") +
  labs(col = "Locais") +
  theme_bw() +
  theme(text = element_text(size = 16))
shill_graph

```

Categorias de Dominância - Classificação de Friebe (1983)

```
library(tidyverse)
```

```
# transformar matriz em um dataframe transposto.
```

```
dados_t <- t(dados)
```

```
# obter abundancia de cada espécie
```

```
abundancia <- rowSums(dados_t)
```

```
# (ti) total de indivíduos coletados
```

```
ti <- sum(abundancia)
```

```
# (i) número total de indivíduos de uma ordem
```

```
i <- (abundancia/ti) * 100
```

```
# arredondar o resultado da porcentagem para (1 inteiro e duas casa decimais)
```

```
i <- round(i, 1)
```

```
# Categorizar as ordens de acordo com as porcentagens de dominância.
```

```
categoria <- ifelse(i > 10, "Eudominante", ifelse(i > 5, "Dominante", ifelse(i > 2, "Subdominante", ifelse(i > 1, "Eventual", "Rara"))))
```

```
# gerar uma tabela csv com os resultados.
```

```
tabela_friebe <- data.frame(abundancia, i, categoria)
```

```
# Ordenar a dominância em sentido decrescente
```

```
tabela_friebe <- tabela_friebe %>%  
  arrange(desc(abundancia))
```

```
# exportar a tabela em CSV
```

```
write.csv(tabela_friebe, "tabela_friebe.csv")
```

Estimador de Riqueza - Rarefação e Extrapolação

```
# Geração de Sumário e gráficos de curvas de Rarefação e Extrapolação
```

```
# 1) Carregar a biblioteca iNEXT e ggplot2
```

```
library(iNEXT)
```

```
library(ggplot2)
```

```
# Abrir a matriz de espécies.
```

```
dados <- read.csv(file.choose(), header = T, check.names = F)
```

```
# Alterar nome dos locais
```

```
rownames(dados) <- c("abril", "maio", "agosto", "setembro")
```

```
# 2) Gerar sumário de rarefação e extrapolação
```

```
# para q=0 "Riqueza de espécies"
```

```
iNEXT_q0_summary <- iNEXT(dados, q = 0, datatype = "abundance", endpoint = 1000)
```

```
q0_out_summary <- iNEXT_q0_summary
```

Para q=1 "Índice de Shannon"

```
iNEXT_q1_summary <- iNEXT(dados, q = 1,
                           datatype = "abundance", endpoint = 1000)
q1_out_summary <- iNEXT_q1_summary
```

Para q=2 "Índice de Simpson"

```
iNEXT_q1_summary <- iNEXT(dados, q = 2,
                           datatype = "abundance", endpoint = 1000)
q2_out_summary <- iNEXT_q2_summary
```

Rediciona a saída, criando um arquivo txt nomeado:

Saída q=0

```
"iNEXT_q0_summary.txt" #
cat(capture.output(print(iNEXT_q0_summary)), file = "iNEXT_q0_summary.txt", sep = "\n")
```

Saída q=1

```
"iNEXT_q1_summary.txt" #
cat(capture.output(print(iNEXT_q1_summary)), file = "iNEXT_q1_summary.txt", sep = "\n")
```

Saída q=2

```
"iNEXT_q2_summary.txt" #
cat(capture.output(print(iNEXT_q2_summary)), file = "iNEXT_q2_summary.txt", sep = "\n")
```

#Plotar curva baseada no tamanho da amostra (q=0,1,2, type 1)

```
inext_graph <- t(dados)
```

```
out_t1 <- iNEXT(inext_graph, q=c(0, 1, 2),
                datatype = "abundance", endpoint=1000, knots=300, nboot=1000,
                conf=0.95, se=TRUE)
```

```
q_all_t1 <- ggiNEXT(out_t1, type = 1, facet.var = "Order.q") +
  facet_wrap(~Order.q, scales="free") +
  geom_vline(xintercept = 66, lty = 5) +
  scale_linetype_discrete(labels = c("Interpolado", "Extrapolado")) +
  scale_colour_manual(values = c("#1300FF", "green", "red", "black")) +
  scale_fill_manual(values = c("#1300FF", "green", "red", "black")) +
  theme_bw(base_size = 15) +
  labs(fill = "Áreas") +
  xlab("Número de indivíduos") +
  ylab("Diversidade de espécies") +
  theme(legend.position="bottom",
        legend.title=element_blank(),
        text=element_text(size=18),
        legend.box = "vertical")
```

```
q_all_t1 # plotar o gráfico para todos os valores de (q)
```

Plotar curva de completude da amostra (q=0,1,2, type 3)

```
out_t3 <- iNEXT(inext_plot, q=c(0, 1, 2),
                datatype = "abundance", endpoint=1000, knots=150, nboot=10, conf=0.95,
                se=TRUE)
```

```

q_all_t3 <- ggiNEXT(out_t3, type = 3, facet.var = "Order.q") +
  facet_wrap(~Order.q, scales="free") +
  scale_linetype_discrete(labels = c("Interpolado", "Extrapolado")) +
  scale_colour_manual(values = c("#1300FF", "green", "red", "black")) +
  scale_fill_manual(values = c("#1300FF", "green", "red", "black")) +
  theme_bw(base_size = 15) +
  labs(fill = "Áreas") +
  xlab("Número de indivíduos") +
  ylab("Diversidade de espécies") +
  theme(legend.position="bottom",
        legend.title=element_blank(),
        text=element_text(size=18),
        legend.box = "vertical")

```

```
q_all_t3
```

Estatísticas

Criar uma lista com as variáveis.

```

abundancia <- c(213, 530, 121, 66)
riqueza <- c(19, 24, 20, 14)
precipitacao_antes <- c(516.4, 501, 115.4, 184.6)
precipitacao_atual <- c(501, 462.4, 184.6, 210)
temperatura_mensal <- c(26, 26.18, 27.78, 27.87)
temperatura_semanal <- c(26.45, 26.44, 26.29, 29.39)
umidade_mensal <- c(81.1, 88.64, 78.57, 78.41)
umidade_semanal <- c(91.0, 90.7, 91.9, 81.0)

```

Criar um data frame com todas as variáveis

```

dados_estat <- data.frame(abundancia, riqueza, precipitacao_antes, precipitacao_atual,
  temperatura_mensal, temperatura_semanal, umidade_mensal, umidade_semanal)

```

Checar a normalidade de cada uma variável em loop.

```

for (i in 1:length(dados_estat)) {
  # Teste de Shapiro-Wilk
  res <- shapiro.test(dados_estat[[i]])

```

Imprimir o resultado do teste para as variáveis (individualmente)

```

  cat(paste0(names(dados_estat)[i], ": p-valor = ", format(res$p.value, digits=2),
    " (", ifelse(res$p.value < 0.05, "não normal", "normal"), ")n"))}

```

Correlacionado as variáveis pelo método de Spearman.

```

correlacao <- cor(dados_estat, method = "spearman")
correlacao

```

visualizar a matriz.

```
print(correlacao)
```

Plotar gráfico de correlação:

```

corrplot(correlacao, type = "upper", method = "circle", diag = FALSE, addCoef.col = "grey",
  col = COL2('RdYlBu', 10))

```